



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
(LIMNOLOGÍA)

**Impacto de la macrófita invasora *Egeria densa* sobre la comunidad
del zooplancton presente en la Presa Benito Juárez (Villa del
Carbón, Edo. de Méx.)**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. CRISTIAN ALBERTO ESPINOSA RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL

DR. S. S. S. SARMA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

COMITÉ TUTOR

DR. JAVIER CARMONA JIMÉNEZ

FACULTAD DE CIENCIAS

DRA. ELIZABETH ORTEGA MAYAGOITIA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DRA. PATRICIA GUEVARA FÉFER

FACULTAD DE CIENCIAS

DR. ALFONSO LUGO VÁZQUEZ

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DR. GUSTAVO VALENCIA DEL TORO

UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA, IPN

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, junio 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Posgrado en Ciencias del Mar de Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



**Impacto de la macrófita invasora *Egeria densa* sobre la
comunidad del zooplancton presente en la Presa Benito Juárez
(Villa del Carbón, Edo. de Méx.)**

TESIS

que para obtener el grado académico de

**Doctor en Ciencias
(Limnología)**

presenta:

M. EN C. CRISTIAN ALBERTO ESPINOSA RODRÍGUEZ

Director de Tesis: S. S. S. Sarma

Comité Tutorial: Dr. Javier Carmona Jiménez
Dra. Elizabeth Ortega Mayagoitia
Dra. Patricia Guevara Féfer
Dr. Alfonso Lugo Vázquez
Dr. Gustavo Valencia Del Toro

Estado de México, 2016

*Para ti con quien he vivido tantos momentos hermosos y siempre me
apoya, con quien he conocido lugares tan increíbles, con
quien aprendo, como, río y duermo a diario y con quien
planeo construir una vida llena de amor y alegría, te amo
Ligia y te agradezco mucho por tu incondicional apoyo.*

*A mi mamá y mis tíos que me han enseñado tanto y me han dado
las herramientas para construir una vida basada en
respeto, compromiso, dignidad y amor. Les agradezco
todo lo que me han dado y los quiero mucho.*

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación académica y el constante apoyo recibido por parte del Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología.

Al Dr. Sarma y a la Dra. Nandini quienes son mis padres científicos y agradezco todo su apoyo durante los últimos diez años dentro del laboratorio. Gracias por ser la guía de mi carrera y por haberme compartido consejos y experiencias para poder mejorar como persona y como profesionista. Gracias por motivarme y darme todas las herramientas que permitieron la culminación de esta tesis.

Al Dr. Gustavo Valencia Del Toro quien durante estos casi 5 años ha estado guiándome en la escritura de esta tesis así como en la realización de distintas pruebas de la parte fitoquímica en el laboratorio de bioconversiones (UPIBI, IPN).

Al Dr. Alfonso Lugo Vázquez por su apoyo y sus valiosas observaciones en la parte limnológica de ésta tesis, así como por sus sabios consejos dentro y fuera de la ciencia.

Al Dr. Javier Carmona Jiménez por sus acertados comentarios y correcciones desde antes del inicio de este proyecto.

A la Dra. Elizabeth Ortega Mayagoitia quien ha estado guiándome desde mi entrevista para ingresar al posgrado y por su gran ayuda en la construcción final del escrito.

A la Dra. Patricia Guevara Féfer por ser otro soporte en la parte fitoquímica de esta tesis y por sus acertadas sugerencias.

A la Dra. Lucía Pavón Meza por su apoyo en el aislamiento, cultivo y purificación de las microalgas utilizadas y por sus consejos durante la realización de mi tesis. Gracias también por la amistad brindada que espero, siga mucho tiempo más.

Al Dr. Alfredo Pérez Morales por su apoyo durante la realización de mi tesis, por su gran ayuda durante la etapa de campo y sus acertadas observaciones. A su esposa Anhel por su comprensión y apoyo en nuestras horas de laboratorio y sobre todo a ambos, por la gran amistad que establecimos desde su estancia en México.

A la M. en C. Martha L. Gaytán Herrera por su ayuda en la identificación de algunas de las especies de fitoplancton aisladas de la presa.

Al M. en C. Luis Barbo Hernández Portilla por su ayuda en los análisis de HPLC y GC-MS de los extractos crudos de este trabajo en el laboratorio de biogeoquímica de la UBIPRO.

Al laboratorio de Zoología Acuática, en especial a César, Rosa, Sergio, Auro, Meetz, Toño, Manuel, Mich, Gerardo, Jorge, Gis, Brenda y Toño nauplii, Alma, por todos esos momentos de trabajo, relajo y especialmente por las amistades que han surgido.

Al laboratorio de Bioconversiones, particularmente a Lety y Angie por su constante apoyo y asesoría.

A mis primos Delfino, Galileo y Aristóteles con quienes he compartido la vida y siempre están más que puestos para ayudar y compartir y

A mis amigos Cuate, Vladimir, Héctor, Ulises, Saúl y a toda la banda de la Casa del Sol.

A todos mis amigos con los que comparto mi gusto por la biología, Liz, Pedro, Memo, Geles, Yolo y Sara, que siempre me han brindado su apoyo incondicional y me han echado muchas porras para superar esta etapa.

A la coordinación del posgrado: Dra. Cecilia, Dra. Gloria, Lupita, Chantal, Gaby y Diana por su apoyo constante durante todo este tiempo. Gracias por ayudarme a terminar todos mis trámites en tiempo.

Al CONACYT por su apoyo económico (CVU 257869).

Índice

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN GENERAL	6
Especies invasoras: el caso de las macrófitas	6
Macrófitas invasoras en México	9
El papel de las macrófitas en la estructuración de comunidades acuáticas	11
La alelopatía en las interacciones macrófita-fitoplancton	13
Las interacciones macrófita-zooplancton	19
PREGUNTAS	23
HIPÓTESIS	24
OBJETIVO GENERAL	25
Objetivos particulares	25
Capítulo 1	26
Análisis de la comunidad zooplanctónica en presencia y ausencia de <i>Egeria densa</i> en relación con variables ambientales en la Presa Benito Juárez (Villa del carbón, Edo. de Méx.)	27
Resumen	27
1. Introducción	28
2. Zona de estudio	30
3. Materiales y métodos	31
3.1 Variables ambientales en campo	31
3.2 Monitoreo de <i>Egeria densa</i>	31
3.3 Muestras de zooplancton.....	32
3.4 Análisis del zooplancton en laboratorio	32
3.5 Análisis de correspondencia canónica.....	33
3.6 Análisis de similitud de Morisita.....	34
4. Resultados	34
4.1 Variables ambientales	34
4.2 Riqueza, frecuencia y distribución de especies de zooplancton.....	39
4.3 Diversidad de especies	43
4.4 Frecuencia vs abundancia.....	44
4.4.1 Rotíferos	49

4.5 Análisis de correspondencia canónica (redundancia).....	54
4.6 Análisis de similitud de comunidades (Índice de Morisita).....	55
5. Discusión	57
6. Conclusiones	65
Capítulo 2.....	66
Interacciones alelopáticas entre la macrófita <i>Egeria densa</i> y el alga <i>Scenedesmus acutus</i> y <i>Simocephalus</i> spp. (Cladocera: Daphnidae).....	67
Resumen	67
1. Introducción.....	68
2. Materiales y Métodos	70
2.1 Cultivos de plancton.....	70
2.2 Efecto de <i>Egeria</i> sobre <i>Scenedesmus</i>	71
2.3 Tabla de vida de <i>Simocephalus</i> spp.....	72
2.4 Análisis estadísticos	73
3. Resultados	73
4. Discusión	80
5. Conclusiones	84
Capítulo 3.....	85
Actividad alelopática y análisis químicos de extractos crudos de la macrófita <i>Egeria densa</i> sobre cuatro especies de fitoplancton seleccionadas	86
Resumen	86
1. Introducción.....	87
2. Materiales y Métodos	88
2.1 Macrófita.....	88
2.2 Extractos crudos	88
2.3 Cromatografía en capa fina	89
2.4 HPLC y GC-MS.....	89
2.5 Análisis fitoquímico	89
2.6 Bioensayos con algas	90
2.7 Análisis estadísticos	91
3. Resultados	91
4. Discusión	97
5. Conclusiones	101

Capítulo 4	102
Interacciones entre <i>Daphnia mendotae</i> y tres cladóceros litorales en presencia de aleloquímicos <i>Egeria densa</i>	103
Resumen	103
1. Introducción	104
2. Materiales y métodos	106
2.1 Cultivos de plancton.....	106
2.2 Medio condicionado con aleloquímicos.....	107
2.3 Experimentos de competencia.....	107
2.4 Análisis estadísticos	108
3. Resultados	108
4. Discusión	112
5. Conclusiones	114
Capítulo 5	115
Efecto de la materia orgánica disuelta y particulada de la macrófita <i>Egeria densa</i> sobre la dinámica poblacional de <i>Plationus patulus</i> (Rotifera: Brachionidae)	116
Resumen	116
1. Introducción	117
2. Materiales y métodos	119
2.1 Cultivos de plancton.....	119
2.2 Experimentos.....	119
2.3 Análisis de datos.....	120
3. Resultados	121
4. Discusión	125
5. Conclusiones	128
CONCLUSION GENERAL	129
LITERATURA CITADA	130

RESUMEN

Las macrófitas son organismos clave que estructuran las comunidades acuáticas y están relacionadas con la teoría de los estados estables alternativos, donde se ha observado que la producción de sustancias alelopáticas es una estrategia efectiva que inhibe el crecimiento del fitoplancton. Esto podría repercutir en algunas poblaciones del zooplancton herbívoro a través de la limitación del recurso algal; además, estas sustancias alelopáticas afectan negativamente a *Daphnia* y no es claro el efecto que podrían tener sobre otros grupos de organismos. En este estudio se evaluó el efecto de tres especies de macrófitas sobre la comunidad de zooplancton metazoario en la Presa Benito Juárez de septiembre de 2012 a agosto de 2013 en 5 habitats, haciendo énfasis en *Egeria densa*. En laboratorio se evaluó el efecto de los aleloquímicos de *E. densa* sobre distintas poblaciones de plancton. Para este fin, se caracterizaron y evaluaron 3 extractos crudos de esta macrófita sobre cuatro poblaciones de fitoplancton así como su efecto *in vivo* sobre *Scenedesmus acutus*. Posteriormente, se evaluó el efecto de sus aleloquímicos sobre seis poblaciones de cladóceros a través de experimentos de demografía. También, se probó el efecto de sus aleloquímicos y detritus sobre la dinámica poblacional del rotífero *Plationus patulus*. En campo, las macrófitas afectaron diferencialmente la temperatura, oxígeno disuelto, pH y turbidez. Los valores de diversidad fueron mayores en los sitios con *E. densa* donde las especies dominantes fueron *Lecane closterocerca*, *Trichocerca elongata*, *T. porcellus*, *Alona guttata*, *Chydorus brevilabris* y copépodos ciclopoideos. La actividad alelopática de *E. densa* se vio relacionada a fenoles y saponinas y está en función al tipo de extracto, su concentración y a la sensibilidad de las especies de fitoplancton. Además, se observó que esta planta provocó un incremento en la eficiencia biológica de las especies de zooplancton seleccionadas debido a la posible asimilación de sus aleloquímicos por bacterias heterótrofas las cuales pudieron servir de alimento. En conclusión *E. densa* incrementó la heterogeneidad ambiental lo cual se vio reflejado en una alta diversidad zooplanctónica y una comunidad compleja.

ABSTRACT

Macrophytes are key organisms that help in structuring aquatic communities. Their presence is related to the hypothesis of alternative stable states, where it is known that the production of allelopathic substances is an effective strategy to inhibit phytoplankton growth, therefore the herbivorous zooplankton can be affected through limitation of algal food. In addition, allelochemicals from macrophytes adversely affect cladocerans such as *Daphnia* but it is not clear its effects on other groups of zooplankton. In this work the effect of three macrophyte species on the metazoan zooplankton community structure of the Benito Juarez reservoir (State of Mexico, Mexico) was evaluated. The field sampling was conducted from September 2012 to August 2013 from five sites, with emphasis on *Egeria densa*. The effect of allelochemicals from *E. densa* on selected species of plankton was tested under laboratory conditions. The crude extracts of *E. densa* were also characterized and tested their impact on four phytoplankton species (*in vitro*) and *Scenedesmus acutus* (*in vivo*). Additionally, the demographic responses of six cladoceran species in the presence of allelochemicals from *E. densa* were evaluated. The effect of allelochemicals and detritus on the population dynamics of the rotifer *Plationus patulus* was also tested. Field data showed that temperature, dissolved oxygen, pH and turbidity were differentially influenced by macrophytes. Species diversity values were higher from the sites with *E. densa* where the dominant species were *Lecane closterocerca*, *Trichocerca elongata*, *T. porcellus*, *Alona guttata*, *Chydorus brevilabris* and cyclopoid copepods. The allelopathic activity of *Egeria* was due to the presence of phenols and saponins and their effects depended on the type of extract, concentration and the sensitivity of phytoplanktonic species. Also it was found that *E. densa* allelochemicals caused an increase in the fitness of zooplanktonic species possibly due to their assimilation by heterotrophic bacteria as a food source. *E. densa* increased environmental heterogeneity which was reflected in a high zooplankton diversity and complex community structure.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Especies invasoras: el caso de las macrófitas

La dispersión de especies es una de las principales características de la biósfera, sin embargo, el hombre ha incrementado la tasa y escala de estas dispersiones debido en gran parte al comercio, la migración y al transporte, provocando así, un incremento en la introducción de especies en diferentes ambientes (Sousa *et al.*, 2011). Con respecto a lo anterior, la introducción de especies es considerada una de las formas más importantes de contaminación biológica y es reconocida como una de las principales causas del cambio global provocado por el hombre (Dodds y Whiles, 2010), ya que se continúan diseminando un elevado número de especies a través de barreras biológicas que inclusive, eran insuperables en el pasado como los océanos, cadenas montañosas, ríos, etc. (Thomaz *et al.*, 2015).

Dentro de las especies introducidas, podemos reconocer diferentes términos dependiendo de las interacciones ecológicas que se presenten en el sistema al que ingresan. Por ejemplo, la mayoría de las especies introducidas que se llegan a establecer, no se dispersan y no tienen mucho efecto sobre su ambiente; estas especies son referidas como no nativas, no indígenas, introducidas o aliens (Goncalves *et al.*, 2013). Sin embargo, una pequeña proporción de especies no nativas se convierten en especies invasoras, las cuales llegan a ser extremadamente exitosas en su nuevo hábitat y ejercen un fuerte efecto sobre el nuevo ambiente. En muchos casos estas especies adquieren ventajas competitivas debido a la desaparición de obstáculos naturales para su proliferación, permitiéndoles una rápida dispersión, seguida de la colonización de nuevas áreas, en las cuales la población se vuelve dominante (Chiba de Castro *et al.*, 2013; Schultz y Dibble, 2012). Estas invasiones biológicas han sido categorizadas como uno de los modos de disrupción ambiental más importantes en las últimas décadas (Ricciardi, 2013).

Las especies invasoras son un problema global que amenaza la biodiversidad, el normal funcionamiento de los ecosistemas, los recursos naturales, las economías regionales y la salud humana (Ricciardi, 2013; Thomaz *et al.*, 2015). El proceso de invasión comprende una secuencia de eventos que involucran el transporte, la introducción, el establecimiento y

la dispersión de organismos hacia nuevas regiones. En este proceso la mayoría de los organismos perecerán antes de llegar a su destino o se reproducirán sólo algunas generaciones más, de este modo, el mayor porcentaje de introducciones fallarán al intentar establecer una población y en general son muy pocas las especies que llegan a establecerse (Mitchell *et al.*, 2006; Ricciardi, 2013).

Las invasiones biológicas tienen un mayor impacto en los sistemas acuáticos en comparación con los sistemas terrestres. Por ejemplo, se ha predicho que para el año 2100, el intercambio de especies será la principal razón del decremento de diversidad en lagos y la tercera más importante en ríos después del cambio de uso del suelo y el cambio climático (Sala *et al.*, 2000). En el índice del planeta vivo (IPV), el cual está basado en el monitoreo de poblaciones de vertebrados, se reportó que para sistemas dulceacuícolas la diversidad de especies declinó un 76% entre 1970 y 2014, mientras que para sistemas terrestres y marinos la pérdida fue del 39% en cada uno de los sistemas (WWF, 2014). Debido a lo anterior, es importante realizar investigaciones sobre especies invasoras, así como la determinación de su éxito en los nuevos ambientes invadidos y sus consecuencias sobre las comunidades nativas, especialmente en sistemas dulceacuícolas (Thomaz *et al.*, 2015).

Uno de los grupos de organismos acuáticos con gran potencial de convertirse en especies invasoras son las macrófitas. Estos organismos comprenden un grupo polifilético de organismos que incluye a las carofitas (Charophyta), musgos y hepáticas (Bryophyta), helechos y grupos afines (Pteridophyta), monocotiledóneas, dicotiledóneas (Magnoliophyta), algas y cianobacterias que ocurren estacionalmente o en ambientes permanentemente inundados (Chiba de Castro *et al.*, 2013; Lot *et al.*, 2013). Las invasiones biológicas de macrófitas son un fenómeno cada vez más frecuente a nivel mundial. En los últimos 15 años el enfoque se ha dirigido a entender la influencia de estas especies sobre las comunidades acuáticas y sobre la dinámica de los ecosistemas (Schultz y Dibble, 2012). Estas macrófitas invasoras se caracterizan por poseer una rápida reproducción por medios vegetativos, estrategias de defensa (aleloquímicos) y adaptaciones a un amplio rango de condiciones ambientales, por lo cual logran colonizar grandes áreas en cortos periodos. En consecuencia, dichas macrófitas suponen una amenaza para las plantas autóctonas, los

animales y los ecosistemas en general, desencadenando un fuerte impacto negativo sobre la biodiversidad presente (Alarcon-Elbal, 2013; Bakker *et al.*, 2012).

El impacto que las macrófitas invasoras generan sobre el ecosistema acuático, radica en la elevada producción de biomasa, que en muchos casos impide la penetración de la luz al interior del cuerpo de agua. Como resultado, la fotosíntesis se vuelve casi imposible en la columna de agua, aunado a esto la actividad metabólica de los microorganismos aeróbicos, provoca que se consuma el oxígeno hasta volver el sistema anóxico. Además, la alta densidad de macrófitas disminuye la mezcla de la columna de agua, lo cual reduce la difusión atmosférica de oxígeno (Fleming y Dibble, 2015). Estos cambios suponen una drástica alteración al sistema que hace imposible la existencia de la mayoría de las especies que requieren este gas para su metabolismo (Scheffer, 2004). Existen otras macrófitas como el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y la lechuga de agua (*Pistia stratiotes*) que generan problemas por una excesiva evapotranspiración (Alarcon-Elbal, 2013). Además, se ha observado que las macrófitas invasoras crecen de manera monoespecífica, lo cual podría cambiar la estructura de las comunidades biológicas así como las interacciones entre las especies (Schultz y Dibble, 2012).

En contraparte, se ha observado que a densidades intermedias de macrófitas, la diversidad de peces incrementa, así como sus tasas de crecimiento y supervivencia. Asimismo se ha observado que la densidad de los macroinvertebrados incrementa linealmente con la densidad de las mismas, por lo que una alta densidad de macrófitas provocaría un incremento en la densidad de macroinvertebrados y un decremento en la eficiencia de forrajeo de los peces, modificando así, la estructura de la comunidad (Schultz y Dibble, 2012; Fleming y Dibble, 2015). También los cambios en las comunidades de macrófitas van acompañadas de cambios en condiciones abióticas del agua y por lo tanto, del grupo de organismos asociados a esas condiciones, lo cual, a través de interacciones tróficas, podría afectar el ecosistema completo (Goncalves *et al.*, 2013). Sin embargo, para poder direccionar esta información de la mejor manera, es importante determinar el funcionamiento de las macrófitas (Meerhoff *et al.*, 2007).

De acuerdo con la hipótesis de “armas novedosas” (novel weapons hypothesis), las plantas invasoras producen sustancias alelopáticas como una estrategia para invadir nuevos hábitats, por lo cual es necesario evaluar cómo los exudados alelopáticos de estas plantas pueden afectar diversos grupos de organismos (Bais *et al.*, 2003; Fleming y Dibble, 2015).



Figura 1. Distribución global de *Egeria densa* (modificada de Yarrow *et al.*, 2009).

Macrófitas invasoras en México

De las aproximadamente 800 especies invasoras en México, 665 son plantas vasculares y 59 son plantas acuáticas con diversas formas de vida, entre las que destacan por el número de especies, las hidrófitas enraizadas emergentes, las de hojas flotantes y de tallos postrados, así como las hidrófitas libremente flotadoras y sumergidas (Bonilla-Barbosa y Santamaría, 2014). A pesar de esta estimación, no se sabe con certeza cuántas especies exóticas se han establecido en México ni su distribución y sus implicaciones para el país (Espinosa y Sarukhán, 1997; Villaseñor y Espinosa, 1998).

Dentro de los trabajos realizados en México, se ha reportado que una de las principales especies de macrófitas invasoras es *Egeria densa* (Lot *et al.*, 2013), la cual se ha observado en varios sistemas dulceacuícolas (ej. Presa del Llano, Isidro Fabela, Benito Juárez, Zempoala, Tonatiahua, Plutarco Elías Calles, etc.). Esta macrófita sumergida proviene del sur de América y se encuentra distribuida en los 5 continentes (Fig. 1; Yarrow *et al.*, 2009). Los mecanismos relacionados a la invasión de esta macrófita incluyen: ventajas competitivas, alta plasticidad fenotípica, facilitación del ambiente para otros invasores, alta tasa reproductiva, así como su forma de reproducción vegetativa (Schultz y Dibble, 2012; Fleming y Dibble, 2015), así como su capacidad de producir sustancias alelopáticas (Nakai *et al.*, 1996; Nakai *et al.*, 1999; Vanderstukken *et al.*, 2011). Además, se ha reportado que durante la noche, esta especie puede llegar a provocar un decremento en la cantidad de oxígeno debido a la descomposición provocada por la gran acumulación de materia orgánica (Rose y Crumpton, 1996), alteración del potencial redox, modificación en pH, cambios en ciclos biogeoquímicos, reducción de la biodiversidad de plantas acuáticas, disminución del banco de semillas y cambios en relaciones tróficas (Yarrow *et al.*, 2009; Chiba de Castro *et al.*, 2013).

Como una solución ante la invasión de estas plantas, es común encontrar proyectos de remoción de plantas. Esto puede llevarse a cabo principalmente por medio de herbicidas, controles biológicos y métodos mecánicos, sin embargo, en la mayoría de estos procesos no existe un monitoreo para conocer el efecto de la eliminación de malezas sobre el ambiente acuático (Mangas-Ramírez y Elías-Gutiérrez, 2004). El análisis de esta remoción nos podría ayudar a entender la dinámica de las zonas litorales así como el efecto de las macrófitas en la estructuración de las comunidades acuáticas (Santos *et al.*, 2011).

Debido a lo anterior, se plantearon las siguientes preguntas generales: ¿Cuál es el impacto de la macrófita invasora *Egeria densa* sobre los organismos planctónicos? y ¿Cómo modifica *E. densa* la calidad del agua en La Presa Benito Juárez?

El comprender los efectos (diferentes o iguales a los reportados para macrófitas nativas) que una macrófita invasora tiene sobre su ambiente y los organismos que ahí habitan, nos

podría ayudar a predecir sus impactos y desarrollar mejores herramientas para el control de invasiones biológicas (Dodds y Whiles, 2010) la conservación y manejo de los sistemas acuáticos (Sousa *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2010) lo cual ayudaría a mantener la estética de los mismos, mejorar la producción acuícola (Sarma, 1991) y conservar los reservorios que suministran el agua potable (Danielsdottir *et al.*, 2007).

El papel de las macrófitas en la estructuración de comunidades acuáticas

En los trópicos y subtrópicos, el efecto de las macrófitas sobre las interacciones tróficas es más complejo que en sistemas templados dado que las formas de vida de las plantas son más diversas y la presión de depredación sobre el zooplancton es más fuerte (Burks *et al.* 2002; Iglesias *et al.*, 2007). Además, existe una menor cantidad de estudios en sistemas tropicales y subtropicales en comparación con los templados (van Donk y van de Bund, 2002; Vanderstukken *et al.*, 2011).

Estos organismos han sido reconocidos como los principales responsables de la fase clara del agua en la “hipótesis de los estados alternativos”, la cual menciona que los sistemas acuáticos someros pueden llegar a tener agua muy clara con alta abundancia de plantas sumergidas o en contraste, pueden ser muy turbios debido a altas concentraciones de fitoplancton y otras partículas suspendidas (Scheffer *et al.*, 1994). Se ha encontrado que estos estados del ecosistema tan contrastantes tienen diferentes mecanismos que los estabilizan en esas condiciones. En el estado turbio, el desarrollo de vegetación acuática es evitado debido a los bajos niveles de luz en la columna de agua provocados por la turbidez orgánica e inorgánica que constantemente se está resuspendiendo por la acción del viento en colaboración con el proceso de búsqueda de alimento de algunos organismos bentónicos lo cual disminuye la transparencia (Scheffer, 2004). En este ambiente sin, el zooplancton es fácilmente consumido evitando que pueda disminuir la densidad de las algas. En contraste, el estado de agua clara está dominado por macrófitas (Scheffer, 2001), estos organismos proveen refugio al zooplancton contra la depredación por peces y producen sustancias alelopáticas, a su vez, disminuyen la resuspensión del sedimento, la concentración de los nutrientes en la columna de agua debido a que los asimilan y la cantidad de luz disponible para el fitoplancton (Timms y Moss, 1984; Scheffer, 1999). Estos procesos amortiguan el

impacto del incremento de nutrientes hasta que estos se elevan demasiado y en consecuencia, la respuesta de estos cuerpos de agua tiende a ser catastrófica cambiando de un sistema de agua clara a un sistema de agua turbia (Scheffer *et al.*, 2001).

Es importante considerar que diferentes tipos de macrófitas (emergentes, sumergidas y flotadoras), tienen diferentes impactos (Scheffer, 2004). En este sentido, las macrófitas sumergidas oxigenan más eficientemente que las macrófitas flotadoras, las cuales inclusive pueden llegar a provocar un decremento en la concentración de oxígeno debido a que impiden el intercambio con la atmósfera (Carpenter y Lodge, 1986). Con respecto a la obtención de luz, las plantas emergentes tienen una ventaja sobre las flotadoras y estas sobre las sumergidas, además; las plantas flotadoras se presentan en sistemas con altas cantidades de nutrientes mientras que las plantas sumergidas prefieren ambientes con pocos nutrientes y mayor transparencia (Bornette y Puijalon, 2009). Asimismo, se ha mencionado que la forma de las hojas determina en gran medida el efecto que pueden tener sobre la biota presente, en este sentido las hojas aciculadas (*Miriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Cabomba*, etc.) tienen el potencial de mantener comunidades más ricas en especies debido a que la estructura es más compleja, mientras que hojas de macrófitas flotadoras (*Azolla*, *Lemna*, *Wolffia*, etc.) no estarían disponibles para la mayoría de los organismos acuáticos los cuales prefieren usar sus raíces (Sculthorpe, 1985).

Es importante entender la diferenciación de los factores dentro de cada hábitat ya que son esenciales para la reproducción y crecimiento de los organismos (Carpenter y Lodge, 1986; Kuczynska y Klimaszik, 2007). Por ejemplo, diferentes especies de macrófitas están caracterizadas por presentar diferencias morfológicas y se ha encontrado que la densidad y biomasa de este grupo corresponde positivamente con la abundancia del zooplancton y se considera que la arquitectura más compleja tiene la capacidad de proveer más nichos (Kuczynska y Milecka, 2009). Al respecto también se ha visto que las macrófitas decaen estacionalmente, por lo que, si la biomasa es alta, una proporción sustancial del detritus de la zona litoral estará dominado por partículas de macrófita, las cuales están dentro del rango de alimentación de muchas especies zooplanctónicas (1-25 μm), además de que la presencia del detritus incrementa la abundancia de otro tipo de descomponedores como son

las bacterias, hongos y protozoos. Estos organismos también entran dentro del rango de tamaño de partícula que podría servir como recurso alimento para algunos organismos del zooplancton (Gulati *et al.*, 2001).

En este sentido, las comunidades de zooplancton serían diferentes entre sitios con diferentes especies de macrófitas y cada macrófita diferirá en el efecto que tiene sobre distintas variables ambientales (temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, pH, etc.) (Scheffer, 2004; Kuczynska y Nagengast, 2006).

De acuerdo con lo anterior, existen varias posibilidades de modificación ambiental relacionadas a la presencia de macrófitas invasoras, algunas positivas y otras negativas que también repercutirían en la estructura de la comunidad del zooplancton. En este estudio se pretende analizar y comparar las comunidades de zooplancton presentes en los diferentes hábitats seleccionados, con un énfasis en el efecto alelopático que esta macrófita podría estar teniendo sobre algunas especies del zooplancton, considerando los mismos hábitats antes y después de la remoción parcial y total de *Egeria densa* en la Presa Benito Juárez durante el periodo de septiembre de 2012 – agosto 2013.

La alelopatía en las interacciones macrófita-fitoplancton

El concepto de alelopatía fue propuesto por primera vez en 1937 por el botánico austriaco Hans Molisch quien lo definió como: “interacciones bioquímicas estimuladoras e inhibitorias entre diferentes especies de productores primarios o entre productores primarios y microorganismos”. Posteriormente, Whittaker y Feeny (1971) introducen el concepto de “aleloquímico” para referir a todas aquellas interacciones entre especies mediadas por sustancias químicas y se adopta el punto de vista en el cual se incluye el efecto de estas sustancias sobre animales. Más recientemente Elroy L. Rice (1984) redefine alelopatía como: “Cualquier efecto directo o indirecto, perjudicial o benéfico producido por alguna planta o microorganismo sobre otra planta a través de la producción de compuestos químicos que escapan al ambiente”, sin embargo en 1996, la sociedad internacional sobre alelopatía propuso que debería cambiar el concepto por: “Cualquier proceso que involucre metabolitos secundarios producidos por plantas, microorganismos, virus y hongos que

influyen el crecimiento y desarrollo de cualquier sistema biológico” (Willis, 2007), mientras que Lampert y Sommer (2007) lo definen como: “el efecto directo de competidores a través de la liberación de sustancias químicas que inhiben a otras especies”. De acuerdo con esto, se puede observar que no existe un acuerdo entre los ecólogos con respecto al concepto de alelopatía, los botánicos redefinen el concepto incluyendo sólo productores primarios y microorganismos, de manera similar a lo que proponía Molisch en 1937; mientras que los zoólogos y los bioquímicos en una visión más reciente, buscan incluir las interacciones mediadas por sustancias químicas entre todos los grupos de organismos (Folt y Goldman, 1981; Seitz, 1984; Matveev, 1993). En el presente estudio consideraremos alelopatía de manera similar a como fue propuesto por la sociedad internacional sobre alelopatía en 1996.

Los compuestos alelopáticos juegan un papel muy importante en la determinación del clímax de la vegetación natural, dinámicas de nutrientes, micorrizas, características químicas del agua, ecología microbiana, diversidad de plantas, dominancia, invasión, sucesión, y competencia (Gross *et al.*, 2012; Kookechi *et al.*, 2012). En cuanto a la competencia, se ha visto que al igual que en sistemas terrestres, los productores primarios de los sistemas acuáticos compiten entre ellos por diferentes tipos de recursos como nutrientes, luz y CO₂ (Erhard, 2006). En sistemas templados se ha determinado que esta relación competitiva entre productores primarios (macrófitas vs fitoplancton), determinará cuál de los estados estables alternativos persistirá en el ecosistema (Scheffer *et al.*, 1994; Scheffer, 2001). En esta interacción, se ha demostrado que respecto a los nutrientes, las macrófitas son competidoras superiores ya que pueden consumirlos de la columna de agua y del sedimento, mientras que el fitoplancton sólo los puede consumir de la columna de agua, no obstante, el fitoplancton generalmente es mejor competidor por luz frente a las macrófitas sumergidas (Vanderstukken *et al.*, 2014). En este tipo de interacciones competitivas, el resultado final será influenciado no sólo por la capacidad de aprovechamiento del recurso limitante de cada uno de los competidores, sino también por la producción de sustancias aleloquímicas que pudiera inhibir a una de las especies competidoras y por tanto facilitar su desplazamiento o eliminación del sistema. Este tipo de estudios han recibido bastante atención debido a que el resultado competitivo entre estos

grupos de productores primarios, tiene importantes consecuencias sobre la estructuración de comunidades en estos sistemas, en la calidad del agua, en el control de malezas y florecimientos de cianobacterias (Erhard, 2006; Kosten *et al.*, 2009; Faria *et al.*, 2014).

De acuerdo con Willis (1985), para dar prueba inequívoca de procesos alelopáticos es necesario demostrar seis condiciones: 1) Un patrón de inhibición, 2) Presencia de compuestos alelopáticos producidos por el inhibidor, 3) La liberación de estos compuestos por parte del inhibidor, 4) Transporte o acumulación de estos compuestos en el ambiente, 5) La incorporación de estas sustancias por el organismo inhibido y 6) Que la inhibición observada no pueda ser explicada por otro tipo de factores bióticos o abióticos, especialmente por competencia o herbivoría. Con base en lo anterior, las interacciones alelopáticas son difíciles de estudiar debido a la dificultad de separar los efectos alelopáticos de otras interacciones ecológicas (Gross *et al.*, 2007).

Las investigaciones más a fondo sobre alelopatía acuática iniciaron alrededor de 1980, sin embargo las primeras observaciones fueron realizadas algunos años antes (Hasler y Jones 1949; Pennak, 1973). Desde entonces varios estudios han demostrado que varias plantas acuáticas exhiben potencial alelopático y en la mayoría de los casos, se describen efectos negativos (ver Gopal y Goel, 1993; Gross, 2003; Erhard, 2006). Dentro de las plantas mejor descritas con potencial alelopático, existe una diferenciación con respecto al impacto sobre diferentes especies de fitoplancton así como el tipo de compuestos presentes (Tabla 1). Esta producción de sustancias, puede ser influenciada por una variedad de factores bióticos y abióticos los cuales varían a lo largo del año, por lo que la cantidad producida y liberada al ambiente también podría cambiar (Bauer *et al.*, 2009).

Se han reportado una gran cantidad de sustancias producidas por macrófitas con poder alelopático, entre ellas: polifenoles (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido, pirogálico, eugenina, catequina, telimandagrina II, entre otros), ácidos grasos (ácido nonanoico, ácido *cis*-9-octadecanoico, ácido α -linoleico y α -linolenico), compuestos azufrados (ditiolano y tritiano), fischerelina A, diterpenos, ésteres, entre otros (Srivastava *et al.*, 1998; Gross, 2003; Erhard, 2006; Nakai *et al.*, 2012). Se ha visto que los polifenoles de *Myriophyllum*

spicatum no son afectados por la disponibilidad de nitrógeno mientras que la telimagrandina II incrementaba a bajas concentraciones de este nutriente. En *Myriophyllum verticillatum* se observó que los polifenoles sí fueron afectados por la disminución de fósforo. Además, se ha reportado en estas dos macrófitas, que la concentración de polifenoles incrementaba en plantas expuestas al sol en comparación a aquellas que se encontraban en la sombra (Hilt y Gross, 2008). Asimismo, se ha reportado que la variación en luz y nutrientes modifican la sensibilidad de especies de fitoplancton expuestas a aleloquímicos (Mulderij *et al.*, 2005). Además, la herbivoría puede influenciar la alelopatía ya que los compuestos producidos por *Myriophyllum spicatum*, sirven como una defensa contra herbívoros y contra patógenos (Leu *et al.*, 2002) y los compuestos de azufre encontrados en *Chara* tienen propiedades insecticidas (Gross *et al.*, 2007). De acuerdo con esto, si más de un factor afecta la producción de sustancias alelopáticas, se esperaría una gran variación en la actividad alelopática entre especies y dentro de la misma especie (Gross *et al.*, 2007). Por otro lado, se ha observado que estas sustancias sirven de protección contra infecciones por bacterias y hongos (Mithraja *et al.* 2011) y que también estos organismos degradan los compuestos bioactivos liberados por las macrófitas (Nakai, *et al.*, 1999; Gross, 2003). En alelopatía terrestre, se ha reportado que esta interacción solo ocurre entre productores primarios que no han coevolucionado y que es una estrategia de las especies exóticas para invadir nuevos ambientes (Bais *et al.*, 2003). Sin embargo, a pesar de que esta área está en crecimiento, el debate acerca de la alelopatía a nivel de ecosistemas sigue abierto (Gross *et al.*, 2007) y existen varias sustancias con actividad alelopática que permanecen sin identificar (Tabla 1). En un estudio más reciente, se ha encontrado que existe sinergia entre polifenoles y ácidos grasos pertenecientes a *Myriophyllum spicatum*, ya que en combinación, se observó un mayor efecto sobre *Microcystis aeruginosa* (Nakai *et al.*, 2012), por lo que esta área aún está por describir una variedad de compuestos con actividad alelopática en varias especies de macrófitas así como sus efectos diferenciales y/o sinérgicos.

Tabla 1. Especies de macrófitas con distinto potencial alelopático, sus compuestos activos y las especies de fitoplancton inhibidas en diferentes estudios (modificado de Hilt y Gross, 2008).

Potencial alelopático	Macrófitas	Compuestos activos	Especies inhibidas
Alto	<i>Myriophyllum spicatum</i>	Polifenoles (taninos hidrosolubles), tellimagrandina II	<i>Anabaena</i> spp. <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Limnothrix redekei</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Nannochloris</i> sp. <i>Oscillatoria limnetica</i> <i>Phormidium tenue</i> <i>Planktothrix agardhii</i> <i>Scenedesmus armatus</i> <i>Scenedesmus falcatus</i> <i>Selenastrum capricornutum</i> <i>Stephanodiscus minutulus</i> <i>Stigeoclonium tenue</i> <i>Synechocystis</i> sp. <i>Synechococcus</i> sp.
	<i>Ceratophyllum demersum</i>	azufre elemental, compuestos lábiles de azufre y otros no identificados	<i>Anabaena</i> spp. <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>Oscillatoria limnetica</i> <i>Synechococcus elongatus</i>
Medio	<i>Elodea canadensis</i> y <i>Elodea nuttallii</i>	Compuestos fenólicos y otros no identificados	<i>Anabaena</i> spp. <i>Chlorella</i> cf. <i>vulgaris</i> <i>Nitzschia palea</i> <i>Pseudoanabaena catenata</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Synechococcus</i> spp.
	<i>Myriophyllum verticillatum</i>	Glucósidos fenilpropanoides y polifenoles	<i>Synechococcus leopoliensis</i> <i>Anabaena variabilis</i> <i>Limnothrix redekei</i> <i>Stephanodiscus minutulus</i>
	<i>Najas marina intermedia</i>	Desconocido	<i>Anabaena</i> spp. <i>Synechococcus elongatus</i>
	<i>Stratiotes aloides</i>	Moderadamente lipofílico, no polifenoles	<i>Anabaena</i> sp. <i>Lyngbya</i> sp. <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Nannochloropsis limnetica</i> <i>Oscillatoria</i> sp. <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Spirogyra</i> sp.
Bajo o ausente	<i>Potamogeton</i> spp.	Ácidos grasos, ácidos fenólicos y diterpenos	<i>Synechococcus elongatus</i> <i>Anabaena variabilis</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Raphidocelis subcapitata</i> <i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Selenastrum capricornutum</i>

Wium-Andersen *et al.*, 1982; Wium-Andersen *et al.*, 1983; Jasser, 1995; Gross *et al.*, 1996; Nakai *et al.*, 1996; Nakai *et al.*, 1999; Della Greca *et al.*, 2001; Cangiano *et al.*, 2002; Körner y Nicklish, 2002; Gross *et al.*, 2003; Mulderij *et al.*, 2003, Mulderij *et al.*, 2005; Erhard, 2006; Hilt, 2006; Hilt *et al.*, 2006; Erhard y

Gross, 2006; Lürling *et al.*, 2006; Mulderij *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2007; Bauer *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010; Pakdel *et al.*, 2013.

Se han reportado efectos inhibitorios y estimulatorios de los aleloquímicos provenientes de macrófitas sobre algunas especies de fitoplancton, siendo las cianobacterias las más inhibidas, seguidas de las diatomeas y las menos afectadas han sido el epifiton y las algas verdes donde inclusive se ha observado que estas sustancias llegan a estimular el crecimiento de algunas especies algales (Erhard y Gross, 2006; Hilt, 2006; Mulderij *et al.*, 2007). Además, se ha reportado la formación de colonias en *Scenedesmus obliquus* en presencia de la macrófita *Stratiotes aloides* (Mulderij *et al.*, 2005). Dentro de los modos de acción reportados para varios aleloquímicos provenientes de las macrófitas, destacan la inhibición en el transporte de electrones en diferentes sitios del fotosistema II (Körner y Nicklish, 2002; Gross, 2003), la inhibición de la fosfatasa alcalina, una exoenzima presente en algas y bacterias que se sintetiza en condiciones de limitación de fósforo (Leu *et al.*, 2002) y el estrés oxidativo (Qiang *et al.*, 2009). Se ha dilucidado que un compuesto podría afectar varias funciones dentro de un organismo y también a varias especies como sucede en *Myriophyllum spicatum*. Por su parte, se ha observado que la tellimagrandina II juega un papel en la defensa contra herbívoros, lo cual muestra que estas interacciones son más complejas de lo que se pensaba, por lo que más estudios son necesarios para entender la función de la alelopatía en los sistemas acuáticos (Erhard, 2006). No existe evidencia que concluya cuál es el papel de la alelopatía en sistemas acuáticos, sin embargo la información generada hasta ahora, sugiere que la alelopatía en estos sistemas es real y que es influenciada por varios factores que van desde condiciones ambientales hasta respuestas especie-específica que podrían interactuar sinérgicamente o por separado a diferentes grupos de organismos (Gross *et al.*, 2007).

En el caso de *Egeria densa*, la producción y excreción de aleloquímicos, podría ser una estrategia efectiva contra otros organismos fotosintéticos que compiten por luz y nutrientes como clorofitas, diatomeas, cianobacterias o macrófitas (Kulshreshtha y Gopal, 1983; Wang *et al.*, 2006; Gross *et al.*, 2007; Vanderstukken *et al.*, 2011), sin embargo, no se descarta la posibilidad de que estos aleloquímicos también presenten un efecto inhibitor

y/o estimulante que actúe directamente sobre algunas especies de plancton (van Donk y van de Bund, 2002; Kuczynska-Kippen y Nagengast, 2003), ya que se ha reportado que el mismo compuesto químico podría tener más de un efecto sobre diferentes especies (Gross *et al.*, 2007; Hiltunen *et al.*, 2012). Cabe resaltar que no existe suficiente información acerca del efecto que estos aleloquímicos puedan tener sobre diferentes grupos de organismos como el fitoplancton y el zooplancton (van Donk y van de Bund, 2002; Erhard, 2006; Gross *et al.*, 2007; Hilt y Gross, 2008). Es por esto, que en este trabajo pretendemos generar información relacionada a la presencia de la macrófita invasora *E. densa* y de cómo la posible producción y variación de aleloquímicos por parte de ésta, afectaría distintas especies de plancton en condiciones de laboratorio.

Las interacciones macrófita-zooplancton

La comunidad de zooplancton que habita la zona de macrófitas se clasifica en: organismos epifíticos, perifíticos, bentónicos y pelágicos. La mayoría de las especies asociadas a plantas pueden ser categorizadas como rascadores, succionadores, filtradores y buscadores. Algunos organismos como *Sida* y *Simocephalus* se adhieren a un sustrato y filtran el seston, existen otros que son filtradores facultativos como *Chydorus*, y *Eurycercus* (Jeppesen *et al.*, 1998). Los cladóceros como *Ceriodaphnia* spp., *Simocephalus* spp. y la mayoría de los copépodos ciclopoideos son más abundantes en la zona litoral que en la zona pelágica, donde los daphnidos, algunos rotíferos y copépodos calanoideos son más frecuentes. Por su parte, *Ceriodaphnia* spp. parece estar muy bien adaptado a la presencia de plantas debido a que son microfiltradores muy eficientes (de bacterioplancton principalmente) y toleran condiciones de poco oxígeno. También se ha mostrado que la selección de hábitat depende de la densidad de macrófitas; de acuerdo a esto se ha reportado que *Bosmina longirostris* evita la zona de macrófitas prefiriendo la zona pelágica, mientras que *Daphnia* estaba ampliamente distribuida en diferentes densidades de planta así como en la zona pelágica, por su parte, *Ceriodaphnia* y los copépodos ciclopoideos prefirieron la zona con mayor densidad de vegetación (Jeppesen *et al.*, 1997).

Esta comunidad juega un papel muy importante dentro de la red trófica circulando nutrientes de un nivel trófico más bajo como son las bacterias, protozoos, detritus y

fitoplancton a uno más alto como son los peces y el zooplancton depredador (Sarma, 1991; Abrantes *et al.*, 2006). Se ha reconocido que existen patrones sucesionales que estructuran las comunidades del zooplancton los cuales son regulados por una combinación de factores bióticos y abióticos destacándose la temperatura, los nutrientes, la depredación (Lampert y Sommer, 2007) y la presencia de macrófitas, especialmente en sistemas someros (Burns y Dodds, 1999).

La mayoría de las especies de zooplancton se encuentran en la zona litoral, mientras que solo unas especies se encuentran adaptadas a vivir en la zona pelágica (Kuczynska-Kippen y Nagengast, 2003; Kuczynska-Kippen y Milecka, 2009). Varias de estas especies pueden llegar a ser muy abundantes en la zona de macrófitas y pueden llegar a tener un gran impacto sobre el sistema a través del forrajeo (van Donk y van de Bund, 2002), lo cual disminuye la turbidez provocada por el fitoplancton y reduce el efecto de sombra que este último produce sobre las macrófitas, lo anterior evidencia una interacción indirecta (facilitación) entre el zooplancton y las macrófitas (Scheffer *et al.*, 1994; Scheffer, 1999; Blindow *et al.*, 2014).

Como se mencionó anteriormente, las comunidades zooplanctónicas también varían entre diversos tipos de macrófitas (Scheffer, 2004; Kuczynska-Kippen y Nagengast, 2006). Al respecto, existen varios estudios acerca del efecto de refugio contra la depredación que las macrófitas proveen a algunas especies de zooplancton (Timms y Moss, 1984; Cazzanelli *et al.*, 2008) y como es que el incremento en la complejidad estructural de las macrófitas disminuye el éxito de encuentro y captura de algunos depredadores (Warfe y Barmuta, 2006).

Por otro lado, se ha reportado la importancia de las macrófitas en procesos de migración horizontal diaria, donde el zooplancton de la zona pelágica se mueve durante el día hacia la zona litoral en respuesta a la presencia de depredadores (Wojtal *et al.*, 2003; Iglesias *et al.*, 2007). Con respecto a esto, se ha planteado que la excreción de aleloquímicos por parte de las macrófitas, podría representar costos para el zooplancton que habita esta zona y se han reportado efectos negativos sobre algunas especies de daphnidos como: repelencia (Pennak,

1973; Meerhoff *et al.*, 2006), disminución en la tasa de filtración (Burns y Dodds, 1999) y disminución del tamaño de puesta (Cerbin *et al.*, 2007; Gutierrez y Paggi, 2014).

Los aleloquímicos son sustancias químicas que median una interacción entre individuos de distinta especie, los cuales provocan en el organismo receptor, una respuesta que puede ser demográfica (variables de historia de vida), morfológica (desarrollo de espinas y colonias), fisiológica (producción de toxinas y repelentes) o de comportamiento (migración y uso de refugios) (Burks *et al.*, 2000; Burks *et al.*, 2002; van Donk, 2007). En este sentido, Pennak (1966) fue uno de los primeros en realizar observaciones donde encontró que varias especies de zooplancton eran repelidas por la presencia química de algunas macrófitas. Complementando lo anterior, Lauridsen y Lodge (1996) probaron la hipótesis de que en presencia de peces, *Daphnia* prefiere refugiarse en las camas de macrófitas a pesar de la repelencia previa mostrada, en vez de quedar expuesta a la depredación por peces. Por otro lado, Burks *et al.* (2000) evaluaron el crecimiento somático y las variables de historia de vida de *Daphnia* sp. en presencia de una macrófita (*Elodea canadensis*) y un pez piscívoro (*Rutilus rutilus*) por separado y en combinación; encontraron que las daphnias expuestas a *E. canadensis* tardaban más en crecer, tardaban más tiempo en madurar y ponían menos huevos que las daphnias que no fueron expuestas a los aleloquímicos de *E. canadensis*, por lo que una exposición prolongada de *Daphnia* a los aleloquímicos de esta macrófita les era costosa reproductivamente. Una explicación del efecto negativo de la presencia de macrófitas sobre especies de *Daphnia*, es el hecho de que algunas especies de macrófitas inhiben al fitoplancton lo cual limita de alimento al zooplancton (Erhard y Gross, 2006). También se ha planteado que la estructura física de las macrófitas incrementa la sedimentación de la partículas, por lo cual ya no quedan disponibles como alimento (Cerbin *et al.*, 2007). En esta interacción, los organismos beneficiados son las macrófitas ya que con la presencia de organismos filtradores, la cantidad de fitoplancton es reducida lo cual le da una ventaja competitiva a las macrófitas (Scheffer, 2004).

En general, el tipo de respuesta del zooplancton a este tipo de aleloquímicos es de comportamiento y demográfico, debido a la evasión de las macrófitas y a la modificación de algunas variables de historia de vida. Hasta ahora ha sido claro que los aleloquímicos

provenientes de las plantas afectan negativamente a *Daphnia*, sin embargo no existe una explicación detallada a estas modificaciones. De acuerdo con lo revisado, otra explicación acerca de la reducción de su reproducción podría estar relacionada a la presión que ejercen las macrófitas inhibiendo el crecimiento del fitoplancton, lo cual reduce el recurso alimento para *Daphnia*. A pesar de que ya se conoce esto, falta realizar más estudios donde se consideren especies pertenecientes a otras familias de cladóceros, probar con organismos que habitan la zona litoral, así como probar otras especies de macrófitas en sistemas tropicales y subtropicales para poder generalizar un efecto.

Ha sido reconocido que la remoción mecánica de macrófitas juega un papel importante en la liberación de compuestos químicos (Mangas-Ramírez y Elías-Gutiérrez, 2004) y se ha considerado que tienen un efecto sobre algunas variables demográficas de especies zooplanctónicas que habitan la zona de plantas. Dentro de los trabajos más recientes se ha planteado que el estatus de salud de las macrófitas (*Salvinia* sp., *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Azolla* sp. y *Ludwigia* sp.), puede influenciar la composición de sus exudados lo cual podría causar diferentes efectos sobre el comportamiento y distribución del zooplancton. En este estudio se observó que *Eichhornia crassipes* liberaba una mayor cantidad de fenoles cuando tenía daño mecánico; sin embargo, la cantidad de materia orgánica disuelta permanecía constante, mientras que la repelencia que experimentaba el zooplancton (*Ceriodaphnia dubia* y *Argyrodiaptomus falcifer*) incrementaba cuando había una mayor cantidad de fenoles y de materia orgánica disuelta cromofórica, lo cual dependía de la especie de macrófita (Gutierrez y Mayora, 2016). Sin embargo, no existe suficiente información acerca de cómo los exudados producidos por macrófitas invasoras afectan a diferentes grupos taxonómicos de zooplancton, con distintos hábitos y especialmente aquellos que habitan la zona litoral.

En la Presa Benito Juárez, *Egeria densa* produce una gran cantidad de biomasa y se ha observado que decae estacionalmente, por lo que una proporción sustancial del detritus de la zona litoral está dominado por partículas de *E. densa*. En alguna etapa del proceso de descomposición de *E. densa*, se producen partículas pequeñas que están dentro del rango de alimentación de muchas especies zooplanctónicas (1-25 μm) además de que la presencia

del detritus incrementa la abundancia de otro tipo de descomponedores como son las bacterias, hongos y protozoos. Estos organismos también entran dentro del rango de tamaño de partícula que podría servir como recurso alimento para algunos organismos del zooplancton (Gulati *et al.*, 2001).

Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar el efecto que tiene *Egeria densa* sobre la calidad de agua y la estructuración de la comunidad zooplanctónica en comparación con otros hábitats dentro del mismo sistema acuático, haciendo énfasis en el potencial alelopático que tiene sobre diversos organismos del plancton en condiciones de laboratorio. De acuerdo con lo revisado bibliográficamente y considerando los principales temas incluidos en la presente revisión, planteamos las siguientes preguntas de investigación, hipótesis y objetivos:

PREGUNTAS

¿Qué efecto tiene *Egeria densa* en el ambiente acuático y cómo esto repercute en la estructura de la comunidad del zooplancton presente en la Presa Benito Juárez durante un ciclo anual?

¿Cómo afectan los aleloquímicos liberados por *Egeria densa* a la dinámica poblacional de *Scenedesmus acutus* en experimentos de coexistencia y cómo afectan algunas variables de historia de vida de tres especies de *Simocephalus*?

¿Qué tipo de metabolitos secundarios están presentes en *Egeria densa* y cómo afectan el crecimiento *in vitro* de diferentes especies de fitoplancton?

¿Cuál es el efecto de los aleloquímicos liberados por *Egeria densa* sobre las dinámicas poblacionales de cuatro cladóceros y sobre las interacciones competitivas entre *Daphnia mendotae* y tres especies de cladóceros?

¿Cómo afectan la dinámica poblacional del rotífero *Plationus patulus*, los aleloquímicos y el detritus producido por *Egeria densa*?

HIPÓTESIS

Las macrófitas modifican el ambiente físico, químico y biológico acuático de diferente manera, por lo que se esperaría que la estructura de la comunidad del zooplancton (rotíferos, cladóceros y copépodos) sea diferente en presencia de *Egeria densa* en comparación con otros hábitats con otras especies de macrófitas (*Typha latifolia* y *Nymphoides fallax*) y sin presencia de macrófitas (zona pelágica).

Dado que *Egeria densa* produce sustancias alelopáticas que afectan ciertas poblaciones de fitoplancton, se esperaría que algunas especies de zooplancton asociado a esta macrófita sean afectadas de manera negativa debido a la reducción del recurso algal.

Las sustancias alelopáticas liberadas por *Egeria densa* muestran cierto nivel de toxicidad hacia algunas poblaciones de fitoplancton, por lo que es muy probable que estas sustancias tóxicas afecten negativamente la eficiencia biológica de algunas especies zooplanctónicas.

Egeria densa produce estacionalmente una gran cantidad de biomasa en los sistemas que se desarrolla, la cual también decae estacionalmente produciendo una gran cantidad de partículas finas y biota asociada, por otro lado, la mayoría de los rotíferos son generalistas, por lo que se esperaría que la descomposición de *Egeria densa* y su biota asociada sirvan como fuente alimento para el rotífero *Plationus patulus*.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de *Egeria densa* sobre variables ambientales y sobre la estructura de la comunidad del zooplancton presente en la presa Benito Juárez durante un ciclo anual, así como analizar en laboratorio su posible efecto alelopático sobre especies planctónicas.

Objetivos particulares

Determinar la relación que existe entre la variación ambiental y la dinámica de la comunidad zooplanctónica (rotíferos, cladóceros y copépodos) durante un ciclo anual en distintos hábitats de la presa Benito Juárez.

Evaluar las interacciones alelopáticas entre *E. densa*, el alga *Scenedesmus acutus* y 3 especies de *Simocephalus*.

Extraer, caracterizar y probar la actividad biológica de los metabolitos secundarios producidos por *E. densa* sobre 4 especies de fitoplancton.

Estimar el efecto de los aleloquímicos liberados por *E. densa* sobre las interacciones competitivas entre *Daphnia mendotae* y tres especies de cladóceros.

Evaluar el efecto de los aleloquímicos y el detritus producido por *E. densa* sobre la dinámica poblacional del rotífero *Plationus patulus*.

Capítulo 1

Análisis de la comunidad zooplanctónica en presencia y ausencia de *Egeria densa* en relación con variables ambientales en la Presa Benito Juárez (Villa del carbón, Edo. de Méx.)

Resumen

Egeria densa es una macrófita sumergida invasora que incrementa rápidamente su biomasa lo cual, interfiere con varios usos del agua como son: la pesca, la navegación, la irrigación así como con algunas actividades relacionadas al turismo, además de que desplaza a otras macrófitas nativas. Debido a sus interferencias con actividades humanas, esta macrófita es removida periódicamente, sin embargo se desconoce como es que se relaciona con el ambiente y como podría estar afectando a su biota asociada. En este sentido, se evaluó el efecto de la remoción de *E. densa* sobre la calidad del agua y la estructura de la comunidad de zooplancton durante un ciclo anual (septiembre 2012 – agosto 2013). Para esto, se seleccionaron cinco sitios de muestreo: cuatro litorales (dos con *E. densa*, uno con *Typha latifolia* y uno con *Nymphoides fallax*) y uno pelágico. En estos sitios se cuantificaron variables ambientales, la biomasa y cobertura de *E. densa* y se tomó de cada sitio una muestra de zooplancton superficial. Con estos datos se realizó el índice de diversidad de Shannon-Wiener, se elaboraron gráficas de frecuencia vs abundancia para cada sitio, un análisis de correspondencia canónica para todos los sitios y un índice de similitud entre comunidades. Las variables ambientales mostraron bastante variación dentro del mismo mes dependiendo del tipo de hábitat. La tendencia observada en presencia de *E. densa* y *Typha latifolia*, fue que los valores de temperatura, pH, oxígeno y clorofila *a* fueron más elevados mientras que en la zona pelágica se encontraron los valores más bajos de estas variables. También se pudo observar que la remoción de *E. densa* provocó una disminución de la variabilidad de algunos parámetros ambientales entre sitios, además de un claro incremento en la cantidad de clorofila *a* y ficocianinas. Se identificaron 98 especies de zooplancton (82 rotíferos, 13 cladóceros y 3 copépodos) de los cuales se reportan 3 nuevos registros para México (*Floscularia ringens*, *Lindia janickii* y *Proales globulifera*). Las especies más representativas del sistema fueron: *Polyarthra vulgaris*, *Keratella cochlearis*, *Trichocerca porcellus*, *Alona guttata*, *Chydorus brevilabris* y los copépodos *Macrocylops fuscus* y *Tropocyclops prassinus mexicanus*. El análisis de similitud mostró que antes de la remoción de *E. densa* los sitios con macrófitas eran bastante similares entre ellos y

diferentes a las comunidades registradas en la zona pelágica, sin embargo, después de la remoción de la macrófita los sitios donde se encontraba ésta, mostraron alta similitud mientras que los sitios con *T. latifolia* y *N. fallax* continuaron siendo similares. Después de la remoción de *E. densa* se observó una disminución de la heterogeneidad ambiental, lo cual pudo haber impactado en la diversidad del zooplancton ya que fue considerablemente menor después de la remoción de la macrófita.

Palabras clave: Rotífera, microcrustáceos, estados estables alternativos, macrófitas, calidad del agua.

1. Introducción

La presencia de macrófitas es fundamental para el equilibrio y desarrollo de la vida acuática litoral debido a que son los principales productores primarios de esta zona. Su presencia, cobertura y estructura constituyen el paisaje ecológico de los llamados genéricamente humedales y su salud permite la conservación de los ecosistemas acuáticos en su conjunto (Lot y Novelo, 2004). Debido a esto, es importante considerar que diferentes tipos de macrófitas (emergentes, sumergidas y flotadoras), tienen diferentes impactos sobre el ambiente al que llegan (Carpenter y Lodge, 1986; Scheffer, 2004).

También se ha observado que la forma de las hojas es importante en el impacto que tienen sobre otros grupos de organismos, ya que cada tipo de hoja puede mantener diferentes tipos de comunidades dependiendo de su superficie y complejidad, por ejemplo en hojas disectadas como las de *Miriophyllum*, se encuentran principalmente comunidades de diatomeas, algas filamentosas y zooplancton (Sculthorpe, 1985). Existen zonas dentro del área litoral que tienen características ambientales particulares donde grupos específicos de organismos pueden ser encontrados y se ha reportado en varios estudios que las comunidades litorales de zooplancton poseen una gran diversidad de rotíferos y microcrustáceos (Jeppesen *et al.*, 1998; Duggan *et al.*, 2001; Kuczynska y Milecka, 2009). Se ha reconocido que existen patrones sucesionales que estructuran las comunidades del zooplancton, los cuales son regulados por una combinación de factores bióticos y abióticos destacándose la temperatura, la competencia y la depredación (Lampert y Sommer, 2007)

así como la presencia de macrófitas, especialmente en sistemas someros (Burns y Dodds, 1999).

En los últimos años los cuerpos de agua epicontinentales de México, se han visto fuertemente afectados debido a la introducción de especies invasoras, lo cual ha sido identificado como uno de los riesgos ambientales más críticos que enfrentan las especies nativas (Novelo y Martínez, 1989). En México, se han reportado varias especies de plantas acuáticas introducidas que han causado importantes daños (Ramos *et al.*, 2004). Sin embargo en la actualidad existen pocos estudios que abarquen mayor información acerca de cómo es que estas especies se relacionan en los ambientes que colonizan, por lo que es necesario generar más información al respecto para poder proponer estrategias de manejo (Espinosa y Sarukhán, 1997; Villaseñor y Espinosa, 1998).

Los mecanismos reportados relacionados a la invasión de esta macrófita incluyen: ventajas competitivas, plasticidad fenotípica, facilitación del ambiente para otros invasores, alta tasa reproductiva, así como su forma de reproducción vegetativa (Schultz y Dibble, 2012; Fleming y Dibble, 2015). Por otro lado, se ha reportado que durante la noche esta especie puede llegar a provocar un decremento en la cantidad de oxígeno debido a la descomposición provocada por la gran acumulación de materia orgánica (Rose y Crumpton, 1996), alteración del potencial redox, modificación en pH y cambios en los ciclos biogeoquímicos (Yarrow *et al.*, 2009; Chiba de Castro *et al.*, 2013).

Las especies invasoras tienen un fuerte efecto sobre el ecosistema afectando a diferentes niveles tróficos y modificando así la biodiversidad presente (Sousa *et al.*, 2011). Con los datos generados conoceremos la dinámica poblacional anual de *Egeria densa*, si existe una modificación sobre su ambiente abiótico y cómo estos factores afectan la dinámica anual de la comunidad zooplanctónica. Es importante mencionar que esta macrófita tiene un potencial para aplicarse en biomanipulación con el fin de combatir el problema de eutrofización, por lo que es necesario conocer más acerca de su biología (Vanderstukken *et al.*, 2011).

En el presente documento evaluamos el efecto de *Egeria densa* sobre la comunidad del zooplancton y sobre algunas variables ambientales en comparación con hábitats con diferentes poblaciones de macrófitas (*Typha latifolia* y *Nymphoides fallax*) y ausencia de ellas (zona pelágicas) durante un ciclo anual en la Presa Benito Juárez.

2. Zona de estudio

La presa Benito Juárez es un cuerpo de agua pequeño y permanente (longitud máxima= 520 m, ancho máximo= 150 m, Línea de costa= 1300 m) que se encuentra en el municipio de Villa del Carbón en la zona norte del Estado de México, en las coordenadas geográficas 99° 25' 38" N y 19° 41' 22" O a una altitud de 2540 msnm. La zona de macrófitas se encuentra en todo el margen de la presa, está constituida principalmente por la macrófita sumergida invasora *Egeria densa* la cual se encuentra en la mayor parte del margen del cuerpo de agua (80% aprox.), también se encuentra la macrófita emergente traslocada *Typha latifolia* (10%) y la macrófita flotadora enraizada *Nymphoides fallax* (5%) la cual es una planta endémica (Lot y Novelo, 2004; Bonilla y Barbosa, 2014). La presa se ubica en un bosque de pino-encino con un clima semitemplado; el uso del embalse es una fuente de ingresos para la gente del lugar, los cuales atienden al turismo.

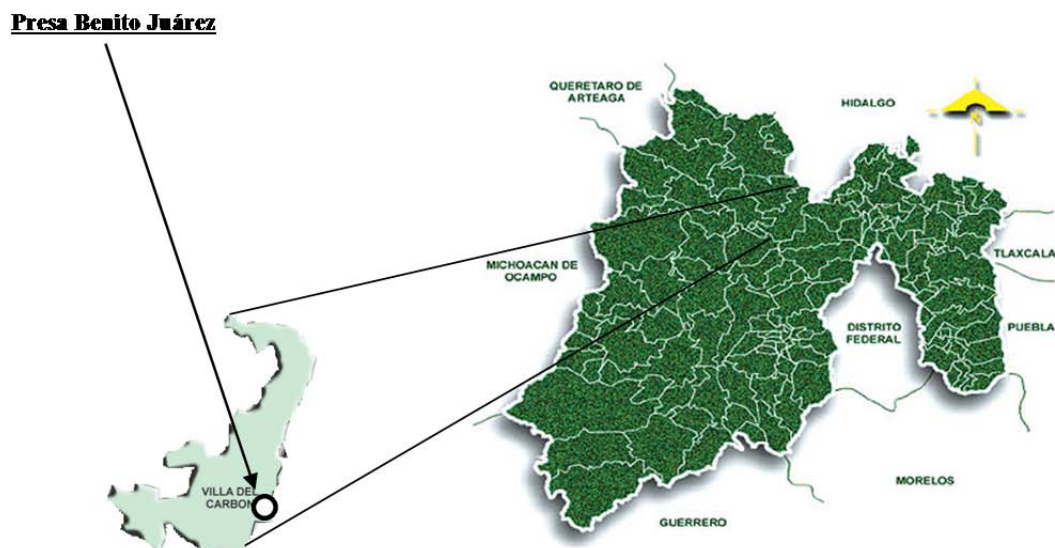


Figura 1. Ubicación de la Presa Benito Juárez dentro del Estado de México.

3. Materiales y métodos

3.1 Variables ambientales en campo

Para la recolecta de muestras se seleccionaron 5 sitios dentro de la presa: 4 litorales (2 en zonas con *Egeria densa*, 1 en zona de *Typha latifolia* y 1 en zona de *Nymphoides fallax*) y uno pelágico (Fig. 2), con la idea de comparar las comunidades de zooplancton de cada uno de los sitios. En la zona litoral, la columna de agua no fue mayor de 1.2 m mientras que la zona pelágica tenía una profundidad aproximada de 5 m. Se seleccionaron 2 sitios con *E. densa* debido a que al ser nuestro objeto de estudio, se buscaba más consistencia referente a esta macrófita debido a que se encuentra mas representada en el sistema. Estos sitios fueron muestreados mensualmente durante el periodo de septiembre de 2012 a agosto de 2013 para abarcar la temporalidad anual. Se caracterizó cada estación de muestreo a través de las siguientes variables fisicoquímicas: oxígeno disuelto (con la ayuda de un oxímetro modelo YSI 55), transparencia en la zona pelágica (con el disco de Secchi), temperatura, pH y conductividad específica (con el conductímetro Conductronic PC-18), alcalinidad total y a la fenolftaleína las cuales fueron transformadas a carbonatos y bicarbonatos (Clesceri *et al.*, 1999), nitratos y amonio (con un analizador de ion específico modelo YSI 9100), clorofila *a* total y las fracciones mayor y menor a 25 μm (con un fluorómetro Turner Designs, modelo Aquafuor), así como la turbidez en unidades nefelométricas (con un turbidímetro Cole-Parmer). Con los datos obtenidos a lo largo del año se hicieron gráficas de variación anual así como un análisis de correspondencia canónica con el programa CANOCO v. 4.5 para determinar la influencia de las distintas variables sobre las especies de zooplancton encontradas.

3.2 Monitoreo de *Egeria densa*

Se cuantificó mensualmente la biomasa de *Egeria densa* (en la misma fecha de colecta del zooplancton) durante los primeros 8 meses antes de que la removieran. Para su cuantificación se utilizó un nucleador de PVC para macrófitas, el cual se introdujo de forma recta buscando que se enterrara en el sedimento, después se extrajo la macrófita de la zona delimitada por el nucleador para la cuantificación de su biomasa (g peso seco/m^3 , Madsen *et al.*, 2007). El porcentaje de volumen total del lago infestado por *E. densa* se estimó a simple vista con la ayuda de un mapa de la presa en el cual se marcó la sombra de la

macrófita (Mazzeo *et al.*, 2003). La remoción de *E. densa* fue realizada con un gancho atado a una cuerda que era arrojado desde la orilla hacia donde estaba la macrófita, posteriormente se jalaba la cuerda para extraer la macrófita atorada en el gancho. Debido a este método de extracción, esta macrófita fue removida parcialmente (alrededor del 60%) del sitio 1, ya que en este sitio, la macrófita se encontraba más allá del alcance de la cuerda con el gancho, lo cual no sucedió en el sitio 3 donde se pudo remover totalmente. Las otras especies de macrófitas del sistema no fueron removidas.

3.3 Muestras de zooplancton

En total se obtuvieron 60 muestras, cada una consistió en filtrar 80 L de agua superficial con una red zooplanctónica de 50 μm de apertura de poro. Posteriormente, se concentró en 180 ml y se agregaron 20 ml de formol al 40 % para que la muestra quedara preservada al 4%. Se etiquetó con los datos de la localidad, sitio, fecha y forma de preservación. Las muestras se tomaron de manera similar tomando los primeros 30 cm de profundidad de la columna de agua. Las muestras de la zona litoral se tomaron a 40 cm de distancia de la línea de costa dentro de las camas de macrófitas, en estas muestras se movieron las plantas para poder extraer el agua ya que se encontraban en alta abundancia por lo que se esperaba encontrar organismos asociados a éstas. Las muestras se tomaron mensualmente, de este modo, se obtuvieron 24 muestras de dos sitios con la macrófita sumergida *Egeria densa* (sitios 1 y 3), 12 muestras del sitio con la macrófita emergente *Typha latifolia* (sitio 2), 12 muestras del sitio con la macrófita flotadora enraizada *Nymphoides fallax* (sitio 4) y 12 muestras de la zona pelágica (sitio 5).

3.4 Análisis del zooplancton en laboratorio

Las muestras se analizaron en el laboratorio de zoología acuática de la FES Iztacala UNAM con la ayuda de un microscopio estereoscópico y uno óptico. La abundancia del zooplancton se determinó contando 3 alícuotas de 1 ml de cada muestra con la ayuda de una cámara de Sedgewick-Rafter y un microscopio vertical enfocando con un objetivo de 10X. Las especies se identificaron con claves especializadas para cada grupo y la diversidad del zooplancton se calculó con el índice de diversidad de Shannon-Wiener con el programa Past3. También se realizaron gráficas de frecuencia contra abundancia por sitio

de muestreo para conocer las diferentes especies dominantes por sitio, así como su variación anual.

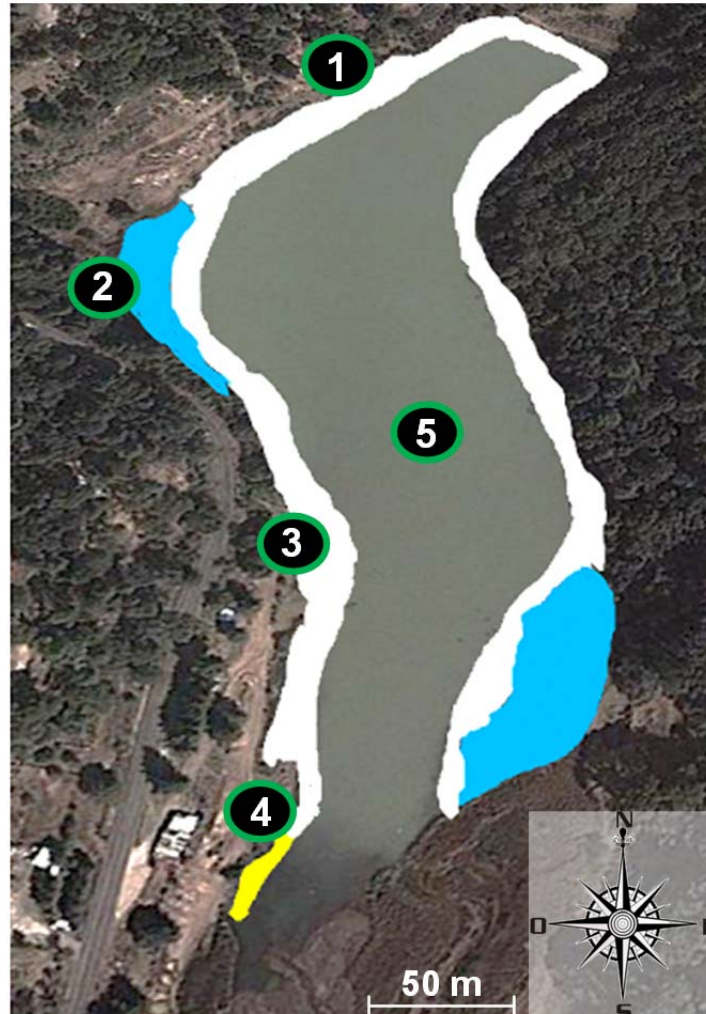


Figura 2. Imagen aérea de la superficie de la presa Benito Juárez donde se muestran los sitios de muestreo.

Sitio 1 (*Egeria densa*), sitio 2 (*Typha latifolia*), sitio 3 (*Egeria densa*), sitio 4 (*Nymphoides fallax*) y sitio 5 (zona pelágica).

3.5 Análisis de correspondencia canónica

Se realizó un análisis anual donde se agruparon las especies por géneros en el cual se consideraron 6 cladóceros pertenecientes a 6 géneros y 54 especies de rotíferos agrupadas en 21 géneros.

3.6 Análisis de similitud de Morisita

Se realizó en dos bloques. Para el primer bloque se consideró la comparación de las comunidades presentes antes de la remoción de *Egeria densa*, lo cual consistió de 40 muestras (5 sitios por mes x 8 meses) mientras que para el segundo bloque se consideraron las comunidades presentes después de la remoción de *E. densa*, las cuales consistieron de 20 muestras (5 sitios por mes x 4 meses) por lo cual se obtuvieron 2 dendrogramas. Para éste análisis se utilizó el programa PAST 3.0. En este análisis se descartaron las especies que aparecieron una o dos ocasiones durante el año.

4. Resultados

4.1 Variables ambientales

La cobertura varió de 11.4% a 28.5% del espejo de agua donde se puede observar la menor cobertura en mayo y la mayor cobertura en septiembre. La biomasa se registró desde 531 ± 145 g PS.m³ hasta 1373 ± 121 g PS.m³ (Fig. 3).

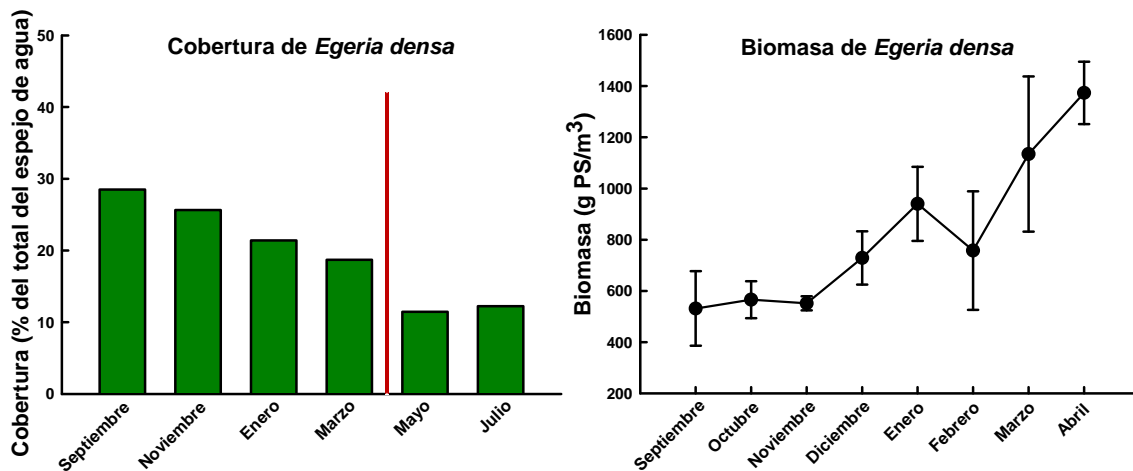


Figura 3. Variación anual de la cobertura y biomasa de *E. densa* en la Presa Benito Juárez. La ausencia de datos después de abril se debe a la remoción de la macrófita. La barra roja marca el punto cuando *Egeria densa* fue removida.

En las figuras 4 y 5 se muestra la variación de las variables ambientales registradas en el periodo de muestreo. En general, la temperatura osciló entre 12.8°C y 28.3°C a lo largo del año, los valores más altos se presentaron en los sitios 1 y 3 (*Egeria densa*; promedio anual de 20.9 ± 0.9 °C) hasta que esta macrófita fue removida, donde el sitio 2 (*Typha latifolia*)

presentó los valores más altos. Los valores más bajos predominaron en la zona pelágica ($17.8 \pm 0.8^\circ\text{C}$). La temperatura promedio mensual más alta registrada fue en el mes de abril ($24.6 \pm 1.4^\circ\text{C}$) y la más baja durante enero ($14.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$; Fig. 3a). La concentración de oxígeno disuelto varió entre 3.9 y 14.8 mg.L^{-1} dependiendo del sitio y el mes de registro, en este sentido, se observó que los valores más altos se registraron en los sitios 1 y 3 (*E. densa*; promedio anual de 10.1 ± 2.7 y $10.67 \pm 2.5 \text{ mg.L}^{-1}$) durante el mes de octubre ($12.3 \pm 0.8 \text{ mg.L}^{-1}$) y los más bajos en agosto en la zona pelágica ($5.9 \pm 0.7 \text{ mg.L}^{-1}$). También se puede observar que los valores en los sitios con *E. densa* y *Nymphoides fallax* disminuyeron después de la remoción de la macrófita mientras que en los otros dos sitios (*T. latifolia* y zona pelágica) se observó un incremento de esta variable (Fig. 3b).

El pH fluctuó entre 6.1 y 10 unidades durante el periodo de muestreo, en la figura 3c se puede observar que en los sitios 1 y 3 con *Egeria densa* también predominaron los valores más elevados de esta variable (promedio anual de 8.8 ± 0.2 y 8.4 ± 0.2 respectivamente). Sin embargo, al remover esta macrófita, se observó un drástico decremento de esta variable en los sitios 1 y 3, mientras que en los sitios 2 (*Typha latifolia*), 4 (*Nymphoides fallax*) y 5 (zona pelágica) se observó una menor variación. Los datos observados para conductividad estuvieron en el rango de 53 a $86 \mu\text{S.cm}^{-1}$ donde los valores más elevados se registraron durante la época de secas, se puede ver que hubo un ligero incremento en esta variable después de la remoción de *E. densa*. Marzo fue el mes que presentó el promedio más bajo ($60 \pm 1 \mu\text{S.cm}^{-1}$), mientras que julio presentó el mayor promedio ($79 \pm 2 \mu\text{S.cm}^{-1}$; Fig. 3d). En la figura 3e se observa que los valores de carbonatos fueron de 0 a 21.6 mg.L^{-1} siendo los sitios 4 y 5 (*N. fallax* y zona pelágica) donde se presentaron en la mayoría valores de 0 mg.L^{-1} con dos excepciones en el sitio 4, mientras que los sitios 1 y 3 (*E. densa*) fue donde se mostraron los valores promedio más altos (17.34 y 12 mg.L^{-1} respectivamente). Después de la remoción de *E. densa* no se observó un fuerte cambio en los valores de esta variable.

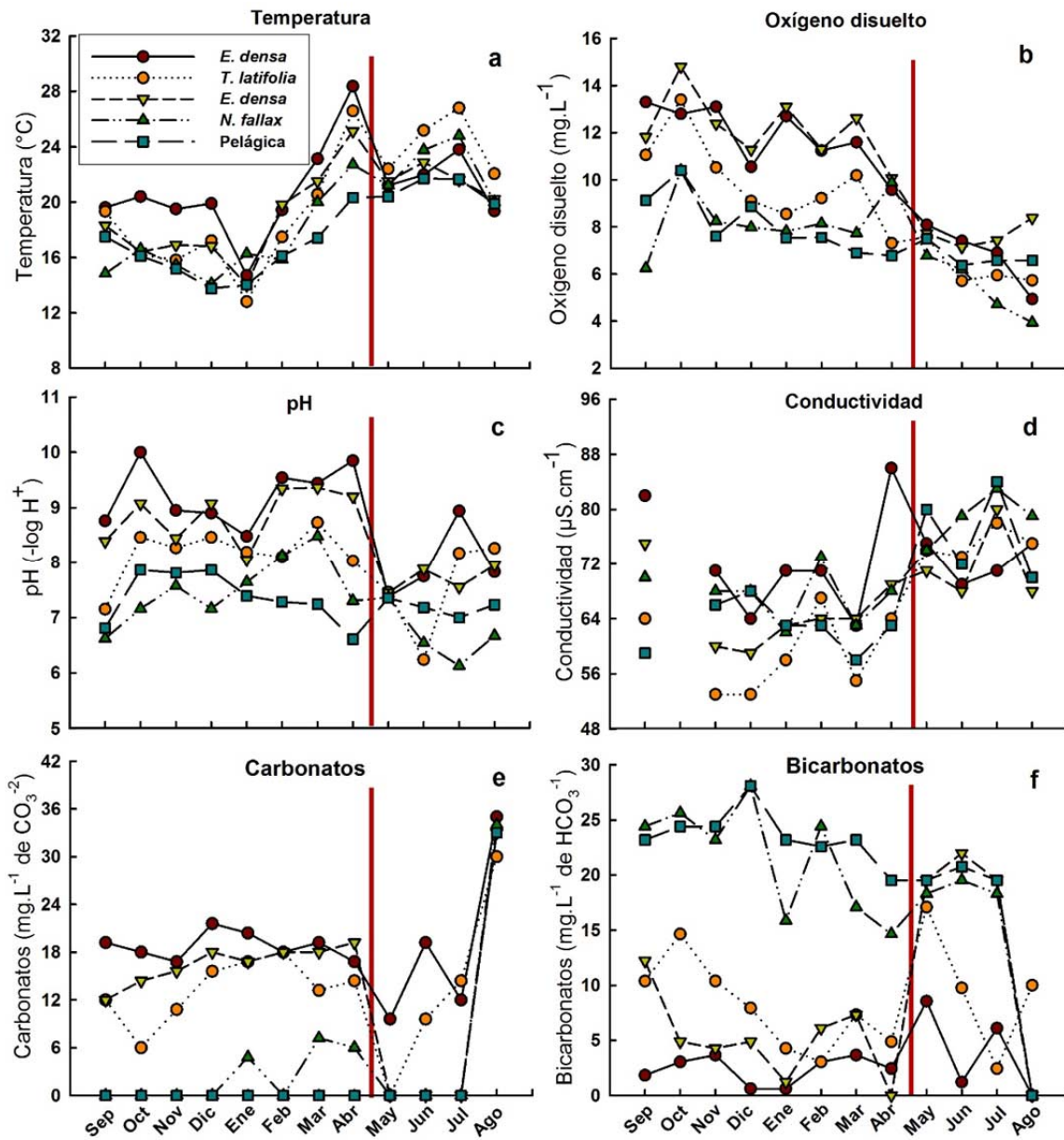


Figura 4. Variación de: a) temperatura, b) oxígeno disuelto, c) pH, d) conductividad, e) carbonatos y f) bicarbonatos de los diferentes sitios de muestreo durante el periodo septiembre 2012 – agosto 2013. La barra roja marca el punto cuando *Egeria densa* fue removida. Note las diferencias en las escalas de los ejes.

Con respecto con los bicarbonatos (Fig. 3f), los valores oscilaron entre 0 y 28.06 mg.L⁻¹ donde el sitio 5 (zona pelágica) presentó los valores promedio anuales más altos

($22.57 \pm 2.63 \text{ mg.L}^{-1}$) y el sitio 1 los valores menores ($3.16 \pm 2.3 \text{ mg.L}^{-1}$). No se observó un fuerte cambio en esta variable debido a la remoción de *E. densa*.

Para la turbidez, los datos variaron de 1 a 59 NTU dependiendo del sitio y el mes (Fig. 4a). En este sentido, se observa que los datos más bajos se encontraron entre el mes de octubre y abril (secas), mientras que en los demás meses (lluvias) se presentaron los valores más elevados (hasta 51 ± 2 NTU). A lo largo del año los valores más altos se registraron en el sitio 5 (zona pelágica, promedio anual de 17 NTU). Relacionado a esto se midió la transparencia de disco de Secchi en el sitio 5 (Fig. 4b), donde los valores oscilaron entre 33 y 283 cm. Marzo fue el mes con mayor transparencia mientras que julio, agosto y septiembre fueron los meses con menos transparencia (30, 33 y 40 cm respectivamente).

Los nutrientes que se registraron fueron amonio y nitratos, sin embargo la mayoría de los valores para el amonio estuvieron por debajo del límite de detección con unas cuantas excepciones (12 de 60 datos totales) donde se registraron valores bajos (entre 0.01 y 0.11 mg.L^{-1}), por lo que esta variable no fue considerada para en las gráficas. Con respecto a los nitratos, los datos que se registraron a lo largo del año presentaron mucha variación (de 0.001 a 4 mg.L^{-1}). El promedio más elevado ($2.3 \pm 0.4 \text{ mg.L}^{-1}$) se registró durante septiembre mientras que el resto de los meses los valores no rebasaron 1 mg.ml^{-1} siendo julio donde se observaron los valores más bajos ($0.02 \pm 0.01 \text{ mg.L}^{-1}$). No se observó algún cambio drástico respecto a la remoción de *E. densa* en ninguna de estas variables (Fig. 4c).

Con respecto a los pigmentos, se registraron las ficocianinas, clorofila *a* total, y clorofila *a* menor y mayor a $25 \mu\text{m}$ con el objetivo de considerar la disponibilidad del recurso alimento así como para comparar la productividad entre los diferentes hábitats. De acuerdo con la gráfica 4d, los valores para las ficocianinas fluctuaron entre 0.15 y 4.2 a 590 nm de longitud de onda, siendo el mes de agosto el que presentó los datos más elevados mientras que en la época de secas los valores fueron menores a 1 siendo marzo el mes con el promedio más bajo (0.25 ± 0.03). Con respecto a la clorofila *a* total (Fig. 4e), los valores

mayores fueron observados en agosto ($6.3 \pm 1.1 \mu\text{g.L}^{-1}$) mientras que los valores más bajos se observaron en enero ($1.5 \pm 0.06 \mu\text{g.L}^{-1}$).

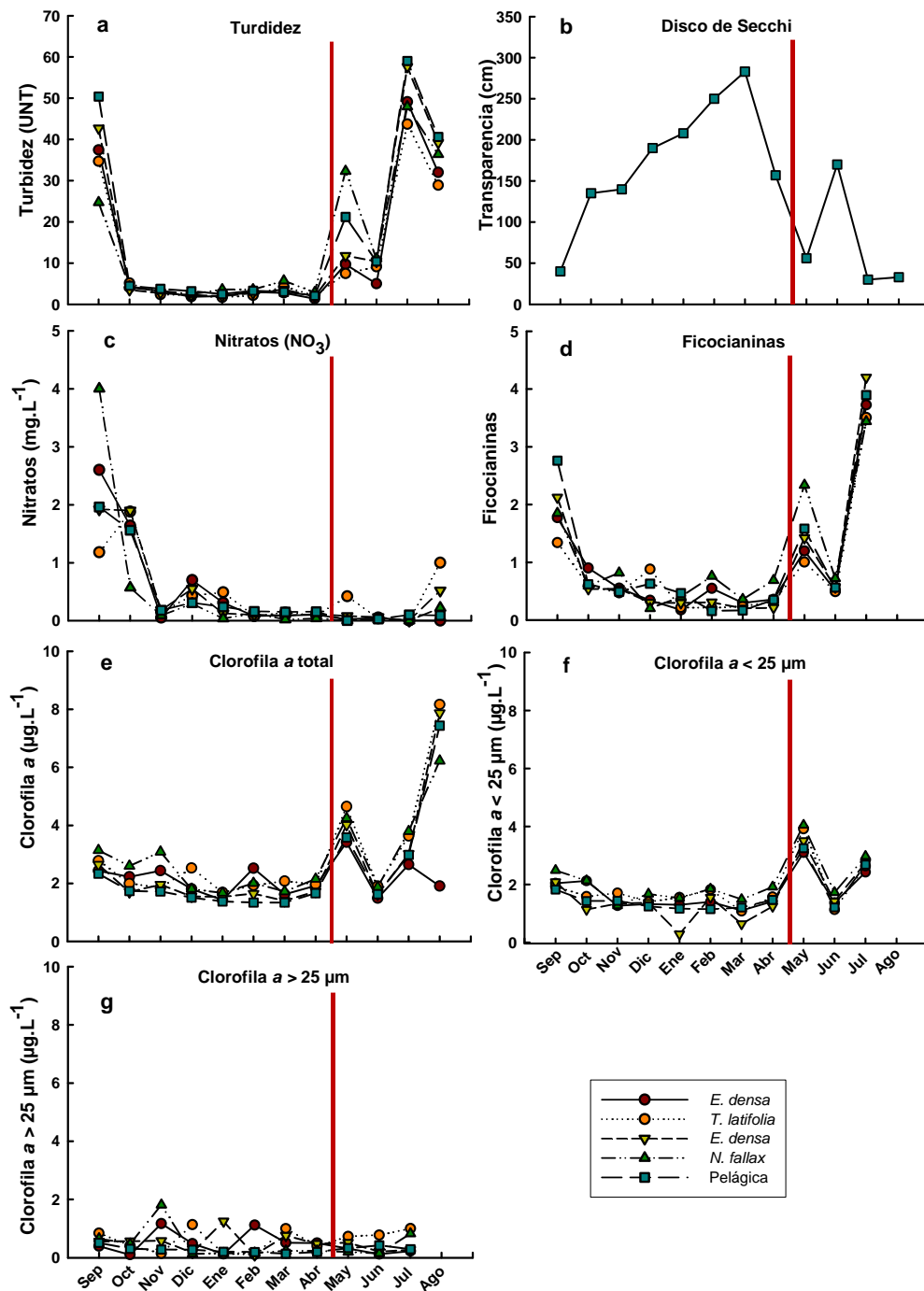


Figura 5. Variación de: a) turbidez, b) transparencia en la zona pelágica, c) nitratos (NO_3), d) ficocianinas, e) clorofila a total, f) clorofila a menor a $25\mu\text{m}$ y g) clorofila a mayor a $25\mu\text{m}$ de los diferentes sitios de muestreo durante el periodo septiembre 2012 – agosto 2013. La barra roja marca el punto cuando *Egeria densa* fue removida. Note las diferencias en las escalas de los ejes Y.

El sitio que mostró el promedio anual más bajo ($2.1 \pm 0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$) fue el sitio 1 (*Egeria densa*) mientras que el más alto ($2.9 \pm 0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$) fue el sitio 2 (*Typha latifolia*). Con respecto a la clorofila *a* menor a $25 \mu\text{m}$ (Fig. 4f) se observa una tendencia similar a la clorofila total a lo largo del año y coincide con que en el sitio 2 (*T. latifolia*) se presentó el promedio más elevado ($2.09 \pm 0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$) mientras que el sitio 1 (*Egeria densa*) se observó el promedio anual más bajo ($1.5 \pm 0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$). La clorofila mayor a $25 \mu\text{m}$ (Fig. 4g) se registró en menor proporción que la menor a $25 \mu\text{m}$ en un rango de 0.11 a $1.8 \mu\text{g.L}^{-1}$ dependiendo el sitio y mes. Los valores más altos se encontraron en el sitio 2 (*T. latifolia*) y los más bajos en el sitio 5 (zona pelágica). Se puede ver que los valores de clorofila *a* total y menor a $25 \mu\text{m}$ incrementaron después de la remoción de *E. densa* en el sitio donde se realizó la remoción total. Sin embargo, donde la remoción fue parcial, la concentración de este pigmento se mantuvo baja. Después de la remoción de esta macrófita, se registró un fuerte incremento en la concentración de la clorofila *a* total.

4.2 Riqueza, frecuencia y distribución de especies de zooplancton

Se registraron 98 especies de zooplancton de las cuales, 82 especies fueron rotíferos distribuidos en 23 familias y 40 géneros, 13 especies de cladóceros en 6 familias y tres géneros y tres especies de copépodos en dos familias. Las familias más representadas con respecto a abundancia fueron Synchaetidae, Trichocercidae y Brachionidae para los rotíferos; Chydoridae y Daphnidae para los cladóceros y Cyclopidae para los copépodos (Tabla 1). En la tabla se observan resaltados en color amarillo a *Floscularia ringens*, *Lindia janickii* y *Proales globulifera* las cuales son nuevos registros para México. Las familias con mayor número de especies fueron Lecanidae (17 especies), Brachionidae y Colurellidae (8 especies cada familia), Trichocercidae y Notommatidae (7 especies cada familia) para los rotíferos; Chydoridae (5 especies) y Daphnidae (4 especies) para los cladóceros y Cyclopidae (2 especies) para los copépodos. En el sitio 1 (*Egeria densa*) se registraron 68 especies en total, en el sitio 2 (*Typha latifolia*) 75 especies, en el sitio 3 (*E. densa*) 72 especies, en el sitio 4 (*Nymphoides fallax*) 75 especies y en el sitio 5 (zona pelágica) 30 especies.

Tabla 1. Riqueza, frecuencia y distribución de los rotíferos presentes en todos los sitios de muestreo de la Presa Benito Juárez durante el periodo agosto 2012 – septiembre 2013. Nuevos registros para México están marcados en amarillo.

Riqueza de especies	Meses											
	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A
Rotifera												
Familia: Philodinidae												
<i>Adineta</i> sp.									X			
<i>Philodina roseola</i> Ehrenberg, 1832									X			
<i>Rotaria</i> sp.								X				
Familia: Brachionidae												
<i>Brachionus angularis</i> (Gosse, 1851)											X	
<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas, 1766						X						
<i>Brachionus havanaensis</i> Rousselet, 1911			X			X						
<i>Brachionus quadridentatus</i> (Hermann, 1783)											X	
<i>Kellicotia bosteniensis</i> (Rousselet, 1908)	X	X	X	X					X		X	X
<i>Keratella cochlearis</i> (Gosse, 1851)	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
<i>Plationus patulus</i> (O. F. Muller, 1786)	X							X	X		X	X
<i>Platyas quadricornis</i> (Ehrenberg, 1832)	X						X		X		X	X
Familia: Euchlanidae												
<i>Beauchampiella eudactylota</i> (Gosse, 1886)			X	X	X	X	X	X	X		X	
<i>Euchlanis dilatata</i> Ehrenberg, 1832				X	X		X	X	X	X	X	
<i>Euchlanis incisa</i> Carlin, 1939	X	X	X	X	X	X	X				X	X
Familia: Mytilinidae												
<i>Lophocaris salpina</i> (Ehrenberg, 1834)							X	X	X	X	X	X
<i>Mytilina bisulcata</i> (Lucks, 1912)											X	X
<i>Mytilina ventralis</i> (Ehrenberg, 1832)	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X
Familia: Trichotriidae												
<i>Trichotria pocillum</i> (O. F. Muller, 1776)		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Trichotria tetractis</i> (Ehrenberg, 1830)	X									X	X	X
Familia: Colurellidae												
<i>Colurella obtusa</i> (Gosse, 1886)		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Colurella uncinata</i> (O. F. Muller, 1773)	X											
<i>Lepadella acuminata</i> (Ehrenberg, 1834)	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
<i>Lepadella ovalis</i> (O. F. Muller, 1786)		X		X			X					X
<i>Lepadella patella</i> (O. F. Muller, 1786)				X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Lepadella rhomboides</i> (Gosse, 1886)		X	X	X	X	X	X	X				
<i>Lepadella triptera</i> (Ehrenberg, 1830)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Squatinella mutica</i> (Ehrenberg, 1830)		X		X	X	X	X	X	X	X	X	X

<i>Trichocerca tigris</i> (O. F. Muller, 1786)				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Familia: Gastropodidae													
<i>Ascomorpha saltans</i> Bartsch, 1870	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Familia: Synchetidae													
<i>Polyarthra vulgaris</i> Carlin, 1943	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Synchaeta pectinata</i> Ehrenberg, 1832	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Familia: Asplanchnidae													
<i>Asplanchna priodonta</i> (Gosse, 1850)	X	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X
<i>Asplanchnopus multiceps</i> (Schrank, 1793)	X	X	X	X	X			X			X	X	X
Familia: Dicranophoridae													
<i>Dicranophorus caudatus</i> (Ehrenberg, 1834)							X					X	X
<i>Dicranophorus epicharis</i> (Harring & Myers, 1928)			X	X	X	X	X	X	X				
<i>Dicranophorus forcipatus</i> (O. F. Muller, 1786)							X	X	X			X	X
<i>Dicranophorus grandis</i> (Ehrenberg, 1832)							X	X	X				
Familia: Testudinellidae													
<i>Testudinella emerginula</i> (Stenroos, 1898)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Testudinella patina</i> (Hermann, 1783)	X	X					X		X	X	X	X	X
Familia: Flosculariidae													
<i>Floscularia ringens</i> (Linnaeus, 1758)							X						X
<i>Sinatherina socialis</i> (Linnaeus, 1758)					X		X		X			X	
Familia: Conochilidae													
<i>Conochilus unicornis</i> Rousselet, 1892	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Familia: Hexarthridae													
<i>Hexarthra intermedia</i> Wiszniewski, 1929									X				
<i>Hexarthra mira</i> (Hudson, 1871)												X	X
Familia: Filiniidae													
<i>Filinia longiseta</i> (Ehrenberg, 1834)												X	X
Familia: Collothecidae													
<i>Beauchampia crucigera</i> (Dutrochet, 1812)													X
<i>Collotheca</i> sp.		X		X	X	X					X	X	X
Familia: Atrochidae													
<i>Cupelopagis vorax</i> (Leidy, 1857)				X	X		X						
Cladocera													
Familia Daphnidae													
<i>Ceriodaphnia</i> cf. <i>dubia</i> (Richard, 1894)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Daphnia mendotae</i> (Birge, 1918)	X						X	X	X	X	X	X	X
<i>Scapholeberis</i> cf. <i>kingi</i> (Sars, 1888)								X					X
<i>Simocephalus serrulatus</i> (Koch, 1841)	X	X	X	X	X	X	X	X			X	X	X
Familia Moinidae													
<i>Moina macrocopa</i> (Straus, 1820)	X												

Familia Ilyocriptidae													
<i>Ilyocryptus spinifer</i> Herrick, 1882	X	X								X	X	X	
Familia Bosminidae													
<i>Bosmina longirostris</i> (O. F. Müller, 1776)		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	
Familia Eurycercidae													
<i>Eurycercus</i> cf. <i>meridionalis</i> (Müller, 1776)		X	X	X						X	X	X	
Familia Chydoridae													
<i>Alona guttata</i> Sars, 1862	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Allonela</i> cf. <i>excisa</i> (Fischer, 1854)													X
<i>Chydorus brevilabris</i> , Frey, 1980	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Dunhevedia setigera</i> (Birge, 1877)								X		X	X		
<i>Pleuroxus denticulatus</i> (Smirnov, 1996)				X		X	X	X		X	X	X	
Copepoda													
Harpacticoideo					X	X	X		X	X			
Familia Cyclopidae													
<i>Macrocyclus fuscus</i> (Jurine, 1820)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Tropocyclops prasinus mexicanus</i> (Kiefer, 1938)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

4.3 Diversidad de especies

En la figura 6 se observan los valores de diversidad del zooplancton encontrado en los cinco sitios de muestreo de la Presa Benito Juárez. El análisis se realizó con el índice de Shannon-Wiener y los valores oscilaron entre 0.27 y 4.36 bits.ind⁻¹ dependiendo del sitio y el mes. En este sentido, resalta que el sitio 5 (zona pelágica) presentó los valores más bajos (promedio de 1.01±0.19 bits.ind⁻¹) de diversidad biológica para este grupo de organismos, mientras que los demás sitios permanecieron relativamente similares hasta la remoción de *Egeria densa*, donde se vio una fuerte reducción en los valores de esta variable, especialmente los sitios 1, 3 y 4, mientras que el sitio 2 se mantuvo constante. El sitio 2 (*T. latifolia*) es el que tuvo el mayor promedio anual (3.38±0.10 bits.ind⁻¹) seguido de los sitios 1 y 4 (*E. densa* y *N. fallax*) con un promedio similar de 3.10±0.15 bits.ind⁻¹ y 3.10±0.21 bits.ind⁻¹ respectivamente seguidos del sitio 3 (*E. densa*) con 2.69±0.29 bits.ind⁻¹. Sin embargo, es importante mencionar que para estos promedios se consideró el efecto negativo de la remoción de la planta.

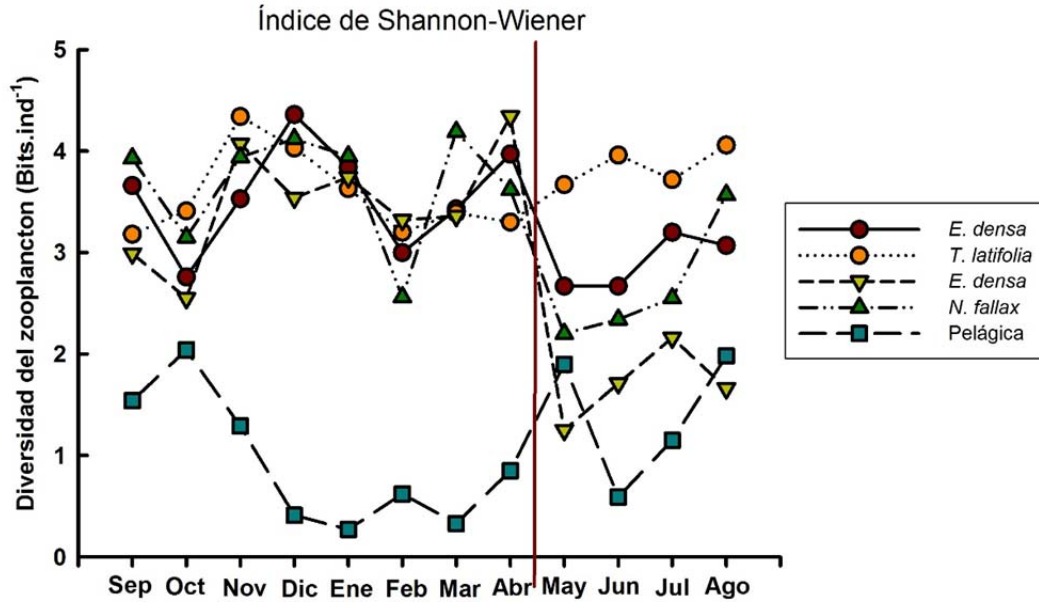


Figura 6. Variación estacional de la diversidad de zooplancton en los 5 sitios de muestreo en la Presa Benito Juárez durante el periodo de septiembre de 2012 a agosto de 2013. La línea roja vertical marca el momento de la remoción de *E. densa*.

4.4 Frecuencia vs abundancia

De la figura 7 a la figura 11 se muestra la distribución de frecuencias y abundancias de todas las especies de rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha) encontradas en los diferentes sitios muestreados donde también se puede observar las especies por sitio. Se puede ver que la mayoría de las especies caen en la categoría de dominantes o raras, siendo unas pocas temporales y menos las comunes.

Sitio 1 (*Egeria densa*)

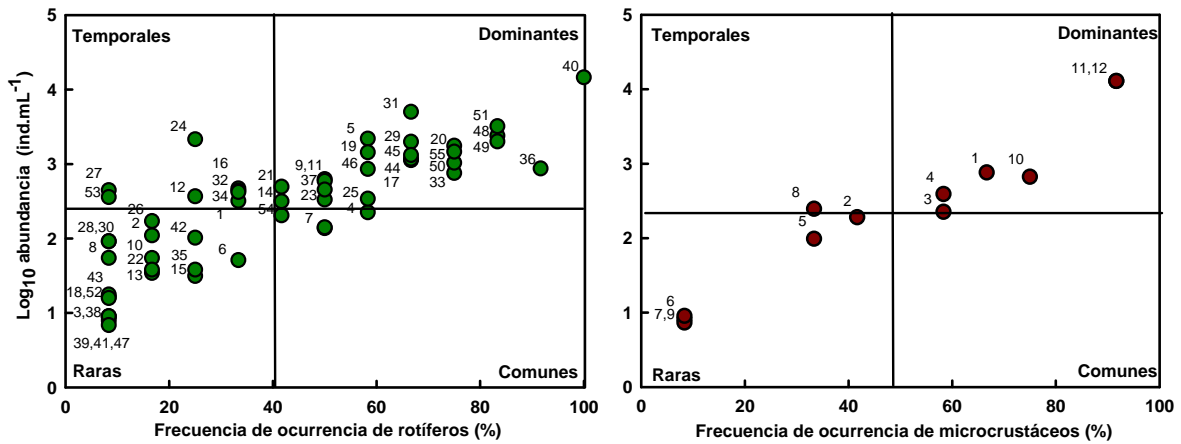


Figura 7. Distribución de frecuencias y abundancias de los rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha)

encontrados en el sitio 1 en presencia de *Egeria densa*. Rotíferos: 1. *Ascomospha saltans*, 2. *Asplanchna priodonta*, 3. *Asplanchnopus multiceps*, 4. *Cephalodella gibba*, 5. *C. ventripes*, 6. *Collotheca* sp., 7. *Colurella obtusa*, 8. *C. uncinata*, 9. *Conochilus unicornis*, 10. *Cupelopagis vorax*, 11. *Dicranophorus epicharis*, 12. *D. forcipatus*, 13. *D. grandis*, 14. *Euchlanis dilatata*, 15. *E. incisa*, 16. *Kellicotia bosteniensis*, 17. *Keratella cochlearis*, 18. *Lecane aculeata*, 19. *L. bulla*, 20. *L. closterocerca*, 21. *L. furcata*, 22. *L. hamata*, 23. *L. ludwigi*, 24. *L. luna*, 25. *L. lunaris*, 26. *L. ohioensis*, 27. *L. pyriformis*, 28. *L. stichaea*, 29. *Lepadella acuminata*, 30. *L. ovalis*, 31. *L. patella*, 32. *L. rhomboides*, 33. *L. triptera*, 34. *Lindia janickii*, 35. *Lophocaris salpina*, 36. *Monommata ardnti*, 37. *Mytilina ventralis*, 38. *Notommata glyphura*, 39. *N. pachyura*, 40. *Polyarthra vulgaris*, 41. *Proales globulifera*, 42. *Scaridium longicaudum*, 43. *Sinantherina socialis*, 44. *Squatinnella mutica*, 45. *Synchaeta pectinata*, 46. *Testudinella emarginula*, 47. *T. patina*, 48. *Trichocerca bidens*, 49. *T. elongata*, 50. *T. longiseta*, 51. *T. porcellus*, 52. *T. ruttneri*, 53. *T. similis*, 54. *T. tigris*, 55. *Tricotria pocillum*, 56. *T. tetractis*. Microcrustáceos: 1. *Alona guttata*, 2. *Bosmina longirostris*, 3. *Ceriodaphnia* cf. *dubia*, 4. *Chydorus brevilabris*, 5. *Daphnia mendotae*, 6. *Eurycercus lamellatus*., 7. *Ilyocyrtus spinifer*, 8. *Pleuroxus denticulatus*, 9. *Scapholeberis* cf. *kingii*, 10. *Simocephalus serrulatus*, 11. Copépodos (*Tropocyclops prassinus* y *Macrocyclus fuscus*).

Sitio 2 (*Typha latifolia*)

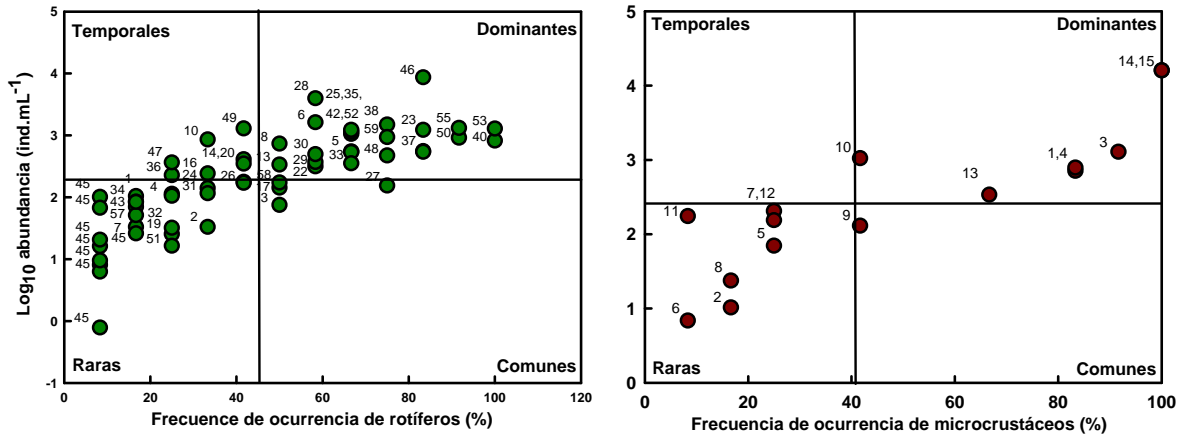


Figura 8. Distribución de frecuencias y abundancias de los rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha)

encontrados en el sitio 2 en presencia de *Typha latifolia*. Rotíferos: 1. *Ascomospha saltans*, 2. *Asplanchna priodonta*, 3. *Asplanchnopus multiceps*, 4. *Beauchampiella eudactylota*, 5. *Cephalodella gibba*, 6. *C. ventripes*, 7. *Collotheca* sp., 8. *Colurella obtusa*, 9. *C. uncinata*, 10. *Conochilus unicornis*, 11. *Cupelopagis vorax*, 12. *Dicranophorus caudatus*, 13. *D. epicharis*, 14. *D. forcipatus*, 15. *D. grandis*, 16. *Euchlanis dilatata*, 17. *E. incisa*, 18. *Floscularia ringens*, 19. *Kellicotia bosteniensis*, 20. *Keratella cochlearis*, 21. *Lecane aculeata*, 22. *L. bulla*, 23. *L. closterocerca*, 24. *L. flexilis*, 25. *L. furcata*, 26. *L. hamata*, 27. *L. ludwigi*, 28. *L. luna*, 29. *L. lunaris*, 30. *L. ohioensis*, 31. *L. pyriformis*, 32. *L. stichaea*, 33. *Lepadella acuminata*, 34. *L. ovalis*, 35. *L. patella*, 36. *L. rhomboides*, 37. *L. triptera*, 38. *Lindia janickii*, 39. *Lophocaris salpina*, 40. *Monommata ardniti*, 41. *Mytilina bisulcata*, 42. *M. ventralis*, 43. *Notommata glyphura*, 44. *N. pachyura*, 45. *Platylas quadricornis*, 46. *Polyarthra vulgaris*, 47. *Scaridium longicaudum*, 48. *Squatinella mutica*, 49. *Synchaeta pectinata*, 50. *Testudinella emarginula*, 51. *T. patina*, 52. *Trichocerca bidens*, 53. *T. elongata*, 54. *T. longiseta*, 55. *T. porcellus*, 56. *T. ruttneri*, 57. *T. similis*, 58. *T. tigris*, 59. *Tricotria pocillum*, 60. *T. tetractis*. Microcrustáceos: 1. *Alona guttata*, 2. *Alonella* cf. *excisa*, 3. *Ceriodaphnia* cf. *dubia*, 4. *Chydorus brevilabris*, 5. *Daphnia mendotae*, 6. *Dunhevedia odontoplax*, 7. *Eurycercus lamellatus*, 8. Harpacticoideo, 9. *Ilyocryptus spinifer*, 10. *P. denticulatus*, 11. *Pseudochydorus globosus*, 12. *Scapholeberis* cf. *kingii*, 13. *Simocephalus serrulatus*, 14. Copépodos (*Tropocyclops prassinus* y *Macrocyclus fuscus*).

Sitio 3 (*Egeria densa*)

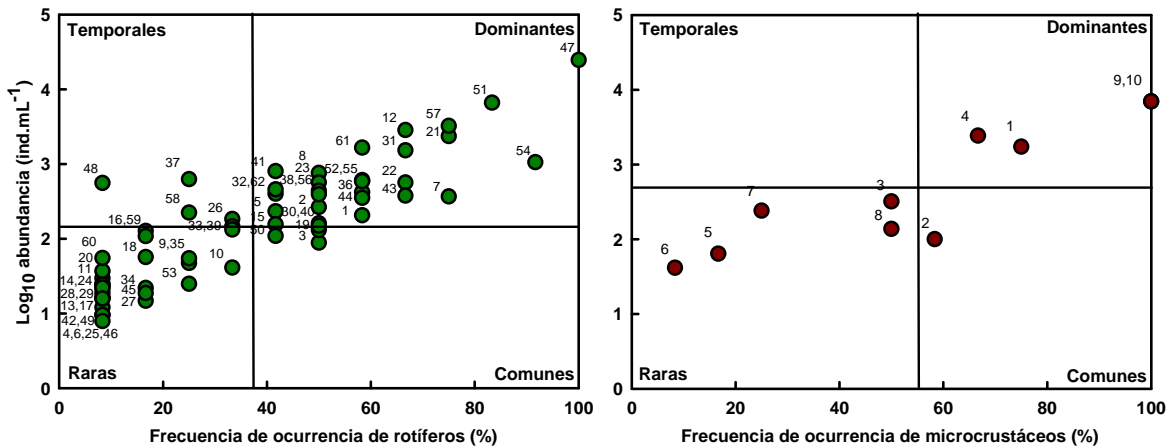


Figura 9. Distribución de frecuencias y abundancias de los rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha) encontrados en el sitio 3 en presencia de *Egeria densa*. Rotíferos: 1. *Ascomorpha saltans*, 2. *Asplanchna priodonta*, 3. *Asplanchnopus multiceps*, 4. *Beauchampia crucígera*, 5. *Beauchampiella eudactylota*, 6. *Brachionus havanaensis*, 7. *Cephalodella gibba*, 8. *C. ventripes*, 9. *Collotheca* sp., 10. *Colurella obtusa*, 11. *C. uncinata*, 12. *Conochilus unicornis*, 13. *Cupelopagis vorax*, 14. *Dicranophorus caudatus*, 15. *D. epicharis*, 16. *D. forcipatus*, 17. *D. grandis*, 18. *Euchlanis dilatata*, 19. *E. incisa*, 20. *Kellicotia bosteniensis*, 21. *Keratella cochlearis*, 22. *L. bulla*, 23. *L. closterocerca*, 24. *L. curvicornis*, 25. *L. flexilis*, 26. *L. furcata*, 27. *L. hamata*, 28. *L. hornemanni*, 29. *L. inermis*, 30. *L. ludwigi*, 31. *L. luna*, 32. *L. lunaris*, 33. *L. ohioensis*, 34. *L. pyriformis*, 35. *L. stichaea*, 36. *Lepadella acuminata*, 37. *L. ovalis*, 38. *L. patella*, 39. *L. rhomboides*, 40. *L. triptera*, 41. *Lindia janickii*, 42. *Lophocaris salpina*, 43. *Monommata, ardniti*, 44. *M. ventralis*, 45. *N. pachyura*, 46. *Platyias quadricornis*, 47. *Polyarthra vulgaris*, 48. *Scaridium longicaudum*, 49. *Sinantherina socialis*, 50. *Squatinella mutica*, 51. *Synchaeta pectinata*, 52. *Testudinella emarginula*, 53. *T. patina*, 54. *Trichocerca bidens*, 55. *T. elongata*, 56. *T. longiseta*, 57. *T. porcellus*, 58. *T. rutneri*, 59. *T. similis*, 60. *T. tigris*, 61. *Tricotria pocillum*, 62. *T. tetractis*. Microcrustaceos: 1. *Alona guttata*, 2. *Bosmina longirostris*, 3. *Ceriodaphnia* cf. *dubia*, 4. *Chydorus brevilabris*, 5. *Daphnia mendotae*, 6. *Dunhevedia odontoplax*, 7. *Pleuroxus denticulatus*, 8. *Simocephalus serrulatus*, 9. Copépodos (*Tropocyclops prassinus* y *Macrocyclus fuscus*).

Sitio 4 (*Nymphoides fallax*)

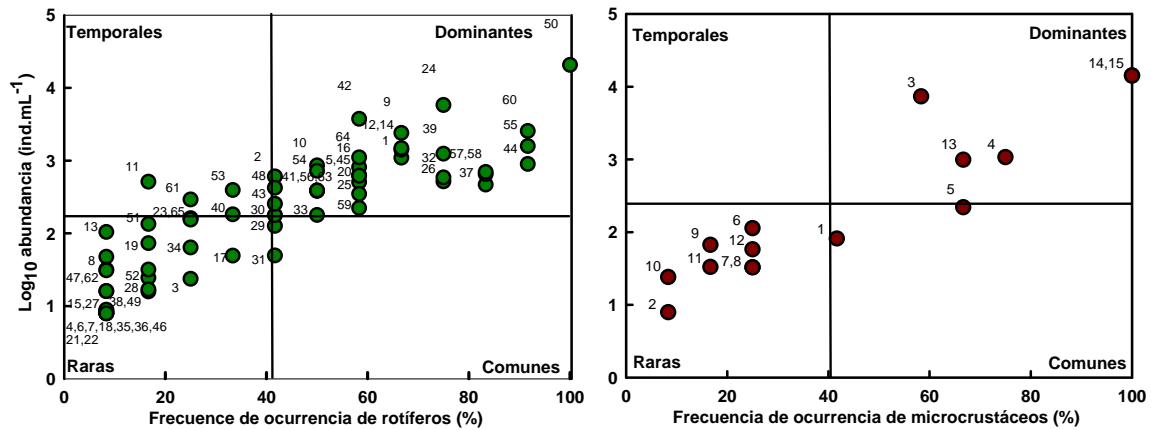


Figura 10. Distribución de frecuencias y abundancias de los rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha)

encontrados en el sitio 4 en presencia de *Nymphoides fallax*. Rotíferos: 1. *Ascomorpha saltans*, 2. *Asplanchna priodonta*, 3. *Asplanchnopus multiceps*, 4. *Beauchampia crucígera*, 5. *Beauchampiella eudactylota*, 6. *Brachionus calyciflorus*, 7. *B. havanaensis*, 8. *Cephalodella forficula*, 9. *C. gibba*, 10. *C. ventripes*, 11. *Collotheca* sp., 12. *Colurella obtusa*, 13. *C. uncinata*, 14. *Conochilus unicornis*, 15. *Cupelopagis vorax*, 16. *D. epicharis*, 17. *D. forcipatus*, 18. *D. grandis*, 19. *Euchlanis dilatata*, 20. *E. incisa*, 21. *Filinia longiseta*, 22. *Floscularia ringens*, 23. *Kellicotia bosteniensis*, 24. *Keratella cochlearis*, 25. *L. bulla*, 26. *L. closterocerca*, 27. *L. curvicornis*, 28. *L. flexilis*, 29. *L. furcata*, 30. *L. hamata*, 31. *L. hornemanni*, 29. *L. inermis*, 31. *L. ludwigi*, 32. *L. luna*, 33. *L. lunaris*, 34. *L. ohioensis*, 34. *L. pyriformis*, 35. *L. stichaea*, 36. *L. unguitata*, 37. *Lepadella acuminata*, 38. *L. ovalis*, 39. *L. patella*, 40. *L. rhomboides*, 41. *L. triptera*, 42. *Lindia janickii*, 43. *Lophocaris salpina*, 44. *Monommata ardniti*, 45. *M. ventralis*, 46. *Notommata glyphura*, 47. *N. pachyura*, 48. *Plationus patulus*, 49. *Platylas quadricornis*, 50. *Polyarthra vulgaris*, 51. *Scaridium longicaudum*, 52. *Sinantherina socialis*, 53. *Squatinella mutica*, 54. *Synchaeta pectinata*, 55. *Testudinella emarginula*, 56. *T. patina*, 57. *Trichocerca bidens*, 58. *T. elongata*, 59. *T. longiseta*, 60. *T. porcellus*, 61. *T. ruttneri*, 62. *T. similis*, 63. *T. tigris*, 64. *Tricotria pocillum*, 65. *T. tetractis*. Microcrustáceos: 1. *Alona guttata*, 2. *Alonella* cf. *excisa*, 3. *Bosmina longirostris*, 4. *Ceriodaphnia* cf. *dubia*, 5. *Chydorus brevilabris*, 6. *Daphnia mendotae*, 7. *Eurycercus lamellatus*, 8. Harpacticóideo, 9. *Ilyocryptus spinifer*, 10. *Moina macrocopa*, 11. *Pleuroxus* cf. *denticulatus*, 12. *Scapholeberis* cf. *kingii*, 13. *Simocephalus serrulatus*, 14. Copépodos (*Tropocyclops prassinus* y *Macrocyclus fuscus*).

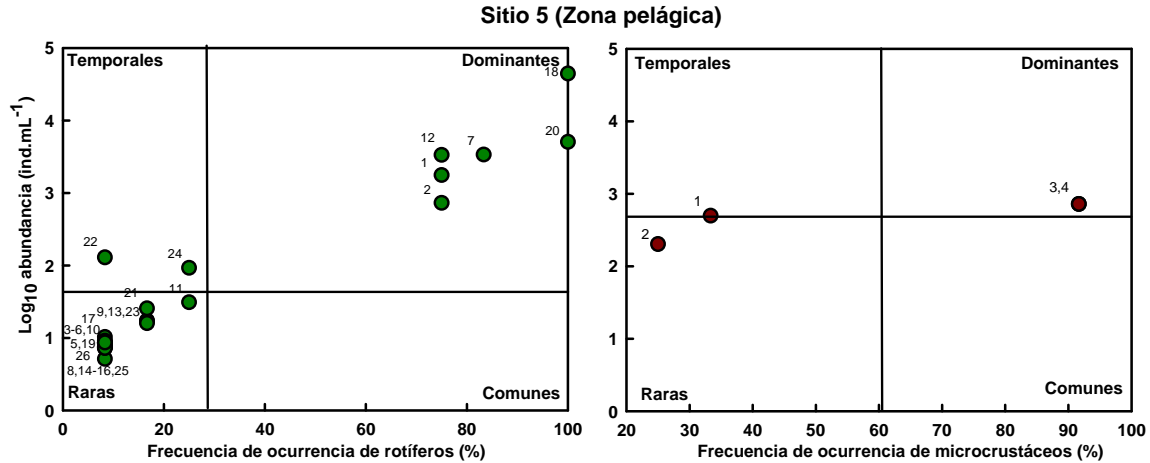


Figura 11. Distribución de frecuencias y abundancias de los rotíferos (izquierda) y microcrustáceos (derecha) encontrados en el sitio 5 (zona pelágica) sin presencia de vegetación acuática. Rotíferos: 1. *Ascomospha saltans*, 2. *Asplanchna priodonta*, 3. *Brachionus angularis*, 4. *B. quadridentatus*, 5. *C. ventripes*, 6. *Collotheca* sp., 7. *Conochilus unicornis*, 8. *Dicranophorus caudatus*, 9. *D. forcipatus*, 10. *Hexarthra mira*, 11. *Kellicotia bosteniensis*, 12. *Keratella cochlearis*, 13. *L. luna*, 14. *L. rhomboides*, 15. *Lindia janickii*, 16. *Lophocaris salpina*, 17. *Monommata ardniti*, 18. *Polyarthra vulgaris*, 19. *Sinantherina socialis*, 20. *Synchaeta pectinata*, 21. *Testudinella emarginula*, 22. *Trichocerca bidens*, 23. *T. porcellus*, 24. *T. ruttneri*, 25. *Tricotria pocillum*, 26. *T. tetractis*. Microcrustáceos: 1. *Bosmina longirostris*, 2. *Daphnia mendotae*, 3. Copépodos (*Tropocyclops prassinus* y *Macrocyclus fuscus*).

4.4.1 Rotíferos

De acuerdo con las gráficas de frecuencia vs abundancia las especies de rotíferos más importantes fueron (en orden de importancia): *Polyarthra vulgaris*, *Monommata ardniti*, *Trichocerca porcellus*, *Synchaeta pectinata*, *Trichocerca elongata*, *Testudinella emarginula*, *Keratella cochlearis* y *Lecane closterocerca*. *P. vulgaris* y *S. pectinata* dominaron la zona pelágica; *K. cochlearis* y *T. emarginula* dominaron el sitio 4 mientras que *L. closterocerca*, *T. elongata*, *T. porcellus* dominaron los sitios con *E. densa* y *M. ardniti* estuvo representada de manera similar en los sitios 1, 2 y 4.

Dentro del grupo de los rotíferos, *Polyarthra vulgaris* (Fig. 12a) fue la especie que tuvo más presencia a lo largo del año con abundancias de hasta 1171 ± 28 ind.L⁻¹ durante el mes de septiembre en el sitio 5 y presentó otros dos picos durante julio y mayo (942 ± 77 ind.L⁻¹ y 750 ± 37 ind.L⁻¹ respectivamente). También se puede observar que la abundancia de esta

especie incrementó en los sitios 1, 3 y 4 después de la remoción de *Egeria densa*, lo cual no sucedió en la zona pelágica. La segunda especie con más dominancia fue *Monommata ardniti* (Fig. 12b), sus abundancias llegaron hasta $45 \pm 8 \text{ ind.L}^{-1}$ en el sitio 1 (*Egeria densa*). Además se puede ver que tiene varios picos de abundancia a lo largo del año en diferentes sitios y su abundancia se vio reducida después de la remoción de la macrófita, sin embargo se recuperó rápido. Con respecto a *Trichocerca porcellus* (Fig. 12c) se registraron abundancias de hasta $150 \pm 12 \text{ ind.L}^{-1}$ en el sitio 1 (*E. densa*) durante el mes de enero sin embargo también se observaron otros picos en el sitio 3 (*E. densa*) y 4 (*N. fallax*) que predominaron en la época fría. *Synchaeta pectinata* (Fig. 12d) alcanzó densidades de hasta $596 \pm 26 \text{ ind.L}^{-1}$ durante el mes de octubre en el sitio 3 (*E. densa*), esta especie presentó otros dos picos en septiembre y octubre (216 ± 21 y $229 \pm 21 \text{ ind.L}^{-1}$ respectivamente) en la zona pelágica. El resto de los meses dominó en la zona pelágica presentando densidades bajas ($< 10 \text{ ind.L}^{-1}$). *Trichocerca elongata* (Fig. 1e) dominó la zona 1 (*E. densa*) con abundancias que llegaron hasta los $77 \pm 4 \text{ ind.L}^{-1}$ en diciembre, seguido de otros dos picos en noviembre ($27 \pm 5 \text{ ind.L}^{-1}$) y enero ($32 \pm 5 \text{ ind.L}^{-1}$) en el mismo sitio. Se observó una clara reducción en su abundancia en los sitios 1, 2 y 3 después de la remoción de la macrófita. *Testudinella emarginula* (Fig. 12f) llegó hasta los $55 \pm 6 \text{ ind.L}^{-1}$ en mayo en el sitio 4 (*T. latifolia*) donde dominó en mayor porcentaje. Sin embargo, también alcanzó abundancias similares (34 y 37 ind.L^{-1}) en los sitios 1 y 2 respectivamente. Con respecto a *Keratella cochlearis* (Fig. 12g) se puede distinguir que parece ser afectada por las bajas temperaturas ya que sus abundancias llegaron a cero durante enero y febrero en los cinco sitios, mientras que en la temporada cálida alcanzó densidades de hasta 243 ± 46 y $250 \pm 36 \text{ ind.L}^{-1}$ en septiembre (sitio 5) y mayo (sitio 4) respectivamente. Para *Lecane closterocerca* (Fig. 12h) las máximas abundancias encontradas llegaron a los $47 \pm 8 \text{ ind.L}^{-1}$ en el mes de abril en el sitio 2, sin embargo durante la mayoría de los meses fue más abundante en el sitio 1 (*E. densa*) y no fue encontrada en la zona pelágica.

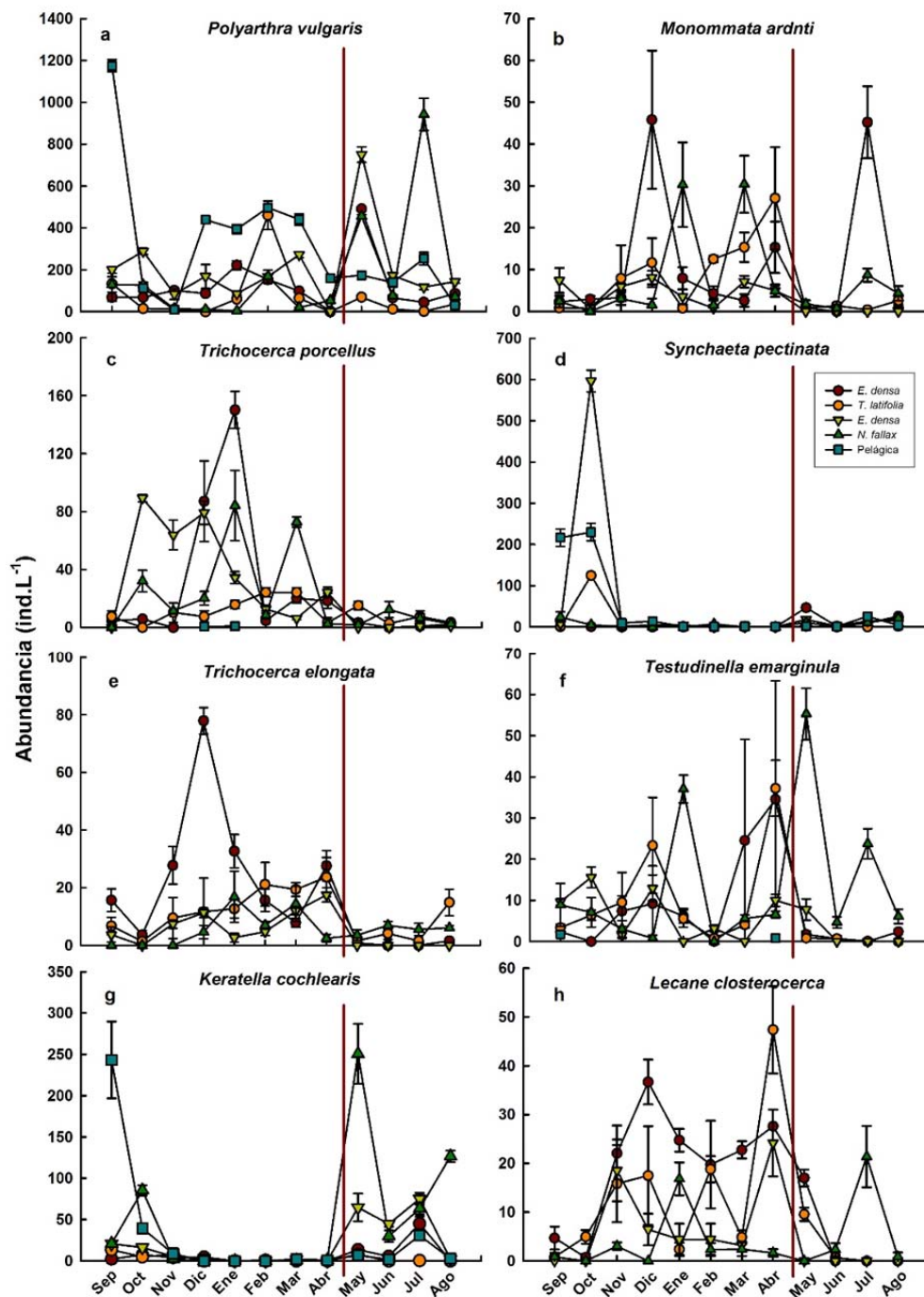


Figura 12. Variación estacional de la abundancia de: a) *Polyarthra vulgaris*, b) *Monommata ardniti*, c) *Trichocerca porcellus*, d) *Synchaeta pectinata* e) *Trichocerca elongata*, f) *Testudinella emarginula*, g) *Keratella cochlearis* y h) *Lecane closterocerca* encontrados en los 5 sitios de muestreo en la Presa Benito Juárez durante el periodo de septiembre de 2012 a agosto de 2013. La línea roja vertical marca el momento de la remoción de *E. densa*. Error estándar basado en 3 réplicas. Note que las escalas del eje Y son diferentes.

4.4.2 Microcrustáceos

Dentro de este grupo se incluyeron a los cladóceros y los copépodos dominantes encontrados en la Presa Benito Juárez (Fig. 13). Con respecto a las gráficas de frecuencia vs abundancia los microcrustáceos (cladóceros) más dominantes fueron: *Alona guttata* (a), *Ceriodaphnia* cf. *dubia* (b), *Chydorus brevilabris* (c), *Simocephalus serrulatus* (d) y *Daphnia mendotae* (e), seguidos de los copépodos (nauplios (f), copepoditos (g) y adultos (h)). Los nauplios fueron el grupo más abundante del cual se contabilizaron hasta 784 ± 18 ind.L⁻¹ en el sitio 4 durante el mes de julio, sin embargo a lo largo de año mostraron varios picos de abundancias superiores a los 300 ind.L⁻¹ en distintos sitios de la zona litoral, mientras que en la zona pelágica mostraron abundancias bajas (<40 ind.L⁻¹). Con respecto a los copepoditos se observó una máxima abundancia de 551 ± 30 ind.L⁻¹ durante el mes de abril en el sitio 2 (*T. latifolia*). Además, se pudo ver que en los sitios 1, 2 y 4, este grupo de organismos presentó sus mayores abundancias a lo largo del año siendo el sitio 5 donde se encontraron las abundancias más bajas. Los adultos fueron más abundantes en el sitio 4 (*N. fallax*) durante el mes de agosto (72 ± 10 ind.L⁻¹), sin embargo también presentaron altas abundancias en los sitios 1, 2 y 4. No se encontró ningún organismo en esta etapa de desarrollo en el sitio 5 (zona pelágica).

Respecto a los cladóceros (Fig. 13), *Alona guttata* (a) mostró una preferencia por el sitio 3 (*Egeria densa*) donde alcanzó abundancias de hasta 49 ± 8 ind.L⁻¹ durante el mes de febrero, además mostró otro pico de 47 ± 2 ind.L⁻¹ durante el mes de octubre en el sitio 1 (*E. densa*). Sus abundancias más bajas se vieron después de la remoción de *E. densa* (entre mayo y agosto). Con respecto a *Ceriodaphnia* cf. *dubia* (b) se pudo ver que este cladóceros alcanzó sus mayores abundancias (56 ± 8 ind.L⁻¹) en el sitio 4 (*N. fallax*), sin embargo la mayoría del año alcanzó sus mayores densidades en el sitio 2 (*T. latifolia*). Las mayores densidades registradas para *Chydorus brevilabris* fueron de 92 ± 7 ind.L⁻¹ en el sitio 3 (*E. densa*), también se puede ver que esta especie prefiere la época entre enero y abril, sin embargo sus abundancias se vieron reducidas al remover la macrófita.

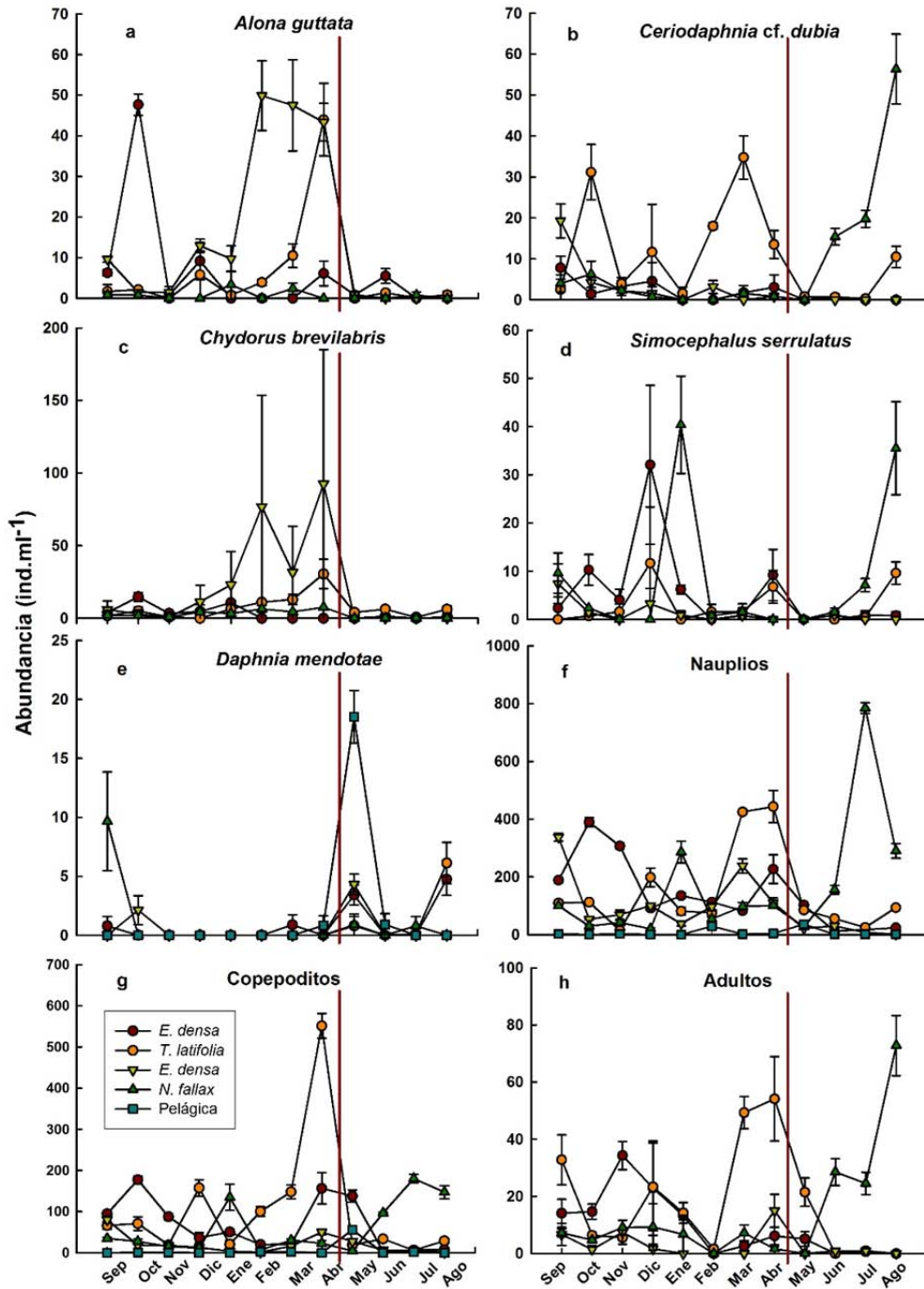


Figura 13. Variación estacional de la abundancia de: a) *Alona guttata* b) *Ceriodaphnia cf. dubia*, c) *Chydorus brevilabris*, d) *Simocephalus serrulatus*, e) *Daphnia mendotae*, f) nauplios, g) copepoditos y h) adultos de copépodo encontrados en los 5 sitios de muestreo en la Presa Benito Juárez durante el periodo de septiembre de 2012 a Agosto de 2013. La línea roja vertical marca el momento de la remoción de *E. densa*. Error estándar basado en 3 réplicas. Note que las escalas del eje Y son diferentes.

De acuerdo con lo registrado para *Simocephalus serrulatus* (e) se puede observar que este cladóceros llegó hasta los $40 \pm 10 \text{ ind.L}^{-1}$ en el sitio 4 durante el mes de enero, sin embargo presenta un segundo pico ($35 \pm 9 \text{ ind.L}^{-1}$) en el mismo sitio durante el mes de agosto. También se puede ver que esta especie presentó mayores abundancias en el sitio 1 y 3 (*E. densa*). Con respecto a *Daphnia mendotae* (d), se vio que su máxima abundancia ($18 \pm 2 \text{ ind.L}^{-1}$) se alcanzó durante el mes de mayo en la zona pelágica, sin embargo fue encontrada en todos los sitios con abundancias menores. Se resalta que *A. guttata*, *C. cf. dubia*, *Chydorus brevilabris* y *S. serrulatus* no fueron encontrados en el sitio 5 (zona pelágica).

4.5 Análisis de correspondencia canónica (redundancia).

En la figura 14 se puede ver el análisis de correspondencia canónica realizado para todas las muestras, donde se consideraron 10 variables ambientales y 27 géneros que agrupaban a 54 especies. Se descartaron las especies raras.

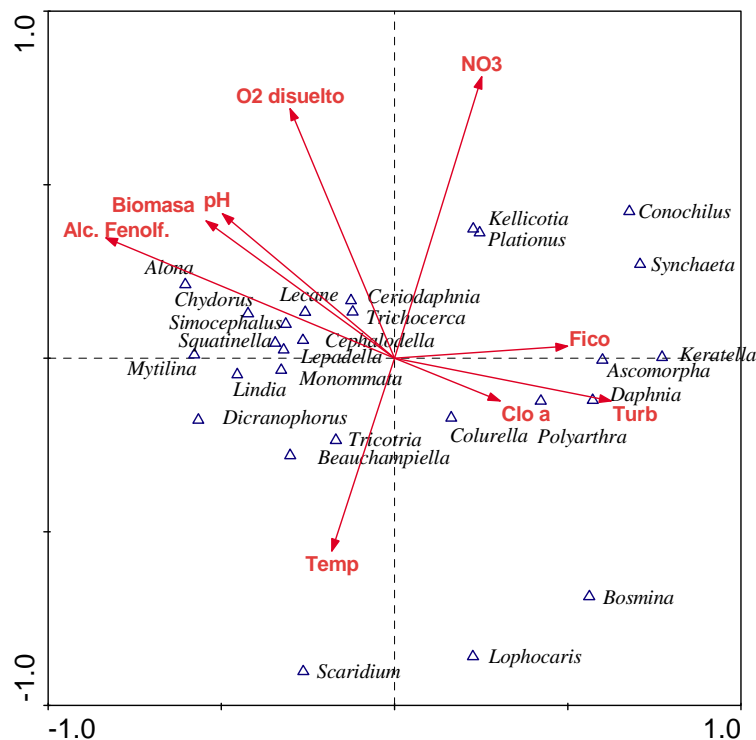


Figura 14. Análisis de correspondencia canónica (redundancia) de las principales variables ambientales y las especies más frecuentes encontradas en los 5 sitios de muestreo de la Presa Benito Juárez durante el periodo de septiembre de 2012 a agosto de 2013. Eje 1 y 3.

Se puede ver que *Ascomorpha*, *Colurella*, *Polyarthra*, *Keratella*, *Kellicotia* y *Daphnia* muestran una fuerte relación con la turbidez, los pigmentos y los nitratos, los cuales entre ellos están relacionados. También se puede ver que *Lecane*, *Trichocerca*, *Cephalodella*, *Lepadella*, *Alona*, *Chydorus*, *Simocephalus* y *Ceriodaphnia* están relacionados con el pH, la alcalinidad a la fenolftaleína y el oxígeno disuelto. Los copépodos no mostraron relación con ninguna de las variables registradas por lo que fueron excluidos de la gráfica.

4.6 Análisis de similitud de comunidades (Índice de Morisita).

En la figura 15 (primer bloque) se puede ver que 7 de 8 comunidades pertenecientes a la zona pelágica se agruparon juntas cercanas a sitios con *N. fallax* y *T. latifolia* del mes de febrero mientras que seis sitios con presencia de *E. densa* se agruparon en el otro extremo del dendrograma, sin embargo el resto de las comunidades litorales aparecieron mezcladas indistintamente de la especie de macrófita y del mes de muestreo. En el segundo dendrograma (Fig. 16) se puede observar que después de la remoción de *E. densa* los sitios donde se encontraba esta macrófita mostraron alta similitud con la zona pelágica formando un grupo en el dendrograma, mientras que los sitios con *T. latifolia* y *N. fallax* formaron otro grupo.

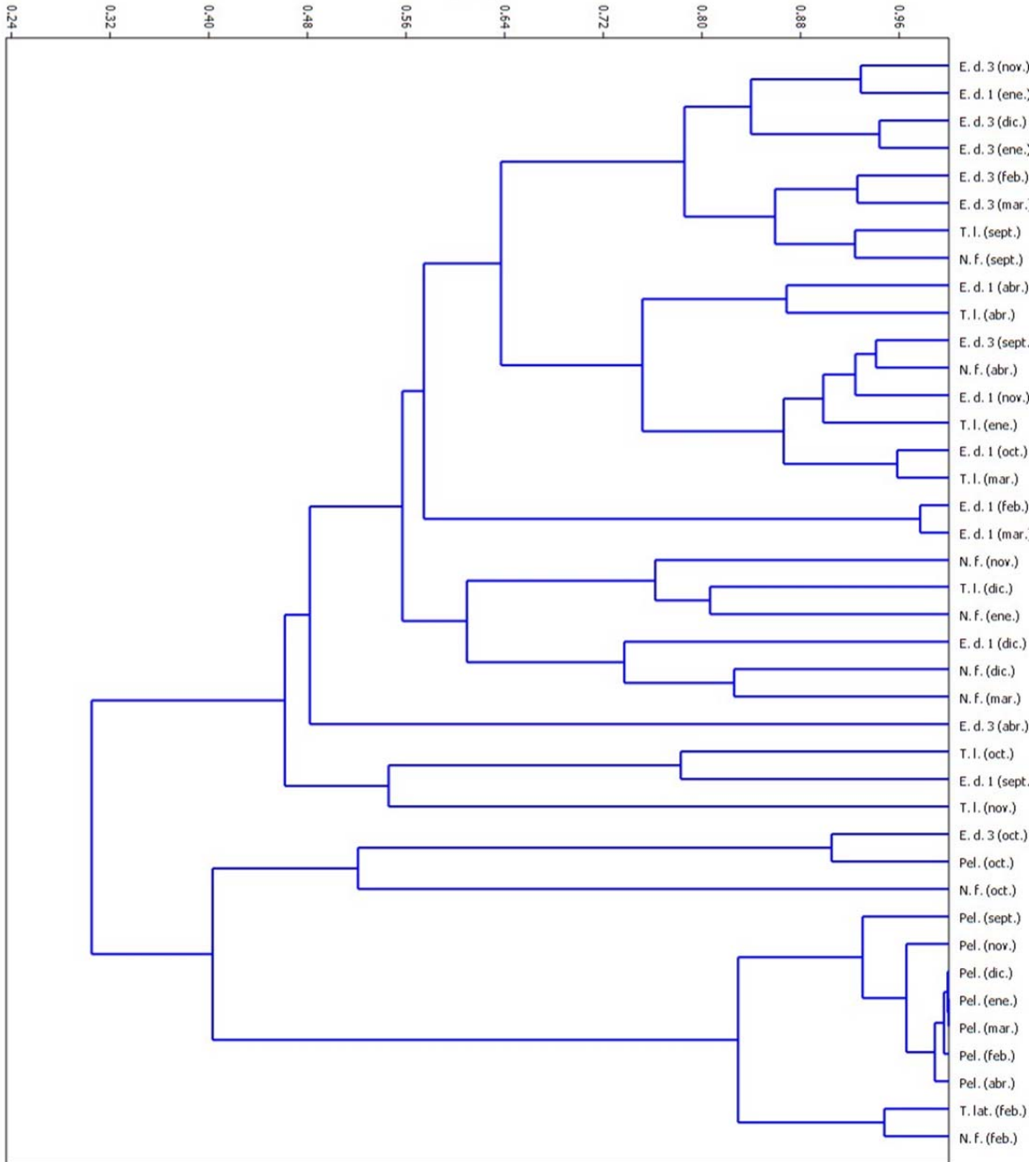


Figura 15. Dendrograma de similitud entre comunidades con el índice de Morisita y el algoritmo por agrupación en pares (coeficiente de correlación de 0.75) antes de la remoción de *Egeria densa*.

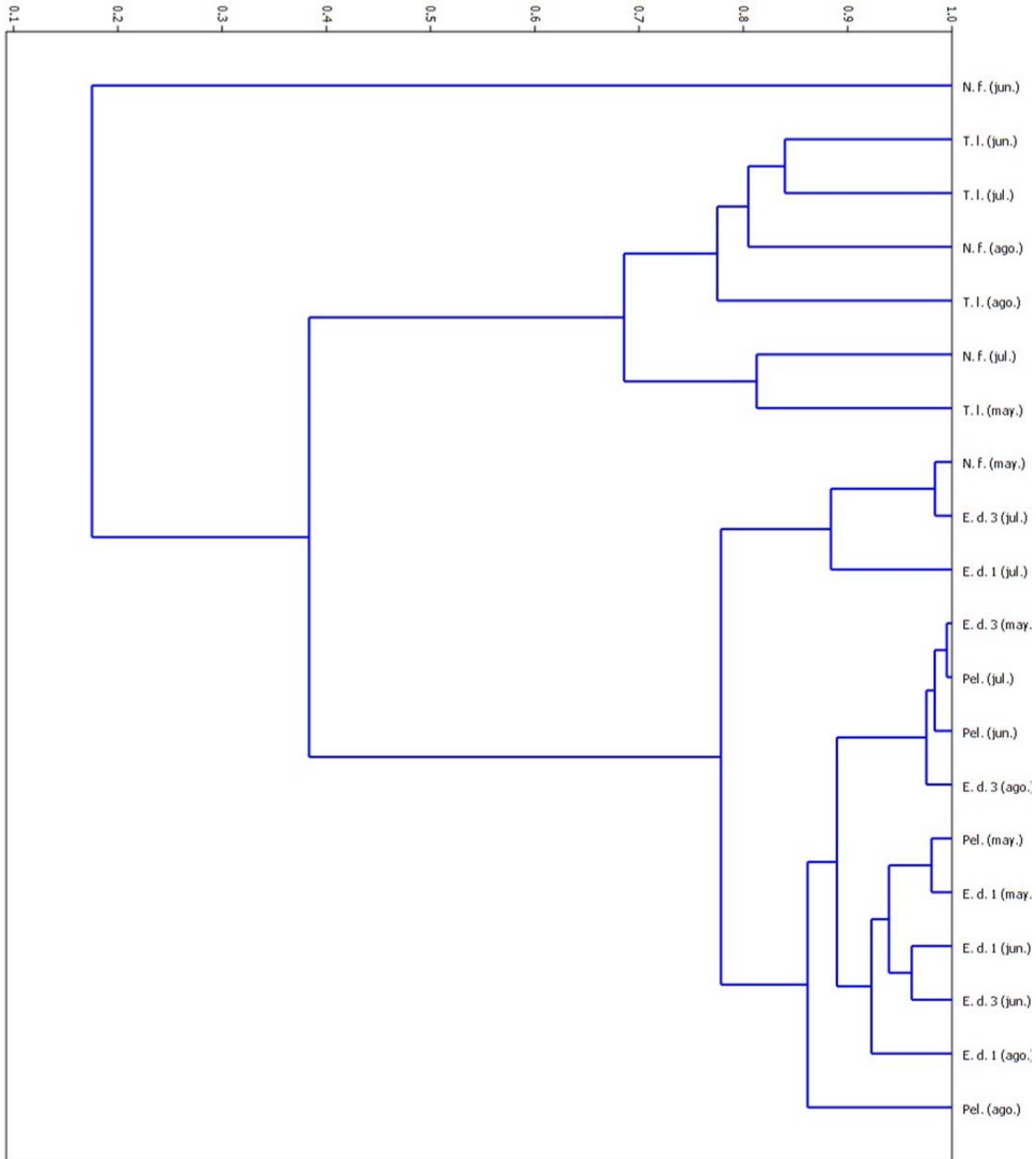


Figura 16. Dendrograma de similitud de comunidades con el índice de Morisita y el algoritmo por agrupación en pares (coeficiente de correlación de 0.86) después de la remoción de *Egeria densa*.

5. Discusión

La mayoría de estudios acerca del zooplancton se ha enfocado más al estudio de la zona limnética (Pennak, 1966). Sin embargo, en años recientes ha incrementado el interés acerca de las dinámicas de este grupo de organismos en lagos someros y cómo es que sus

interrelaciones con otros grupos de organismos nos pueden ayudar a mejorar la calidad del agua (Jeppesen *et al.*, 1998; Meerhoff *et al.*, 2007). En la literatura existe una gran cantidad de información acerca de estos sistemas y se sabe que la limitación de recursos (control ascendente) y la presión de la depredación (control descendente) son las principales fuerzas que estructuran la comunidad del zooplancton (Gliwicz, 2002; Iglesias *et al.*, 2007). Todavía no es claro el papel que las macrófitas juegan en su interacción con el zooplancton, especialmente con las macrófitas invasoras, que de acuerdo con la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (actualmente Unión Mundial para la Naturaleza), son especies que tiene la capacidad de colonizar, invadir y persistir, cuya introducción y dispersión amenazan la diversidad biológica, causando daños al ambiente, a la economía y a la salud humana (Bonilla-Barbosa y Santamaría, 2014). En este sentido, se evaluó como es que la macrófita invasora *Egeria densa* modifica la calidad del agua y la estructura de la comunidad de zooplancton en comparación con otros sitios con diferentes especies de macrófitas (*Typha latifolia* y *Nymphoides fallax*) así como en ausencia de las mismas (zona pelágica).

Con respecto a la temperatura, se observaron valores más elevados en la zona de macrófitas en comparación con la zona pelágica. Las diferencias de temperatura entre la zona litoral y la zona pelágica (de hasta 8°C) son marcadas debido a que la arquitectura de las macrófitas frena el oleaje permitiendo que el agua superficial de esta zona no se mezcle y alcance mayores temperaturas, lo cual podría impactar la fisiología del zooplancton presente en esa zona, sin embargo las implicaciones de esto no fueron evaluadas (Carpenter y Lodge, 1986; Burks *et al.*, 2002). Cuando las macrófitas sumergidas son abundantes, la concentración de oxígeno puede llegar a ser mucho mayor que en la zona pelágica debido a la actividad fotosintética durante el día, mientras que en la noche puede llegar a la anoxia sobre todo en los sistemas con una gran carga de materia orgánica (Wetzel, 2001). El efecto de la presencia/ausencia de oxígeno en el sedimento de la zona litoral de los lagos incluye la alteración en la retención de metales (Fe, Zn, Mg, etc.) y nutrientes (P y N principalmente), en la modificación diaria del pH y de los procesos de óxido-reducción (Wigand *et al.*, 1997), de esta manera cuando el oxígeno está ausente ocurre la reducción de las formas de fósforo y nitrógeno las cuales no pueden ser asimiladas por la mayoría de los organismos,

mientras que en presencia de oxígeno los procesos de oxidación durante el día hacen disponibles estos nutrientes esenciales (Henssen *et al.*, 2006), debido a esto, en algunos sistemas donde la productividad es alta, estos elementos llegan a ser limitantes durante el día. La limitación de CO₂ llega a ocurrir en camas de macrófitas cuando existe una alta productividad. En general, las macrófitas pueden usar CO₂ libre y bicarbonato como fuente de carbono lo cual provoca la acumulación de otro tipo de iones (OH⁻, CO₃⁻² y el HCO₃⁻) en el medio (Pierini y Thomaz, 2004). La acumulación de estos iones, puede influenciar la especiación del carbono inorgánico disuelto provocando una variación diurna sobre el pH, lo que se traduce en un medio básico durante el día (debido a la fotosíntesis) y ácido durante la noche (debido a la respiración) (Wetzel, 2001).

La intensidad de la modificación de las variables mencionadas, depende del tipo de macrófita presente (emergentes, sumergidas o flotadoras libres) así como de su densidad, de esta manera una mayor densidad de planta provocará un mayor efecto sobre los factores mencionados (Scheffer, 2004). Comparando con la zona pelágica, la tendencia de los datos muestra que *Nymphoides fallax* (macrófita flotadora) tuvo un menor impacto en la modificación de algunas variables ambientales como el pH, el oxígeno, la temperatura y la alcalinidad a la fenolftaleína seguido por *Typha latifolia* (macrófita emergente), mientras que *Egeria densa* (macrófita sumergida) tuvo el efecto más fuerte mientras estuvo presente. Esta diferencia en el efecto sobre las variables ambientales depende de la forma de crecimiento de las macrófitas ya que en las plantas flotadoras la interacción entre las hojas de las plantas y el sistema acuático es menor debido a que el carbono inorgánico lo obtienen de la atmósfera y el oxígeno producido también es liberado a la atmósfera ya que las hojas no están sumergidas, mientras que las plantas emergentes pueden tomar el carbono orgánico del aire y el agua sin embargo, las macrófitas sumergidas dependen completamente de lo que hay en el agua y sus productos metabólicos terminan ahí mismo (Kalff, 2003; Scheffer, 2004; Meehorff, 2006).

Cabe mencionar que la turbidez incrementó después de la remoción de la macrófita, sin embargo coincidió con el inicio de las lluvias lo cual, se corrobora con la profundidad de disco de Secchi que sólo fue registrada en la zona pelágica (sitio 5) donde la mayor

transparencia se registró durante el mes de marzo que coincide con el valor más bajo de turbidez (Fig. 3). En este sentido, se ha observado que el incremento de las tasas de sedimentación y la reducción de las tasas de resuspensión provocada por la arquitectura de las macrófitas reducen la turbidez, lo que origina un incremento en la disponibilidad de luz para las macrófitas y el perifiton. Esta condición promueve el crecimiento de las macrófitas y por lo tanto la disponibilidad de este recurso (alimento, refugio, etc.) para las especies litorales (Madsen *et al.*, 2001).

Con respecto a los nutrientes, se ha reportado que para el nitrógeno en zonas litorales existe una dinámica diurna de óxido-reducción que libera y secuestra nutrientes constantemente debido a las altas tasas fotosintéticas y de respiración que existen en esta zona (Jones y Simon, 1981; Kalff, 2003), lo cual corresponde más con nuestros datos donde los valores de nitratos de la zona litoral fueron mayores que los de la zona pelágica. En general, las dinámicas estacionales de los nutrientes en la zona litoral difieren del patrón típico observado en zonas pelágicas, ya que en estas últimas hay una continua pérdida de nutrientes hacia el sedimento (Scheffer, 2004; Holmroos *et al.*, 2015).

Con respecto a los pigmentos, tampoco se observó una diferencia muy grande entre sitios, ya que en general, los máximos por mes no fueron observados en la zona pelágica como se esperaba de acuerdo a la hipótesis de los estados alternativos (Scheffer *et al.*, 1993; Scheffer *et al.*, 1994; Scheffer y Carpenter, 2003), sino por el contrario, lo que observamos es que en la mayoría de los meses la clorofila *a* no difería mucho entre sitios (Fig. 3). Aunque algo que sí concuerda con dicha hipótesis, es que al remover la macrófita se pudo observar un fuerte incremento en todos los pigmentos lo cual se vio también reflejado en la turbidez. Sin embargo, para poder asegurar que este incremento fue debido a la remoción de la macrófita sería necesario conocer como es la dinámica completa del sistema sin remoción de la macrófita y desafortunadamente no hay estudios previos en la Presa Benito Juárez. Relacionado a nuestro estudio, Booker y Cheruvellil, (2011) reportaron que la cantidad y calidad de alimento de origen fitoplanctónico era similar en la zona litoral en presencia de varias especies de macrófitas en comparación con la encontrada en la zona pelágica.

Otra cuestión interesante fue que la tendencia denota que en la zona litoral la clorofila *a* total fue menor en los sitios con *E. densa* (sitios 1 y 3). De acuerdo con el análisis de actividad alelopática realizado a *E. densa* (capítulo 4), se pudo observar que esta macrófita tiene la capacidad de inhibir diferencialmente algunas especies de fitoplancton que residen en este sistema (*Monoraphidium* sp. y *Nitzschia palea*) por lo que podría estar relacionado con nuestras observaciones. Con respecto a esto, Mulderij *et al.* (2003) encontraron que (*Chara* spp.) inhibía diferencialmente a diferentes especies de algas verdes, por ejemplo, observaron un efecto negativo sobre *Selenastrum capricornutum* y *Chlorella minutissima*, que no fue observado para *Scenedesmus obliquus*. Sin embargo se requieren más estudios para poder asegurar que la menor cantidad de clorofila *a* en los sitios con *E. densa* se debe a mecanismos alelopáticos y no a otro tipo de interacción como el forrajeo o la competencia por recursos (Gross *et al.*, 2007; Willis, 2007).

Con respecto a la cobertura y biomasa de *Egeria densa* (Fig. 4) se puede observar que después de septiembre hubo un decremento de la cobertura y un incremento de la biomasa conforme a los muestreos. Las variaciones de estas variables están relacionadas con la época de lluvias ya que en septiembre de 2012 terminó el periodo de lluvias y el nivel de la presa comenzó a disminuir gradualmente, lo que concentró la planta en un menor volumen de agua (con respecto a la columna de agua) donde se registraron valores desde 531 ± 145 hasta 1373 ± 121 g PS.m⁻³. Estos valores son ligeramente superiores a los reportados por Carrillo *et al.* (2006) en una presa en Colombia (El Neusa, 2970 msnm) infestada por la misma macrófita donde mencionan densidades de hasta 1155 g PS.m⁻³.

El papel ecológico de las macrófitas sumergidas en lagos someros ha sido estudiado más a fondo en regiones templadas y no es claro su efecto en zonas tropicales y subtropicales (van Donk y van de Bund, 2002; Meerhoff *et al.*, 2007; Vanderstukken *et al.*, 2011). En este estudio se encontraron un total de 98 especies de zooplancton (82 rotíferos, 13 cladóceros y 3 copépodos; Tabla 1), lo cual concuerda con otros estudios en la zona como el de García-García *et al.* (2012) donde encontraron un total de 92 especies de zooplancton en un humedal situado a 2570 msnm (Chimaliapan, Edo. de Méx.), mientras que en otros estudios realizados en zonas aledañas dentro de la misma zona geográfica, reportan menos de 55

especies (Sarma *et al.*, 2011; Figueroa-Sánchez *et al.*, 2014), de acuerdo a esto podemos decir que la riqueza específica encontrada es alta.

También se puede ver que en la zona de macrófitas se encontró más del doble de especies que en la zona pelágica y que los valores de biodiversidad eran mayores (Fig. 5), mientras que al remover totalmente *E. densa* (sitio 3) hubo un drástico decremento en los valores de diversidad biológica, lo cual no sucedió con una remoción parcial (sitio 1). Los valores de diversidad corresponden con lo reportado por Grzegorz y Kuczynska-Kippen, (2004) en un estudio de la zona litoral, donde mencionan que la zona litoral tiene una mayor complejidad estructural que provee diversos nichos con diferentes condiciones para el crecimiento de varios grupos de organismos, además, las alga perifíticas contribuyen a incrementar la complejidad del sistema, aunado a la mayor presencia de detritus, bacterias y protozoos.

En un análisis entre la diversidad de rotíferos y el tipo de macrófita, Kuczynska-Kippen y Klimaszuk, (2007) encontraron que las especies de macrófita que tienen una estructura morfológica más compleja como las sumergidas pueden soportar densidades más altas de este grupo de organismos. Por otro lado, Kuczynska-Kippen y Nagengast, (2006) encontraron que la longitud de las hojas de las macrófitas y la concentración de fósforo total, eran los mejores predictores de la distribución de algunas especies de zooplancton, además de que la similitud entre las distintas comunidades estaba relacionada con la arquitectura de las macrófitas. En un estudio realizado por Lu en 2013 donde se comparó la diversidad del zooplancton en 3 presas, se registraron valores de diversidad de Shannon-Wiener de 1.5 a 3.36 bits.ind⁻¹. Por otro lado, en un estudio de la zona litoral García-García *et al.* (2012) reportaron valores superiores a 4 bits.ind⁻¹ en el humedal de Chimaliapan, mientras que Enríquez-García *et al.* (2009) reportaron valores que van de 0.4 a 3.6 bits.ind⁻¹ para la zona pelágica del lago de Huetzalin en Xochimilco mientras que para la zona litoral los valores fueron más elevados (de 1.3 a 3.8 bits.ind⁻¹). Estos trabajos muestran similitudes con los valores de diversidad reportados en el presente estudio, donde la zona pelágica mostró los valores más bajos de diversidad (de 0.27 a 2 bits.ind⁻¹) mientras que en la zona litoral se observaron valores entre 2.5 y 4.3 bits.ind⁻¹ antes de la remoción de *Egeria densa*; después de la remoción de esta macrófita los valores disminuyeron a 2.6 y 1.2 bits.ind⁻¹ en

los sitios que tenían *E. densa* (sitios 1 y 3) mientras que los sitios 2 y 4 donde no se removieron macrófitas se mostraron consistentes con los meses anteriores.

En un trabajo reciente se mostró que la biomasa de las macrófitas se ve afectada negativamente cuando se incrementan los nutrientes, mientras que los grupos funcionales (cladóceros litorales y pelágicos) del zooplancton no se vieron afectados por el tipo de macrófita presente, lo cual sí sucedió en la riqueza de especies de macroinvertebrados (Declerck *et al.*, 2011). Además, existen organismos especializados que requieren estructuras para adherirse a ellas (*Simocephalus* spp.) (Hanazato *et al.*, 2001) y organismos colectores con estructuras especializadas para alimentarse del perifiton (*Eurycercus*, *Chydorus*, *Alona*, *Lymnaea* etc.) (Pennak, 1966). También existen organismos depredadores que tienen alta vinculación con la superficie de las plantas (*Cupelopagis*, *Asplanchnopus*, *Cyclops*, *Mesocyclops*, etc.). Desde otra perspectiva, no hay organismos particulares asociados específicamente a alguna macrófita, aunque existen asociaciones aparentes regidas por factores ambientales que afectan a ambos grupos (Moss *et al.*, 1998).

Con respecto al análisis de similitud, se formó un grupo entre las comunidades de zooplancton que habitaban los sitios con macrófitas (independientemente de la especie) y otro grupo donde se agruparon las comunidades pertenecientes a la zona pelágica. Después de la remoción de la macrófita se observó que las comunidades donde se encontraba *E. densa* formaron un grupo con las comunidades pertenecientes a la zona pelágica mientras que otro grupo se formó con las comunidades que pertenecían a *T. latifolia* y *N. fallax*. En este sentido,

Kuczynska y Nagengast (2006) analizaron el grado de similitud de las comunidades zooplanctónicas presentes en hábitats con diferentes especies de macrófitas; *Chara hispida*, *C. tomentosa*, *Myriophyllum verticillatum* y *Utricularia vulgaris* (sumergidas), *Typha angustifolia* (emergente) y *Nymphaea alba* (flotadora enraizada) y en la zona pelágica. Ellas reportan que las comunidades presentes en las macrófitas sumergidas formaron un grupo bastante similar, *T. angustifolia* y *N. alba* formaron otro grupo mientras que *U. vulgaris* y la zona pelágica formaron grupos separados. La similitud mostrada entre *T. angustifolia* y *N. alba* es similar a la encontrada en el presente estudio después de la

remoción de *E. densa*. En este sentido, se menciona que la concentración de clorofila *a*, algunos factores ambientales, la estructura espacial de las macrófitas y su densidad determinan el tipo de comunidad de zooplancton presente.

En otro estudio, Duggan *et al.* (2001) encontraron que las abundancias de varias especies de rotíferos (*Euchlanis dilatata*, *Lecane closterocerca* y *L. lunaris*) eran diferentes en diferentes especies de macrófitas (*Eleocharis sphacelata*, *Egeria densa* y *Myriophyllum propinquum*), mientras que las especies planctónicas no mostraron preferencia por ninguna planta. Además reportan que las abundancias totales diferían a pesar de que la distancia entre macrófitas no era grande. En este estudio concluyen que las diferencias estarían relacionadas a la morfología y edad de la macrófita, así como al efecto diferencial de depredación por invertebrados y peces entre las macrófitas.

En sistemas templados se ha reportado que varias macrófitas afectan negativamente algunas variables demográficas y fisiológicas de *Daphnia* y *Ceriodaphnia* y de algunos macroinvertebrados herbívoros (Burns y Dodds, 1999; Cerbin *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014). Declerck *et al.* (2007) estudiaron el efecto de *Elodea nuttallii* (Hydrocharitaceae) sobre el ensamblaje de tres grupos funcionales de zooplancton (fitoplancton, zooplancton que se alimentaba de seston y zooplancton asociado al sustrato) en un gradiente de productividad primaria. En este estudio encontraron que la productividad y las macrófitas afectaban la estructura de la comunidad y a la diversidad de los tres grupos funcionales donde un incremento en la productividad provocaba una disminución en la riqueza de especies pero un incremento en la abundancia de *Daphnia* y *Scenedemus*. Esto fue observado durante mayo donde el incremento en la abundancia poblacional de *Daphnia mendotae* se relacionó con el incremento en clorofila *a* y turbidez (Figs. 3 y 10).

6. Conclusiones

En comparación con la zona pelágica, la tendencia muestra que las variables ambientales más afectadas debido a la presencia de *Egeria densa* fueron: Temperatura, oxígeno disuelto, pH, turbidez, clorofila a y ficocianinas. En este sentido, se observó que la remoción de *E. densa* provocó una disminución de la heterogeneidad ambiental lo cual también se vio reflejado en la diversidad del zooplancton ya que fue considerablemente reducida después de la remoción de la macrófita.

Las especies de rotíferos más representativos de la Presa Benito Juárez fueron: *Polyarthra vulgaris*, *Monommata ardniti*, *Trichocerca porcellus*, *Synchaeta pectinata* y *Trichocerca elongata* mientras que los microcrustáceos más significativos fueron: *Alona guttata*, *Ceriodaphnia* cf. *dubia*, *Chydorus brevilabris*, *Simocephalus serrulatus*, *Tropocyclops prassinus mexicanus* y *Macrocyclus fuscus*.

Las comunidades de zooplancton registradas en la zona litoral antes de la remoción de *E. densa* mostraron cierto grado de similitud independientemente de la especie de macrófita presente mientras que después de la remoción los sitios donde se encontraba *E. densa* mostraron una mayor similitud a la zona pelágica.

Capítulo 2

Interacciones alelopáticas entre la macrófita *Egeria densa* y el alga *Scenedesmus acutus* y *Simocephalus* spp. (Cladocera: Daphnidae)

Resumen

Egeria densa es una macrófita sumergida nativa de la parte tropical y subtropical de Sudamérica que ha sido introducida en los 5 continentes y ahora es común en varios cuerpos de agua en México y alrededor del mundo. Esta macrófita produce sustancias químicas que afectan algunas especies de fitoplancton de forma negativa y ha sido comprobado que este tipo de aleloquímicos también afectan a *Daphnia* de diferentes maneras. En este estudio se busca evaluar el efecto de *E. densa* sobre el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* y cómo los aleloquímicos liberados por esta macrófita afectan algunas variables demográficas de especies de zooplancton litoral como: *Simocephalus exspinosus*, *S. serrulatus* y *S. mixtus*; para esto, los aleloquímicos se utilizaron de manera directa (colocando a los cladóceros directamente en medio condicionado) y de manera indirecta (alimentando a los cladóceros con *S. acutus* previamente expuesta a aleloquímicos). Para probar el efecto de *E. densa* sobre *S. acutus* se plantearon cuatro tratamientos: Control, *Egeria* artificial, *Egeria* natural y sus aleloquímicos. Para probar el efecto de los aleloquímicos sobre *Simocephalus* spp. se utilizaron otros cuatro tratamientos: Control, efecto indirecto, efecto directo y ambos efectos. *Scenedesmus* crecido con aleloquímicos de *E. densa* tuvo las mayores densidades seguido de los controles. La menor densidad de alga fue observada en el tratamiento con planta viva. La supervivencia de las tres especies de cladóceros fue mayor en los tratamientos con medio condicionado de *Egeria densa*. La fecundidad diaria de *S. serrulatus* aumentó después de alcanzar una edad mediana, mientras que *S. exspinosus* y *S. mixtus* mostraron reproducción continua a partir de la primera semana. En general, los aleloquímicos de las macrófitas mejoraron la reproducción por edad para las tres especies de cladóceros. El promedio de vida de las tres especies varió entre 17 y 46 días, dependiendo de la especie y el tratamiento. *S. serrulatus* tuvo menor esperanza de vida en comparación con las otras dos especies. Para las tres especies, la esperanza de vida aumentó de manera significativa en los tratamientos que contenían aleloquímicos de macrófitas + algas cultivadas con aleloquímicos de la planta. En estas condiciones, ambas

tasas de reproducción bruta y neta mejoraron un 350%. Este efecto estimulante fue también evidente en el aumento del tiempo generacional (alrededor de 50%). La tasa de incremento poblacional varió de 0.23 a 0.38 por día para las especies de *Simocephalus* sin mostrar diferencias estadísticas ($p > 0.05$). Estos resultados sugieren que la actividad biológica así como la estructura física de la macrófita tienen un efecto negativo sobre *S. acutus*, mientras que algunas variables demográficas de *Simocephalus* spp. fueron estimuladas lo cual sugiere una interacción positiva con *Egeria*.

Palabras clave: Aleloquímicos, fitoplancton, macrófitas sumergidas, zooplancton, tabla de vida.

1. Introducción

La mayoría de los cuerpos de agua alrededor del mundo son pequeños, someros y pueden mostrar dos estados contrastantes (Scheffer *et al.*, 1993): uno dominado por macrófitas con baja turbidez y otro dominado por fitoplancton con alta turbidez (Scheffer, 2004). En cuerpos de agua someros existe una relación antagónica entre el fitoplancton y las macrófitas. En la zona de macrófitas, la baja turbulencia del agua, la reducida intensidad lumínica y las bajas concentraciones de nutrientes limitan el crecimiento del fitoplancton (Lürling *et al.*, 2006; Muylaert *et al.*, 2010). Sin embargo, las macrófitas también afectan al plancton a través de los aleloquímicos que son liberados al ambiente. Las macrófitas del género *Elodea*, *Stratiotes*, *Chara* y *Myriophyllum* liberan sustancias químicas que alteran la abundancia del fitoplancton (Körner y Nicklish, 2002; Gross, 2003; Hilt, 2006), y tienen efectos sobre el comportamiento del zooplancton (Hasler y Jones, 1949; Pennak, 1973; Meerhoff *et al.*, 2006) y variables en el ciclo de vida en cladóceros (Burks *et al.*, 2000; Cerbin *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014). La mayoría de los estudios que refieren los efectos alelopáticos de las macrófitas sobre el plancton han sido realizados principalmente en sistemas templados, mientras que en las zonas tropicales y subtropicales, son limitados (van Donk y van de Bund, 2002; Meerhoff *et al.*, 2006; Vanderstukken *et al.*, 2011; Dong *et al.*, 2013).

El efecto de estrés químico hacia los cladóceros se evalúa utilizando diferentes tipos de pruebas como crecimiento somático, crecimiento poblacional, tasas de filtración y alimentación, selección de dieta y cambios en supervivencia y demografía (Lass y Spaak, 2003). Debido a que los cambios demográficos son sensibles y fácilmente cuantificables, es una técnica ampliamente utilizada para medir los efectos de diferentes químicos hacia el zooplancton (Conde-Porcuna, 1998; Doksaeter y Vijverberg, 2001). Muchos estudios que involucran al zooplancton han mostrado distinto tipo de respuesta usando medios condicionados de diferentes grupos de organismos (Machacek, 1991; Gilbert, 2009; Gutiérrez y Paggi, 2014).

Egeria densa es una macrófita sumergida, perenne, nativa de Sudamérica (Uruguay-Paraguay-Brasil) y ha sido introducida a varios cuerpos de agua alrededor del mundo (Santos *et al.*, 2011). Esta especie ha llegado a ser una molestia en varios tipos de sistemas debido a su rápido crecimiento (Dutartre *et al.*, 1999). Sin embargo, esta macrófita sumergida produce sustancias alelopáticas las cuales afectan al fitoplancton adversamente (Nakai, *et al.*, 1999; Mulderij *et al.*, 2007; Vandestukken *et al.*, 2011) y ha sido probado que este tipo de sustancias también afectan a *Daphnia* en diferentes maneras (Pennak, 1973; Meerhoff *et al.*, 2006; Cerbin *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014).

Algunos estudios enfocados en los efectos de sustancias alelopáticas producidas por macrófitas y que afectan cladóceros, han utilizado a *Daphnia* como principal organismo de bioensayo, el cual, generalmente habita la zona sin macrófitas. Por otro lado, *Simocephalus* habita la zona con macrófitas, por lo cual su sensibilidad a los aleloquímicos, podría ser diferente al de *Daphnia* debido a que el tiempo de contacto con las plantas en su hábitat natural, es muy diferente. Además, existe poca información disponible sobre el efecto de las señales químicas de plantas sobre el género *Simocephalus* (Orlova-Bienkowskaja, 2001; Hilt, 2006). De este modo, se seleccionaron 3 especies de *Simocephalus* de las cuales *S. serrulatus* se encontró asociado con *E. densa*.

En este estudio, se evaluó el efecto de los aleloquímicos liberados por *Egeria densa* sobre el crecimiento poblacional de *Scenedesmus acutus* y sobre la supervivencia, fecundidad,

promedio de vida, tasa reproductiva bruta y neta, tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional (r) por día de *Simocephalus exspinosus*, *Simocephalus serrulatus* y *Simocephalus mixtus* de manera directa (medio condicionado), indirecta (alimento expuesto a aleloquímicos).

2. Materiales y Métodos

2.1 Cultivos de plancton

Se utilizaron tres especies pertenecientes al mismo género: *Simocephalus exspinosus* (De Geer, 1778) fue colectada en un estanque cerca a arcos del sitio ($19^{\circ} 44' 23''$ N y $99^{\circ} 21' 53''$ O), *S. serrulatus* (Koch, 1841) fue colectada en la Presa Benito Juárez ($99^{\circ} 25' 38''$ N y $19^{\circ} 41' 22''$ O) y *S. mixtus* (Sars, 1903) fue colectada de un estanque llamado Axotlan ($19^{\circ} 41' 37''$ N y $99^{\circ} 13' 46''$ O). Estas especies fueron aisladas de tres diferentes cuerpos de agua en el estado de México (México). El alga *Scenedesmus acutus* f. *alternans* Hortobagyi (No. 72), fue obtenida de la Universidad de Texas y *Egeria densa* fue colectada en el mismo cuerpo de agua donde *S. serrulatus* fue aislado. *S. acutus* fue cultivada con medio Bold Basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988) en botellas transparentes de 2 L, utilizando luz fluorescente (4300 lux) y aireación continua. El medio fue suplementado con 3 mM de NaHCO_3 como fuente de carbono. El alga fue cosechada después de 8 días, centrifugada y resuspendida en agua destilada. La densidad de alga utilizada se calculó con un hematocitómetro. Todos los cultivos y experimentos se mantuvieron a una temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Cada una de las tres especies de cladóceros fue cultivada por separado a partir de una hembra partenogénica utilizando medio EPA (96 mg de NaHCO_3 , 60 mg de CaSO_4 , 60 mg de MgSO_4 y 4 mg de KCl en 1L de agua destilada (Weber, 1993)). Los cladóceros fueron alimentados con *Scenedesmus acutus* (alrededor de 0.5×10^6 cels. ml^{-1}). Los cultivos de cladóceros fueron transferidos cada tercer día a un recipiente nuevo con medio EPA y *S. acutus* a la concentración mencionada.

Para obtener el medio condicionado de *Egeria*, la planta fue lavada cuidadosamente utilizando primero agua de la llave y después desinfectada con plata ionizada (0.082%)

durante 40 min (para minimizar el efecto de interferencia de algún otro organismo) y finalmente enjuagada varias veces con agua destilada. Después de esto, 750 g de tallos de entre 30 y 60 cm de *Egeria densa* fueron transferidos a un recipiente transparente con 9 L de medio EPA, con luz continua y difusa (2500 lux), con aeración constante. Después de 24 h, el medio condicionado se pasó a través de un filtro de cápsula polycap de alto flujo Whatman (0.45 μm) con el objetivo de eliminar la materia orgánica particulada y obtener los aleloquímicos liberados por la macrófita.

2.2 Efecto de *Egeria* sobre *Scenedesmus*

En el experimento se buscó: a) separar el efecto de la estructura física de la macrófita utilizando plantas artificiales, b) evaluar el efecto de sus aleloquímicos adicionando medio condicionado al inicio del experimento, c) evaluar el impacto de la macrófita viva sobre la tasa de crecimiento específico de *S. acutus*.

Se inocularon un total de 16 botellas transparentes de 2 L de capacidad (4 tratamientos, con cuatro réplicas cada uno), las cuales se llenaron con 1.6 L de medio de cultivo para alga (medio Bold Basal), se inoculó *S. acutus* a una densidad inicial de 0.125×10^6 cels. ml^{-1} y se distribuyeron al azar. Los tratamientos se realizaron de la siguiente manera:

Tratamiento 1 (Control): Sólo se colocó medio de cultivo Bold Basal y *Scenedesmus*.

Tratamiento 2 (Planta artificial): Se colocaron plantas de plástico con morfología similar a *E. densa* previamente desinfectadas como se hizo con la planta natural, a un biovolumen similar al de la planta viva, medio Bold Basal y *Scenedesmus*. Para medir el biovolumen de cada réplica se introdujo la planta en una probeta de 250 ml., posteriormente se llenaba con agua hasta los 250 ml y se sacaba la planta, de esta manera los mililitros de agua disminuidos al sacar la planta nos daban un valor de biovolumen el cual se igualó entre los tratamientos con planta viva y artificial. **Tratamiento 3 (Planta viva):** Se colocó *E. densa* viva (1.6 PS g L^{-1}), medio Bold Basal y *Scenedesmus*. **Tratamiento 4 (infoquímicos):** se agregó 1.6 L medio condicionado de *Egeria* al inicio del experimento, medio Bold Basal y *Scenedesmus*. La biomasa de *Egeria* usada ($1.373 \pm 1.21 \text{ PS g L}^{-1}$) en los tratamientos corresponde a aquellas encontradas en el campo durante los meses de marzo y abril (capítulo 1; Fig. 2) Todos los tratamientos recibieron luz fluorescente y continua (4300

lux), con agitación para mantener las células algales suspendidas. A partir del inicio del experimento, se cuantificó diariamente la densidad de *Scenedesmus* de cada unidad experimental durante 8 días, posteriormente el alga fue cosechada. El alga cosechada de estos experimentos fue la utilizada para los experimentos realizados con *Simocephalus* spp. los cuales se detallan a continuación con número consecutivo.

2.3 Tabla de vida de *Simocephalus* spp.

Se diseñó un experimento factorial para analizar el efecto directo, indirecto y combinado de los aleloquímicos de *Egeria densa* sobre cada una de las tres especies de *Simocephalus*. El efecto directo se simuló adicionando medio condicionado de *Egeria*, mientras que el efecto indirecto se produjo alimentando a los animales con *Scenedesmus acutus* cultivado en presencia de los aleloquímicos de *E. densa*, por lo cual los tratamientos quedaron de la siguiente manera. **Controles:** Medio EPA + *S. acutus* cultivado en medio Bold Basal. **Efecto indirecto:** medio EPA + *S. acutus* crecido en aleloquímicos de la macrófita, **Efecto directo:** medio condicionado de *Egeria* + *S. acutus* cultivado con medio Bold Basal. **Efectos indirecto + directo (combinado):** medio condicionado de *Egeria* + *S. acutus* crecido en aleloquímicos de la macrófita. De cada tratamiento se realizaron cuatro réplicas.

Para estos experimentos adicionó 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ (1.58 µg C.ml⁻¹ por día) de *Scenedesmus acutus* por unidad experimental como fuente de alimento. Se utilizaron recipientes transparentes de 100 ml de capacidad los cuales fueron llenados con 50 ml del medio correspondiente. En cada recipiente se colocaron 10 neonatos menores a 24 h de edad de cada una de las especies de *Simocephalus*. Las cohortes fueron introducidas individualmente en los recipientes con la ayuda de una pipeta Pasteur y un microscopio estereoscópico a 20X. Posteriormente, los recipientes fueron colocados a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Después de iniciar el experimento, cada día se cuantificaron los sobrevivientes de la cohorte original y el número de neonatos producidos. Los adultos muertos y los neonatos fueron removidos y los sobrevivientes eran transferidos a un nuevo recipiente con el tratamiento correspondiente. Los datos de supervivencia y fecundidad de *Simocephalus* spp. fueron calculados de acuerdo a las siguientes variables: a) Promedio de vida, b) Esperanza de

vida, c) Tasa reproductiva bruta y tasa reproductiva neta, d) Tiempo generacional y e) Tasa de incremento poblacional por día de acuerdo a Krebs (1985):

$$\text{Esperanza de vida: } e_x = \frac{T_x}{n_x}$$

$$\text{Tasa reproductiva bruta} = \sum_0^{\infty} m_x$$

$$\text{Tasa reproductiva neta } R_o = \sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x$$

$$\text{Tiempo generacional: } T = \frac{\sum l_x \cdot m_x \cdot x}{R_o}$$

Tasa de incremento poblacional, ecuación de Euler-Lotka.

$$\sum_{x=w}^n e^{-rx} \cdot l_x \cdot m_x = 1$$

donde, T_x = número de individuos por día, n_x = número de individuos vivos en el inicio, l_x = la probabilidad de que un individuo sobreviva a una clase de edad x , m_x = la edad de fecundidad específica, R_o = el número promedio de nacimientos por hembra, y r = la tasa de incremento poblacional.

2.4 Análisis estadísticos

Los datos de la tasa de crecimiento específico del experimento de fitoplancton y la demografía del zooplancton fueron analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza (ANDEVA) de una y dos vías respectivamente (Sokal y Rohlf, 2000). Los análisis de varianza y pruebas post-hoc (prueba de Tukey) se realizaron con la ayuda del programa Sigma Plot ver. 11.

3. Resultados

Del experimento con fitoplancton se observó que la presencia de los aleloquímicos provocaba un mayor crecimiento, seguido del control, la planta artificial y la planta natural (Fig. 1). También se observó que la planta artificial y natural redujeron la densidad algal

así como la tasa de crecimiento específica (μ) lo cual no se observó con los otros dos tratamientos ($p < 0.001$; Fig. 2; Tabla 1).

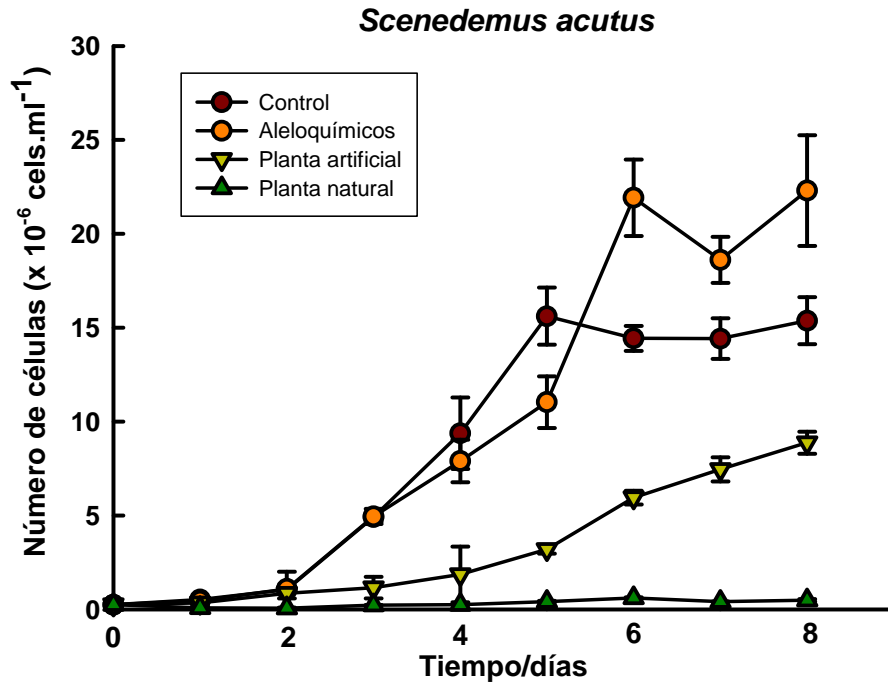


Figura 1. Curvas de crecimiento del alga *Scenedesmus acutus* bajo el efecto de *E. densa*. Se muestran los valores promedio \pm Error estándar (EE) basado en cuatro réplicas.

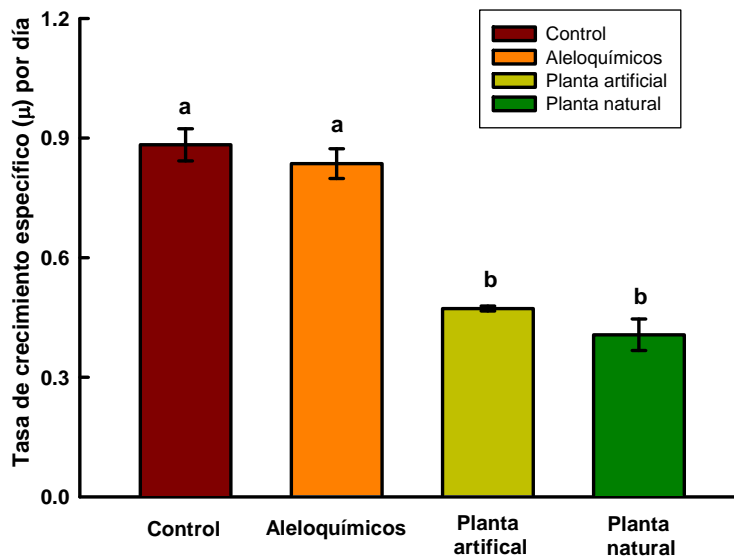


Figura 2. Tasa de crecimiento específica (μ) del alga *Scenedesmus acutus* bajo el efecto de *E. densa*. Se muestran los valores promedio \pm EE basado en cuatro réplicas. Letras similares indican grupos estadísticamente homogéneos ($p > 0.05$, prueba de Tukey).

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza de una vía, de los efectos de *E. densa* sobre la tasa de crecimiento específica (μ) por día de *S. acutus*. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios; F = prueba de F, *** = $p < 0.001$.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Especies de alga	3	1.003E+015	3.34E+014	40.05***
Error	12	8.17E+013	6.81E+012	

Las curvas de supervivencia de los tres cladóceros muestran tendencias diferentes dependiendo del tipo de tratamiento y las especies (Fig. 3). Se puede ver que el efecto indirecto de *Egeria densa* no mostró diferencias claras en las curvas de las tres especies de *Simocephalus*, el efecto directo provocó una mayor supervivencia en *Simocephalus mixtus* y *Simocephalus exspinosus*, y no fue tan claro para *S. serrulatus*. Sin embargo, en los tratamientos con los efectos sumados (indirecto + directo) se puede ver claramente que las tres especies de *Simocephalus* tuvieron una mayor supervivencia.

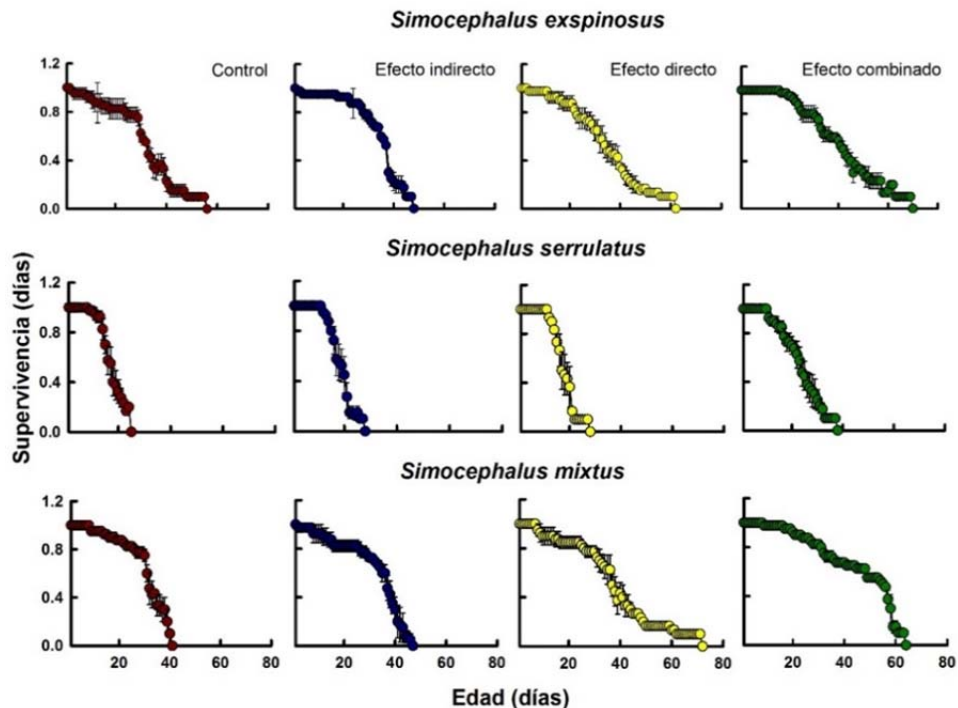


Figure 3. Curvas de supervivencia (l_x) de *S. exspinosus*, *S. serrulatus* y *S. mixtus* bajo el efecto directo, indirecto y combinado de los aleloquímicos de *E. densa*. Se muestran los valores promedio \pm EE basado en cuatro réplicas (cohortes).

Los datos de fecundidad se encuentran en la figura 4 donde se puede observar que independientemente de la especie de *Simocephalus* utilizada, los aleloquímicos de *Egeria densa* provocaron una mayor producción de neonatos. Se puede notar que el efecto directo tuvo un mayor efecto positivo que el efecto indirecto, especialmente para *Simocephalus serrulatus* y para *S. mixtus*, mientras que para *S. exspinosus* el mayor efecto positivo se observó en el tratamiento de efecto combinado.

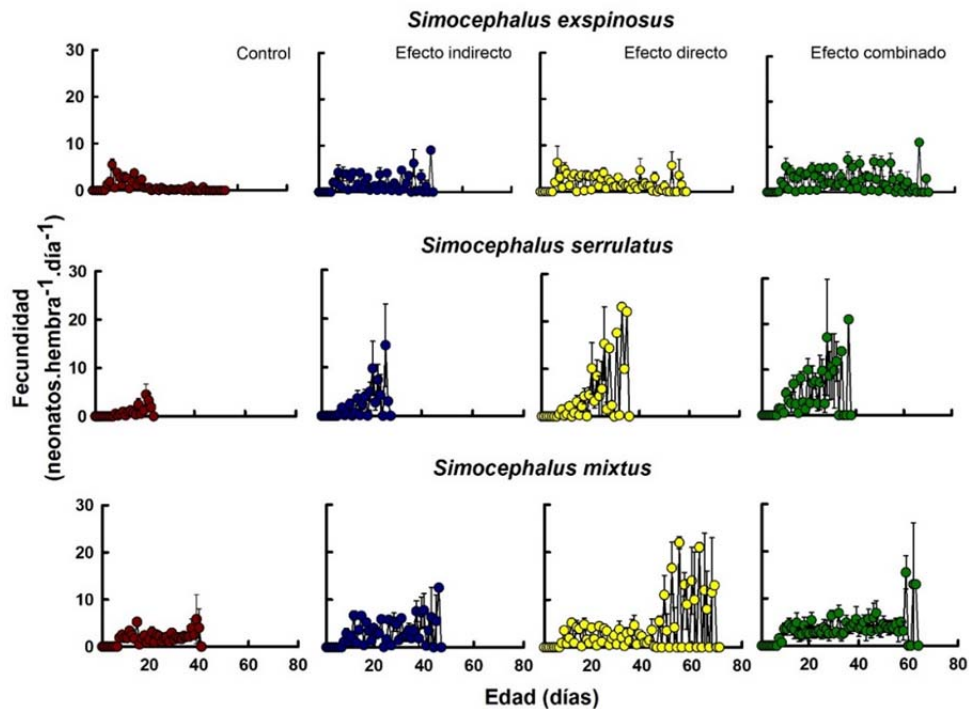


Figure 4. Curvas de fecundidad (m_x) de *S. exspinosus*, *S. serrulatus* y *S. mixtus* bajo el efecto directo, indirecto y combinado de los aleloquímicos de *E. densa*. Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas (cohortes).

En la tabla 2 se pueden observar las tendencias y diferencias estadísticas respecto al promedio de vida, tasa reproductiva bruta y neta, el tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional de las especies de cladóceros probadas. De acuerdo con lo registrado para el promedio de vida no se observaron diferencias estadísticas para ningún cladóceros ($p > 0.05$) cuando se evaluó el efecto indirecto. Sin embargo, El promedio de vida de las tres especies varió de 17 a 46 días dependiendo de la especie y el tratamiento. *S.*

serrulatus tuvo la menor duración de vida (17-24 d) comparado con las otras dos especies (30-46 d).

Tabla 2. Variables de historia de vida de las tres especies de *Simocephalus* cultivadas bajo el efecto directo, indirecto y combinado de los aleloquímicos de *E. densa* Letras similares significan que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en la prueba de Tukey después del ANDEVA de dos vías.

Tratamientos	Especies/VARIABLES de historia de vida		
	<i>S. exspinosus</i>	<i>S. serrulatus</i>	<i>S. mixtus</i>
	Promedio de vida (días)		
Control	30.25 ± 0.72 ^a	17.10 ± 0.93 ^a	30.05 ± 0.54 ^a
Efecto indirecto	33.67 ± 1.11 ^a	18.20 ± 0.97 ^a	32.4 ± 1.71 ^a
Efecto directo	34.25 ± 1.91 ^a	23.65 ± 3.04 ^b	36.12 ± 2.86 ^b
Efecto combinado	40.22 ± 1.93 ^b	23.15 ± 1.54 ^{ab}	45.57 ± 0.72 ^c
	Tasa reproductiva bruta (neonatos hembra ⁻¹)		
Control	39.32 ± 1.99 ^a	17.05 ± 1.93 ^a	67.22 ± 4.65 ^a
Efecto indirecto	79.70 ± 5.75 ^b	48.05 ± 6.24 ^a	126.53 ± 4.31 ^a
Efecto directo	100.21 ± 3.85 ^c	129.15 ± 39.56 ^b	193.83 ± 42.10 ^b
Efecto combinado	145.78 ± 12.17 ^d	108.83 ± 13.74 ^c	211.17 ± 11.35 ^b
	Tasa reproductiva neta (neonatos hembra ⁻¹) (supervivencia-ponderada)		
Control	32.62 ± 2.07 ^a	7.95 ± 1.94 ^a	47.97 ± 0.85 ^a
Efecto indirecto	56.5 ± 1.76 ^b	19.10 ± 6.86 ^a	83.2 ± 5.21 ^b
Efecto directo	66.50 ± 3.91 ^c	49.17 ± 19.81 ^b	77.1 ± 8.98 ^c
Efecto combinado	99.07 ± 6.01 ^d	58.45 ± 8.94 ^b	144.45 ± 2.53 ^d
	Tiempo generacional (días)		
Control	13.97 ± 0.66 ^a	15.14 ± 0.23 ^a	19.04 ± 0.74 ^a
Efecto indirecto	19.17 ± 0.41 ^b	16.58 ± 0.23 ^{ab}	22.87 ± 0.48 ^b
Efecto directo	19.53 ± 0.51 ^c	20.37 ± 0.23 ^c	27.91 ± 2.85 ^c
Efecto combinado	24.77 ± 1.53 ^d	17.73 ± 0.29 ^b	30.78 ± 0.24 ^c
	Tasa de incremento poblacional (<i>r</i>) por día		
Control	0.33 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.003 ^a
Efecto indirecto	0.34 ± 0.01 ^a	0.23 ± 0.07 ^a	0.30 ± 0.01 ^a
Efecto directo	0.38 ± 0.01 ^b	0.23 ± 0.06 ^a	0.29 ± 0.01 ^a
Efecto combinado	0.36 ± 0.01 ^{ab}	0.29 ± 0.04 ^a	0.31 0.01 ^a

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza de dos vías, sobre el promedio de vida, la tasa reproductiva bruta y neta, el tiempo generacional y la tasa de incremento poblacional de *Simocephalus exspinosus*, *S. serrulatus* y *S. mixtus*, bajo el efecto directo, indirecto y combinado de los aleloquímicos de *Egeria densa*. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios; F = prueba de F, ns = no significativo * = (p>0.05), ** = p<0.01, *** = p<0.001.

Fuente de variación	DF	SC	CM	F
Promedio de vida				
<i>S. exspinosus</i>				
Directo (A)	1	111.3	111.3	12.07**
Indirecto (B)	1	88.36	88.36	9.58**
Interacción de A X B	1	6.5	6.5	0.7ns
Error	12	110.57	9.21	
<i>S. serrulatus</i>				
Directo (A)	1	132.25	132.25	9.8**
Indirecto (B)	1	0.36	0.36	0.02ns
Interacción de A X B	1	2.56	2.56	0.19ns
Error	12	161.8	13.48	
<i>S. mixtus</i>				
Directo (A)	1	370.56	370.56	30.9***
Indirecto (B)	1	139.24	139.24	11.61**
Interacción de A X B	1	50.41	50.41	4.2ns
Error	12	143.86	11.98	
Tasa reproductiva bruta				
<i>S. exspinosus</i>				
Directo (A)	1	16121.59	16121.59	80.56***
Indirecto (B)	1	7387.13	7387.13	36.91***
Interacción de A X B	1	26.87	26.87	0.71ns
Error	12	2401.43	200.11	
<i>S. serrulatus</i>				
Directo (A)	1	44186.96	44186.96	155.82***
Indirecto (B)	1	710.11	710.11	2.5ns
Interacción de A X B	1	7858.4	7858.4	27.71***
Error	12	3402.86	283.57	
<i>S. mixtus</i>				
Directo (A)	1	44625.89	44625.89	22.98***
Indirecto (B)	1	5875.61	5875.61	3.02ns
Interacción de A X B	1	1761.48	1761.48	0.9ns
Error	12	23300.78	1941.73	

Tasa reproductiva neta				
<i>S. exspinosus</i>				
Directo (A)	1	5844.6	5844.6	99.28***
Indirecto (B)	1	3186.6	3186.6	54.13***
Interacción de A X B	1	75.69	75.69	0.27ns
Error	12	706.39	58.86	
 <i>S. serrulatus</i>				
Directo (A)	1	6492.33	6492.33	12.4**
Indirecto (B)	1	417.18	417.18	0.79ns
Interacción de A X B	1	3.51	3.51	0.006ns
Error	12	6280.78	523.39	
 <i>S. mixtus</i>				
Directo (A)	1	8167.64	8167.64	70.97***
Indirecto (B)	1	10521.63	10521.63	91.42***
Interacción de A X B	1	1032.01	1032.01	8.96*
Error	12	1381.01	115.08	
 Tiempo generacional				
<i>S. exspinosus</i>				
Directo (A)	1	124.44	124.44	38.63***
Indirecto (B)	1	108.95	108.95	33.83***
Interacción de A X B	1	0.001	0.001	0.0005ns
Error	12	38.64	3.22	
 <i>S. serrulatus</i>				
Directo (A)	1	75.6	75.6	38.77***
Indirecto (B)	1	12.36	12.36	6.34*
Interacción de A X B	1	40.96	40.96	21.007***
Error	12	23.4	1.95	
 <i>S. mixtus</i>				
Directo (A)	1	281.47	281.47	31.3***
Indirecto (B)	1	44.76	44.76	4.97*
Interacción de A X B	1	0.9	0.9	0.1ns
Error	12	107.89	8.99	
 Tasa de incremento poblacional				
<i>S. exspinosus</i>				
Directo (A)	1	0.004	0.004	5.51*
Indirecto (B)	1	0.000005	0.000005	0.007ns
Interacción de A X B	12	0.001	0.001	1.44ns
Error	12	0.009	0.0007	

<i>S. serrulatus</i>				
Directo (A)	1	0.002	0.002	0.59ns
Indirecto (B)	1	0.004	0.004	0.89ns
Interacción de A X B	1	0.004	0.004	0.94ns
Error	12	0.058	0.004	
<i>S. mixtus</i>				
Directo (A)	1	0.00005	0.00005	0.18ns
Indirecto (B)	1	0.0006	0.0006	2.29ns
Interacción de A X B	1	0.0003	0.0003	1.25ns
Error	12	0.003	0.0002	

El promedio de vida incrementó considerablemente para las tres especies de cladóceros en los tratamientos que contenían medio condicionado + alga cultivada con aleloquímicos de la macrófita ($p < 0.05$, prueba de F; ANDEVA de dos vías, Tabla 2). Con el mismo tratamiento se observó que la tasa de producción de neonatos (tasa reproductiva bruta y neta) fue mayor donde se observó hasta un 350% más en la producción de neonatos. Este efecto estimulador también fue evidente en el tiempo generacional el cual fue significativamente incrementado (hasta en un 50%). La tasa de incremento poblacional varió de 0.23 a 0.38 por día para los tres cladóceros, sin embargo no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) por ninguna de las variables.

4. Discusión

En los experimentos de coexistencia entre *Egeria densa* y *Scenedesmus acutus* se observó que los tratamientos utilizando planta natural y artificial redujeron significativamente ($p < 0.001$; Tabla 1) las tasas de crecimiento específico (μ) de *S. acutus*, mientras que eso no fue observado en el tratamiento con aleloquímicos. Se ha observado que el efecto de *E. densa* sobre el fitoplancton es variable y en algunas ocasiones el crecimiento del fitoplancton es inhibido, en otras es inocuo y en otras estimulado (Nakai *et al.*, 1999; Vanderstukken *et al.*, 2011; Espinosa-Rodríguez *et al.*, 2016), lo cual también se ha observado en otras especies de macrófitas (Erhard y Gross, 2006; Gross *et al.*, 2007). Por ejemplo, en experimentos de coexistencia, Lurling *et al.* (2006) encontraron que diferentes especies de macrófitas tienen diferentes efectos sobre *Scenedesmus*. Por otro lado, Vanderstukken *et al.* (2011) observaron en campo que la presencia de *Egeria densa* tenía

un efecto adverso sobre el crecimiento de *Scenedesmus*. Van Donk y van de Bund (2002) reportaron una significativa reducción en la abundancia de *Scenedesmus acutus* en presencia de *Chara aspera* bajo condiciones de laboratorio. Mientras que Erhard y Gross, (2006) reportan la estimulación del crecimiento de *Scenedesmus brevispina* en presencia de *Elodea canadensis* y *Elodea nuttallii*. Las macrófitas pueden afectar al fitoplancton a través de la reducción de luz, la competencia por nutrientes y a través de la producción de aleloquímicos (Gross, 2003).

Con el fin de evaluar el efecto de *Egeria densa* sobre *Scenedesmus acutus*, se realizaron experimentos bajo condiciones óptimas de luz, temperatura y nutrientes, buscando que las diferencias entre los tratamientos reflejaran el impacto real de los diferentes tratamientos. De este modo, las diferencias en la tasa de crecimiento específico (μ) de *S. acutus* entre los controles y los demás tratamientos, era debido a la estructura física y a la actividad biológica que limitaban el crecimiento del alga como fue observado por Lurling *et al.* (2006). *Scenedesmus* pudo crecer con *Egeria* natural donde se observó la mayor reducción en la densidad algal (alrededor de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹) comparada con el control. Esto es debido a que la macrófita provoca una interferencia mecánica que podría afectar a través de la reducción de luz o a través de la producción de sustancias alelopáticas.

En cuerpos de agua naturales, las macrófitas también interfieren mecánicamente con el fitoplancton ya que disminuyen la turbulencia en la columna de agua lo cual provoca una mayor sedimentación del alga (Scheffer, 2004; Vanderstukken *et al.*, 2014). Esto no ocurrió en nuestro estudio debido a que había agitación continua en todos los tratamientos. Las macrófitas disminuyeron la disponibilidad de luz hacia el fitoplancton debido al efecto de sombra (Mulderij *et al.*, 2007; Hilt y Gross, 2008), el cual fue observado en los tratamientos conteniendo planta natural y artificial. La limitación de nutrientes hacia el fitoplancton podría ser otra posibilidad (ya que no se midieron los nutrientes durante el experimento), sin embargo la cantidad inicial adicionada se considera suficiente. El medio condicionado estimuló el crecimiento de *Scenedesmus* lo cual provocó que este tratamiento tuviera la mayor densidad algal. En este sentido, Gross (2003) menciona que los aleloquímicos pueden perder su actividad debido a degradación microbiana y fotoquímica

así como debido a su volatilización, lo cual pudo haber sucedido al tratamiento con aleloquímicos donde la inhibición no fue observada.

Con respecto al zooplancton nuestros resultados muestran que los aleloquímicos de *Egeria densa* afectan positivamente de manera directa (a través del medio condicionado con aleloquímicos) e indirecta (a través del alimento que creció en medio condicionado de *Egeria*) algunas variables de historia de vida de *Simocephalus* spp. Con respecto a las curvas de supervivencia (Fig. 1) se puede observar que el efecto directo tuvo un mayor impacto que el efecto indirecto para *S. exspinosus* y *S. mixtus* mientras que para *S. serrulatus* no es tan claro ese efecto, sin embargo en los tratamientos con los efectos sumados se ve claramente el efecto. Con respecto a la fecundidad (Fig. 2) también se observa que en comparación con el efecto indirecto, el efecto directo tuvo un mayor impacto sobre *S. serrulatus* y *S. mixtus* lo cual no fue tan claro para *S. exspinosus*. Por otro lado, al revisar la ANDEVA de dos vías (Tabla 3) para el resto de las variables de historia de vida, se observa que también el efecto directo tuvo una mayor significancia en la mayoría de los tratamientos en comparación con el efecto indirecto, mientras que en los tratamientos con los efectos combinados (interacción de factores) solo se observaron diferencias estadísticas para la tasa reproductiva bruta de *S. serrulatus* ($p < 0.001$; Tabla 3), la tasa reproductiva neta de *S. mixtus* ($p < 0.05$; Tabla 3), y el tiempo generacional de *S. serrulatus* ($p < 0.001$; Tabla 3) lo cual nos hace corroborar que el efecto directo tiene un efecto más fuerte. Aunado a esto, también se observa en la tabla de ANDEVA que en casi todos los casos la interacción entre factores no mostró una diferencia significativa ($p > 0.05$; Tabla 3)

En general, los estudios relacionados a los efectos alelopáticos de las macrófitas hacia el zooplancton son pocos comparados con los de las interacciones fitoplancton-macrófitas (van Donk y van de Bund, 2002) y se han mostrado varios tipos de respuesta en presencia de las macrófitas (Dawidowicz y Ozimek, 2013; Gutiérrez y Paggi, 2014). Este tipo de estudios se han realizado en climas templados con especies que generalmente se encuentran en la zona pelágica, como es el caso de *Daphnia*. Se ha reportado que este género de cladóceros migra horizontalmente hacia la zona de macrófitas durante el día para

evitar la depredación por parte de los peces (Wojtal *et al.*, 2003; Iglesias *et al.*, 2007). Por otro lado, se ha observado que los aleloquímicos de *Elodea*, *Nitella* y *Myriophyllum*, provocan repelencia sobre algunas especies de *Daphnia* o reducen la producción de neonatos (Pennak, 1973; Burks *et al.*, 2000; Meerhoff *et al.*, 2006). En este estudio se observó que los aleloquímicos de *Egeria* incrementaron el promedio de vida, el tiempo generacional y las tasas reproductivas brutas y netas de *Simocephalus*. Este efecto estimulador hacia el zooplancton podría ser explicado por el efecto de hormesis (Duke, 2011), en este sentido, se ha observado que algunos cladóceros muestran un incremento en la producción de neonatos cuando se encuentran bajo un estrés de nivel sub-agudo (Gama-Flores *et al.*, 2007). Varias sustancias como metales pesados, pesticidas y aleloquímicos de plantas, incrementan la producción de neonatos, lo cual es una compensación al estrés (ver Calabrese, 2004), sin embargo cuando se llega a presentar la hormesis, alguna de las variables de historia de vida son afectadas negativamente (ej. Promedio de vida) por lo que consideramos que la biota asociada a la presencia de *Egeria densa* (bacterias, hongos y protozoos) pudo haber incrementado la calidad de la dieta de los cladóceros seleccionados lo cual incrementó su eficiencia biológica como se observó en los capítulos 4 y 5.

En poblaciones de laboratorio bajo condiciones controladas, las curvas de supervivencia tienen un patrón donde las poblaciones experimentan poca mortalidad durante las primeras etapas y posteriormente experimentan alta mortalidad debido a la senescencia (Krebs, 1985). Esta tendencia se observó en *S. exspinosus* y *S. mixtus* pero no en *S. serrulatus*, el cual después de dos semanas, comenzó a experimentar alta mortalidad en todos los tratamientos. Así, se puede observar que aunque las tres especies pertenezcan al mismo género, las condiciones óptimas para su desarrollo pueden ser distintas así como algunas estrategias. Las especies de *Simocephalus* tienen un promedio de vida (30-70 días: Malhotra y Langer, 1991) lo cual también fue observado en este estudio (valores de hasta 45 días). La fecundidad de los cladóceros varió dependiendo de la especie y el tratamiento (Sarma *et al.*, 2005). Debido a que los cladóceros tienden a incrementar su tamaño inclusive después de la primera reproducción y el número de neonatos depende del tamaño de la cámara de incubación, la cantidad de neonatos incrementa con la edad (Dumont y Negrea, 2002). Esto provoca que haya una mayor producción de neonatos a la mitad de su

edad reproductiva, la cual va declinando debido a su envejecimiento (Dodson y Frey, 2001). Este patrón también fue observado en el presente estudio con *S. serrulatus* y *S. mixtus* mientras que con *S. exspinosus* la producción de neonatos fue más o menos constante, con similar número de neonatos por puesta. Este tipo de variaciones ya han sido reportadas para otros miembros de la familia Daphnidae (Dumont y Negrea, 2002).

Es importante notar que dentro de la zona de macrófitas se puede encontrar una alta diversidad de organismos del zooplancton, de los cuales, existen grupos bien adaptados a estos sistemas lo cual indicaría que no siempre está ocurriendo un efecto alelopático negativo sobre los organismos o que estas sustancias son negativas sólo para el fitoplancton (Burks *et al.*, 2000). En este sentido, la sugerencia de Burns y Dodds (1999) acerca de que las interacciones alelopáticas entre macrófitas y el zooplancton deben ser estudiadas más exhaustivamente es relevante, especialmente para especies perifíticas en ambientes tropicales y subtropicales.

Finalmente, señalamos que es necesario analizar más a fondo las interacciones alelopáticas entre macrófitas y el zooplancton en condiciones naturales. También se sugiere que en futuros estudios entre el zooplancton y macrófitas, se consideren otros grupos de organismos como los rotíferos o los copépodos para poder entender mejor el efecto de los aleloquímicos de las macrófitas sobre el zooplancton.

5. Conclusiones

La inhibición de *Scenedesmus acutus* por *Egeria densa* se debió a la estructura física de la macrófita así como la liberación de sustancias alelopáticas, mientras que sus aleloquímicos provocaron un ligero incremento en la abundancia del alga. Los aleloquímicos de *E. densa* afectaron de manera directa a *Simocephalus* spp. a través de incrementar su supervivencia y reproducción, lo cual denota una facilitación entre *E. densa* y *Simocephalus* spp.

Capítulo 3

Actividad alelopática y análisis químicos de extractos crudos de la macrófita *Egeria densa* sobre cuatro especies de fitoplancton seleccionadas

Resumen

Las macrófitas

Egeria densa es una macrófita invasora que tiene potencial alelopático sobre el fitoplancton; sin embargo no son claras las sustancias involucradas en esta interacción ni como es que afectan a algunas especies de fitoplancton. En este trabajo se hizo la caracterización química de los extractos crudos (de hexano, acetato de etilo y metanol) de *E. densa* y se evaluó el efecto inhibitorio de diferentes concentraciones de estas sustancias sobre 2 especies de fitoplancton que han sido en el laboratorio (*Scenedesmus acutus*, *Chlorella vulgaris*) y dos especies aisladas del sitio donde se encuentra *E. densa* (*Monoraphidium* sp. y *Nitzschia palea*). El uso de hexano produjo la menor cantidad de extracto crudo, mientras que el extracto metanólico dio como resultado la mayor cantidad. Se detectaron nueve compuestos de los cuales saponinas, taninos, glucósidos cardíacos y fenoles fueron los más abundantes. En platos de agar se observaron halos de inhibición de diferentes tamaños dependiendo de la concentración del extracto, el disolvente utilizado y las especies de fitoplancton probadas. También se observó que existe más de un compuesto alelopático implicado en la inhibición. Para *C. vulgaris* y *S. acutus* los halos de inhibición fueron mayores a 20 mm de diámetro y se observaron en los tratamientos que contienen extractos de acetato de etilo y metanol. También se pudo observar que *Monoraphidium* fue inhibida por los dos tipos de extractos, siendo el extracto metanólico el que tuvo más efecto, mientras que *N. palea* no fue afectada por el extracto de acetato de etilo. De acuerdo con esto, no se observaron diferencias en los efectos inhibitorios sobre especies que coexisten con *E. densa* de aquellas que han sido mantenidas en laboratorio. Los resultados sugieren que *E. densa* produce sustancias que podrían cambiar la composición de las comunidades de fitoplancton a través de sus efectos alelopáticos diferenciales.

Palabras clave: Macrófitas sumergidas, alelopátia, clorofitas, diatomeas, especies invasoras.

1. Introducción

Las macrófitas juegan un papel importante en la estructura y función de los ecosistemas acuáticos (Wetzel, 2001). Son cruciales para la estabilización de la fase clara del agua en los sistemas mesotróficos y eutróficos (Scheffer *et al.*, 1993; Peretyakto *et al.*, 2009). También afectan la red alimentaria de varias maneras: son parte de la cadena trófica ya que sirven de alimento a invertebrados y peces (Declerck *et al.*, 2007); proporcionan refugio al zooplancton y a los peces en contra de la depredación y proveen una amplia variedad de superficies para colonizar (Burks *et al.*, 2002; Meerhoff *et al.*, 2007); compiten por nutrientes y la luz con el fitoplancton y el perifiton (Hilt, 2006) y también pueden liberar sustancias alelopáticas (Gross, 2003; Erhard y Gross, 2006; Mulderij *et al.*, 2006). Esta relación de competencia entre los productores primarios (macrófitas vs fitoplancton) es importante en la determinación de cuál de los estados alternativos estables persistirá en el medio; uno con la ausencia de macrófitas y alta turbidez y otro con presencia de macrófitas y agua clara (Scheffer, 2001; Scheffer y Nes, 2007).

Los compuestos alelopáticos son importantes en la determinación de las dinámicas de nutrientes, en la química del agua, en ecología microbiana, dominancia, invasión y sucesión, entre otros (Brönmark y Hansson, 2012; Kookechi *et al.*, 2012). La producción de sustancias alelopáticas por parte de las macrófitas es una estrategia efectiva contra otros organismos fotosintéticos que compiten por nutrientes y luz (Gopal y Goel, 1993; Wium-Andersen *et al.*, 1982). Algunos estudios han mostrado que las macrófitas pueden inhibir el crecimiento del fitoplancton a través de la excreción de sustancias químicas (Feng-Min *et al.*, 2005 Qiming *et al.*, 2005). *Egeria densa* es una macrófita sumergida perenne nativa en Sudamérica, ha sido introducida a varios cuerpos de agua alrededor del mundo (Santos *et al.*, 2011). Esta especie llega a ser una molestia en sistemas templados, subtropicales y tropicales debido a su rápido crecimiento (Dutartre *et al.* 1999). También interfiere con varios usos del agua como son: la natación, la pesca, el canotaje, la irrigación, y el turismo (Santos *et al.*, 2011; Vanderstukken *et al.*, 2011). A pesar de su amplia distribución y alta abundancia en varios lagos someros, existen pocos estudios acerca del efecto de *E. densa* sobre el fitoplancton (Nakai *et al.*, 1996; Nakai *et al.*, 1999). Además, una gran parte de los estudios sobre alelopatía que involucren macrófitas, generalmente no caracteriza las

propiedades químicas de las plantas. Existen algunos estudios que han mostrado que compuestos moderadamente lipofílicos estables al calor, ácidos fenólicos, tellimagrandina II, ácidos grasos y compuestos de azufre, son los principales responsables de los efectos alguicidas en algunas especies como *Myriophyllum* spp., *Potamogeton* spp., *Chara* spp. y *Stratiotes aloides*, entre otros (Wium-Andersen *et al.*, 1982; Gross *et al.*, 2007; Bauer *et al.*, 2009). Además, es necesario realizar más investigación en este campo de estudio, para la búsqueda de una estrategia segura y efectiva de control de algas tóxicas nocivas (Wang *et al.*, 2010). Esta información es necesaria para comparar la naturaleza química de las sustancias alelopáticas presentes en diferentes macrófitas.

El objetivo de este trabajo es generar información acerca de algunas características químicas de los extractos crudos de *E. densa* y evaluar sus efectos alelopáticos sobre cuatro especies de fitoplancton.

2. Materiales y Métodos

2.1 Macrófita

Egeria densa fue colectada durante el mes de febrero de 2012 en la presa Benito Juárez, Estado de México (99° 25' 38" N y 19° 41' 22" O) a una altitud de 2540 msnm. La planta fresca fue enjuagada con agua de la llave, posteriormente con agua destilada y fue secada por 72h a 38 °C.

2.2 Extractos crudos

El material seco (30 g) fue sumergido dos ocasiones, 7 días por ocasión en 2.5 L de hexano, acetato de etilo y metanol, por separado, en ese orden. Posteriormente los extractos crudos fueron concentrados con la ayuda de un rotavapor. El rendimiento de los extractos crudos fueron concentrados con la ayuda de un rotavapor. El rendimiento de los extractos (en porcentaje) fue calculado dividiendo el extracto crudo seco obtenido, entre el peso inicial del planta seca y multiplicado por 100 (Harborne, 1998). Los extractos fueron almacenados a 4 °C hasta que fueron utilizados para los análisis y los bioensayos. Para los bioensayos se tomaron 400 mg de extracto y fueron disueltos hasta llegar a 1 ml de los solventes utilizados (ver abajo). Los controles negativos sólo llevaron solventes sin extracto de planta y fueron preparados de la misma manera, mientras que para los controles

positivos se utilizó la juglona (5-hydroxynaphthoquinone, Sigma-Aldrich) a una concentración de 50 µg PS por prueba.

2.3 Cromatografía en capa fina

El extracto hexánico fue disuelto con hexano-diclorometano (1:1) y las condiciones de elución fueron de diclorometano-metanol (9.5:0.5). El extracto de acetato de etilo fue disuelto con diclorometano-metanol (1:1) y las condiciones de elución fueron diclorometano-metanol (4:6). El extracto metanólico fue disuelto con acetato de etilo-etanol-agua (0.5:1:1) y las condiciones de elución fueron diclorometano-metanol (3:7). Las características del papel de capa fina fueron cromoplatos de gel de sílice 60 F₂₅₄ (Merck).

2.4 HPLC y GC-MS

El HPLC (*high performance liquid chromatography*) está provisto con una columna Alltech Allsphere ODS-1 de 30 m de longitud nominal y de 250 µm diámetro interno, con una tasa de flujo de 1 ml/min, con una longitud de onda de 280 nm con un detector de arreglo de diodos. Los solventes utilizados fueron mezclados utilizando metanol-acetonitrilo-agua (1:1:2) grado HPLC al 0.1 % de ácido fosfórico. Para el GC-MS (*gas chromatography-mass spectrophotometry*), las observaciones se realizaron usando una columna RTX-5MS con longitud nominal de 30 m, diámetro nominal de 250 µm, espesor de la película nominal de 0.25 µm y un flujo inicial de 0.9 ml.min⁻¹. El horno fue puesto a una temperatura inicial de 70°C, con un tiempo inicial de 2 min, con una tasa de incremento de 15°C.min⁻¹, a una temperatura final de 290°C y un tiempo de corrida de 16.67 min. El modo de inyección fue puesto a una temperatura inicial de 250°C con helio como gas.

2.5 Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico de los extractos se realizó con métodos estandarizados. Las pruebas químicas se realizaron utilizando los extractos para identificar varios grupos de compuestos químicos de acuerdo a Sofowara (1993), Trease and Evans (1989) y Harborne (1998). La prueba de alcaloides se realizó con las pruebas de Dragendorff y Shonnenschein; los flavonoides con 10% de NaOH y Shinoda; las saponinas con la prueba de espuma,

Lieberman y Roshentaler; taninos con la prueba de FeCl_3 , Gelatina y $\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$; las cumarinas volátiles con las pruebas de Erlich y KOH; glucósidos cardiacos con las pruebas de Legal y Baljet; glicósidos cianogénicos con las pruebas de Grignard; los antracenos libres con la prueba de Börntrager; aldehídos y cetonas con la prueba de 2,4-dinitrofenol y los fenoles con la prueba de Folin-Ciocalteu.

2.6 Bioensayos con algas

Los bioensayos se realizaron utilizando el alga verde *Chlorella vulgaris* (CL V-3 registrada en el CICESE, Ensenada, México), *Scenedesmus acutus* (cepa Hortobagy no. 72 Universidad de Texas, USA). *Monoraphidium* sp. y la diatomea *Nitzschia palea* fueron aisladas de la presa Benito Juárez en la cual coexistían con *E. densa*. Las algas verdes fueron cultivadas por separado en medio basal Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988) en botellas transparentes de 2 L con aeración e iluminación continua durante 7 días. Para la diatomea, se adicionó 0.5 mL.L^{-1} sílica ($\text{NaSiO}_4 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) y H_2SO_4 0.1 N hasta obtener un pH de 7. El alga fue cosechada al final de la etapa exponencial, fue centrifugada a 3000 rpm por 5 minutos, enjuagada y resuspendida en agua destilada. Posteriormente se almacenó a 4°C hasta antes de usarse en los bioensayos.

Las pruebas de inhibición se realizaron utilizando el método de difusión en agar (Bauer *et al.*, 1966). Se probó el efecto de los extractos de acetato de etilo y de metanol sobre el crecimiento de las especies de fitoplancton a una densidad de $0.2 \text{ OD}_{530\text{nm}}$ (densidad óptica del cultivo a 530 nm) para cada especie de fitoplancton en 1% de agar bacteriológico y medio Bold Basal. Se utilizaron dos concentraciones para cada extracto, las cuales fueron colocadas en sensidiscos (4 y 8 mg PS por sensidisco). Después de que solidificaban las cajas Petri con el medio, se inoculaban las algas por separado y por último se colocaban los sensidiscos con la concentración del extracto correspondiente. Se incubaban por 9 días a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ en iluminación constante (4300 lux). La variable de respuesta fue el diámetro del halo de inhibición observado en las cajas petri y se midió con la ayuda de un vernier.

2.7 Análisis estadísticos

Se realizó un ANDEVA de una vía para evaluar el efecto de la juglona sobre las especies de fitoplancton utilizadas y una prueba de ANDEVA de dos vías para evaluar el efecto de la concentración de los extractos y el efecto sobre cada especie de fitoplancton. Si el análisis de ANDEVA mostraba diferencias estadísticas significativas se utilizó la prueba de Tukey para analizar las diferencias entre los distintos pares.

3. Resultados

Con los extractos evaporados de *Egeria densa*, se realizaron los análisis fitoquímicos, posteriormente, los bioensayos con dos especies de fitoplancton mantenidas en el laboratorio y con otras dos especies que coexistían con *E. densa* en la naturaleza. Los extractos hexánicos revelaron la presencia de flavonoides en baja cantidad, saponinas, cumarinas volátiles, glucósidos cardiacos, aldehídos y cetonas en una intensidad media. En el extracto de acetato de etilo los grupos con poca concentración fueron los glucósidos cardiacos, aldehídos y cetonas, mientras que las saponinas mostraron la mayor concentración. En el extracto metanólico los aldehídos y las cetonas fueron encontrados en baja cantidad, mientras que los glucósidos cardiacos y los fenoles mostraron las mayores concentraciones. No fueron encontrados alcaloides, taninos, glucósidos cianogénicos ni antracenos libres (Tabla 1).

Los datos sobre la composición química de los extractos hexánico y de acetato de etilo se encuentran en las tablas 2 y 3. Se detectaron un total de 23 compuestos de los cuales, 17 pertenecían al extracto de hexano y 6 al extracto de acetato de etilo. Los compuestos que tenían más del 80% de similitud fueron seleccionados. En el extracto hexánico los principales compuestos detectados fueron: 2-pentadecanona, 6,10,14-trimetil (19%), ácido n-hexadecanoico (15.28%), n-propil hexadecanoato (11%), tricosano (~11%) y heneicosano (~9%), mientras que en el extracto de acetato de etilo fueron: nanocosano (32%), tetratriacontano (12%) y eicosano (10%), los cuales constituían más del 50%.

Tabla 1. Análisis fitoquímico de los extractos de *Egeria densa* con diferentes tipos de pruebas. Los símbolos +, ++, +++ indican la intensidad de las diferentes sustancias.

Metabolitos secundarios	Reactivo	Hexano	Acetato de etilo	Metanol
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-
	Shonnenschein	-	-	-
Flavonoides	Shinoda	-	-	-
	NaOH 10%	+	-	-
	Citroborico	-	-	-
Saponinas	Espuma	-	-	-
	Lieberman B.	++	++	-
	Rosenthaler	-	+++	-
Taninos	Gelatina	-	-	-
	Fe ₃ Cl	-	-	-
	K ₃ (Fe(CN) ₆)	-	-	-
Cumarinas volátiles	Erlich	++	-	-
	KOH y EtOH	-	-	-
Glucósidos cardíacos	Legal	-	-	++
	Baljet	++	+	+++
Glucósidos cianogénicos	Grignard	-	-	-
Antracenos libres	Börntrager	-	-	-
Aldehídos y cetonas	2,4-dinitrofenol.	++	+	+
Fenoles	Folin-Ciocalteu	-	-	+++

Símbolos. (-): prueba negativa (ausencia de turbidez, floculación y precipitación). (+): Prueba positiva débil (sí existe una pequeña reacción). (+ +): Prueba positiva (reacción completa). (+ + +): Prueba fuertemente positiva (reacción más intensa que la anterior).

En la cromatografía en capa fina se muestran los datos de peso, rendimiento y factores de retención de los extractos crudos (Tabla 4). En el extracto hexánico se obtuvo un rendimiento bajo (0.53%) con cinco puntos; sin embargo, esta cantidad de extracto crudo no fue suficiente para los bioensayos. Del extracto de acetato de etilo se obtuvieron alrededor de 700 mg (2.22%) y 2 puntos en la cromatografía. Del extracto metanólico se

obtuvo el mayor rendimiento que corresponde al 11% (4385 mg) de la masa seca. Sus factores de retención fueron de 0.73 y 0.88.

Tabla 2. Composición química del extracto crudo de hexano de *Egeria densa*.

Tiempo de retención	(%)	Compuestos	% de similitud
10.253	1.79	2(4H)-Benzofuranona, 5,6,7,7a-tetrahidro-4,4,7a-trimetil	94
11.748	1.66	Ácido Tetradecanoico	98
12.319	19.02	2-Pentadecanona, 6,10,14-trimetil	90
12.563	2.27	1,2-Ácido Benzonadicarboxílico, buty 1,2-etilhexil ester	90
12.634	2.59	Nonadecano	98
12.839	2.49	Ácido Hexadecanoico, metil éster	93
13.012	3.44	Oxirano, 2-decil-3-(5-metilhexil)-, cis-(./+/-)-	68
13.121	15.28	n-Ácido Hexadecanoico	97
13.769	1.8	n-Propil 9-hexadecano	81
13.878	10.96	n-Propil hexadecano	95
13.91	8.86	Heneicosano	99
15.071	10.86	Tricosano	95
15.501	2.87	4,8,12,16-Tetrametilheptadecano-4-olido	93
16.143	2.6	2-Metil-octadecano	94
16.322	1.22	Ácido Docosanoico, metil éster	97
16.399	1.33	Cis-Z-.alfa.-bisaboleno epoxido	90
16.508	1.68	Ácido 1,2-Benzenodicarboxílico, mono (2-etilhexil) éster	86

Tabla 3. Composición química del extracto crudo de acetato de etilo de *Egeria densa*.

Tiempo de retención	(%)	Compuestos	% de similitud
13.16	12.11	Tetratriacontano	91
13.93	5.99	Ácido Tetracosanoico, metil éster	97
14.956	2.1	Tritetracontano	81
15.873	3.33	Z-14-Nonacosano	98
16.085	31.51	Nanocosano	97
16.143	9.9	Eicosano	96

Los perfiles de HPLC del extracto de metanol a 280 nm de longitud de onda, muestran la presencia de 10 compuestos (Fig. 1). Para los bioensayos se utilizó juglona (5-hydroxynaphthoquinone) como control positivo debido a sus propiedades alelopáticas ya reconocidas.

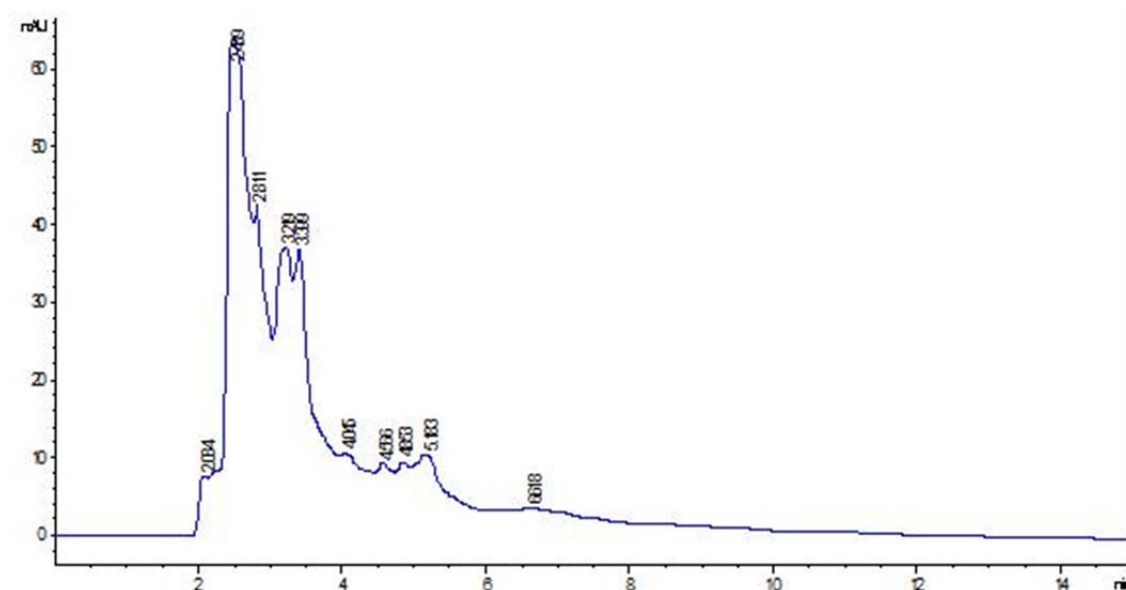


Figure 1. Perfil de HPLC del extracto crudo de metanol de *Egeria densa* a 280 nm.

Tabla 4. Peso, rendimiento y factores de retención de los extractos crudos de *E. densa* en cromatografía en capa fina.

Extractos	Peso del extracto (mg)	Rendimiento (%)	Factor de retención
Hexano	162	0.53	0.33, 0.38, 0.44, 0.74, 0.85
Acetato de etilo	666	2.22	0.72, 0.89
Metanol	4385	11.19	0.73, 0.88

La figura 2 ilustra los efectos estadísticamente diferentes de la juglona ($p < 0.001$; Tabla 5) sobre cada una de las especies de fitoplancton seleccionadas. Las pruebas *post hoc* indican cuatro grupos distintos. El crecimiento de *Nitzschia palea* fue el más inhibido mientras que *Scenedesmus acutus* fue el menos. Los extractos crudos también tuvieron efectos diferentes significativos sobre el crecimiento de las especies seleccionadas. En la figura 3 se puede ver que la concentración del extracto mostró diferencias estadísticas significativas ($p < 0.01$; Tabla 6) mientras que no se observaron diferencias entre las diferentes especies de fitoplancton utilizadas ($p > 0.05$; Tabla 6). Los controles negativos no mostraron ninguna inhibición sobre el fitoplancton.

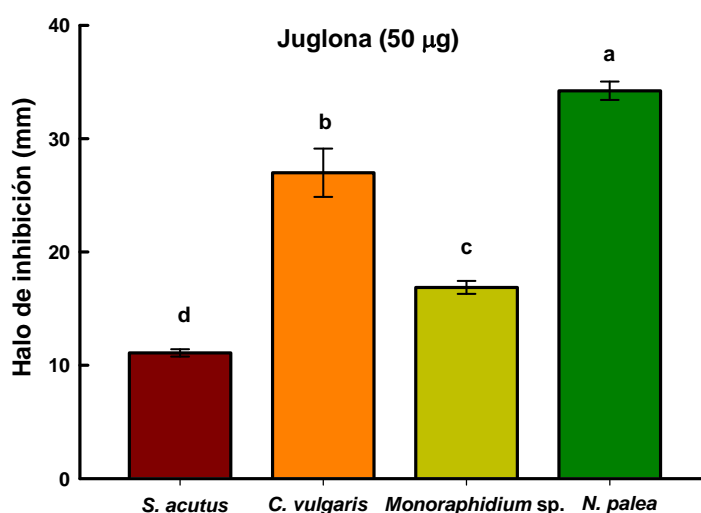


Figura 2. Halos de inhibición producidos por 50 µg de juglona (5-hidroxinaftoquinona) sobre las especies de fitoplancton seleccionadas. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con ANDEVA de una vía y prueba *post hoc* de Tukey ($p < 0.05$). Datos basados en 16 réplicas.

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza de una vía sobre el diámetro de inhibición de *S. acutus*, *C. vulgaris*, *Monoraphidium* sp. y *N. palea*, expuestas a 50 µg de juglona por sensidisco. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios; F = prueba de Fischer, *** = p<0.001.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Especies de alga	3	3636.57	1212.19	61.44***
Error	52	4603.32	19.73	

De este modo, se pudo ver que el incremento en la concentración de los extractos provocó un incremento en el tamaño de los halos de inhibición. *Scenedesmus acutus* fue la especie más sensible al extracto de acetato de etilo mientras que *Nitzschia palea* fue la menos sensible a este extracto pero la más sensible al extracto de metanol (Fig. 3).

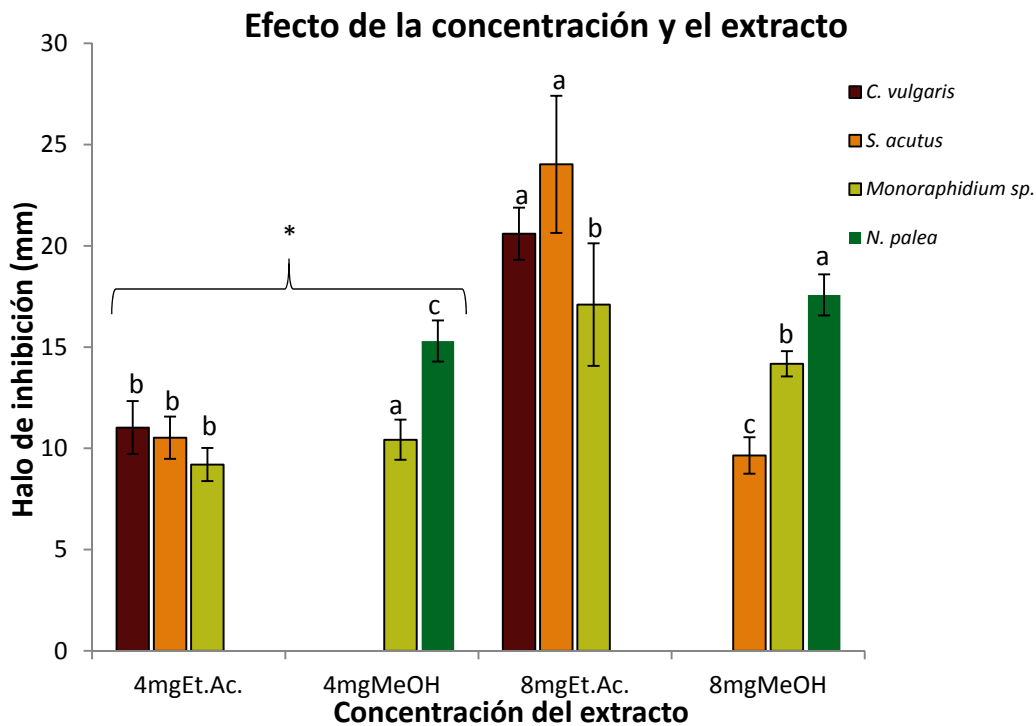


Figura 3. Halos de inhibición producidos por 4 y 8 mg por sensidisco de extractos crudos de acetato de etilo y de metanol de *Egeria densa* sobre *S. acutus*, *C. vulgaris*, *Monoraphidium* sp. y *N. palea*. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con ANDEVA de dos vías y prueba *post hoc* de Tukey (p<0.05). Los datos se basaron en cinco réplicas. El asterisco (*) indica que existen diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de los extractos.

Tabla 6. Resultado del análisis de varianza de dos vías del diámetro de los halos de inhibición registrados sobre las especies de fitoplancton seleccionadas (*S. acutus*, *C. vulgaris*, *Monoraphidium* sp. y *N. palea*) a distintas concentraciones de extracto de *E. densa* (4 y 8 mg por sensidisco). GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios; F = prueba de Fischer, ** = $p < 0.01$, ns = no significativo.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Concentración (A)	1	544.05	544.05	10.42**
Especies de alga (B)	3	257.31	85.77	1.64ns
Interacción de A X B	3	224.44	74.81	1.43ns
Error	56	2921.42	52.16	

4. Discusión

Desde 1980, numerosos estudios han demostrado el efecto negativo potencial de las macrófitas hacia diferentes organismos acuáticos, incluyendo el fitoplancton (Erhard y Gross, 2006). Se han reportado efectos alelopáticos entre diferentes especies de macrófitas. Por ejemplo, los aleloquímicos de *Hydrilla verticillata* reducen considerablemente la biomasa de otras macrófitas (Kulshreshtha y Gopal, 1983). Se ha demostrado experimentalmente que los exudados provenientes de las macrófitas afectan a las algas y a las cianobacterias. Por ejemplo, usando extractos crudos, Wang *et al.* (2010) reportaron que los ácidos grasos, ácidos fenólicos e hidroxiácidos grasos de *Potamogeton*, tienen actividad alelopática contra *Microcystis aeruginosa*; También encontraron que los efectos inhibitorios son más fuertes con grupos químicos mezclados que con compuestos por separado. Por otro lado, Mulderij *et al.* (2007) encontraron que extractos moderadamente lipofílicos y exudados de *Stratiotes aloides* tenían efectos diferenciales sobre el fitoplancton, siendo las cianobacterias las más afectadas y algunos otros grupos estimulados. En adición, se ha observado que los extractos metanólicos de *Elodea canadensis* y *E. nuttallii* contienen compuestos hidrofílicos ligeramente lipofílicos que inhiben el crecimiento de algunas especies de fitoplancton (Erhard y Gross, 2006). En otro estudio se observó que los extractos metanólicos de *Egeria densa* inhibían a *Microcystis aeruginosa* y no afectaban a *Selenastrum capricornutum* (Nakai *et al.*, 1996). Esto sugiere que los aleloquímicos en el extracto metanólico de *E. densa*, tienen un efecto inhibitorio especie-específico. Además, recientemente se ha observado que la estructura física de esta

macrófita también tiene un papel en el efecto inhibitorio hacia *Scenedesmus acutus* (Espinosa-Rodríguez *et al.* enviado).

La actividad alelopática de las macrófitas sobre diferentes especies de fitoplancton es generalmente evaluada usando especies mantenidas en laboratorio (Körner y Nicklish, 2002). Sin embargo, sólo pocos estudios han utilizado especies de fitoplancton aisladas de campo (Jasser, 1995; Erhard, 2006; Mulderij *et al.*, 2007) y existe menos información sobre las especies de fitoplancton que coexisten con las macrófitas en el campo (Gross *et al.*, 2007). En este trabajo probamos ambas condiciones; los efectos alelopáticos fueron comparados con las especies de fitoplancton que han sido mantenidas en laboratorio y las especies de fitoplancton que coexisten con la macrófita en la naturaleza. Ha sido mencionado que las interacciones alelopáticas entre los organismos autótrofos acuáticos, sería más probable si los organismos provienen de diferentes ambiente (Bais *et al.*, 2003; Gross, 2003; Erhard, 2006). En este sentido, Erhard y Gross (2006) quienes utilizaron especies de fitoplancton simpátricas y alopátricas, encontraron que *Chlorella vulgaris* (aislada de *Elodea nuttallii*) no era inhibida por los extractos de *E. canadensis* y *E. nuttallii*, mientras que las especies provenientes de cepas de laboratorio sí fueron severamente afectadas. De este modo, nuestros resultados no corresponden con lo reportado previamente ya que la inhibición observada fue indistinta con respecto al origen de las especies de fitoplancton (Fig. 3; Tabla 6) ya que la inhibición observada fue más fuerte para *Monoraphidium* la cual fue aislada del sitio donde se encontraba *Egeria*.

Se observó que la sensibilidad de las especies de fitoplancton seleccionadas incrementaba cuando se aumentaba la concentración del extracto crudo. Se ha observado que un incremento en la concentración de compuestos fenólicos totales de las macrófitas, provoca un incremento en el área de inhibición (Wium-Andersen *et al.*, 1982; Bauer *et al.*, 2009). Sin embargo, las sustancias liberadas de la misma macrófita pueden afectar diferencialmente a las especies de fitoplancton. Por ejemplo, los químicos liberados por *Chara* sp. afectaron diferencialmente a *Scenedesmus obliquus*, *Selenastrum capricornutum* y *Chlorella minutissima* (Mulderij *et al.*, 2003).

Es necesario caracterizar las sustancias alelopáticas presentes en los extractos crudos debido a que contienen concentraciones desconocidas de químicos y cada químico podría tener efectos diferentes en las especies de fitoplancton. La juglona usada en este trabajo es conocida por sus efectos alelopáticos sobre organismos terrestres y acuáticos (Strugstad y Despotovski, 2012). Randall y Bragg (1986) reportaron efectos inhibitorios diferenciales de la juglona hacia el fitoplancton, donde *Anabaena flos-aquae* sufrió los mayores niveles de inhibición, mientras que *Scenedesmus acuminatus* tuvo la menor inhibición, lo cual corresponde con nuestros datos donde la juglona tuvo el menor efecto inhibitorio sobre *Scenedesmus acutus* mientras que se observaron los mayores efectos sobre *Nitzschia palea*.

Nakai *et al.* (1999) evaluaron el efecto de nueve especies de macrófitas incluyendo a *Egeria densa* sobre tres especies de cianobacterias. Ellos observaron que *Cabomba caroliniana* y *Myriophyllum spicatum* inhibían el crecimiento de las tres especies de cianobacterias, siendo el efecto de *M. spicatum* mas fuerte. Cuando utilizaron una adición inicial y adiciones semi-continuas de medio condicionado de *M. spicatum*, notaron que una sola adición inicial no inhibía el crecimiento del fitoplancton, por otro lado, las adiciones semi-continuas provocaban un fuerte efecto inhibitorio especie-específico, el cual incrementaba al aumentar la densidad de la macrófita, sugiriendo que los aleloquímicos de la macrófita son continuamente secretados. El efecto especie-específico y el mayor efecto al incrementar la concentración, corresponden con nuestros resultados.

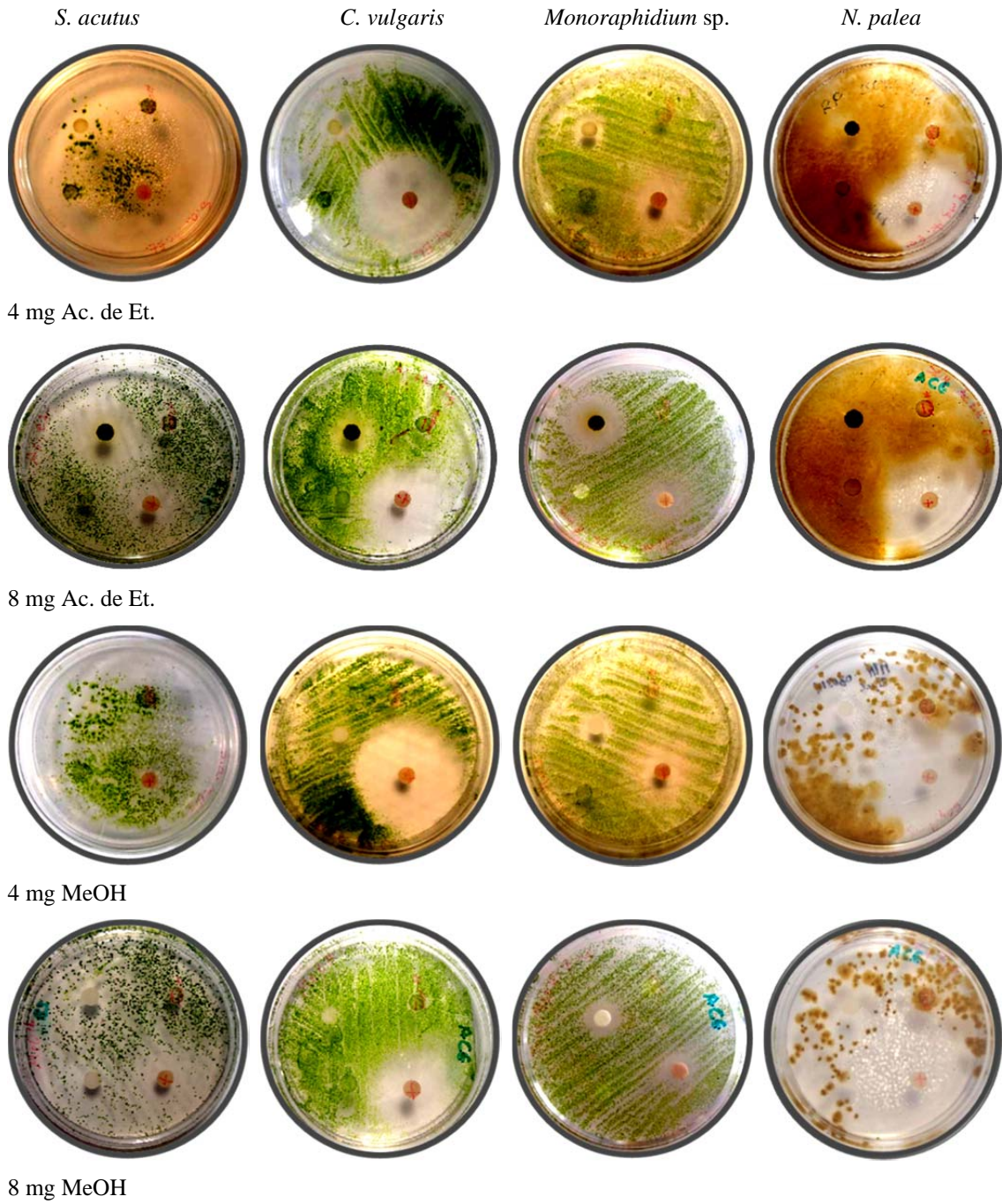


Figura 4. Halos de inhibición de 4 y 8 mg de extracto de acetato de etilo y de metanol sobre *S. acutus*, *C. vulgaris*, *Monoraphidium* sp. y *N. palea*.

Nuestro estudio mostró que *Egeria densa* tuvo efectos negativos sobre el crecimiento de varias especies de fitoplancton. Además, en su hábitat natural, *Egeria densa* también podría provocar cambios considerables en la composición del fitoplancton a través de sus aleloquímicos (Espinosa-Rodríguez *et al.*, enviado). Como lo demostró Bais *et al.* (2003), la alelopatía podría funcionar como una estrategia para invadir nuevos hábitats a través de la producción de sustancias que inhiben el crecimiento de potenciales competidores. Sin embargo, la intensidad de los efectos alelopáticos de *E. densa* en los cuerpos de agua de México, todavía está por explorarse. Tales estudios necesitan ser considerados en futuros trabajos con el objetivo de entender los procesos de las macrófitas invasoras en cuerpos de agua naturales.

5. Conclusiones

Estos bioensayos no mostraron un efecto inhibitorio diferencial claro entre las especies de fitoplancton que coexisten en campo con *Egeria densa* y las que fueron mantenidas en condiciones laboratorio. Nuestros resultados indican que *E. densa* produce más de un compuesto alelopático ya que sus propiedades inhibitorias variaron dependiendo del tipo de extracto y de la especie de fitoplancton. Los metabolitos secundarios involucrados en esta interacción fueron los fenoles y las saponinas.

Capítulo 4

Interacciones entre *Daphnia mendotae* y tres cladóceros litorales en presencia de aleloquímicos *Egeria densa*

Resumen

En lagos someros, la interacción entre las macrófitas y los cladóceros representan un mecanismo crucial que reduce la biomasa del fitoplancton. Varias especies de macrófitas producen aleloquímicos que inhiben diferentes especies de fitoplancton y esta interacción ha sido reportada para *Egeria densa*. También, se ha observado que este tipo de aleloquímicos afectan de diferente manera el comportamiento y algunas variables de historia de vida de *Daphnia*, el cual, es un cladóceros que generalmente se encuentra en la zona pelágica. Se ha demostrado que durante el día este cladóceros migra hacia la zona de macrófitas para evitar la depredación por parte de peces, por lo que durante el día podría estar expuesto a los aleloquímicos de *E. densa*. Por otro lado, los cladóceros que habitan entre las macrófitas podrían haber desarrollado resistencia a estos aleloquímicos, lo cual bajo estas circunstancias, les daría una ventaja competitiva frente a *Daphnia*. En este estudio se evaluó por separado el efecto competitivo de *Daphnia mendotae* en pareja con los cladóceros *Diaphanosoma birgei*, *Macrothrix triserialis* y *Simocephalus mixtus*, en presencia y ausencia de aleloquímicos de *E. densa*. En los experimentos de competencia, las tasas de incremento poblacional (r) de los cladóceros fueron menores que en los monocultivos (de 0.07 a 0.21d⁻¹ contra 0.09 a 0.24 d⁻¹ respectivamente) como era de esperarse. Sin embargo, en contraste con lo esperado en cultivos monoespecíficos, la presencia de aleloquímicos de las macrófitas provocó mayores abundancias poblacionales de las cuatro especies de cladóceros. Las tasas de crecimiento poblacional variaron de 0.07 a 0.16 en los controles y de 0.12 a 0.24 d⁻¹ con aleloquímicos de *E. densa*. Los aleloquímicos de *Egeria densa* tuvieron un efecto positivo para los cladóceros y no determinaron el éxito competitivo de las especies competidoras sobre *D. mendotae*.

Palabras clave: Macrófitas sumergidas, zooplancton, aleloquímicos, tasa de incremento poblacional.

1. Introducción

Los costos y beneficios de las macrófitas hacia el zooplancton así como sus potenciales implicaciones son poco conocidas, especialmente en cuerpos de agua tropicales (Burks *et al.*, 2006). Por ejemplo, en algunos lagos someros, *Daphnia* migra horizontalmente hacia la zona de macrófitas durante el día (Burks *et al.*, 2002; Iglesias *et al.*, 2007) para reducir el riesgo de depredación provocado por los peces (Stanfield *et al.*, 1997), lo cual reduce la biomasa fitoplanctónica en la zona de macrófitas debido al forrajeo (Wojtal *et al.*, 2003). Por otro lado, se ha demostrado que las macrófitas afectan negativamente algunas especies de cladóceros a través de la liberación de compuestos químicos (Gutiérrez y Paggi, 2014). De este modo, existe un conflicto entre el efecto negativo y el efecto positivo de las macrófitas sobre el zooplancton (Cerbin *et al.*, 2007) y se ha reconocido que las macrófitas son el mayor componente que influencia las características del hábitat para las comunidades de la macrofauna, microcrustáceos y rotíferos de las zonas litorales de los cuerpos de agua (Talbot y Ward, 1987; Duggan *et al.*, 2001; Kuczyńska-Kippen y Nagengast, 2006). Además, algunas especies de cladóceros llegan a ser muy abundantes en la zona de macrófitas y reducen la densidad del fitoplancton a niveles donde la competencia entre herbívoros puede llegar a ser muy intensa lo cual está relacionado con la fase de agua clara en lagos templados (Scheffer, 2004, Abrantes *et al.*, 2006; Muylaert *et al.*, 2010).

La mayor parte de la investigación acerca de interacciones químicas entre microorganismos se ha enfocado en las respuestas que tienen diversas especies de fitoplancton a los aleloquímicos liberados por las macrófitas (Gross *et al.*, 2003), por lo que existe menos información acerca de las respuestas que tiene el zooplancton a sustancias bioactivas provenientes de las macrófitas (van Donk y van de Bund, 2002; Weissbach *et al.*, 2010). Las primeras observaciones mostraron que *Daphnia rosea* era fuertemente repelida por las sustancias secretadas por *Elodea*, *Nitella* y *Myriophyllum*, mientras que las plantas plásticas artificiales no tenían efecto, por lo que se pudo descartar que el efecto de sombra era el responsable de la repelencia mostrada (Pennak, 1973); en una investigación más reciente en clima subtropical, se observaron tendencias similares utilizando a *Daphnia obtusa* en presencia de *Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes*, *Salvinia auriculata* y *Ceratophyllum demersum*; en ese estudio, Meerhoff *et al.*, (2006) observaron una diferencia en el grado de

repelencia de las tres plantas flotadoras en comparación con la sumergida. Por otro lado, un estudio de campo, mostró que el potencial alelopático varía dependiendo de la estacionalidad; por ejemplo, Burns y Dodds (1999) reportaron que en campo la macrófita *Nitella hookeri* inhibía el proceso de alimentación de *Daphnia carinata*, lo cual sólo ocurrió una vez durante 14 meses, lo cual no correspondía con la mayor abundancia de la macrófita, por lo que se sugirió que podría haber otros mecanismos relacionados. Las macrófitas a menudo producen sustancias químicas que repelen a *Daphnia magna* y sólo los infoquímicos de los peces contrarrestan el efecto de repelencia producido por las macrófitas (Burks *et al.*, 2000). Los exudados liberados por *Myriophyllum verticillatum* provocaron un menor tamaño en la maduración, un mayor tiempo para alcanzar la madurez y una menor producción de huevos en *Daphnia magna* (Cerbin *et al.*, 2007). Por otro lado se ha observado que los efectos adversos de los aleloquímicos de las macrófitas son independientes de la temperatura (Gutiérrez y Paggi, 2014); en ese estudio encontraron que los exudados de *Eichhornia crassipes* y *Salvinia biloba* tenían efectos negativos similares sobre los parámetros demográficos de *Ceriodaphnia*, independientemente de la temperatura (15 y 21°C).

Varias especies de macrófitas, (entre ellas *Egeria densa*), producen sustancias alelopáticas que afectan adversamente al fitoplancton (Nakai, *et al.*, 1999; Mulderij *et al.*, 2007; Vandestukken *et al.*, 2011) y ha sido probado que estas sustancias también afectan a *Daphnia* de diferentes maneras (Cerbin *et al.*, 2007). Relacionado con esto, Espinosa-Rodríguez *et al.* (2016) evaluaron el efecto directo e indirecto de los exudados de *Egeria densa* sobre variables de historia de vida de *Simocephalus* spp., ellos encontraron que los aleloquímicos de *E. densa* provocaban un incremento en la fecundidad y en la longevidad de los tres cladóceros. Con respecto a esto, se ha demostrado que la alelopatía es una estrategia que utilizan las macrófitas para competir con otros productores primarios o para repeler a ciertos herbívoros (Gross *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014), pero la liberación de compuestos podría ser detrimental para otro grupo de organismos como el zooplancton y estas sustancias alelopáticas podrían modificar las interacciones entre especies (Kookechi *et al.*, 2013).

La competencia por recursos limitantes es una de las fuerzas que influencia la abundancia de los cladóceros (Dodson y Frey, 2001; Sarma y Nandini, 2004). Muchos factores, incluyendo la cantidad y la calidad del alimento y la presencia de depredadores, modifica el éxito de los cladóceros (Dodson y Frey, 2001; Lass y Spaak, 2003). Sin embargo, no se sabe cómo es que las sustancias alelopáticas de las macrófitas afectan las interacciones competitivas entre *Daphnia* y otras especies de zooplancton que pueden ser encontradas en la zona litoral.

El propósito de este estudio fue analizar el efecto de los infoquímicos de *E. densa* sobre las interacciones competitivas entre el cladóceros pelágico *Daphnia mendotae* y tres especies encontradas en la zona litoral: *Simocephalus mixtus*, *Diaphanosoma birgei* y *Macrothrix triserialis*. Se espera que las especies que son litorales y que están acostumbradas a vivir entre las macrófitas y adaptadas a los aleloquímicos, tendrían una ventaja competitiva sobre *D. mendotae* la cual es predominantemente pelágica.

2. Materiales y métodos

2.1 Cultivos de plancton

Los cladóceros *Daphnia mendotae*, *Diaphanosoma birgei*, *Macrothrix triserialis* y *Simocephalus mixtus* se aislaron de la Presa Benito Juárez (19° 41' 22" N y 99° 25' 38" O), del Espejo de los lirios (19° 39' 14" N y 99° 13' 09" O), el Lago Huetzalin (19° 17' 26" N y 99° 05' 51" O) y el Estanque de Axotlan (19° 41' 37" N y 99° 13' 46" O) respectivamente. El alga verde *Scenedesmus acutus* fue obtenida de la Universidad de Texas y *Egeria densa* fue colectada de la Presa Benito Juárez. *Scenedesmus acutus* fue cultivado en medio Bold Basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988) en botellas transparentes de 2 L con luz continua fluorescente y aeración constante. Los cultivos de alga fueron suplementados con 0.75 g.L⁻¹ de NaHCO₃ cada tercer día. El alga fue cosechada, después de pasados 8 días, se centrifugó y se resuspendió en agua destilada. La densidad de alga fue estimada utilizando un hematocitómetro. Todos los cultivos y experimentos fueron realizados a una temperatura de 22 ± 1 °C. Cada especie de cladóceros fue cultivado por separado a partir de una hembra partenogenética en medio EPA y fueron alimentados con *Scenedesmus acutus* desde cinco meses antes del inicio del experimento. El medio EPA se

preparó disolviendo 96 mg de NaHCO_3 , 60 mg de CaSO_4 , 60 mg de MgSO_4 y 4 mg de KCl en 1L de agua destilada (Weber, 1993). El medio de los cultivos fue cambiado cada tercer día con la ayuda de una malla de 150 μm de apertura y el medio viejo fue desechado.

2.2 Medio condicionado con aleloquímicos

En el laboratorio *Egeria densa* fue enjuagada cuidadosamente con agua de la llave, evitando dañar la planta y posteriormente se enjuago con agua destilada. Una vez enjuagada varias veces, *E. densa* fue introducida en un contenedor transparente (incluyendo hojas, tallos y raíces) a una densidad de 1.53 g PS.L^{-1} en medio EPA con luz continua fluorescente y aeración constante para evitar gradientes. Después de que las macrófitas estuvieron en el medio por 48 h, se obtuvo el medio condicionado el cual fue filtrado a través de 25 μm de apertura de poro para obtener los aleloquímicos (exudados) liberados por la macrófita.

2.3 Experimentos de competencia

Los experimentos fueron realizados en contenedores transparentes de 100 ml de capacidad, cada uno conteniendo 50 ml de medio EPA y 0.5×10^6 cels. mL^{-1} de *Scenedesmus acutus* con una combinación *Daphnia mendotae* y cada uno de los cladóceros: *Simocephalus mixtus*, *Diaphanosoma birgei* y *Macrothrix triserialis*. Para los controles se colocaron las especies solas por separado bajo las mismas condiciones. Estos tratamientos se colocaron con y sin medio condicionado con aleloquímicos de *Egeria*. Para cada tratamiento se realizaron cuatro réplicas. En cada unidad experimental se introdujo individualmente a los cladóceros a una densidad inicial de 0.2 ind. ml^{-1} con la ayuda de una pipeta Pasteur y un microscopio estereoscópico. Después del inicio del experimento, se cuantificaron diariamente las abundancias de los cladóceros y los individuos sobrevivientes fueron transferidos a otros contenedores con el tratamiento correspondiente. Los experimentos fueron finalizados a los 22 días. Se calculó la tasa de incremento poblacional utilizando la ecuación de crecimiento exponencial: $r = (\ln N_t - \ln N_o)/t$, donde, r = tasa de incremento poblacional, N_o = densidad inicial, N_t = densidad final, t = tiempo en días (Krebs, 1985).

2.4 Análisis estadísticos

Los datos de los experimentos de crecimiento poblacional fueron analizados estadísticamente utilizando un análisis de varianza (ANDEVA) (Sokal y Rohlf, 2000) después de realizar un análisis de normalidad a los datos. La prueba de Tukey fue utilizada para realizar comparaciones múltiples en caso de que el análisis de ANDEVA mostrara diferencias significativas con el programa Sigma Plot ver. 11.

3. Resultados

En este estudio se observó que el medio condicionado con aleloquímicos de *Egeria densa* incrementó diferencialmente la abundancia poblacional de todas las especies de cladóceros utilizadas, independientemente del competidor (Fig. 1). Este efecto fue mayor sobre *Diaphanosoma birgei*, el cual casi cuadruplicó la máxima abundancia registrada en el control, seguido de *Macrothrix triserialis*, mientras que para *Daphnia mendotae* y *Simocephalus mixtus* el efecto positivo fue menor (Fig. 1). También se puede notar que en los tratamientos con aleloquímicos de *E. densa* se obtuvieron los valores más altos de tasa de incremento poblacional (r) por día. Los valores de r mostraron una relación similar a la observada en las densidades de los cladóceros siendo *D. birgei* la especie que obtuvo los valores más altos mientras que *D. mendotae* y *S. mixtus* fueron aquellas que registraron los valores más bajos (Fig. 2; Tabla 1).

En experimentos de interacción sin presencia de aleloquímicos de *E. densa* se puede ver que *S. mixtus* y *M. triserialis* provocaron una disminución de la abundancia de *D. mendotae* en comparación con *D. birgei*, mientras que en presencia de estos aleloquímicos la disminución de la abundancia de *D. mendotae* no se vio tan reducida e inclusive en presencia de *M. triserialis* la tendencia fue similar al tratamiento con aleloquímicos sin competidor. Asimismo se puede distinguir que la presencia de *D. mendotae* provocó una considerable reducción de la abundancia de *D. birgei* lo cual no fue tan evidente para *S. mixtus* mientras que para *M. triserialis* la reducción en su abundancia fue notoria después de 15 días (Fig. 1).

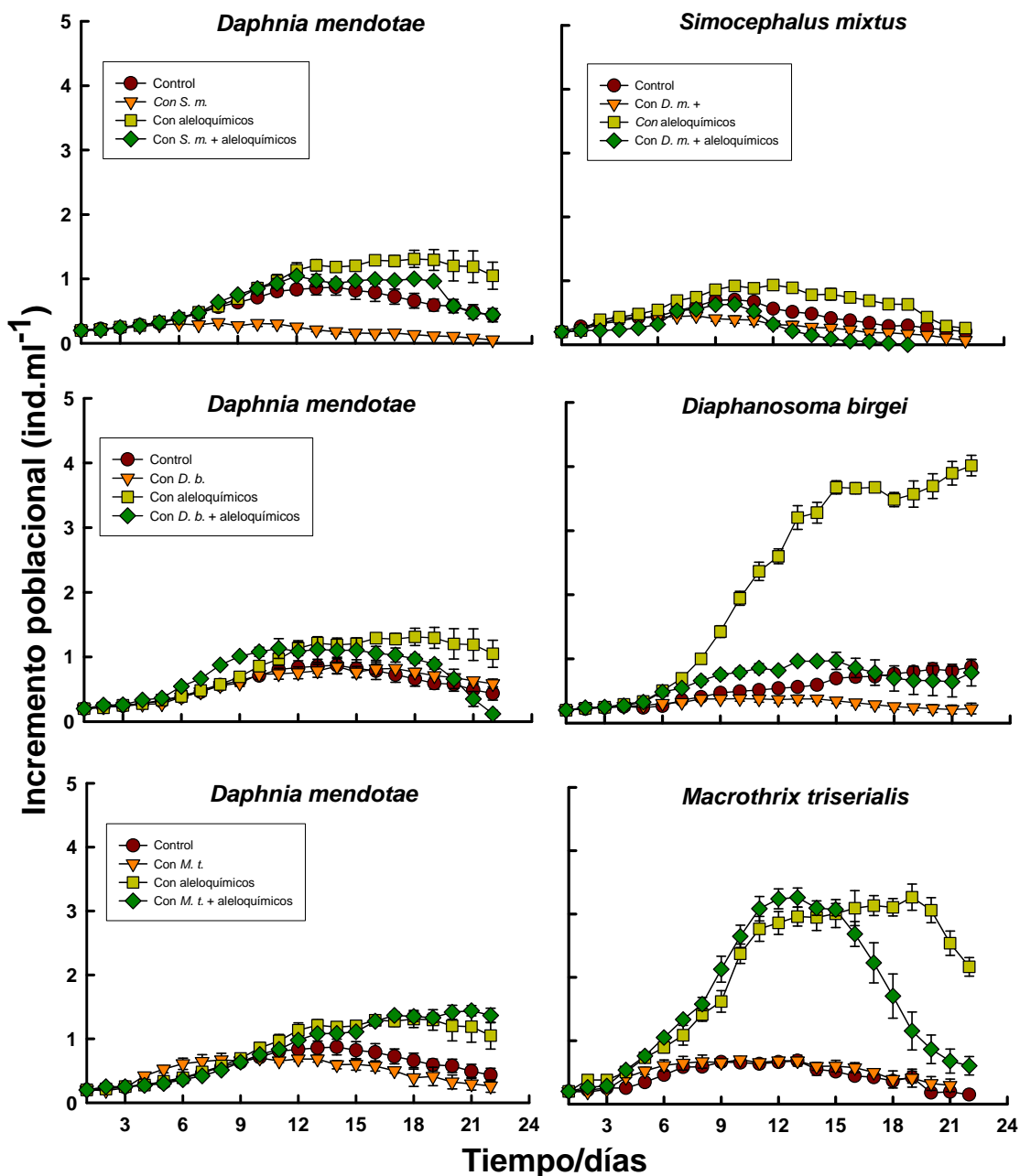


Figura 1. Crecimiento poblacional de los cladóceros seleccionados en ausencia y presencia de competidor y aleloquímicos de *Egeria densa*. Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas.

Con respecto a *D. mendotae*, fue evidente que *S. mixtus* en medio EPA disminuyó fuertemente las tasas de crecimiento del daphnido, mientras que en presencia de los aleloquímicos, la presión competitiva fue disminuida. También se puede ver que la presencia de *D. birgei* no tuvo algún efecto negativo significativo sobre las tasas de

crecimiento de *D. mendotae* independientemente de la presencia de los aleloquímicos de *E. densa*. Además se observa que *M. triserialis* tuvo un efecto negativo sobre *D. mendotae* en medio EPA y con aleloquímicos de la macrófita.

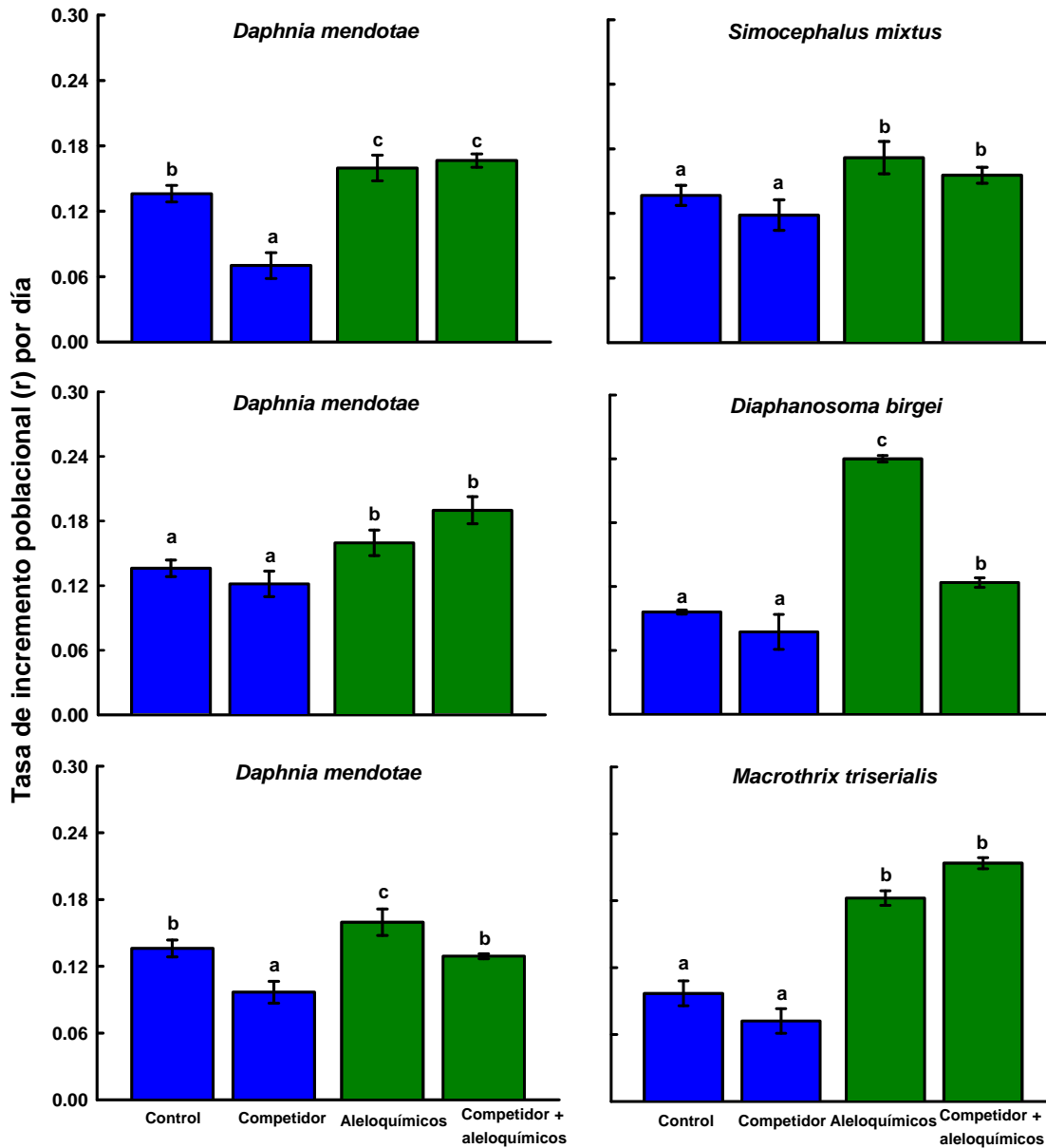


Figura 2. Tasa de incremento poblacional de las especies de cladóceros probados en ausencia y presencia de competidor y aleloquímicos de *Egeria densa*. Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas. Letras similares indican que las diferencias no son significativas ($p > 0.05$, prueba de Tukey).

Tabla 1. Resultados del análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, sobre la tasa de incremento poblacional (r) por día de *Daphnia mendotae*, *Simocephalus mixtus*, *Diaphanosoma birgei* y *Macrothrix triserialis* con y sin aleloquímicos de *Egeria densa*. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios; F = prueba de F, ns = no significativo * = (p>0.05), ** = p<0.01, *** = p<0.001.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
<i>D. mendotae</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.024	0.024	84.228***
Competidor (<i>S. mixtus</i>) (B)	1	0.005	0.005	19.122**
Interacción de A X B	1	0.0009	0.0009	3.154ns
Error	12	0.003	0.0002	
<i>D. mendotae</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.0084	0.0084	21.351***
Competidor (<i>D. birgei</i>) (B)	1	0.0002	0.0002	0.622ns
Interacción de A X B	1	0.002	0.002	5.112ns
Error	12	0.0047	0.0003	
<i>D. mendotae</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.0031	0.0031	17.432**
Competidor (<i>M. triserialis</i>) (B)	1	0.0049	0.0049	27.401***
Interacción de A X B	1	0.00007	0.00007	0.446ns
Error	12	0.0021	0.0001	
<i>S. mixtus</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.0047	0.0047	9.362*
Competidor (<i>D. mendotae</i>) (B)	1	0.0011	0.0011	2.153ns
Interacción de A X B	1	0.000003	0.000003	0.007ns
Error	12	0.0056	0.0005	
<i>D. birgei</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.0362	0.0362	120.182***
Competidor (<i>D. mendotae</i>) (B)	1	0.0182	0.0182	60.368***
Interacción de A X B	1	0.0095	0.0095	31.669***
Error	12	0.0036	0.0003	
<i>M. triserialis</i>				
Aleloquímicos de <i>E. densa</i> (A)	1	0.0062	0.0062	16.927**
Competidor (<i>D. mendotae</i>) (B)	1	0.0014	0.0014	3.807ns
Interacción de A X B	1	0.0005	0.0005	1.406ns
Error	12	0.004	0.0003	

De acuerdo con lo registrado para *S. mixtus* y *M. triserialis* se aprecia que la presencia de *D. mendotae* no tuvo un efecto negativo significativo independientemente de la presencia química de *E. densa* lo cual no sucedió con *D. birgei* el cual fue fuertemente afectado por el

daphnido en presencia de aleloquímicos (Fig. 2; Tabla 1). Los valores de tasa de incremento poblacional (r) por día variaron de 0.07 a 0.24 dependiendo de la presencia del medio condicionado de la macrófita, el competidor o ambos (Fig 2).

4. Discusión

En contraste con estudios donde se ha mostrado el efecto negativo de los aleloquímicos de macrófitas sobre algunas especies de cladóceros pelágicos (Meerhoff *et al.*, 2006; Cerbin *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014), en este estudio se observó un efecto positivo diferencial de los aleloquímicos de *Egeria densa* sobre las variables poblacionales de las especies de cladóceros usadas. Poco se sabe acerca de las interacciones entre cladóceros pelágicos y litorales las cuales llegan a coexistir en presencia de aleloquímicos de macrófitas en sistemas tropicales. En algunos estudios se ha observado que algunas sustancias toxicas a baja concentración pueden provocar “hormesis” (incremento en el crecimiento poblacional) en varios organismos (Duke, 2011) sin embargo este incremento no llega a ser tan grande como se observó para *M. triserialis* y *D. birgei*.

Otra explicación está relacionada a la biodegradación de los aleloquímicos (materia orgánica disuelta) liberados por las macrófitas. Se ha observado que la liberación de materia orgánica disuelta (exudados) por parte de las macrófitas estimula el crecimiento bacteriano, el cual podría ser utilizado como fuente de alimento por ciertos cladóceros (Burks *et al.*, 2002; van Donk y van de Bund, 2002). Stanley *et al.* (2003) encontraron que la cantidad de bacterias producidas era influenciada por la presencia de las macrófitas. Cuando *Daphnia* es alimentada con bacteria o alga por separado, su crecimiento y reproducción es reducido, sin embargo cuando se mezclan estas dietas se llegan a obtener grandes densidades (Smirnov, 2014).

En el medio condicionado con aleloquímicos, las algas perifíticas se trataron de eliminar en su mayoría con varias enjuagadas y no se adicionaron nutrientes al medio EPA, por lo que el medio condicionado de *Egeria* tendría principalmente bacterias y protozoos asociados a ellas. Estos organismos asociados cual habrían contribuido en las mayores abundancias exhibidas por los cladóceros en los experimentos con este tratamiento. También es

importante considerar que el tamaño de partículas que cada especie de cladóceros filtra (determinado por la distancia intersetular) determina el tamaño de partícula más pequeño que puede consumir. Respecto a esto, Geller y Müller (1981) mencionaron que *Diaphanosoma* tenía la distancia intersetular más corta (0.2 μm), lo cual le permitía ingerir fácilmente bacterias, mientras que para *Daphnia* spp. existía una mayor variación (de 0.2 a 2.3 μm). Lo anterior sugiere que el cladóceros con menor distancia intersetular podría aprovechar mejor las partículas de alimento más pequeñas como las bacterias (Kankaala, 1988) y esto explicaría porque *Diaphanosoma*, en comparación con los otros cladóceros habría obtenido un mayor beneficio del medio condicionado de las macrófitas. En condiciones favorables, los cladóceros logran establecer grandes poblaciones durante la primavera y el verano, este éxito está basado en la habilidad que tienen para alimentarse de un amplio espectro de tamaño de partículas los cuales incluyen bacterias, algas, protozoos, cianobacterias y detritus (Tönno *et al.*, 2003; Sarnelle y Wilson, 2005; Nandini *et al.*, 2007). En el sitio donde se encontraba *E. densa* se registraron altas densidades de *S. serrulatus* y *C. dubia* (~ 30 y 50 ind.L^{-1} respectivamente) comparado con la zona sin plantas, mientras que sucedió lo contrario con *Daphnia mendotae* (abundancia máxima $\sim 18 \text{ ind.L}^{-1}$) lo cual ayudo a evitar la competencia entre estos taxa (Ver capítulo 2).

Se ha reportado que las macrófitas afectan positivamente a los cladóceros a través de brindar refugio contra la depredación de peces (Iglesias *et al.*, 2007; Cazzanelli *et al.*, 2008), por lo cual *Daphnia* busca mantenerse cerca de las macrófitas para evitar la depredación por vertebrados (Lauridsen y Lodge, 1996). Sin embargo, en este estudio se observó que los aleloquímicos de *E. densa* no representaron un costo hacia las especies de cladóceros utilizadas, por el contrario representaron un beneficio, por lo que la presencia de *Daphnia* en la zona litoral también se podría relacionar con la presencia de algún recurso alimento diferente. De este modo, la distribución de los cladóceros no dependería solo de su susceptibilidad a la depredación (Dodson y Frey, 2001), sino también de la disponibilidad del recurso alimento (Burks *et al.*, 2002). Se ha observado que las especies zooplanctónicas exhiben diferentes respuestas a estos factores, lo cual podría repercutir en la estructura de la comunidad del zooplancton (Burks *et al.*, 2002).

En este estudio, se observó que en algunos casos la presencia de los aleloquímicos de *E. densa* afectó el resultado competitivo entre algunos cladóceros. El resultado de las interacciones competitivas a menudo depende de las diferencias en las estrategias de historia de vida de los cladóceros pelágicos y litorales; estos últimos, por ejemplo, tienen una mayor edad en la maduración y bajas tasas de crecimiento, mientras que los otros tienen una edad corta en la maduración y altas tasas de crecimiento (Sarma *et al.*, 2005). En los experimentos de competencia se observó que las curvas de crecimiento poblacional de *M. triserialis* son similares a los controles lo cual nos indica que no fue afectado negativamente por *D. mendotae*. Las formas de alimentación de los cladóceros se dividen principalmente en dos grupos: filtradores y colectores (Jeppesen *et al.*, 1998). *M. triserialis* utiliza su segundo par de apéndices para raspar las superficies y coleccionar su alimento mientras que *Daphnia* filtra las partículas en suspensión (Dodson y Frey, 2010), debido a esto, estas especies obtienen su alimento de distinta manera por lo cual el efecto competitivo se vio disminuido. Con respecto a lo que sucedió con *D. birgei* y *S. mixtus* se puede observar que la presencia de *Daphnia* disminuyó su abundancia y los valores de r debido a que estas especies obtienen su alimento del mismo modo (Dodson y Frey, 2010). Por otro lado, se ha mencionado que la competencia entre cladóceros está determinada por su talla, de esta manera el cladóceros de mas talla tendrá una ventaja competitiva sobre el más pequeño ya que puede soportar mejor las condiciones de limitación de alimento (Gliwicz, 1990).

5. Conclusiones

Los aleloquímicos liberados por *E. densa* no representaron una desventaja para *D. mendotae*, mientras que a nivel poblacional, estos aleloquímicos incrementaron las abundancias y las tasas de incremento poblacional (r) por día de las especies de cladóceros utilizadas.

Capítulo 5

Efecto de la materia orgánica disuelta y particulada de la macrófita *Egeria densa* sobre la dinámica poblacional de *Plationus patulus* (Rotifera: Brachionidae)

Resumen

Egeria densa produce una gran cantidad de biomasa que impacta al sistema a través de una alta producción de materia orgánica particulada (MOP) y disuelta (MOD). Por otro lado, se ha reportado que la MOD (aleloquímicos) producida por esta macrófita, tiene un efecto negativo sobre el fitoplancton y modifica algunas variables demográficas de algunos cladóceros, sin embargo, no es claro el efecto que este tipo de sustancias podría tener sobre el grupo de los rotíferos. Utilizando medio condicionado con la presencia de la macrófita (aleloquímicos), se evaluó el efecto de la descomposición de *Egeria densa* así como el efecto de esta macrófita en condiciones óptimas (fresca) sobre la dinámica poblacional de *P. patulus*. Se utilizaron distintas densidades de macrófita ($2.91, 1.45$ y 0.72 g PS.L^{-1}) con y sin la adición de *Chlorella vulgaris* como alimento. También se evaluó el efecto del detritus producido por esta macrófita a tres densidades ($335, 167$ y $83.5 \mu\text{g PS.L}^{-1}$) en comparación con *C. vulgaris* como alimento. En el tratamiento en descomposición con alga mostró que el medio condicionado de *E. densa* al 100% provocó un retraso de 10 días de la fase exponencial de crecimiento, mientras que a la menor concentración se observó un efecto positivo ($p < 0.001$). También se observó que el detritus generado por esta macrófita sirvió como alimento para el rotífero, donde el incremento en la cantidad de este recurso provocó una mayor abundancia poblacional, sin embargo la densidad poblacional alcanzada por el rotífero fue menor ($16.33 \pm 0.35 \text{ ind.ml}^{-1}$) comparada con el control ($43.6 \pm 0.45 \text{ ind.mL}^{-1}$) que fue suplementado con alga. En los tratamientos que sólo tenían medio condicionado sin alga, *P. patulus* pudo mantener densidades ligeramente superiores a las del inóculo ($2.53 \pm 0.4 \text{ ind.mL}^{-1}$) lo cual fue similar a lo observado con *E. densa* fresca ($2.36 \pm 0.07 \text{ ind.mL}^{-1}$). En todos los tratamientos se registró un efecto positivo de la MOD de *E. densa* sobre las abundancias del rotífero, las cuales eran proporcionales a la concentración de medio condicionado. Nuestros resultados sugieren que *E. densa*, su biota asociada y su detritus son un potencial recurso alimento para *P. patulus*.

Palabras clave: Zooplancton, detritus, aleloquímicos, tasa de incremento poblacional.

1. Introducción

Las macrófitas ocupan un lugar central en las interacciones tróficas no solo por lo mencionado anteriormente, sino porque también contribuyen con bastante biomasa a los sistemas acuáticos y representan un componente crítico en la biogeoquímica de los sistemas litorales como productores primarios y de materia orgánica. En los sistemas tropicales debido a la mayor cantidad de irradiación solar y temperatura, la biomasa producida podría superar a aquella encontrada en los sistemas templados y subtropicales (Pieczynska, 1993; Burks *et al.*, 2006; Carrillo *et al.*, 2006).

La mayor parte de la productividad primaria generada en los sistemas acuáticos no es consumida por los herbívoros y se reincorpora al sistema en forma de detritus, el cual juega un papel crítico en sostener y organizar ecosistemas (Rich y Wetzel, 1978; Hairston y Hairston, 1993). Además, se ha reportado que el detritus tiene una fuerte influencia sobre la composición de las redes tróficas incrementando la estabilidad y persistencia del ecosistema (Moore *et al.*, 2004), lo cual tiene un efecto sustancial sobre la estructura trófica y la biodiversidad, por lo que la inclusión del detritus en estudios ecológicos es esencial para tener una visión más completa del efecto que se puede tener sobre el ecosistema (Li *et al.*, 2012).

El detritus puede ser ampliamente definido como cualquier forma de materia orgánica no viva, el cual puede incluir diferentes tipos de tejido de plantas, de animales, microbios muertos, heces, así como productos secretados, excretados y exudados de organismos (Moore *et al.*, 2004). Con respecto a su clasificación por tamaño se puede clasificar en moléculas orgánicas disueltas simples a muy complejas (materia orgánica disuelta, (MOD)) y en materia orgánica particulada (MOP) que puede tener diferentes tamaños (Six *et al.*, 2002). La importancia de estas formas de detritus, en términos de origen, tamaño y composición química, varía entre ecosistemas (Wetzel, 2001). La mayoría de los estudios ecológicos consideran al fitoplancton como el único recurso alimento disponible para el zooplancton, sin embargo en sistemas donde la biomasa de las macrófitas llega a ser muy abundante, este recurso podría ser un potencial alimento en ciertas temporadas (Pieczynska, 1993; Wenzel *et al.*, 2014).

Se ha reportado que *Egeria densa* tiene efecto alelopático sobre algunas especies de fitoplancton (Nakai *et al.*, 1996; Nakai *et al.*, 1999; Espinosa-Rodríguez *et al.*, 2016) y también puede modificar algunas variables demográficas e interacciones en algunas especies de cladóceros (Espinosa-Rodríguez *et al.*, 2016), además se ha reportado un efecto antagónico entre rotíferos y macrófitas (Hasler y Jones, 1949), sin embargo falta más información para poder generalizar un efecto sobre su comunidad de invertebrados asociada (Sarma y Nandini, 2015).

En la Presa Benito Juárez, *Egeria densa* produce una gran cantidad de biomasa que no es consumida por algún grupo de consumidores primarios, por lo que una proporción sustancial del detritus de la zona litoral está dominado por partículas de *E. densa*. En alguna etapa del proceso de descomposición de esta macrófita, se producen partículas pequeñas junto con su biota asociada, las cuales podrían estar dentro del rango de alimentación de muchas especies zooplanctónicas (1-25 μm) ya que un gran número de estos son organismos filtradores generalistas (Gulati *et al.*, 2001; Monakov, 2003). Por otro lado, *Platyonus patulus* es un rotífero de talla intermedia (150 μm), ticooplanctónico que habita la zona litoral de la Presa Benito Juárez. Esta especie se ha utilizado como organismo modelo con respecto a su forma de alimentación y reproducción (Flores-Burgos *et al.*, 2004; Wallace *et al.*, 2006). Por otro lado, se ha reportado que varias especies de macrófitas, (entre ellas *Egeria densa*), producen sustancias alelopáticas que afectan adversamente al fitoplancton (Nakai, *et al.*, 1999; Mulderij *et al.*, 2007; Vandestukken *et al.*, 2011) y ha sido probado que estas sustancias también afectan a diferentes especies de zooplancton de distintas maneras (Cerbin *et al.*, 2007; Gutiérrez y Paggi, 2014). El propósito de este estudio fue analizar el efecto de la descomposición de *E. densa*, sus aleloquímicos (MOD) y su detritus (MOP) a diferentes concentraciones sobre la dinámica poblacional de *Platyonus patulus*.

2. Materiales y métodos

2.1 Cultivos de plancton

Platyonus patulus (anteriormente llamado *Brachionus patulus*) se aisló de un sitio donde coexistía con *Egeria densa* en la Presa Benito Juárez, la cual está ubicada en la zona norte del Estado de México, (México). El alga verde *Chlorella vulgaris* (cepa CL V-3, CICESE, Ensenada, México) fue cultivada en medio Basal Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988) en botellas transparentes de 2 L con el uso de luz continua fluorescente y aireación constante. Los cultivos de alga fueron suplementados con 0.75 g.L^{-1} de NaHCO_3 cada tercer día. El alga fue cosechada después de 8 días, se centrifugó, se resuspendió en agua destilada y se refrigeró. La densidad de alga a utilizar fue estimada utilizando un hematocitómetro.

Todos los cultivos y experimentos fueron realizados a una temperatura de $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. El rotífero *P. patulus* fue cultivado a partir de una hembra partenogénica en medio EPA y se utilizó *C. vulgaris* como fuente de alimento. El medio EPA se preparó disolviendo 96 mg de NaHCO_3 , 60 mg de CaSO_4 , 60 mg de MgSO_4 y 4 mg de KCl en 1 L de agua destilada (Weber, 1993). El medio de cultivo fue cambiado cada tercer día utilizando una malla de 50 μm apertura de poro para concentrar a los rotíferos y pasarlos a un nuevo medio de cultivo.

2.2 Experimentos

Durante el año de colecta se observó que dependiendo de la época del año *Egeria densa* presentaba dos fases: Una fase de crecimiento donde la macrófita tenía un aspecto verde y una fase de descomposición donde presentaba un color amarillento. Al colectar esta macrófita se buscó que tuviera un aspecto amarillento, posteriormente se llevó al laboratorio para seguir su proceso de descomposición. Por otro lado, se colectó *E. densa* en condiciones de crecimiento (verde) con ausencia de parches amarillentos. En el laboratorio, *E. densa* (incluyendo hojas, tallos y raíces) fue enjuagada cuidadosamente e introducida por separado (amarillenta y verde) en dos contenedores transparentes a una densidad de 2.91 g PS.L^{-1} (se utilizó esta densidad máxima con la idea de saber que pasaría sí la biomasa de la macrófita llegaba a incrementar a estos niveles) en medio EPA, con luz continua, fluorescente (2500 lux) y aeración constante para evitar gradientes. Después de que las macrófitas estuvieron en el medio por 24 h, se obtuvo el medio condicionado, el cual fue

filtrado a través de 0.45 μm de apertura de poro para obtener el material orgánico disuelto (aleloquímicos) liberado por la macrófita sin materia orgánica particulada. Este medio condicionado fue utilizado de manera similar con la macrófita amarillenta y verde, al 100%, 50%, 25% y 0% (control), con y sin la adición de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris* de tal modo que fueron 64 unidades experimentales (2 condiciones de la macrófita x 2 niveles de alimento (con y sin alga) x 4 concentraciones de medio condicionado x 4 réplicas).

Los experimentos se realizaron en contenedores transparentes de 50 ml de capacidad, a los cuales se les adicionó 25 ml de su tratamiento correspondiente y un inóculo inicial de 1 ind.ml⁻¹ de *P. patulus*. Después de 30 días, la planta se volvió un material muy fino el cual fue filtrado con una malla de 25 μm ya que es el tamaño máximo de partícula que los rotíferos pueden utilizar. Lo que pasó la malla, fue utilizado al 100 % (335 $\mu\text{g PS.L}^{-1}$), 50% (167 $\mu\text{g PS.L}^{-1}$), 25% (83.5 $\mu\text{g PS.L}^{-1}$) sin adicionar *C. vulgaris* y 0% (EPA con *C. vulgaris*) para los experimentos con *Plationus patulus*, con el fin de comparar el efecto del detritus con el alga. El peso seco se determinó utilizando filtros de fibra de vidrio de 0.7 μm de apertura de poro previamente desecados a 50°C por 24 h y pesados, posteriormente se filtró 50 ml del medio con el detritus presente y se introdujo a la estufa hasta obtener el peso seco constante, la diferencia del peso seco final y el peso seco del filtro nos dio los valores de peso seco referidos. Para el detritus se tuvieron un total de 16 unidades experimentales (4 niveles de alimento x 4 réplicas).

2.3 Análisis de datos

La abundancia de los rotíferos se cuantificó cada 24 h y los individuos sobrevivientes fueron transferidos a otros contenedores con su tratamiento correspondiente. Los experimentos fueron finalizados a los 22 días con excepción del primer experimento que duró 27 días debido a que seguía en crecimiento. Con los datos obtenidos se calculó la tasa de incremento poblacional (r) utilizando la ecuación de crecimiento exponencial: $r = (\ln N_t - \ln N_o)/t$, donde N_o = densidad inicial, N_t = densidad final, t = tiempo en días (Krebs, 1985). Para el cálculo de r se consideraron los valores desde el inicio del experimento hasta que llegaba a su abundancia máxima cada réplica. En los experimentos donde no se

adicionó *C. vulgaris*, los valores de r llegaron a ser negativos o muy cercanos a cero por lo que el cálculo de r se realizó hasta el mismo día que en los tratamientos donde sí se adicionó *C. vulgaris*. Los datos de los experimentos de crecimiento poblacional fueron analizados estadísticamente utilizando un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía (Sokal y Rohlf, 2000), después de haber realizado el análisis de normalidad a los datos. La prueba de Tukey fue utilizada para realizar comparaciones múltiples en caso de que el análisis de ANDEVA mostrara diferencias. Se utilizó el programa Sigma Plot ver. 11.

3. Resultados

En la figura 1a se observa el crecimiento de *Plationus patulus* utilizando medio condicionado de *Egeria densa* en descomposición (amarillenta) con la adición de *Chlorella vulgaris* como alimento. Se puede observar, que al 100% de concentración del medio condicionado de *E. densa* (2.91 g PS.L^{-1}), la población de *P. patulus* mostró una fase de aclimatación muy larga, donde hasta el día 16 inició la fase exponencial de crecimiento lo cual disminuyó significativamente ($p < 0.001$; Fig. 2; Tabla 1) la tasa de incremento poblacional (r) por día, en comparación con los demás tratamientos. También se puede ver que a una concentración del 50% la tasa de incremento poblacional no fue significativamente en comparación con el grupo control mientras que al 25% de medio condicionado sí hubo un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.001$; Fig. 2; Tabla 1).

Los datos de crecimiento poblacional de *Plationus patulus* con tres concentraciones del medio condicionado de *Egeria densa* fresca se muestran en la figura 1b. Se observan tendencias similares en la curvas, sin embargo, al incrementar la concentración de medio condicionado de la macrófita, incrementó la abundancia poblacional, lo cual se vio menos contrastante que cuando se usó *E. densa* en descomposición. Los valores de la tasa de incremento poblacional (r) por día (Fig. 2), muestran diferencias estadísticas ($p < 0.01$; Tabla 1) entre el control y las concentraciones de 50% y 100%.

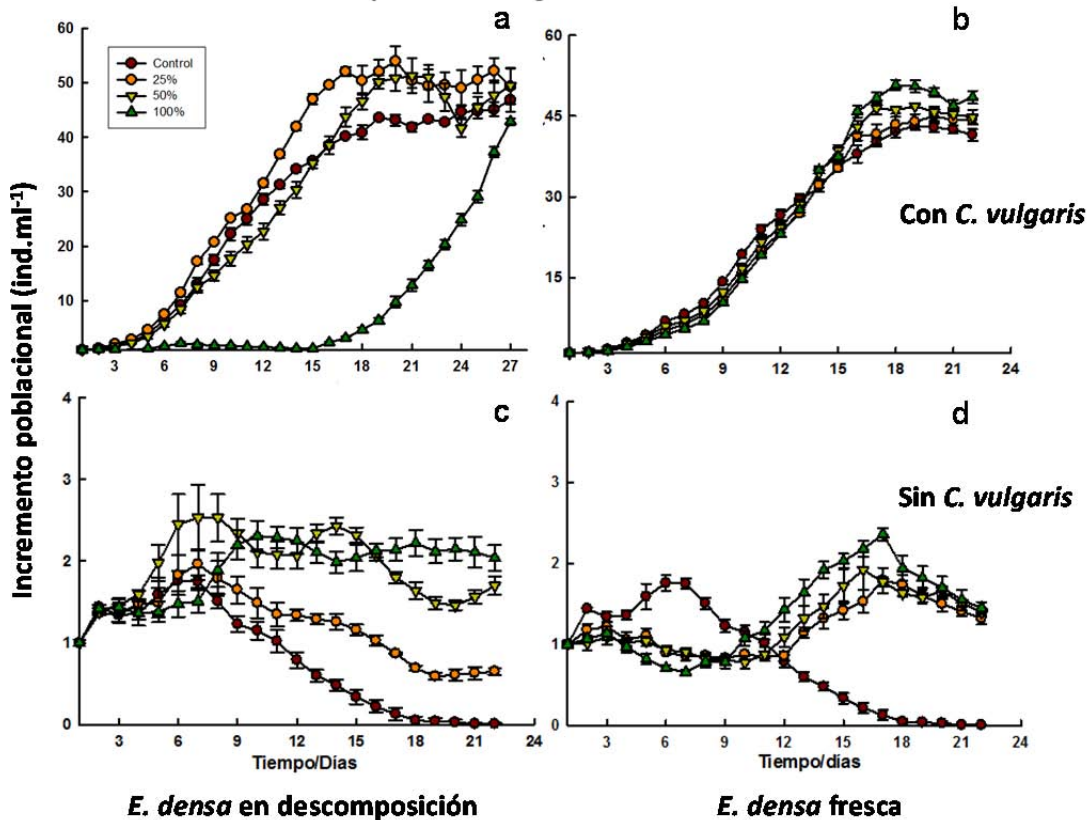


Figura 1. Crecimiento poblacional de *Plationus patulus* a diferentes concentraciones del medio condicionado de *E. densa* en descomposición y fresca, con y sin la adición de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris*. Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas.

El efecto de la materia orgánica disuelta presente en el medio condicionado de *Egeria densa* en descomposición a diferentes concentraciones sin adicionar alga se muestra en la figura 1c donde un incremento en la concentración de medio condicionado provocó un ligero incremento en la abundancia poblacional de *Plationus patulus* (~ 2 ind.mL⁻¹) y en la tasa de incremento poblacional (r) por día, donde se encontraron diferencias entre el grupo control y los demás tratamientos así como entre la menor concentración y las otras dos ($p < 0.001$; Fig. 2; Tabla 1). En el control la población disminuyó con respecto al tiempo y todos los organismos murieron en el día 18.

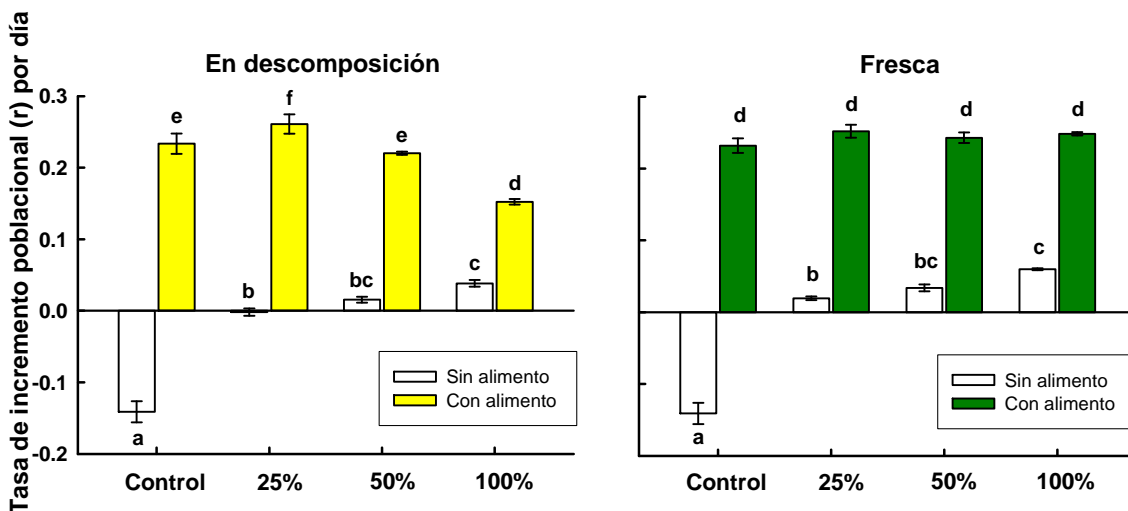


Figura 2. Tasa de incremento poblacional (r) por día de *Plationus patulus* a diferentes concentraciones del medio condicionado de *E. densa* fresca y en descomposición, con y sin la adición de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris*. Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas.

En la figura 1d se puede ver el efecto del medio condicionado (MOD) de *E. densa* fresca sin adicionar *C. vulgaris* como alimento. Las tendencias son similares a las observadas en proceso de descomposición donde el control comienza a decaer a partir del día 7; al incrementar la concentración del medio condicionado hubo un ligero incremento en la abundancia poblacional de *Plationus patulus*. Se registraron diferencias estadísticas entre el control y los demás tratamientos y entre 25% y 100% ($p < 0.01$; Tabla 1).

Tabla 1. ANDEVA de la tasa de incremento poblacional (r) por día de *P. patulus* bajo diferentes concentraciones de medio condicionado de *E. densa* en descomposición (amarillenta) y en crecimiento (verde) con y sin la adición de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris*. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios, F = prueba de Fisher, *** = $p < 0.001$.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
<i>E. densa</i> en descomposición				
Alimento (A)	1	0.45	0.45	1315.4***
Concentración (B)	3	0.03	0.01	31.3***
Interacción de A X B	3	0.07	0.02	68.55***
Error	24	0.008	0.0003	
<i>E. densa</i> fresca				
Alimento (A)	1	0.50	0.50	2047.33***
Concentración (B)	3	0.05	0.01	79.13***
Interacción de A X B	3	0.04	0.01	56.51***
Error	24	0.005	0.0002	

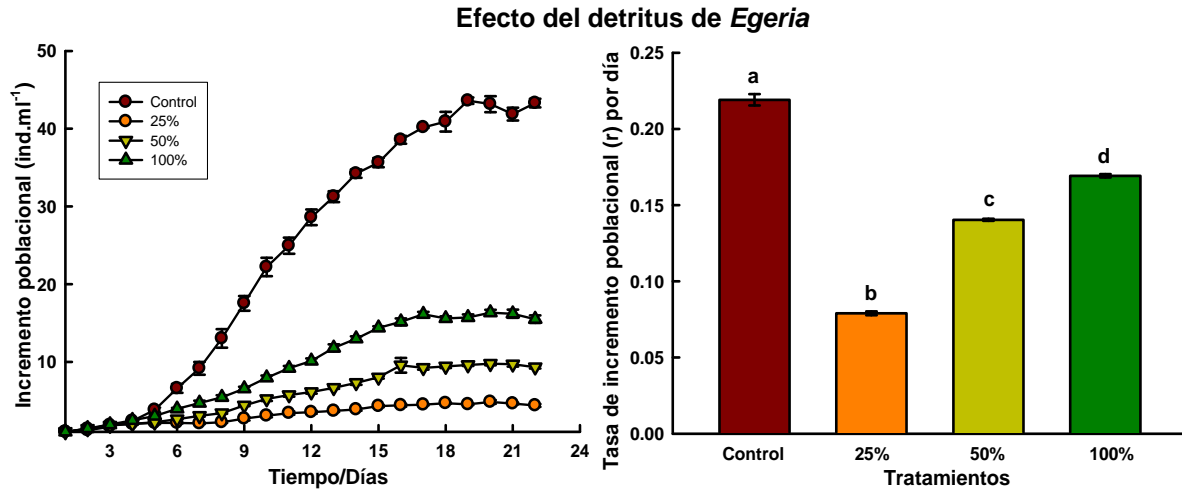


Figura 3. Crecimiento poblacional (izquierda) y tasa de crecimiento poblacional (r) por día (derecha) de *P. patulus* a diferentes concentraciones de detritus de *E. densa* sin la adición de *C. vulgaris* (excepto del control). Se muestran los valores promedios \pm EE basado en cuatro réplicas.

En la figura 3 se muestra el efecto del detritus generado por *Egeria densa* a 3 diferentes concentraciones, en comparación con una dieta de 0.5×10^6 cels.ml⁻¹ de *C. vulgaris* (control). Se observó que un incremento en el detritus provocó un incremento en la abundancia poblacional del rotífero, lo cual se vio reflejado en la tasa de incremento poblacional, sin embargo las máximas abundancias alcanzadas por la mayor concentración de detritus (~ 15 ind.ml⁻¹) fueron inferiores a aquellas alcanzadas por el control (~ 43 ind.ml⁻¹). También se observaron diferencias estadísticas entre todos los tratamientos ($p < 0.001$, Fig. 3, Tabla 3).

Tabla 3. ANDEVA de la tasa de incremento poblacional (r) por día de *P. patulus* a diferentes concentraciones de detritus de *E. densa* recolectada durante la temporada fría sin *C. vulgaris*. GL = grados de libertad, SC = suma de cuadrados, CM = cuadrados medios, F = prueba de Fisher, *** = $p < 0.001$.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Concentración	3	0.0411	0.0137	802.07***
Error	12	0.0002	0.00001	
Total	15	0.0413		

4. Discusión

La transferencia de carbono y nutrientes en las redes tróficas es un proceso clave en todos los ecosistemas y se ha reconocido que su eficiente transferencia trófica a través de la interfase planta-herbívoro es muy dependiente de la calidad y cantidad de alimento (Persson *et al.*, 2008). En el primer experimento se observó que la concentración del 100% del medio condicionado de *Egeria densa* provocó una fase de aclimatación muy larga del rotífero. También se vio que cuando comparamos las dos condiciones de la macrófita (en descomposición y fresca) se nota que cuando está fresca no existe un efecto negativo al 100% lo cual si sucede en proceso de descomposición, sin embargo sus densidades máximas al final de experimento fueron similares (Figs. 1a y 1b). En este sentido, se ha observado que durante el proceso de descomposición de las plantas, existe una liberación de varios tipos de compuestos como son los nitratos, el amonio, amoniaco, fosfatos (Scheffer, 2004) y algunos de estos podrían ser tóxicos a ciertas concentraciones (Sarma *et al.*, 2003; Mangas-Ramírez y Elías-Gutiérrez, 2004). Por otro lado, también se ha observado en sistemas terrestres, que los metabolitos secundarios producidos por las plantas llegan a presentar actividad biológica sólo después de que son transformados por los microorganismos (Erhard, 2006; Lotina-Hennsen *et al.*, 2006), sin embargo no se observó algún efecto negativo en los demás tratamientos.

Relacionado al proceso de descomposición también se encuentran una gran cantidad de biota asociada (bacterias, protozoos, hongos), la cual es la encargada de transformar la materia orgánica en distintos tipos de componentes (Moore *et al.*, 2004). En este sentido en el tratamiento con 25% de medio de *E. densa* en descomposición, se observó que la tasa de incremento poblacional (r) por día fue estadísticamente mayor ($p < 0.001$; Fig. 2; Tabla 1) en comparación con el control, lo cual se debió a que en menor tiempo alcanzó su máxima densidad ($54 \pm 2.79 \text{ ind.mL}^{-1}$). De acuerdo con esto, se ha observado que una dieta mixta podría tener un mayor valor nutricional que las dietas monoespecíficas (Flores-Burgos *et al.*, 2004) y una buena nutrición repercute en la tasa de crecimiento de muchos organismos (Bukovinszky *et al.*, 2008).

En general, se vio que existe un balance entre la probable toxicidad producida por la descomposición de la macrófita y el incremento de otro tipo de recurso como son las bacterias ya que la dilución del medio de *E. densa* redujo el efecto negativo observado a 100% de medio condicionado en descomposición (prolongación de la fase de aclimatación), siendo que a 50% y 25% la biota asociada incrementó la eficiencia biológica de *Plationus patulus*.

Esta suposición se refuerza con lo que sucede en los experimentos donde solo se utilizó el medio condicionado (MOD) sin *Chlorella vulgaris* (Figs. 1c y 1d), ahí se observó que la población del rotífero pudo sobrevivir durante todo el experimento a las tres concentraciones del medio condicionado, mientras que en el control los organismos no sobrevivieron. En este sentido, se sabe que todo organismo requiere energía para poder realizar sus necesidades básicas como son el crecimiento, el movimiento y la reproducción (Lampert y Sommer, 2007), por lo que algún recurso alimento estaban consumiendo los organismos presentes en los tratamientos con medio condicionado independientemente de si estuviera en descomposición o en condiciones de crecimiento (fresca).

Varios estudios han mencionado que la materia orgánica disuelta (MOD) sirve como sustrato para bacterias heterotróficas (Nakai *et al.*, 1999; Erhard, 2006; Gross *et al.*, 2007), los cuales se encuentran prácticamente en todos lados (Sigeo, 2005). Por otro lado, se ha reportado que *P. patulus* es capaz de alimentarse de bacterias como lo hacen varias especies de rotíferos (Hagiwara *et al.*, 1994; Sarma *et al.*, 2007; Nandini *et al.*, 2011), por lo que asumimos que las bacterias asociadas a *E. densa* sirvieron de recurso alimento para este rotífero y no se descarta que esto mismo podría estar sucediendo en el campo no solo para *P. patulus* sino también las especies filtradoras no selectivas. En la concentración de 100% se esperaba que al haber más bacterias hubiera un mayor crecimiento que en los demás tratamientos, sin embargo, el fenómeno descrito es consistente con lo observado en el experimento anterior, donde la acumulación de cierto tipo de compuesto, podría estar afectando.

En el experimento donde se probó el efecto de distintas concentraciones de detritus generado por *E. densa*, se puede ver que al incrementar la concentración de detritus, incrementó la abundancia y la tasa de incremento poblacional (r) por día del rotífero. Varios estudios han demostrado que un incremento en la concentración de alimento provoca un incremento en la abundancia de varios organismos del zooplancton (Ferraio-Filho *et al.*, 2005; Nandini *et al.*, 2007b), una reducción del tiempo de manejo (Lampert y Sommer, 2007) así como crecimientos diferenciados dependiendo de la dieta suministrada (Zarattini y Mura, 2004; Peña-Aguado *et al.*, 2005), lo cual también se ha visto en *P. patulus* (Sarma *et al.*, 2007; Espinosa-Rodríguez *et al.*, 2014). Monakov (2003) menciona que el detritus es un recurso que generalmente va acompañado de bacterias y protozoos, por lo que estos grupos de organismos también estarían incluidos dentro de su dieta complementando sus necesidades metabólicas; mientras que Dumont y Negrea (2002) mencionan que el detrito podría llegar a tener el mismo valor calórico que las microalgas gracias a la gran cantidad de bacterias que trae consigo, sin embargo esto no sucedió en nuestro estudio.

Los animales obtienen una gran cantidad de compuestos esenciales para su desarrollo a partir de su alimento (proteínas, vitaminas, minerales, ácidos grasos, etc.), varios de estos compuestos no son sintetizados o no son suficientemente producidos por los animales y varían de diversas maneras dependiendo de las condiciones en las cuales se haya desarrollado el recurso (algas, bacterias, detrito), de acuerdo a esto, el zooplancton se podría llegar a ver limitado por alguna o varias de estas sustancias (Hessen, 1992; Sterner y Schulz, 1998). *C. vulgaris* es un alga verde frecuentemente utilizada para el mantenimiento del zooplancton (Flores-Burgos *et al.* 2004; Nandini *et al.*, 2007), la cual ha sido caracterizada como un alimento nutricionalmente adecuado (Ahlgren *et al.*, 1992). Wenzel *et al.* 2014 evaluaron el efecto del detritus terrestre (alóctono) en diferentes proporciones con fitoplancton. Ellos encontraron que el incremento de las concentraciones de bacteria y detritus terrestre afectaba negativamente la supervivencia, reproducción y crecimiento cuando el fitoplancton se encontraba en concentraciones no limitantes, mientras que cuando se encontraba en concentraciones limitantes la adición de bacterias provocó un mejor

crecimiento de *D. galeata*, lo cual implica que el zooplancton podría utilizar este tipo de recursos de baja calidad cuando el fitoplancton no es abundante.

La poca descomposición no afectó a *Plationus patulus* en el tratamiento en condición fresca, como se observa en la figura 1d, donde se observa que al 100% no existe afectación sobre esta población debido a que no se produjeron una gran cantidad de sustancias químicas asociadas a la descomposición las cuales llegan a ser tóxicas (NO₂, NO₃, NH₃, NH₄, CO₂, etc.). Es importante mencionar que la máxima densidad de macrófita utilizada en este estudio (2.91 g PS.L⁻¹), no corresponde con aquella encontrada en la Presa Benito Juárez (1.37±0.12 g PS.L⁻¹), por lo que lo observado en el experimento al 100% probablemente no haya ocurrido en el campo; sin embargo, de continuar el crecimiento de la macrófita, estas condiciones podrían llegar a ocurrir, por lo que algunas especies de zooplancton se podrían ver afectadas.

5. Conclusiones

Egeria densa en descomposición a la máxima concentración, provocó un efecto negativo sobre la dinámica poblacional de *Plationus patulus* lo cual no se observó en el tratamiento con *E. densa* fresca, mientras que el detritus (< 25 µm) y su biota asociada generada durante el proceso de descomposición, sirvieron como recurso alimenticio a este rotífero. Además, *E. densa* fresca mostró un ligero efecto positivo de los aleloquímicos (MOD) de la macrófita sobre la dinámica poblacional de *P. patulus*.

CONCLUSION GENERAL

A través de análisis de campo y de laboratorio se observó que *Egeria densa* modifica la calidad del agua incrementando la variabilidad del sistema y es un factor determinante en la estructuración de la comunidad zooplanctónica así como en el incremento de la diversidad biológica presente en la Presa Benito Juárez. Se pudo observar que su capacidad alelopática inhibitoria diferencial permitió la presencia de microalgas que sirven de alimento al zooplancton y se percibió que su presencia provocó la existencia de otro tipo de recurso como son los organismos asociados a la materia orgánica disuelta (bacterias, hongos y protozoos) así como materia orgánica particulada de talla óptima para la alimentación del zooplancton filtrador el cual incrementa su eficiencia biológica en presencia de *E. densa*. Por otro lado, la remoción de *E. densa* provocó un decremento en la heterogeneidad ambiental, lo cual repercutió en la diversidad del zooplancton así como en un incremento en la clorofila *a* total, turbidez y ficocianinas.

LITERATURA CITADA

- Abrantes, N., Antunes, S. C., Pereira M. J. & F. Goncalves. 2006. Seasonal succession of cladocerans and phytoplankton and their interactions in a shallow eutrophic lake (lake Vela, Portugal). *Acta oecologica*, 29: 54-64.
- Ahlgren, G., Gustafsson, I. B. & M. Boberg. 1992. Fatty acid content and chemical composition of freshwater microalgae. *Journal of phycology*, 28: 37-50.
- Alarcon-Elbal, P. M. 2013. Invasive aquatic plants and culicids: a dangerous duo. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural, Sección Biología*, 107: 1-11.
- Clesceri, L. S. Greenberg, A. E. & A. D. Eaton. 1999. Standar Methods for Examination of water and wastewater. Edición 20. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bais, H. P., Vepachedu, R., Gilroy, S., Callaway, R. M. & J. M. Vivanco. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions. *Science*, 301: 1377-1380.
- Bakker, S. E., Sarneel, J. M., Gulati, R. D., Liu, Z. & E. Van Donk. 2012. Restoring macrophyte diversity in shallow temperate lakes: biotic versus abiotic constrains. *Hydrobiologia*, 710: 23-37.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. & M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45: 493-496.
- Bauer, N, Blaschke, U., Beutler, E., Gross, E. M. Jennet-Siems, K., Siems, K. & S. Hilt. 2009. Seasonal and interannual dynamics of polyphenols in *Myriophyllum verticillatum* and their allelopathic activity on *Anabaena variabilis*. *Aquatic botany*, 91: 110-116.
- Blindow, I., Hargeby, A. & S. Hilt. 2014. Facilitation of clear-water conditions in shallow lakes by macrophytes: differences between charophyte and angiosperm dominance. *Hydrobiologia*, 737: 99-110.
- Bonilla-Barbosa, J. R. & A. B. Santamaría. 2014. Plantas acuáticas exóticas y translocadas invasoras. En: Especies acuáticas invasoras en México (Mendoza, A. E. y O. P. Koleff). Comisión Nacional para el Conocimiento de la Biodiversidad. México.

- Booker J. & K. S. Cheruvilil. 2011. Are zooplankton food resources poor in the vegetated littoral zone of shallow lakes? *Freshwater Biology*, 56: 2459-2472.
- Bornette, G. & S. Puijalon. 2009. Macrophytes: Ecology of aquatic plants. En: Encyclopedia of life sciences. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester.
- Borowitzka, M. A. & L. J. Borowitzka. 1988. Micro-algal Biotechnology. Cambridge University Press, London.
- Brönmark, C. & L. A. Hansson. 2012. Chemical ecology in aquatic systems. Oxford. USA.
- Brothers, S. M., Hilt, S., Attermeyer, K., Grossart, H. P., Kosten, S., Lischke, B., Mehner, T., Meyer, N., Scharnweber, K. & J. Köhler. 2013. A regime shift from macrophyte to phytoplankton dominance enhances carbon burial in a shallow, eutrophic lake. *Ecosphere*, 4: 137.
- Bukovinszky, T., van Veen, F., Jongema, Y. & M. Dicke. 2008. Direct and indirect effects of resource quality on food web structure. *Science*, 319: 804-807.
- Burks, R. L., Jeppesen, E. & D. M. Lodge. 2000. Macrophyte and fish chemicals suppress *Daphnia* growth and alter life-history traits. *Oikos*, 88: 139-147.
- Burks, R. L., Lodge, D. M., Jeppesen, E. & T. L. Lauridsen. 2002. Diel horizontal migration of zooplankton: costs and benefits of inhabiting the littoral. *Freshwater Biology*, 47:343-365.
- Burks, R. L., Mulderij, G., Gross, E., Jones, I., Jacobsen, L., Jeppesen, E. & E. van Donk. 2006. Center stage: The crucial role of macrophytes in regulating trophic interactions in shallow lakes. En: Wetlands: Functioning, biodiversity conservation, and restoration. Robbink R., Beltman, B., Verhoeven, J. T. A. & D. F. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Burns, C. W. & A. Dodds. 1999. Food limitation, predation and allelopathy in a population of *Daphnia carinata*. *Hydrobiologia*, 400: 41-53.
- Cabrera-Walsh, G., Dalto, M. Y., Mattioli, F. M., Carruthers I. & L. W. Anderson. 2013. Biology and ecology of Brazilian elodea (*Egeria densa*) and its specific herbivore, *Hydrelia* sp., in Argentina. *Biological Control*, 58: 133-147.
- Calabrese, E. J. 2004. Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO Rep*, 5: S37-S40.

- Cangiano, T., Dellagreca, M., Fiorentino, A., Isidori, M., Monaco, P. & A. Zarrelli. 2002. Effect of ent-labdane diterpenes from Potamogetonaceae on *Selenastrum capricornutum* and other aquatic organisms. *Journal of Chemical Ecology*, 28: 1091-1102.
- Carpenter, S. R. & D. M. Lodge. 1986. Effects of submerged macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany*, 26: 341-370.
- Carrillo, Y., Guarín, A. & G. Guillot. 2006. Biomass, distribution, growth and decay of *Egeria densa* in a tropical high-mountain reservoir (NEUSA, Colombia). *Aquatic Botany*, 85: 7-15.
- Cazzanelli, M., Warming, T. P. & K. S. Christoffersen. 2008. Emergent and floating-leaved macrophyte as refuge for zooplankton in a eutrophic temperate lake without submerged vegetation. *Hydrobiologia*, 605: 113-122.
- Cerbin, S., Van Donk E. & R. Gulati. 2007. The influence of *Myriophyllum verticillatum* and artificial plants on some life history parameters of *Daphnia magna*. *Aquatic Ecology*, 41: 263-271.
- Chiba de Castro, W. A., Cunha-Santiago, M. B. & I. Bianchini Junior. 2013. Anaerobic decomposition of a native and an exotic submersed macrophyte in two tropical reservoirs. *Brazilian Journal of Biology*, 73: 299-307.
- Cole, J. J., Carpenter, S. R., Kitchell, J., Pace, M. L., Salomon, B. W. & B. Weidel. 2011. Strong evidence for terrestrial support of zooplankton in small lakes based on stable isotopes of carbon, nitrogen and hydrogen. *Proceedings of Natural Academy of Sciences*, 108: 1975-1980.
- Conde-Porcuna, J. M. 1998. Chemical interference by *Daphnia* on *Keratella*: a life table experiment. *Journal of Plankton Research*, 20: 1637-1644.
- Danielsdottir, M. G., Brett, M. T. & G. B. Arhonditsis. 2007. Phytoplankton food quality control of planktonic food web processes. *Hydrobiologia*, 589: 29-41.
- Dawidowicz, P. & T. Ozimek. 2013. Cladoceran *Moina branchiata* cannot reduce suspended solids in *Lemna* System macrophyte wastewater treatment plant. *Ecological Engineering*, 58: 262-265.
- De la Lanza-Espino, G. & J. L. García Calderón. 2002. Lagos y Presas de México. (Eds) Segunda Edición, AGT Editor, México.

- Declerck, S., Vanderstukken, M., Pals, A., Muylaert K. & L. De Meester. 2007. Plankton biodiversity along a gradient of productivity and its mediation by macrophytes. *Ecology*, 88: 2199-2210.
- Declerck, A. J. S., Bakker, E., van Lith, Kersbergen, A. & E. van Donk. 2011. Effects of nutrients additions and macrophyte composition on invertebrate community assembly and diversity in experimental ponds. *Basic and Applied Ecology*, 12: 466-475.
- Della Greca, M., Florentino, A., Isidori, M. Monaco, P., Temussi, F. & A. Zarrelli. 2001. Antialgal furano-diterpenes from *Potamogeton natans* L. *Phytochemistry*, 58: 299-304.
- De la Lanza-Espino, G. & J. L. García Calderón. 2002. Lagos y Presas de México. (Eds) Segunda Edición, AGT Editor, México.
- Dodds, W. & M. Whiles. 2010. Freshwater ecology: concepts and environmental applications of limnology. Segunda edición. American press. USA.
- Dodson, S. I. & D. G. Frey. 2001. Cladocera and other Branchiopoda. In: Thorp, J. H. & A. P. Covich (eds), Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Academic Press, London: 850–914.
- Doksaeter, A. & J. Vijverberg. 2001. The effects of food and temperature regimes on life-history responses to fish kairomones in *Daphnia hyalina* x *galeata*. *Hydrobiologia*, 42: 207-214.
- Dong, J., Lu, J. J., Li, G. B. & L. R. Song. 2013. Influences of a submerged macrophyte on colony formation and growth of a green alga. *Aquatic Biology*, 19: 265-274.
- Duggan, I. C. 2001. The ecology of periphytic rotifers. *Hydrobiologia*, 446/447: 139-148.
- Duggan, I. C., Green, J. D., Thompson, K. & R. J. Shiel. 2001. The influence of macrophytes on the spatial distribution of littoral rotifers. *Freshwater Biology*, 46: 777-786.
- Duke, S. O. 2011. Phytochemical phytotoxins and hormesis – a commentary. *Dose-Response*, 9: 76-78.
- Dumont, H. J. & S. V. Negrea. 2002. Branchiopoda. In: Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World (Dumont, H.J.F., ed.), 19. Backhuys Publishers, Leiden.

- Dutartre, A., Haury, J & A. Jigorel. 1999. Succession of *Egeria densa* in a drinking water reservoir in Morbihan (France). *Hydrobiologia*, 415: 243-247.
- Enríquez-García, C., Nandini, S. & S. S. S. Sarma. 2009. Seasonal dynamics of zooplankton in Lake Huetzalin, Xochimilco (Mexico City, Mexico). *Limnologica*, 39: 283-291.
- Erhard, D. 2006. Allelopathy in aquatic environments. En: *Allelopathy: A physiological process with ecological implications* (Reigosa, J., Pedrol, N. & L. González eds.). Springer. The Netherlands.
- Erhard, D. & E. M. Gross. 2006. Allelopathic activity of *Elodea Canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. *Aquatic Botany*, 85: 203-211.
- Espinosa, F. J. & J. Sarukhán. 1997. *Manual de malezas del Valle de México*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Espinosa-Rodríguez, C. A., Rivera De la Parra, L., Sarma, S. S. S. & S. Nandini. 2014. Effect of food density of *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella vulgaris* on the population growth rates of four brachionid rotifers. *Inland Waters*, 4: 271-278.
- Espinosa-Rodríguez C. A., Valencia-Del toro, G., Sarma S. S. S. & S. Nandini. 2016. Allelopathy activity and chemical analysis of crude extracts from *Egeria densa* on selected phytoplankton species. *Allelopathy Journal*, 37: 147-160.
- Espinosa-Rodríguez, C. A., Rivera-De la Parra, L., Martínez-Tellez, A., Gómez-Cabral, G. C., Sarma, S. S. S. & S. Nandini. 2016. Allelopathic interactions between the macrophyte *Egeria densa* and the plankton (alga, *Scenedesmus acutus* and cladocerans, *Simocephalus* spp.): a laboratory study. *Journal of limnology*, 75: 151-160.
- Faria, A. E., Palma-Silva, C., Trindade, T. C. R. & F. L. Marques. 2014. Field evidence of the influence of aquatic macrophytes on water quality in a shallow eutrophic lake over a 13-year period. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 26: 176-185.
- Feng-Min, L. & H. Hong-Ying. 2005. Allelopathic effects of different macrophytes on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Allelopathy Journal*, 15: 145-151.
- Ferrao-Filho, A. S. Arcifa, M. S. & C. Fileto. 2005. Influence of seston quantity and quality on growth of tropical cladocerans. *Brazilian Journal of Biology*, 65: 77-89.

- Figueroa-Sánchez, M. A. Nandini, S. & S. S. S. Sarma. 2014. Zooplankton community structure in the presence of low levels of cyanotoxins: a case study in a high altitude tropical reservoir (Valle de Bravo, Mexico). *Journal of Limnology*, 73: 157-166.
- Fleming, J. P. & E. D. Dibble. 2015. Ecological mechanisms of invasion success in aquatic macrophytes. *Hydrobiologia*, 746: 23-37.
- Flores-Burgos, J., Sarma, S. S. S. & S. Nandini. 2004. Population growth of zooplankton (rotifers and cladocerans) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* in different proportions. *Acta Hydrochimica Hydrobiologica*, 31: 240-248.
- Folt, C. & C. R. Goldman. 1981. Allelopathy between zooplankton: A mechanism for interference competition. *Science*, 213: 1133-1135.
- France, R. L. 1995. Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. *Limnology and Oceanography*, 40: 1310-1313.
- Gama-Flores, J. L. Castellanos-Páez, M. E., Sarma, S. 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: 691-696.
- García-García, G., Nandini, S., Sarma, S. S. S., Martínez-Jerónimo, F. & J. Jimenez-Contreras. 2012. Impact of chromium and aluminium pollution on the diversity of zooplankton: a case study in Chimaliapan wetland (Ramsar site) (Lerma basin, Mexico). *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 47: 534-547.
- Geller, W. & H. Müller. 1981. The filtration apparatus of Cladocera: Filter mesh-sizes and their implications on food selectivity. *Oecologia*, 49: 316-321.
- Gilbert, J. J. 2009. Predator-specific inducible defenses in the rotifer *Keratella tropica*. *Freshwater Biology*, 54: 1933-1946.
- Gliwicz, M. 1990. Food threshold and body size in cladocerans. *Nature*, 343: 638-640.
- Gliwicz, M. 2002. On the different nature of top-down and bottom-up effects in pelagic food webs. *Freshwater Biology*, 47: 2296-2312.
- Goncalves, F. L. F., Teixeira, M. C. & S. M. Thomaz. 2013. Diversity and biomass of native macrophytes are negatively related to dominance of an invasive Poaceae in Brazilian sub-tropical streams. *Acta limnologica Brasiliensia*, 25: 202-209.

- González-Sagrario, M. A., Balseiro, E., Ituarte, R. & E. Spivak. 2009. Macrophytes as refuge or risk area for zooplankton: a balance set by littoral predacious macroinvertebrates. *Freshwater Biology*, 54: 1042-1053.
- Gopal, B. & U. Goel. 1993. Competition and allelopathy in aquatic plant communities. *The Botanical Review*, 59: 155-210.
- Gross, E., Meyer, H. & G. Schilling. 1996. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*, 41: 133-138.
- Gross, E. M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22: 313-339.
- Gross, M. E., Hilt, S., Lombardo, P. & G. Mulderij. 2007. Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton-state of the art and open questions. *Hydrobiologia*, 584: 77-88.
- Gross, E., Legrand, C., Rengefors, K. & U. Tillmann. 2012. Allelochemicals interactions among aquatic primary producers. En: *Chemical ecology in aquatic systems* (Brönmark, C. & L. A. Hansson eds.). Oxford, university press. USA.
- Grzegorz, G. & N. Kuczyńska-Kippen. 2004. The rotifer and crustacean plankton in differentiated phytocoenosis of the aquatic vegetation of Piacseczno Lake. *Teka Kom. Ochr. Kszi. Srod. Przynr.*, 1: 64-70.
- Gulati, R. D. & W. R. Demott. 1997. The role of food quality for zooplankton: remarks on the state-of-the-art, perspectives and priorities. *Freshwater Biology*, 38: 753-768.
- Gulati, R. D., Bronkhorst, M. & E. van Donk. 2001. Feeding in *Daphnia galeata* on *Oscillatoria limnetica* and on detritus derived from it. *Journal of Plankton Research*, 23: 705-718.
- Gutierrez, M. F. & J. C. Paggi. 2014. Chemical repellency and adverse effects of free-floating macrophytes on the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* under two temperature levels. *Limnology*, 15: 37-45.
- Gutierrez, M. F. & G. Mayora. 2016. Influence of macrophyte integrity on zooplankton habitat preference, emphasizing the released phenolic compounds and chromophoric dissolved organic matter. *Aquatic ecology*, 50: 137-151.

- Hanazato, T., Fueki, K. & M. Yoshimoto. 2001. Fish-induced life history shifts in the cladoceran *Daphnia* and *Simocephalus*: are they positive or negative responses? *Journal of Plankton Research*, 9: 945-951
- Hairston, N. G. & N. G. Hairston. 1993. Cause-effect relationships in energy flow, trophic structure, and interspecific interactions. *The American Naturalist*, 142: 379-411.
- Harborne, J. B. 1998. Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. 3era edición. Chapman and Hall, Ltd. London.
- Hasler, A. D. & E. Jones. 1949. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers. *Ecology*, 30: 359-364.
- Hagiwara, A. Hamada, K. Hori, S. & K. Hirayama. 1994. Increased sexual reproduction in *Brachionus plicatilis* (Rotifera) with the addition of bacteria and rotifer extracts. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 181: 1-8.
- Henssen, C., Zabel, M. & H. N. Schulz. 2006. Benthic cycling of oxygen, nitrogen and phosphorus. En: Marine biogeochemistry (Schulz y Zabel eds.). Segunda edición. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Hertonsson, P., Abjörnsson K. & C. Brönmark. 2008. Competition and facilitation within and between a snail and mayfly larva and the effect on the grazing process. *Aquatic Ecology*, 42: 669-677.
- Hessen, D. O. 1992. Nutrient element limitation of zooplankton production. *The American naturalist* 140: 799-814.
- Hilt, S. 2006. Allelopathic inhibition of epiphytes by submerged macrophytes. *Aquatic Biology*, 85: 252-256.
- Hilt, S., Ghobrial, M. G. N. & E. Gross. 2006. *In situ* allelopathic potential of *Myriophyllum verticillatum* (Haloragaceae) against selected phytoplankton species. *Journal of Phycology*, 42: 1189-1198.
- Hilt, S. & E. M. Gross. 2008. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes? *Basic and Applied Ecology*, 9: 422-432.
- Hiltunen, T., Barreiro, A. & N. G. Hairston. 2012. Mixotrophy and the toxicity of *Ochromonas* in pelagic food webs. *Freshwater Biology*, 57: 2262-2271.

- Holmroos, H., Horppila, J., Niemistö, J., Nurminen, L. & S. Hietanen. 2015. Dynamics of dissolved nutrients among different macrophyte stands in a shallow lake. *Limnology*, 16: 31-39.
- Iglesias, C., Goyenola, G., Mazzeo, N. Meerhoff, M. Rodo, E. & E. Jeppesen. 2007. Horizontal dynamics of zooplankton in subtropical lake Blanca (Uruguay) hosting multiple zooplankton predators and aquatic plant refuges. *Hydrobiologia*, 584: 179-189.
- Jasser, I. 1995. The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions. *Hydrobiologia*, 306: 21-32.
- Jeppesen, E., Jensen J. P., Sondergaard, M., Lauridsen, T., Pedersen, L. J. & L. Jensen. 1997. Top-Down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. *Hydrobiologia*, 342/343: 151-164.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Søndergaard, M. & K. Christoffersen (eds). 1998. The structuring role of submerged macrophytes in lakes. Ecological Studies 131. Springer. Berlin Heidelberg New York.
- Kalff, J. 2003. Limnology: Inland water ecosystems. Prentice hall. USA.
- Kankaala, P. 1988. The relative importance of algae and bacteria as food for *Daphnia longispina* (Cladocera) in a polyhumic lake. *Freshwater Biology*, 19: 285-296.
- Kookechi, A., Lalegani, B. & S.A. Hosseini. Ecological consequences of allelopathy. En: Cheema, Z. A., Farooq, M & A. Wahid. 2012. Allelopathy: current trends and future applications. Springer. Berlin.
- Körner, S. & A. Nicklish. 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. *Journal of Phycology*, 38: 862-872.
- Kosten, S., Lacerot, G., Jeppesen, E., da Motta Marquez, D., van Nes, E., Mazzeo, N. & M. Scheffer. 2009. Effects of submerged vegetation on water clarity across climates. *Ecosystems*, 12: 1117-1129.
- Krebs, C. J. 1985. Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance. 3rd edition. Harper and Row, New York.
- Kuczynska-Kippen, N. & B. Nagengast. 2003. The impact of the architecture of macrophytes on the spatial structure of zooplankton of the Wielkowiejskie Lake. *Botany*, 6: 121-129.

- Kuczynska-Kippen, N. & B. Nagengast. 2006. The influence of the spatial structure of hydromacrophytes and differentiating habitat on the structure of rotifer and cladoceran communities. *Hydrobiologia*, 559: 203-212.
- Kuczynska-Kippen, N. & P. Klimaszyk. 2007. Diel microdistribution of physical and chemical parameters within the dense *Chara* bed and their impact on zooplankton. *Biologia, Bratislava*, 62: 432-437.
- Kuczynska-Kippen N. & E. Milecka. 2009. The diurnal distribution of the zooplankton community of the littoral zone of Lake Wielkowiejskie (Wielkowiejskie national park, Poland). *International Journal of Oceanography and Hydrobiology*, 38: 91-98.
- Kuczynska-Kippen, N., Nagengast, B., Celewicz-Goldyn, S. & M. Klimbo. 2009. Zooplankton community structure within various macrophyte stands of a small water body in relation to seasonal changes and water level. *International Journal of Oceanography and Hydrobiology*, 38: 125-133.
- Kulshreshtha, M. & B. Gopal. 1983. Allelopathic influence of *Hydrilla verticillata* Royle on the distribution of *Ceratophyllum* species. *Aquatic Botany*, 16: 207-209.
- Lampert, W. & U. Sommer. 2007. Limnoecology: The ecology of lakes and streams. Oxford university press. USA.
- Lass, S. & P. Spaak. 2003. Chemically induced anti-predator defences in plankton: a review. *Hydrobiologia*, 491: 221-239.
- Lauridsen, T. L. & D. M. Lodge. 1996. Avoidance by *Daphnia magna* of fish and macrophytes: chemical cues and predator-mediated use of macrophyte habitat. *Limnology and Oceanography*, 41: 794-798.
- Leu, E., Krieger-Liszkay, A., Goussias, C. & E. M. Gross. 2002. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibition photosystem II. *Plant Physiology*, 130: 2011-2018.
- Li, X., Cui, B., Yang, Q., Tian, H., Lan, Y., Wang, T. & Z. Han. 2012. Detritus quality controls macrophyte decomposition under different nutrient concentrations in a eutrophic shallow lake, North China. *Plos One*, 7: e42042.
- Lot, A. & A. Novelo. 2004. Iconografía y estudio de plantas acuáticas de la ciudad de México y sus alrededores. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. México.

- Lot, A., Medina, L. R. & F. Chiang. 2013. Plantas acuáticas mexicanas una contribución a la flora de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. México
- Lotina-Hennsen, B., King-Díaz, B., Aguilar, M. I. & M. G. Hernández Terrones. 2006. Plant secondary metabolites, targets and mechanisms of allelopathy. En: Allelopathy: A physiological process with ecological implications. (Reigosa, M. J., Pedrol, N. & L. González). Springer. Dordrecht, The Netherlands.
- Lu, Guangjun. 2013. Structure and diversity of zooplankton communities in four reservoirs with varying nutrient compositions in the Yangtze River Basin, China. *International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering*.
- Lürling, M. Van Gest, G. & M. Scheffer. 2006. Importance of nutrient competition and allelopathic effects in suppression of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the macrophytes *Chara*, *Elodea* and *Myriophyllum*. *Hydrobiologia*, 556: 209-220.
- Machacek, J. 1991. Indirect effect of planktivorous fish on the growth and reproduction of *Daphnia galeata*. *Hydrobiologia*, 225: 193-197.
- Madsen, J. D., Chambers, P. A., James, W. F., Koch, E. W. & D. F. Westlake. 2001. The interaction between water movement sediment dynamics and submersed macrophytes. *Hydrobiologia*, 444: 71-84.
- Madsen, J. D., Wersal, R. M. & T. E. Woolf. 2007. A new core sampler for estimating biomass of submersed aquatic macrophytes. *Journal of Aquatic Plant Management*, 45: 31-34.
- Malhotra, Y. R. & S. Langer. 1991. Studies on some biological aspects of *Simocephalus vetulus* Schodler. *Journal Indian Institute of Sciences*, 71: 523-530.
- Mangas-Ramírez, E. & M. Elías-Gutiérrez. 2004. Effect of mechanical removal of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) on the water quality and biological communities in a Mexican reservoir. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 7: 161-168.
- Matveev, V. 1993. An investigation of allelopathic effects of *Daphnia*. *Freshwater Biology*, 29: 99-105.
- Mazzeo, N., Rodríguez-Gallego, L., Kruk, C., Meerhoff, M., Gorga, J. Lacerot, G., Quintans, F., Loureiro, M., Larrea, D. & F. García-Rodríguez. 2003. Effects of *Egeria*

- densa* Planch. beds on a shallow lake without piscivorous fish. *Hydrobiologia*, 506-509: 591-602.
- Meerhoff, M., Fosalba, C., Bruzzone, C., Mazzeo, N., Noordoven, W. & E. Jeppesen. 2006. An experimental study of habitat choice by *Daphnia*: plants signal danger more than refuge in subtropical lakes. *Freshwater Biology*, 51: 1320-1330.
- Meerhoff, M., Iglesias, C., Teixeira de Mello, F., Clemente, J. M., Jensen, E., Lauridsen, T. L. & E. Jeppesen. 2007. Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behavior of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes. *Freshwater Biology*, 52: 1009-1021.
- Mitchell, C. E., Agrawal, A. A., Bever, J. D., Gilbert, G. S., Hufbauer, R. A., Klironomos, J. N., Maron, J. L., Morris, W. F., Parker, I. M., Power, A. G., Seabloom, E. W., Torchin, M. E. & D. P. Vázquez. 2006. Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters*, 9: 726-740.
- Mithraja, M. J., Antonisamy, J. M., Mahesh, M., Paul, Z. M. & S. Jeeva. 2011. Phytochemical studies on *Azolla pinnata* R. Br., *Marsilea minuta* L. and *Salvinia molesta* Mitch. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S26-S29.
- Monakov, A. B. 2003. Feeding of Freshwater Invertebrates, Kenobi Productions. Ghent, Belgium.
- Moore, J. C., Berlow, E. L., Coleman, D. C., de Ruiter, P. C., Dong, Q., Hastings, A., Collins Johnson, N., McCann, K. S., Melville, K., Mourin, P. J., Nadelhoffer, K., Rosemond, A. D., Post, D. M., Sabo, J. L., Scow, K. M., Vanni, M. J. & D. H. Wall. 2004. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecology Letters*, 7: 584-600.
- Mora-Olivo, A., Villaseñor, J. L. & M. Martínez. 2013. Las plantas vasculares acuáticas estrictas y su conservación en México. *Acta Botanica Mexicana*, 103: 27-63.
- Moss, B., Kornijow, R. & G. J. Measey. 1998. The effects of nymphaeid (*Nuphar lutea*) density and predation by perch (*Perca fluviatilis*) on the zooplankton communities in a shallow lake. *Freshwater Biology*, 39: 689-697.
- Mulderij, G., van Donk, E & J. G. M. Roelofs. 2003. Differential sensitivity of green algae to allelopathic substances from *Chara*. *Hydrobiologia*, 491: 261-271.

- Mulderij, G., Mooij, W. M. & E. van Donk. 2005. Allelopathic growth inhibition and colony formation of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the aquatic macrophytes *Stratiotes aloides*. *Aquatic Ecology*, 39: 11–21.
- Mulderij, G., Mau, B., van Donk, E. & E. M. Groos. 2007. Allelopathic activity of *Stratiotes aloides* on phytoplankton-towards identification of allelopathic substances. *Hydrobiologia*, 584: 89-100.
- Müller-Navarra, D. C. 2008. Food web paradigms: the biochemical view on trophic interactions. *International Review of Hydrobiology*, 93: 489-505.
- Muyllaert, K., Pérez-Martínez, C., Sánchez-Castillo, P., Lauridsen, T. L., Vanderstukken, M., Declerck, S. A. J., van der Gucht, K., Conde-Porcuna, J. M., Jeppesen, E., De Meester, L. & W. Vyverman. 2010. Influence of nutrients, submerged macrophytes and zooplankton grazing on phytoplankton biomass and diversity along a latitudinal gradient in Europe. *Hydrobiologia*, 653: 79-90.
- Nakai, S., Hosomi, M., Okada, M. & A. Murakami. 1996. Control of algal growth by macrophytes and macrophytes-extracted bioactive compounds. *Water Science and Technology*, 34: 227:235.
- Nakai, S., Inoue, Y., Hosomi, M. & A. Murakami. 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Science and Technology*, 39: 47-53.
- Nakai, S., Zou, G., Okuda, T., Nishijima, M., Hosomi, M. & M. Okada. 2012. Polyphenols and fatty acids responsible for anticyanobacterial allelopathic effects of submerged macrophyte *Myriophyllum spicatum*. *Water and Science Technology*, 66.5: 993-999.
- Nandini, S., Enríquez-García C. & S.S.S. Sarma. 2007. A laboratory study on the demography and competition of three species of littoral cladocerans from lake Huetzalin, Xochimilco, Mexico. *Aquatic Ecology*, 41:547-556.
- Nandini, S., Sarma, S. S. S., Amador-López, R. J. & S. Bolaños-Núñez. 2007b. Population growth and body size in five rotifer species in response to variable food concentration. *Journal of Freshwater Ecology*, 22: 1-10.
- Nandini, S., Sarma, S. S. S. & H. J. Dumont. 2011. Predatory and toxic effects of the turbellarian (*Stenostomum* cf. *leucops*) on the population dynamics of *Euchlanis*

- dilatata*, *Plationus patulus* (Rotifera) and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Hydrobiologia*, 662: 171-177.
- Novelo, A. y M. Martínez. 1989. *Hydrilla verticillata* (Hydrocharitaceae), problemática maleza acuática de reciente introducción en México. *Anales del Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México. Ser. Bot.* 58: 97-102.
- Orlova-Bienkowskaja, M. Y. 2001. Cladocera: Anomopoda: Daphniidae, genus *Simocephalus*. Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. Backhuys, Leiden.
- Pakdel, F. M., Sim, L., Beardall, J. & J. Davis. 2013. Allelopathic inhibition of microalgae by the freshwater stonewort, *Chara australis*, and the submerged angiosperm, *Potamogeton crispus*. *Aquatic Botany*, 110: 24-30.
- Pennak, 1966. Structure of zooplankton populations in the littoral macrophyte zone of some Colorado Lakes. *Transactions of the American Microscopical Society*, 85: 329-349.
- Pennak, R. W. 1973. Some evidence of aquatic macrophytes as repellents for a limnetic species of *Daphnia*. *International Review of Hydrobiology*, 58: 569-576.
- Peña-Aguado, F., Nandini, S. & S. S. S. Sarma. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica*, 35: 298-303.
- Peretyatko, A., Teissier, S., de Backer S. & L. Triest. 2009. Restoration potential of biomanipulation for eutrophic peri-urban ponds: the role of zooplankton size and submerged macrophyte cover. *Hydrobiologia*, 634: 125-135.
- Persson, J., Vrede, T. & S. Holmgren. 2008. Responses in zooplankton populations to food quality and quantity changes after whole lake nutrient enrichment of an oligotrophic sub-alpine reservoir. *Aquatic Sciences*, 70: 142-155.
- Pieczynska, E. 1993. Detritus and nutrients dynamics in the shore zone of lakes: a review. *Hydrobiologia*, 251: 49-58.
- Pierini, S. A. & S. M. Thomaz. 2004. Effects of inorganic carbon source on photosynthetic rates of *Egeria najas* Planchon and *Egeria densa* Planchon (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany*, 78: 135-146.
- Pontin, R. M. & R. J. Shiel. 1995. Periphytic rotifer communities of an Australian seasonal floodplain pool. *Hydrobiologia*, 109: 63-67.

- Qiang, H., Xu, X., Chen, W., Jiang, H., Jin, Y., Liu, W. & Z. Fu. 2009. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere*, 75: 368-375.
- Qiming, X., Haidong, C., Lijuan, Q., Huixian, Z. & Y. Daqiang. 2005. Allelopathic potential of aqueous extracts of submersed macrophytes against algal growth. *Allelopathy Journal*, 15: 95-104.
- Ramos, J. A. Quiroz, de J., Ramírez J. P. & A. Lot. 2004. Manual de hidrobotánica. Muestreo y análisis de la vegetación acuática. AGT Editores, México.
- Randall, V. D. & J. D Bragg. 1986. Effects of juglone (5-hydroxy-1,4-naphtoquinone) on the algae *Anabaena flos-aquae*, *Nostoc commune* and *Scenedesmus acuminatus*. *Arkansas Academy of Sciences*, 40: 52-55.
- Ricciardi, A. 2013. Invasive species. En: Ecological systems: Selected entries from the encyclopedia of sustainability and technology (Leemans, R. ed.). Springer. New York.
- Rich, P. H. & R. G. Wetzel. 1978. Detritus in the lake ecosystem. *The American Naturalist*, 112: 57-71.
- Rose, C. & W. G. Crumpton. 1996. Effects of emergent macrophytes on dissolved oxygen dynamics in a prairie pothole wetland. *Wetlands*, vol. 16, p. 495-502.
- Sala, O. E., Chapin F. S. , Armesto, J. J., Berlow, E. Bloomfield, J. Dirzo, R. Huber-Sanwald, E. Huenneke, L. F. Jackson, R. B. Kinzig, A. Leemans, R. Lodge, D. M. Mooney, H. A. Oesterheld, M. Poff, N. L. Sykes, M. T. Walker, B. H. Walker M. & D. H. Wall. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770–1774.
- Santos, M. J., Anderson, L. W. & S. L. Ustin. 2011. Effects of invasive species on plant communities: an example using submersed aquatic plants at the regional scale. *Biological Invasions*, 13: 443-457.
- Sarma, S. S. S. 1991. Rotifers and Aquaculture. *Environment and Ecology*, 9: 414-428.
- Sarma, S. S. S., Mangas-Ramírez, E. & S. Nandini. 2003. Effect of ammonia toxicity on the competition among three species of cladocerans (Crustacea: Cladocera). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 227-235.
- Sarma, S. S. S., Nandini, S. & R. D. Gulati. 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia*, 542: 315-333.

- Sarma, S. S. S. & S. Nandini. 2006. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health B*, 41: 1417-1430.
- Scheffer, M., Hosper, S. H., Meijer, M.-L. Moss, B. & E. Jeppesen. 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 275-279.
- Sarma, S. S. S., Espinosa-Rodríguez, C. A. & S. Nandini. 2007. Population growth responses of three *Brachionus* species (Rotifera: Brachionidae) fed live and dead (frozen or heat-killed) alga (*Chlorella vulgaris*). *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 33: 83-88.
- Sarnelle, O. & A. E. Wilson. 2005. Local adaptation of *Daphnia pulicaria* to toxic cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*, 50: 1565-1570.
- Scheffer, M. 1999. The effect of aquatic vegetation on turbidity; how important are the filter feeders? *Hydrobiologia*, 408/109: 307-316.
- Scheffer, M. 2001. Alternative attractors of shallow lakes. *The Scientific World*, 1: 254-263.
- Scheffer, M., van den Berg, M., Breukelaar, A., Breukers, C., Coops, H., Doef, R. y M. L. Meijer. 1994. Vegetated areas with clear water in turbid shallow lakes. *Aquatic Botany*, 49: 193-196.
- Scheffer, M., Carpenter, S., Foley, J. A. & B. Walker. 2001. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*, 413: 591-596.
- Scheffer, M. & S. R. Carpenter. 2003. Catastrophic regime shifts in ecosystems: linking theory to observation. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 648-656.
- Scheffer, M. 2004. Ecology of shallow lakes. En: Usher, M.B., DeAngelis, D.L., Manly, B. F. J. (Eds.), *Population and Community Biology Series*, 202. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. The Netherlands.
- Schultz, R. & E. Dibble. 2012. Effects of invasive macrophytes on freshwater fish and macroinvertebrate communities: the role of invasive plant traits. *Hydrobiologia*, 684: 1-14.
- Sculthorpe, C.D. 1985. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Reprint. Koeltz Scientific Books, Germany.
- Seitz, A. 1984. Are there allelopathic interactions in zooplankton? Laboratory experiments with *Daphnia*. *Oecologia*, 62: 94-96.
- Smirnov, N. N. 1974. *Fauna of the U.S.S.R. Crustacea*. Keter Publishing House, Jerusalem.

- Smirnov, N. 2014. Physiology of Cladocera. American Press. USA.
- Sigeo, D. C. 2005. Freshwater microbiology: Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. John Wiley & Sons, LTD. Manchester, UK.
- Six, J., Feller, C. Deneff, K., Ogle, S. M., de Moraes Sa, J. C. & A. Albrecht. 2002. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-effects of no-tillage. *Agronomie*, 22: 755-775.
- Sofowra, A. 1993. Medicinal plants and traditional medicine in Africa. Spectrum Books Ltd., Ibadan, Nigeria.
- Sokal, R. R. & F. L. Rohlf. 2000. Biometry. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Sousa, W. T. Z., Thomaz, S. M., Murphy, K. J., Silveira, M. J. & R. P. Mormul. 2009. Environmental predictors of the occurrence of exotic *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle and native *Egeria najas* Planch. in a sub-tropical river floodplain: the upper river Paraná, Brazil. *Hydrobiologia*, 632: 65-78.
- Sousa, W. T. Z., Thomaz, S. M. & K. J. Murphy. 2010. Response of *Egeria najas* Planch. and invasive *Hydrilla verticillata* (L. f.) Royle to altered hydroecological regime in a subtropical river. *Aquatic Botany*, 92: 40-48.
- Sousa, R., Morais, P., Dias, E. & C. Antunes. 2011. Biological invasions and ecosystem functioning: time to merge. *Biological Invasions*, 13: 1055-1058.
- Srivastava, A., Jüttner, F. & R. J. Strasser. 1998. Action of the allelochemical, fischerellin A, on photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1364: 326-336.
- Stanfield, J. H., Perrow, M. R., Tench, L. D., Jowwit A. J. D. & A. A. L. Taylor. 1997. Submerged macrophytes as refuges for grazing Cladocera against fish predation: observations on seasonal changes in relation to macrophyte cover and predation pressure. *Hydrobiologia*, 342/343: 229-240.
- Stanley, E. H., Johnson M. D. & A. K. Ward. 2003. Evaluating the influence of macrophytes on algal and bacterial production in multiple habitats of a freshwater wetland. *Limnology and Oceanography*, 48: 1101-1111.
- Sterner, R. W. & K. L. Schulz. 1998. Zooplankton nutrition: recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology*, 32: 261-279.

- Strugstad, M. P. & S. Despotovski. 2012. A summary of extraction, synthesis, properties and potential uses of juglone: A literature review. *Journal of Ecosystem Management*, 13: 1-16.
- Talbot, J. M. & J. C. Ward. 1987. Macroinvertebrates associated with aquatic macrophytes in Lake Alejandrina, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater research*, 21: 199-213.
- Thomaz, S. M., Kovalenko, K. E., Havel, J. E. & L. B. Kats. 2015. Aquatic invasive species: general trends in the literature and introduction to the special issue. *Hydrobiologia*, 746: 1-12.
- Timms, R. M. y Moss B. 1984. Prevention of growth of potentially dense phytoplankton populations by zooplankton grazing in the presence of zooplanktivorous fish, in a shallow wetland ecosystem. *Limnology and Oceanography*, 29: 472-486.
- Tönno, I., Künnap, H. & T. Nõges. 2003. The role of zooplankton grazing in the formation of “clear water phase” in shallow charophyte-dominated lake. *Hydrobiologia*, 506-509: 353-358.
- Trease, G. E. & W. C. Evans. 1989. Pharmacognosy, 11th edn. Bailliere Tindall, London.
- Urabe J. & Y. Watanabe. 1992. Possibility of N or P limitation for planktonic cladocerans: An experimental test. *Limnology and Oceanography*, 37: 244-251.
- van Donk. 2007. Chemical information transfer in freshwater plankton. *Ecological Informatics*, 2: 112-120.
- van Donk, E. & W. J. van de Bund. 2002. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany*, 72: 261-274.
- Vanderstukken, M., Mazzeo, N., Van Colen, W., Declerck, S. A. J. & K. Muylaert. 2011. Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illinoensis*: a mesocosms study. *Freshwater Biology*, 56: 1837-1849.
- Vanderstukken, M., Declerck, S. A. J., Decaestecker, E. & K. Muylaert. 2014. Long-term allelopathic control of phytoplankton by the submerged macrophyte *Elodea nuttallii*. *Freshwater Biology*, 59: 930-941.

- Villaseñor, J. L. & F. J. Espinosa. 1998. Catálogo de malezas de México. UNAM-Fondo de Cultura Económica, México.
- Wallace, R. L., Snell, T. W., Ricci, C. & T. Nogrady. 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.
- Wang, L., Zhang, L., Zhang, Y., Jin, C., Lu, C., & G. Wu. 2006. The inhibitory effect of *Hydrilla verticillata* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 25: 661-665.
- Wang, H. Q., Cheng, S. P., Zhang, S. H., He, F., Liang, W., Zhang, L. P., Hu, C. Y., Ge, F. J. & Z. B. Wu. 2010. Chemical composition in aqueous extracts of *Potamogeton malaianus* and *Potamogeton maackianus* and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19: 213-218.
- Warfe, D. M. & L. A. Barmuta. 2006. Habitat structural complexity mediates food web dynamics in a freshwater macrophyte community. *Oecologia*, 150: 141-154.
- 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/600/4-90/027F.
- Weissbach, A., Tillmann, U. & C. Legrand. 2010. Allelopathic potential of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on marine microbial communities. *Harmful algae*, 10: 9-18.
- Wenzel, A., Vrede, T., Jansson, M. & A-K. Bergström. 2014. *Daphnia* performance along food quantity gradients of algae mixed with bacteria and allochthonous organic particles. X simposio sobre Cladocera. Republica Checa.
- Wetzel, R. G. 2001. Limnology: Lakes and river ecosystems. Tercera edición. Elsevier science. USA.
- Whittaker, R. H. & P. P. Feeny. 1971. Chemical interactions between species. *Science*, 171: 757-770.
- Wigand, C., Stevenson, J. C. & J. C. Cornwell. 1997. Effects of different submerged macrophytes on sediment biogeochemistry. *Aquatic Botany*, 56: 233-244.

- Willis, R. J., 1985. The historical bases of the concept of allelopathy. *Journal of the History of Biology*, 18: 71–102.
- Willis, R. J. 2007. The history of allelopathy. Springer. Dordrecht. The Netherlands.
- Wium-Andersen, S., Anthoni, U., Christophersen, C. & G. Houen. 1982. Allelopathic effects on phytoplankton by substances isolated from aquatic macrophytes (Charales). *Oikos*, 39: 187-190.
- Wium-Andersen, S., Anthoni, U., Houen, G. (1983) Elemental sulphur, a possible allelopathic compound from *Ceratophyllum demersum*. *Phytochemistry*, 22: 2613.
- Wojtal, A., Frankiewicz, P., Izydorczyk, K. & M. Zalewski. 2003. Horizontal migration of zooplankton in a littoral zone of the lowland Sulejow Reservoir (central Poland). *Hydrobiologia*, 506-509: 339-346.
- Wu, Z., Deng, P., Wu, X., Luo, S. & Y. Gao. 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophytes *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus*. *Hydrobiologia*, 592: 465-474.
- WWF, 2014. Living planet report 2014: Species and spaces, people and places.
- Xiao, X., Lou, L., Li, H. & Y. Chen. 2009. Algal control ability of allelopathically active submerged macrophytes: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 20: 705-712.
- Yarrow, M., Marín, V. H., Finlayson, M., Tironi, A., Delgado, L. E & F. Fischer. 2009. The ecology of *Egeria densa* Planchon (Liliopsida: Alismatales): A wetland ecosystem engineer? *Revista Chilena de Historia Natural*, 82: 299-313.
- Zarattini, P. & G. Mura. 2004. The effects of food type on length-weight growth, sexual differentiation and survival in *Chirocephalus ruffoi* (Anostraca) cultured under standard conditions. *Journal of Crustacean Biology*, 24: 225-231.