



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

“Determinación de la tasa de filtración de *Brachionus rotundiformis* representativo del zooplancton del estuario de Palmar”

Tesis de Grado

Previa a la obtención del título de:

OCEANÓGRAFO

Presentado por:

Jessica Salcedo Valdivieso

Guayaquil – Ecuador

2008

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis la Dra. Laurence Massaut, por su guía y ayuda en el desarrollo de esta tesis.

A mis profesores, por impartirme sus conocimientos.

A mis amigos Elna, Cecilia, Diego, Gabriela, Yessenia, Noemí, Verónica, Luis e Indira, por su apoyo y su invaluable ayuda.

A María Panchana, Rosa Malave, Doris Reyes, y Bertha Carpio por su colaboración con la fase experimental de este trabajo .

Al personal del CENAIM, por las facilidades prestadas para el desarrollo de esta tesis.

Al proyecto VLIR-ESPOL y al CONESUP, por el financiamiento para la realización de esta tesis.

DEDICATORIA

En memoria de Manuel y Rosa.

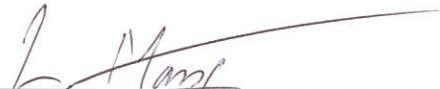
A mi abuelita Piedad.

A mis padres Helena y Danilo por su amor y apoyo incondicional, a mis hermanos Pia y Santiago por estar siempre ahí cuando los necesite y en especial a mi hijo quien es mi inspiración para seguir adelante.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Jerry Landivar, Msc
PRESIDENTE TRIBUNAL



Laurence Massaut, Ph. D.
DIRECTOR DE TESIS



Fernando Arcos, Ph. D.
VOCAL PRINCIPAL



Marcelo Muñoz, Ph. D.
VOCAL PRINCIPAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.”

(Reglamento de Exámenes y Títulos Profesionales de la ESPOL).



Jessica Salcedo Valdivieso

RESUMEN

Entre febrero y julio del 2007, se efectuaron seis muestreos en el estuario de Palmar para identificar las especies de fitoplancton y zooplancton presentes. En base a los resultados de estos muestreos, se decidió evaluar bajo condiciones controladas en el laboratorio, la tasa de filtración ($\mu\text{l/h/rotífero}$) y la tasa de ingestión (células/min/rotífero) de *B. rotundiformis* a tres temperaturas (24, 28 y 32°C), con cuatro tipos de fitoplancton (*Synechocystis* sp., *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp., y *Thalassiosira* sp.) y para concentraciones teóricas iniciales del fitoplancton variando entre 25.000 y 5.000.000 células/ml. En total se efectuaron 111 bioensayos por un periodo de tiempo suficiente para que se consuma alrededor del 70% de la concentración inicial del fitoplancton, sin exceder de 24 h, para cada combinación de concentración, tipo de fitoplancton y temperatura. Las muestras de fitoplancton analizadas fueron dominadas por la presencia de *Synechocystis* sp., una cianobacteria coccoidal de pequeño tamaño, representando entre 76 y 100% de los conteos totales, indicando que el picoplancton contribuye significativamente a la producción primaria del estuario de Palmar. El zooplancton fue representado por ostracodos, tintinados, copépodos, nemátodos y rotíferos del género *Brachionus* sp. Los resultados de los bioensayos determinaron que las tasas máximas de aclaramiento de *B. rotundiformis* se encontraron para una temperatura del agua de 32°C y con valores de 30 $\mu\text{l/h}$ para *Thalassiosira* sp., 20-25 $\mu\text{l/h}$ para *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis* sp., y 10-12 $\mu\text{l/h}$ para *Synechocystis* sp. Estos valores son más altos que los reportados en la literatura para temperaturas de máximo 25°C. Las tasas de ingestión máximas fueron de 287

células/ml para *Synechocystis* sp., 65-70 células/min para *Tetraselmis* sp., y entre 40 y 45 células/min para *Isochrysis* sp. y *Thalassiosira* sp. El efecto de la concentración del fitoplancton sobre la tasa de aclaramiento fue diferente de acuerdo al tipo de fitoplancton ensayado, encontrando un mejor ajuste con el modelo sigmoïdal para *Synechocystis* sp., el fitoplancton de menor tamaño ensayado ($2,6 \pm 0,1 \mu\text{m}$ ESD), y con el modelo curvilíneo para los tres otros tipos de fitoplancton (entre 4,3 y 8,6 μm en promedio para el ESD). Dado la abundancia de otros representantes herbívoros del zooplancton en el estuario de Palmar, se recomienda repetir el estudio con estos organismos antes de poder elaborar un modelo matemático de las interacciones tróficas y así predecir la transferencia de energía hacia los niveles superiores de la cadena trófica.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. El estuario de Palmar:	4
2.2. La trama alimenticia de un estuario:	6
2.2.1. El fitoplancton:	7
2.2.2. El zooplancton:	9
2.2.3. Las bacterias y el reciclaje de los nutrientes:	11
2.3. La relación del zooplancton con el fitoplancton y bacterioplancton:	13
2.4. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión de <i>Brachionus</i> sp.:	14
2.5. Descripciones matemáticas de las tasas de aclaramiento e ingestión de los rotíferos:	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Organismos utilizados:	21
3.1.1. Selección y aislamiento de los organismos:	21
3.1.2. Cultivo de los organismos:	22
3.2. Diseño experimental:	25
3.2.1. Condiciones generales de los bioensayos:	25

3.2.2. Aclimatación de los organismos previo a los bioensayos:.....	27
3.3. Estimación de las tasas de aclaramiento e de ingestión:	29
3.4. Análisis estadísticos y descripción matemática de la tasa de aclaramiento:	34
4. RESULTADOS	37
4.1. El plancton del estuario de Palmar:.....	37
4.2. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión de <i>B. rotundiformis</i> :.....	40
4.2.1. Efectos de la temperatura, de la concentración inicial del fitoplancton y del tipo de fitoplancton:	40
4.2.2. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con <i>Synechocystis</i> sp.:	42
4.2.3. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con <i>Isochrysis</i> sp.:	48
4.2.4. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con <i>Tetraselmis</i> sp.:	53
4.2.5. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con <i>Thalassiosira</i> sp.:	58
5. DISCUSIÓN	63
5.1. El plancton del estuario de Palmar:.....	63
5.2. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión de <i>B. rotundiformis</i> :.....	66
6. CONCLUSIONES	71
7. RECOMENDACIONES	73
8. BIBLIOGRAFÍA	74

ABREVIATURAS

Células/min	Células por minuto
Células/ml	Células por mililitro
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
CLIRSEN	Centro de Levantamientos Integrados de Recursos Naturales por Sensores Remotos
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
ESD	Diámetro esférico equivalente
g/l	Gramos por litro
h	Hora
ha	Hectárea
ind/ml	Individuos por mililitro
pH	Potencial hidrogeno
TA	Tasa de aclaramiento
TI	Tasa de ingestión
µl/h	Microlitros por hora

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representaciones esquemáticas de los tres tipos de respuestas funcionales: Modelo rectilíneo o Holling tipo 1; Modelo curvilíneo o Holling tipo 2; Modelo sigmooidal o Holling tipo 3.	20
Figura 2: Ubicación de las estaciones de muestro para plancton en el estuario de Palmar: (1) playa, (2) canal de entrada en el manglar, (3) canal de salida del manglar e influenciado para las mareas.	22
Figura 3: Representación esquemática del set experimental.....	27
Figura 4: Respuesta de la tasa de aclaramiento de <i>B. rotundiformis</i> a la concentración de <i>Synechocystis</i> sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).	47
Figura 5: Respuesta de la tasa de aclaramiento de <i>B. rotundiformis</i> a la concentración de <i>Isochrysis</i> sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).	52
Figura 6: Respuesta de la tasa de aclaramiento de <i>B. rotundiformis</i> a la concentración de <i>Tetraselmis</i> sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).....	57
Figura 7: Respuesta de la tasa de aclaramiento de <i>B. rotundiformis</i> a la concentración de <i>Thalassiosira</i> sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Composición del medio BG-11 para el cultivo de <i>Synechocystis</i> sp.	23
Tabla 2:	Composición del medio f/2 para el cultivo de <i>Isochrysis</i> sp., <i>Tetraselmis</i> sp., y <i>Thalassiosira</i> sp.	24
Tabla 3:	Niveles de las variables ensayadas.....	26
Tabla 4:	Concentraciones de nitrato (mg N/l) en la muestra de fitoplancton para cada bioensayo y presentadas por tipo y concentración de fitoplancton..	28
Tabla 5:	Concentraciones iniciales (promedio \pm desviación estándar de 36 replicas) del fitoplancton para cada tipo y concentración ensayados (expresadas en 10^3 células/ml).....	30
Tabla 6:	Concentraciones iniciales (promedio \pm desviación estándar de las seis replicas) de <i>B. rotundiformis</i> para cada bioensayo (expresadas en rotíferos/ml).....	30
Tabla 7:	Promedio \pm desviación estándar del diámetro (n = 60) oral de <i>B. rotundiformis</i> (expresado en μm).....	31
Tabla 8:	Promedio \pm desviación estándar del volumen de cada lote de fitoplancton utilizado (expresado en μm^3).	33
Tabla 9:	Promedio \pm desviación estándar del ESD para cada lote de fitoplancton utilizado (expresado en μm).....	33
Tabla 10:	Promedio \pm desviación estándar de los conteos de fitoplancton encontrado en el estuario de Palmar entre febrero y julio del 2007 (expresado en	

individuos/ml).	38
Tabla 11: Promedio \pm Desviación estándar de los conteos de zooplancton encontrado en el estuario de Palmar entre febrero y julio del 2007 (expresado en individuos/l).	39
Tabla 12: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por tipo de fitoplancton o concentración inicial.	41
Tabla 13: Promedios (\pm desviaciones estándares) por concentración inicial del fitoplancton de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por tipo de fitoplancton o temperatura.	41
Tabla 14: Promedios (\pm desviaciones estándares) por tipo de fitoplancton de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por temperatura o concentración inicial del fitoplancton.	42
Tabla 15: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con <i>Synechocystis</i> sp.	43
Tabla 16: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con <i>Synechocystis</i> sp.	44
Tabla 17: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los ocho escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con <i>Synechocystis</i> sp. a 24, 28 y 32°C.	45

Tabla 18: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con <i>Isochrysis</i> sp.	49
Tabla 19: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas para <i>Isochrysis</i> sp.	50
Tabla 20: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con <i>Isochrysis</i> sp. a 24, 28 y 32°C.	51
Tabla 21: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con <i>Tetraselmis</i> sp.	54
Tabla 22: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con <i>Tetraselmis</i> sp.	55
Tabla 23: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con <i>Tetraselmis</i> sp. a 24, 28 y 32°C.	56
Tabla 24: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con <i>Thalassiosira</i> sp.	59
Tabla 25: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración	

inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con
Thalassiosira sp.60

Tabla 26: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para
los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada
con *Thalassiosira* sp. a 24, 28 y 32°C.....61

1. INTRODUCCIÓN

El estuario de Palmar (Provincia de Santa Elena, Ecuador) se extiende sobre 40 ha de bosque de manglar y engloba varios canales influenciados por las mareas y con aportes de agua dulce desde la comuna de Palmar y durante la época de altas lluvias, desde la cordillera de Colonche. Dentro del estuario se realizan actividades pesqueras y de extracción de los recursos propios del manglar (Calewaert, 2004). Adicionalmente, este estuario sirve de fuente de abastecimiento de agua para cerca de 400 ha de granjas camaroneras asentadas en sus alrededores (CLIRSEN, 1999), como de receptor de sus efluentes durante los recambios de agua y las cosechas.

Los sistemas estuarinos se caracterizan por exhibir una gran productividad biológica, sirviendo de semillero para la biota marina. En un estudio general sobre la biodiversidad estuarina, se encontró que aproximadamente el 40% de la fauna utiliza el estuario como refugio, particularmente los peces y crustáceos (Maljuf, 2002), aprovechando de la alta disponibilidad de fitoplancton y zooplancton para alimentarse durante las primeras etapas de su ciclo de vida. El zooplancton es visto como un eslabón importante dentro de la cadena trófica de estos ecosistemas, sirviendo de intermediario entre el fitoplancton y bacterioplancton y los niveles tróficos superiores, como las larvas de peces y crustáceos de importancia comercial.

Varios estudios demostraron que los rotíferos del género *Brachionus* sp., un grupo representativo del zooplancton, son grandes consumidores de fitoplancton. Navarro (1999) recalca que *Brachionus plicatilis* puede ingerir diariamente entre 60 y 90% de su peso seco, mientras que *Brachionus rotundiformis* puede ingerir hasta 160% de su peso seco. El consumo de partículas por parte de estos microorganismos es influenciado por varios factores incluyendo: el tamaño de los rotíferos, la temperatura del agua, y el tamaño, la forma, la calidad y la concentración de las partículas que sirven de alimento. La eficiencia en la ingestión de partículas por parte de los rotíferos difiere significativamente entre tipos y tallas de las partículas a ingerir, con una talla óptima alrededor de 8 μm de diámetro esférico equivalente (Rothhaupt, 1990a). La temperatura afecta directamente a los procesos biológicos a través de su influencia sobre la cinética enzimática, además de influenciar la viscosidad del agua y consecuentemente la tasa de encuentro entre depredador y presas (Montagnes *et al.*, 2001).

Los rotíferos son capaces de regular su toma de alimento de acuerdo a la concentración de la presa (Mohr y Adrian, 2000). La respuesta del depredador a un cambio en la concentración de la presa se conoce como respuesta funcional (Fussman *et al.*, 2005) influenciando la tasa de aclaramiento y la tasa de ingestión. Tres modelos básicos (modelo rectilíneo o Holling tipo 1, modelo curvilíneo o Holling tipo 2, y modelo sigmoideal o Holling tipo 3) describen la relación entre la tasa de aclaramiento y la concentración de las presas, los cuales representan las diferentes

estrategias de alimentación existentes para maximizar la energía capturada (Rothhaupt, 1990b; Mohr y Adrian, 2000). De manera general, a medida que incrementa la concentración de las partículas, la tasa de aclaramiento como la tasa de ingestión incrementan hasta alcanzar un punto de inflexión encima del cual la tasa de ingestión máxima se mantiene mientras que la tasa de aclaramiento disminuye de manera progresiva (Rothhaupt, 1990b).

El objetivo del presente estudio fue evaluar bajo condiciones controladas en el laboratorio, la tasa de filtración y la tasa de ingestión de *B. rotundiformis* a diferentes temperaturas (24, 28 y 32°C), con cuatro tipos de fitoplancton (*Synechocystis* sp., *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp., *Thalassiosira* sp.) y para concentraciones variando entre $25 \cdot 10^3$ y $5.0 \cdot 10^6$ células/ml. Con estos datos, se evaluaron las relaciones matemáticas que mejor describen el comportamiento de la tasa de aclaramiento del rotífero, lo que servirá de base para evaluar su efecto regulador sobre las poblaciones fitoplanctónicas, así como su importancia en la transferencia de energía hacia los niveles superiores de la cadena trófica en el estuario de Palmar.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL ESTUARIO DE PALMAR:

El estuario de Palmar está ubicado en la comuna del mismo nombre, localizada a 02° 01' 37" S de Latitud y a 80° 43' 52" W de Longitud, 32 km al norte de la cabecera provincial Santa Elena (Ecuador). El estuario se extiende sobre 40 ha de bosque de manglar y engloba varios canales influenciados por las mareas y con aportes de agua dulce desde la comuna de Palmar y durante la época de altas lluvias, desde la cordillera de Colonche. Las principales especies de mangle que se encuentran son: *Rhizophora mangle* o mangle rojo, *Conocarpus erectus* o mangle botoncillo y *Languncularia racemos* o mangle blanco (Calewaert, 2004). Dentro del estuario se realizan actividades pesqueras y de extracción de los recursos propios del manglar tales como el cangrejo azul, el cangrejo de manglar, las conchas *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis*, y la ostra *Crassostrea columbiensis* (Calewaert, 2004). Además, los desembarcos de la pesca artesanal se realizan en la playa al lado de la boca del estuario y consisten de pesca blanca, camarón, y ocasionalmente cangrejos y langostas (Solís-Coello y Mendívez, 1999). Finalmente, el estuario sirve de fuente de abastecimiento de agua para cerca de 400 ha de granjas camaroneras asentadas en sus alrededores (CLIRSEN, 1999), como de receptor de sus efluentes durante los recambios de agua y las cosechas.

El clima de la zona costera Ecuatoriana responde a los desplazamientos meridionales de las masas de agua del Océano Pacífico Tropical y al movimiento meridional de la Zona de Convergencia Intertropical, los que definen a dos estaciones climáticas bien diferenciadas: la estación lluviosa entre enero y marzo y la estación seca entre junio y noviembre (Moreano, 1993). El promedio anual para la temperatura del aire en la zona de estudio es de 24-25°C, con extremos que rara vez sobrepasan los 38°C o descienden debajo de 13°C, dando lugar a un clima cálido tropical (Shervette *et al.*, 2007). En la zona frente a la costa ecuatoriana se produce una mezcla de las aguas de los regímenes tropical y subtropical con aguas tropicales superficiales y aguas subtropicales superficiales. La franja que delimita ambas masas de agua es conocida como Frente Ecuatorial que se extiende desde el sur del Ecuador hasta las Islas Galápagos (Okuda *et al.*, 1983a). La zona norte del frente presenta aguas calidas y con bajas salinidades, elevada producción de oxígeno y bajas concentraciones de nutrientes, mientras que el sur del frente presenta altas concentraciones de nutrientes sin producción aparente de oxígeno (Okuda *et al.*, 1983a;b).

Las concentraciones de nutrientes en las costas ecuatorianas están influenciadas por los desplazamientos del Frente Ecuatorial y por las estructuras de las masas de agua en las capas superficiales y sub-superficiales que varían debido al régimen complejo de la circulación oceánica en el Pacífico Tropical Oriental (Okuda *et al.*, 1983a). Algunos parámetros físico-químicos presentan variaciones estacionales, siendo sus concentraciones más altas en época seca con un descenso en la época lluviosa y se

encuentran generalmente en los siguientes rangos: la salinidad fluctúa entre 17 y 36‰, la concentración de oxígeno disuelto entre 5,5 y 6,5 mg/l, y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) entre 0,1 y 17 mg/l (Calewaert, 2004). En general, las costas ecuatorianas presentan concentraciones muy bajas de fosfatos (0,91 $\mu\text{g.at/l}$) y nitratos (1,88 $\mu\text{g.at/l}$) en la capa superior de la termoclina, que aumentan con la profundidad hasta 18,88 $\mu\text{g.at/l}$ y 24,04 $\mu\text{g.at/l}$, respectivamente (Valencia y Moran, 1996).

2.2. LA TRAMA ALIMENTICIA DE UN ESTUARIO:

La importancia de estudiar las relaciones tróficas de los sistemas estuarinos se debe a que estos sistemas son áreas de gran productividad y diversidad biológica, lo que ayuda a soportar la producción de especies acuáticas con potencial importancia económica. En un estudio general sobre la biodiversidad estuarina, se encontró que aproximadamente el 40% de la fauna utiliza el estuario como refugio, particularmente los peces (62%) y crustáceos (48%) (Maljuf, 2002), aprovechando de la alta disponibilidad de fitoplancton y zooplancton para alimentarse durante las primeras etapas de su ciclo de vida. El fitoplancton tiene la capacidad de producir materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas y energía solar, que será posteriormente aprovechada por los fitófagos, luego por los zoófagos y finalmente por los detritófagos y las bacterias que desintegran la materia orgánica produciendo sustancia inorgánica, con la cual los productores primarios iniciarán nuevamente el ciclo de la materia.

2.2.1. El fitoplancton:

El fitoplancton está formado por organismos microscópicos que contienen diversos pigmentos, entre otros la clorofila, y que son capaces de producir proteínas, ácidos grasos e hidratos de carbono a partir del dióxido de carbono, minerales y la energía de la luz. Por lo tanto, constituyen la base de la trama alimenticia y necesitan permanecer en la zona fótica, generalmente restringida a los primeros 15 metros de la columna de agua del océano (Fincham, 1986). Su composición y abundancia varían de un cuerpo de agua a otro, con el tiempo y están controladas por factores abióticos como la luz, la temperatura, la salinidad y la concentración de nutrientes, y por factores bióticos como la presencia y composición del zooplancton (Tilman *et al.*, 1982).

Los principales grupos de fitoplancton en el medio marino son las cianobacterias, las diatomeas (Bacillariophyceae), los dinoflagelados (Dinophyceae), y los coccolitoforidos (Prymnesiophyceae) (Tomas, 1997; Cajas *et al.*, 2000). De manera general, en sistemas oligotróficos (pobres en nutrientes) predominan las algas verdes (Chlorophyceae) y algunos flagelados, en condiciones mesotróficas aumenta la presencia de diatomeas, y en condiciones eutróficas (ricas en nutrientes) dominan las cianobacterias (Duarte *et al.*, 1992; Yusoff *et al.*, 2002).

En la zona costera Ecuatoriana, la composición del fitoplancton es extremadamente variable y está relacionada con las condiciones hidrográficas del Frente Ecuatorial (Jiménez y Bonilla, 1980; Coello y Moya, 1999). La mayoría de los estudios sobre la composición del fitoplancton en las aguas costeras del Ecuador se realizaron sobre muestras tomadas a diferentes profundidades y concentradas con una malla de entre 50 y 150 μm , lo que limita la descripción a especies de gran tamaño. Estos estudios indican que los grupos más importantes con tamaño superior a 50 μm , son las diatomeas, los dinoflagelados y los coccolitoforidos (Jiménez y Pesantez, 1978; Jiménez y Bonilla, 1980; Coello y Moya, 1999; Tapia, 2001; Naranjo y Tapia, 2002). Las concentraciones reportadas varían entre 10^{-3} y 10^3 células/ml, con una presencia más marcada entre los 10 y 20 m de profundidad (Jiménez y Bonilla, 1980; Bonilla, 1990; Torres, 1996; Coello y Moya, 1999; Naranjo y Tapia, 2002).

Los géneros de diatomeas generalmente presente en muestras tomadas en las aguas de la costa Ecuatoriana son *Bacteriastrum*, *Chaetoceros*, *Cocinodiscus*, *Ditylum*, *Hemiaulus*, *Leptocylindrus*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Odontella*, *Rhizosolenia*, *Skeletonema*, *Thalassionema*, *Thalassiosira*, y *Thalassiothrix* (Jiménez y Bonilla, 1980; Bonilla, 1990; Torres, 1996; Coello y Moya, 1999; Naranjo y Tapia, 2002). Los géneros dominantes de dinoflagelados son *Ceratium*, *Dinophysis*, *Diplopsalis*, *Gymnodinium*, *Oxytoxum*, *Peridinium*, *Prorocentrum*, *Protooperidinium* (Jiménez y Pesantez, 1978; Torres, 1996; Coello y Moya, 1999). Los coccolitoforidos son dominados por *Emiliana huxleyi* y representados en menor concentraciones por las

siguientes especies: *Calyptosphaera sphaeroidea*, *Discosphaera tubifer*, *Helicosphaera carteri*, y *Syracosphaera* sp. (Jiménez y Pesantez, 1978; Coello y Moya, 1999). Cajas *et al.* (1998) son los únicos que mencionan la presencia de cianobacterias de gran tamaño, en este caso particular fue en el interior del Golfo de Guayaquil, principalmente de los géneros *Anabaena*, *Oscillatoria* y *Spirulina*.

En los últimos 20 años, avances en la microscopía y biología molecular permitieron identificar a nuevos grupos de fitoplancton con tamaños menores a 5 μm . Dentro de este grupo dominan las cianobacterias representadas por tres géneros ubicuos: *Synechococcus* con un diámetro promedio de 1,0 a 1,2 μm , *Synechocystis* con un tamaño de entre 0,8 y 1,5 μm y *Prochlorococcus* con un diámetro promedio de 0,6 μm (Murrell y Lores, 2004; Katano *et al.*, 2007; Moore *et al.*, 2007; Waleron *et al.*, 2007). Las concentraciones de estos representantes del picoplancton se encuentran generalmente entre 10^4 y 10^6 células/ml, más altas que las concentraciones de los representativos más grandes del fitoplancton (Katano *et al.*, 2005).

2.2.2. El zooplancton:

El zooplancton es el plancton de tipo animal e incluye una amplia variedad de organismos tanto herbívoros como carnívoros (Paffenhöfer, 1998). Estos organismos de pequeño tamaño se encuentran en el segundo nivel de la trama trófica y son representados por los siguientes grupos en el mar: ciliados, copépodos, foraminíferos, rotíferos, ostracodos, radiolarios y tintinados, además de los estadios

larvarios de diferentes grupos de invertebrados y vertebrados. La composición y distribución del zooplancton está determinada por factores físicos (como las fases de la marea y la temperatura del agua), químicos (como la concentración de algunos nutrientes inorgánicos) y biológicos (como la disponibilidad del fitoplancton y la presencia de depredadores). En las costas ecuatorianas la presencia de los diferentes grupos de zooplancton está asociada con las características del Frente Ecuatorial; por ejemplo, los copépodos se presentan en mayores concentraciones en las áreas de mayor concentración de fitoplancton, al sur del Frente Ecuatorial (Jiménez y Bonilla, 1980; Luzuriaga *et al.*, 1998). Sin embargo, el tamaño del fitoplancton controla el tipo de zooplancton herbívoro asociado (Samuelsson, 2003).

Los copépodos son el grupo dominante en las muestras colectadas a lo largo de la costa Ecuatoriana, alcanzando en algunos casos el 80% del total de organismos zooplanctónicos y son representados por los siguientes géneros: *Acartia*, *Calanus*, *Centrophages*, *Oithona*, *Pseudocalanus*, y *Temora* (Bonilla, 1990). Dependiendo de la localización del estudio y de la posición del Frente Ecuatorial al momento de la toma de muestras, otros estudios mencionan la presencia de tintinados con los géneros *Codonellopsis*, *Dictyocysta* y *Salpingella* (Coello y Moya, 1999) y de quetognatos con el género *Sagita* (Luzuriaga *et al.*, 1998). Dos estudios en estuarios, Luzuriaga *et al.* (1998) en el río Guayas y Naranjo y Tapia (2002) en el estuario de San Lorenzo, identifican a los copépodos como el grupo dominante del zooplancton en estos sistemas (hasta 60% de los conteos), pero también mencionan que se puede

encontrar representantes de los quetognatos, rotíferos (principalmente del género *Brachionus*), cladóceros y estadíos larvarios de crustáceos y peces.

2.2.3. Las bacterias y el reciclaje de los nutrientes:

Las bacterias participan de numerosos procesos bioquímicos liderando la remineralización de los nutrientes y el reciclaje de la material orgánica, actuando como nexo en la transferencia de energía hacia los niveles tróficos superiores (Samuelsson, 2003). Sin embargo, las bacterias tienen también la capacidad de absorber nutrientes del océano y hacer circular esta fuente de carbono mediante diversas interacciones ecológicas con otros componentes del plancton (Riquelme y Avendaño-Herrera, 2003). Generalmente, las bacterias son más efectivas en absorber nutrientes que el fitoplancton por tener un tiempo de generación más corto y una relación superficie:volumen más grande (Cottingham *et al.*, 1997). El factor biológico determinante en la concentración bacteriana está relacionado con la disponibilidad de carbono orgánico en el medio, liberado por una variedad de procesos los cuales incluyen: excreción desde y mortalidad del fitoplancton, incompleta ingestión o excreción del zooplancton, y mortalidad bacteriana (Nagata, 2000; Richardot *et al.*, 2001; Samuelsson, 2003).

La distribución e intensidad de la biomasa bacteriana en estuarios dependen de la localización y proporción de las fuentes de carbono y nutrientes, y de las características físicas y químicas del medio ambiente asociadas a las corrientes de agua. El número total de bacterias y su productividad específica son más altas en la zona de rompiente que en el mar (Almeida *et al.*, 2001). En ecosistemas pelágicos marinos y de agua dulce, el fitoplancton es considerado como la mayor fuente de carbono (también referido como mayor fuente de sustrato) para las bacterias (Vörös *et al.*, 2003). Generalmente, la concentración bacteriana está directamente relacionada con la concentración del fitoplancton (Riquelme y Avendaño-Herrera, 2003), así como de su productividad (Cole *et al.*, 1988; Sommaruga, 1995; Vörös *et al.*, 2003).

El conjunto de la flora bacteriana del medio acuático, tanto marino como continental, se puede clasificar en organismos aerobios obligatorios (no pueden vivir sin la presencia de oxígeno), anaerobios obligatorios (no pueden vivir con la presencia de oxígeno) y anaerobios facultativos (viven independientemente de la presencia de oxígeno) (Pelczar *et al.*, 1996). Los géneros más abundantes en el medio marino son *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Cellvibrio*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Vibrio* (Pelczar *et al.*, 1996).

2.3. LA RELACIÓN DEL ZOOPLANCTON CON EL FITOPLANCTON Y BACTERIOPLANCTON:

El zooplancton tiene dos efectos opuestos sobre el fitoplancton y el bacterioplancton. El primer efecto es la reducción de la biomasa de ambos grupos por pastoreo directo (efecto “top-down”). El segundo efecto es la estimulación de su crecimiento a través de la regeneración de nutrientes (efecto “bottom-up”) o de la eliminación por pastoreo de sus depredadores. Generalmente, el pastoreo directo por parte del zooplancton representa la principal pérdida para el fitoplancton (Bergquist *et al.*, 1985; Grigorszky *et al.*, 1998), sin embargo, el rango de partículas ingeridas depende del tipo de zooplancton considerado, de la cantidad, calidad y tamaño del fitoplancton, de la intensidad de la luz y de la temperatura del agua (Ravera y Scotto, 1999; Conde–Poctuna *et al.*, 2002). Calbet y Landry (2004) estiman que el 75% de la productividad fitoplanctónica es perdido por el pastoreo de microherbívoros en sistemas oceánicos, y alrededor del 59% en sistemas estuarinos, indicando que la relación fitoplancton-zooplancton se debilita en sistemas eutróficos. Un fuerte efecto de pastoreo por parte de los copépodos sobre el fitoplancton, incluyendo varios ordenes de magnitud, ha sido reportado en sistemas de mar abierto (Bautista *et al.*, 1992). No obstante, en sistemas eutróficos donde se desarrollan poblaciones de fitoplancton con dimensiones mayores a 50 μm , con espinas o formadoras de colonias, el efecto pastoreo del zooplancton se pierde (Lampert, 1987; Bíró, 1995). Al nivel de las bacterias, los ciliados, flagelados, rotíferos, cladóceros y nauplios de copépodos remueven eficientemente a estos microorganismos, causando una

disminución en sus conteos y pudiendo alterar la distribución del tamaño bacteriano a través de la selectividad (Havens, 1998; Vrede *et al.*, 1999; Gasol *et al.*, 2002).

En sistemas oligotróficos, el efecto de reciclaje de la materia orgánica por parte del zooplancton a través de la excreción de material digerido, incrementa de manera indirecta la productividad fitoplanctónica y la presencia de bacterias (Elser y Goldman, 1990). El zooplancton se alimenta directamente de partículas orgánicas, estimulando la producción primaria a través del incremento en la columna de agua de la concentración de proteínas disueltas, carbohidratos, u otros desechos metabólicos, aprovechados por el fitoplancton y las bacterias (Hulot *et al.*, 2001; Richardot *et al.*, 2001). Finalmente, algunos cladóceros y copépodos adultos se alimentan de flagelados y presas más grandes, lo que indirectamente disminuye su presión de depredación sobre las pequeñas partículas fitoplanctónicas y bacterianas (Cottingham *et al.*, 1997; Calbet y Landry, 1999).

2.4. TASA DE ACLARAMIENTO Y TASA DE INGESTIÓN DE *Brachionus* sp.:

Diversos estudios hacen referencia a los factores que afectan a la tasa de filtración del zooplancton en general y de los rotíferos en particular. El consumo de partículas por parte de estos microorganismos es influenciado por varios factores incluyendo: el tamaño de los rotíferos y principalmente su diámetro oral, la temperatura del agua, y el tamaño, la forma, la calidad y la concentración de las partículas que sirven de alimento. El efecto de la temperatura es directo a través de su influencia sobre los

procesos biológicos y la cinética enzimática, pero también de manera indirecta a influenciar la viscosidad del agua y consecuentemente la tasa de encuentro entre depredador y presas (Montagnes *et al.*, 2001). Generalmente, a medida que incrementa la temperatura del agua, incrementa la tasa de ingestión de *B. plicatilis*, ajustándose a una respuesta de tipo sigmoideal entre 5 y 25°C (Montagnes *et al.*, 2001).

Rothhaupt (1990a,b) y Hansen *et al.* (1997) mencionan que las tasas de filtración cambian de acuerdo al tamaño de las partículas a ser ingeridas. Rothhaupt (1990a) determinó que la talla óptima de las partículas a ser ingeridas por parte del género *Brachionus* sp. es alrededor de 8 µm de diámetro esférico equivalente (ESD para sus siglas en Inglés). Hansen *et al.* (1997) en un estudio con *B. plicatilis* (entre 193 y 267 µm de diámetro oral) y a una temperatura de 18°C, obtuvieron una tasa de ingestión máxima de 11 células/min para *Rhodomonas baltica* con un ESD promedio de 6,5 µm, mientras que la tasa máxima bajó a 1,5 células/min con *Thalassiosira fluviatilis* que presentaba un ESD promedio de 12,9 µm. Rothhaupt (1990a,b) lista los siguientes tamaños óptimos para partículas a ser ingeridas, de acuerdo al tamaño y la cepa del rotífero considerado: ~5 µm ESD para *Brachionus rubens* cepa F con un diámetro oral promedio de 120-180 µm; ~10 µm ESD para *B. rubens* cepa B con un diámetro oral promedio de 200-260 µm; ~10 µm ESD para *Brachionus calyciflorus* con un diámetro oral promedio de 220-285 µm. En estos casos, las tasas de aclaramiento obtenidas fueron: 23 µl/h para *B. rubens* cepa F filtrando

Chlamydomonas reinhardtii con un ESD de 6 μm ; 31 $\mu\text{l/h}$ para *B. calyciflorus* filtrando *Cyclotella meneghiniana* con un ESD de 8,5 μm (Rothhaupt, 1990b).

Mohr y Adrian (2000) estudiaron el comportamiento alimenticio a 20°C de *B. calyciflorus* (250-300 μm de diámetro oral) y *B. rubens* (200-250 μm de diámetro oral) exponiéndolos a dos tipos de ciliados con similar tamaño (entre 40-45 μm de largo y 10-15 μm de ancho), *Coleps* sp. y *Tetrahymena pyriformis*, pero con diferentes texturas superficiales del cuerpo; *Coleps* sp. presenta una superficie cubierta de placas calcáreas mientras que *T. pyriformis* tiene una textura corporal suave. Ambas especies de rotíferos fueron capaces de ingerir a *T. pyriformis* exhibiendo una tasa de aclaramiento máxima alrededor de 8-9 $\mu\text{l/h}$, sin embargo, *B. calyciflorus* fue el único que pudo retener a *Coleps* sp. presentando una tasa de aclaramiento máxima de 30 $\mu\text{l/h}$, lo que evidencia que la textura de las presas influencia el comportamiento de la tasa de filtración de los rotíferos (Mohr y Adrian, 2000).

Los rotíferos son capaces de regular su toma de alimento de acuerdo a la concentración de la presa (Mohr y Adrian, 2000; Fussman *et al.*, 2005). De manera general, a medida que incrementa la concentración de las partículas, la tasa de aclaramiento como la tasa de ingestión incrementan hasta alcanzar un punto de inflexión encima del cual la tasa de ingestión máxima se mantiene mientras que la tasa de aclaramiento disminuye de manera progresiva (Rothhaupt, 1990b). Este

modelo general fue demostrado para *B. plicatilis* (160-250 μm de diámetro oral) expuesto a un rango de concentraciones de *Nannochloropsis oculata* que variaron entre 0,1 y $40 \cdot 10^6$ células/ml y a una temperatura de 25°C , obteniendo una tasa máxima de aclaramiento de $4,5 \mu\text{l/h}$ para una concentración de entre 0,5 y $1,5 \cdot 10^6$ *N. oculata*/ml (Navarro, 1999). Sin embargo, el mismo estudio determinó que la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* sigue un patrón diferente, exhibiendo una disminución continua a lo largo del rango de concentraciones considerado, con un máximo de $4,5 \mu\text{l/h}$ para una concentración inicial de entre 0,1 y $0,2 \cdot 10^6$ *N. oculata*/ml (Navarro, 1999).

Finalmente, estos varios factores pueden interactuar al momento de determinar su efecto sobre la tasa de aclaramiento y la tasa de ingestión del zooplancton. Montagnes *et al.* (2001) investigaron el comportamiento de la tasa de ingestión de *B. plicatilis* (200 a 300 μm) para temperaturas que variaron entre 5 y 40°C y concentraciones de *Isochrysis galbana* (ESD = $4,5 \mu\text{m}$) entre 0 a 10^6 células/ml. La respuesta de la tasa de ingestión a estos dos parámetros se describió con un modelo que combinó una función hiperbólica rectangular para el efecto de la concentración del alimento y una función sigmoïdal para el efecto de la temperatura, encontrando una tasa máxima de ingestión en el orden de 35 células/min correspondiendo a una concentración de *I. galbana* de $4 \cdot 10^5$ células/ml y para una temperatura de 25°C (Montagnes *et al.*, 2001).

2.5. DESCRIPCIONES MATEMÁTICAS DE LAS TASAS DE ACLARAMIENTO

E INGESTIÓN DE LOS ROTÍFEROS:

La predicción desempeña un papel importante en los programas de investigación, principalmente en el establecimiento y la evaluación de teorías, donde es vista como una ayuda para construir conocimiento científico (Pace, 2001). La explicación de un patrón observado es referido como un modelo o teoría y consiste de una serie de relaciones (o formulas) que explican porque las observaciones están ocurriendo (Quinn y Keough, 2002). El principal objetivo de modelar la dinámica de poblaciones es perfeccionar el entendimiento del funcionamiento de las cadenas tróficas y nichos alimenticios, y sus dependencias de las condiciones internas y externas (Malchow *et al.*, 2001). La determinación de fuertes correlaciones positivas entre el zooplancton y la abundancia de peces generaron interés por la dinámica del plancton y el desarrollo de modelos matemáticos para poder entender estas relaciones y predecir la evolución de los stocks de peces y su correlación con factores biológicos, físicos y antropológicos (Malchow *et al.*, 2001).

La toma de recursos desde el medioambiente es un proceso vital para todos los organismos. Muchos estudios experimentales han revelado que la proporción a la cual estos procesos ocurren dependen fuertemente de la concentración del recurso, en una relación llamada “respuesta funcional” (Fussman *et al.*, 2005). Holling fue el primero en demostrar que la tasa de depredación del zooplancton incrementa a medida que incrementa la densidad de la presa, en un intento para maximizar la

energía capturada, y generalmente se describen tres tipos de respuestas: (1) respuesta rectilínea o modelo Holling tipo 1 donde la tasa de aclaramiento es máxima y constante para las concentraciones más bajas de la presa hasta un punto de inflexión donde empieza a bajar de manera logarítmica; (2) respuesta curvilínea o modelo Holling tipo 2 donde la tasa de aclaramiento disminuye de manera progresiva a lo largo del rango de concentraciones de la presa; (3) respuesta sigmoideal o modelo Holling tipo 3 donde la tasa de aclaramiento incrementa hasta alcanzar un punto de inflexión encima del cual disminuye de manera progresiva (Fig. 1; Rotthaupt, 1990a; Navarro, 1999; Mohr y Adrian, 2000). La principal diferencia entre los tres modelos se manifiesta a concentraciones muy bajas de la presa, resaltando la importancia de incluirlas en los estudios de estimación de la tasa de aclaramiento. Determinar el tipo de la respuesta funcional es importante para poder predecir la competición entre organismos, así como el impacto del pastoreo en condiciones naturales (Mohr y Adrian, 2000).

La tasa de aclaramiento de *B. plicatilis* se ajusta mejor al modelo sigmoideal, presentando un valor máximo de entre 4,4 y 5,3 $\mu\text{l/h}$ para concentraciones de entre 0,5 y 1,5 10^6 células/ml de *N. oculata* y a una temperatura de 25°C (Navarro, 1999). Sin embargo, el mismo estudio determinó que el mejor ajuste para *B. rotundiformis* se daba con el modelo curvilíneo, obteniendo una tasa de aclaramiento máxima de entre 3,8 y 5,5 $\mu\text{l/h}$ correspondiente a concentraciones iniciales de *N. oculata* de entre 0,1 y 0,2 10^6 células/ml (Navarro, 1999). Para ambas especies, la tasa de ingestión

incrementó a medida que incrementó la concentración del fitoplancton, alcanzando una tasa máxima alrededor de 60 células/min para la concentración máxima probada de $40 \cdot 10^6$ células/ml de *N. oculata* (Navarro, 1999). En el caso de *B. rubens* y *B. calyciflorus*, el tipo de respuesta es similar y varía con el tamaño de las partículas presas, obteniendo una respuesta rectilínea para partículas más pequeñas que el tamaño óptimo de $8 \mu\text{m}$ de ESD y una respuesta de tipo curvilíneo para partículas más grandes que el tamaño óptimo (Rothhaupt, 1990b).

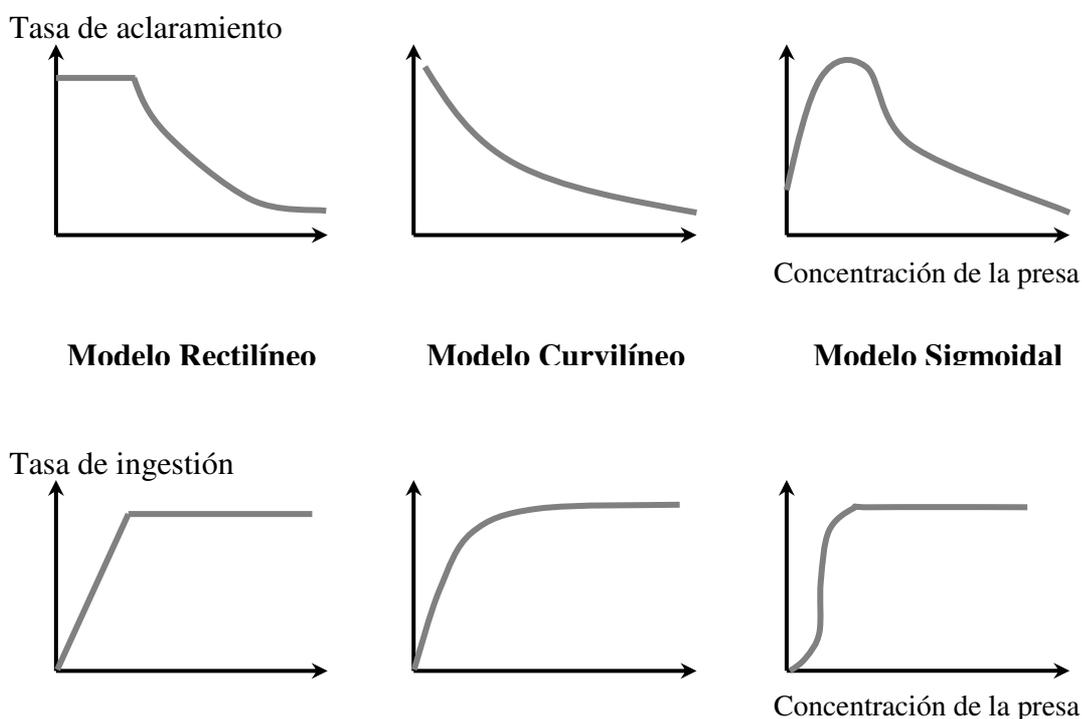


Figura 1: Representaciones esquemáticas de los tres tipos de respuestas funcionales: Modelo rectilíneo o Holling tipo 1; Modelo curvilíneo o Holling tipo 2; Modelo sigmoidal o Holling tipo 3 (Adaptado de Rothhaupt, 1990b).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ORGANISMOS UTILIZADOS:

3.1.1. Selección y aislamiento de los organismos:

Entre febrero y julio del 2007, se efectuaron seis muestreos en el estuario de Palmar para identificar las especies de fitoplancton y zooplancton presentes en la zona. Los muestreos se realizaron en tres estaciones: en la playa frente al manglar, en un canal de agua de mar justo antes de entrar en el manglar y en un canal de agua saliendo del manglar e influenciado por las mareas (Fig. 2). Se tomaron 50 ml de agua en cada estación para las muestras de fitoplancton que se fijaron de inmediato con 0,12 ml de Lugol. Las muestras de zooplancton fueron tomadas filtrando 8 L de agua a través de una malla de 40 μm , concentrando la muestra a un volumen de 25 ml y fijando con 25 ml de formaldehído al 10% (1:1 v:v). La determinación y el conteo del plancton se realizaron con la ayuda de una cámara de Sedgwick-Rafter y una retícula calibrada situada en el ocular de un microscopio de luz, a una magnificación de 100 X (zooplancton) o 200 X (fitoplancton) (APHA *et al.*, 1998).

En base a los resultados de estos muestreos, se decidió trabajar con los siguientes representantes de los cuatro grupos dominantes de fitoplancton: *Synechocystis* sp. (Cianobacteria), *Isochrysis* sp. (Prymnesiophyceae), *Tetraselmis* sp. (Chlorophyceae) y *Thalassiosira* sp. (Bacillariophyceae). Al nivel del zooplancton, se decidió trabajar con un representante del grupo de los rotíferos, *Brachionus rotundiformis*, cultivado

de manera rutinaria en el CENAIM.



Figura 2: Ubicación de las estaciones de muestro para plancton en el estuario de Palmar: (1) playa, (2) canal de entrada en el manglar, (3) canal de salida del manglar e influenciado para las mareas.

3.1.2. Cultivo de los organismos:

La cianobacteria, *Synechocystis* sp., se aisló desde una muestra de agua del estuario de Palmar, por el método de rayado en placas (Álvarez, 1994), por lo cual se prepararon cajas Petri con el medio de cultivo BG-11 (Tabla 1) solidificado con bacto agar al 1,5% y preparado con agua de mar autoclavada (salinidad de 35 g/l). Se colocaron dos gotas de la muestra natural en la periferia de la placa y se procedió con el asa de platino esterilizada a rayar en paralelo la muestra en el agar. Se incubaron las cajas a temperatura ambiente, con iluminación permanente. A los cinco días se

removió una colonia con un asa de platino y se la colocó en una placa porta objeto para observar bajo el microscopio que las unidades sean del tipo de fitoplancton deseado. Se repitió el procedimiento hasta obtener colonias puras con solamente *Synechocystis* sp., para luego transferirlas a tubos de ensayo esterilizados con medio BG-11 líquido, tapados con algodón y puestos en una gradilla con iluminación las 24 horas del día y a temperatura ambiente (24 – 28°C). Cada día se agitó manualmente los tubos para evitar la sedimentación de las células. Cada semana se escogió un tubo de ensayo que no presentó contaminación y con mayor concentración de células para ser diluido y transferido a cuatro nuevo tubos con medio fresco.

Tabla 1: Composición del medio BG-11 para el cultivo de *Synechocystis* sp.

Químicos principales	Cantidad	Mezcla A5 de metales trazas	Cantidad
NaNO ₃	1,5 g	H ₃ BO ₃	2,86 g
K ₂ HPO ₄ •3H ₂ O	0,04 g	MnCl ₂ •4H ₂ O	1,81 g
MgSO ₄ •7H ₂ O	0,075 g	ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,222 g
CaCl ₂ •2H ₂ O	0,036 g	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0,39 g
Ácido cítrico	0,006 g	CuSO ₄ •5H ₂ O	0,079 g
Citrato de amonio férrico	0,006 g	Co(NO ₃) ₂ •6H ₂ O	0,0494 g
EDTA (disodium SALT)	0,001 g	Agua destilada	1,0 l
NaCO ₃	0,02 g		
Mezcla A5 de metales trazas	1,0 ml	pH ajustado a 7,4	
Agua destilada	1,0 l		

Adaptado de Rippka *et al.* (1979)

En preparación para los bioensayos, los mejores tubos de ensayo con *Synechocystis* sp. se transfirieron a fiolas de 250 ml con 100 ml de medio de cultivo. Durante la fase exponencial de la curva de crecimiento del fitoplancton y una vez alcanzada suficiente biomasa, se transfirieron 250 ml del cultivo a botellas de 1 l con 750 ml de

medio de cultivo esterilizado, evitando que las células sedimentadas pasen al nuevo medio. Estos cultivos recibieron aire filtrado, fueron iluminados las 24 horas del día y mantenidos a temperatura ambiente (24 – 28°C). Siguiendo un mismo protocolo de preparación para cultivo masivo, los cultivos de *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp. fueron proporcionados por el Laboratorio de Fitoplancton del CENAIM, a partir de cultivos en el interior mantenidos a una temperatura de 24°C, en medio f/2 (Tabla 2) y con una salinidad de 35 g/l, después de tres días de inoculados para garantizar que se encontraban en la fase exponencial de su curva de crecimiento.

Tabla 2: Composición del medio f/2 para el cultivo de *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp., y *Thalassiosira* sp.

Químicos principales	Cantidad	Solución de metales trazas	Cantidad
NaNO ₃ (75 g/l)	1,0 ml	FeCl ₃ •6H ₂ O	3,15 g
NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O (5 g/l)	1,0 ml	Na ₂ EDTA•2H ₂ O	4,36 g
Na ₂ SiO ₃ •9H ₂ O (30 g/l)	1,0 ml	CuSO ₄ •5H ₂ O (9,8 g/l)	1,0 ml
Solución de metales trazas	1,0 ml	Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O (6,3 g/l)	1,0 ml
Solución de vitaminas	0,5 ml	ZnSO ₄ •7H ₂ O (22 g/l)	1,0 ml
Agua de mar filtrada	1,0 l	CoCl ₂ •6H ₂ O (10 g/l)	1,0 ml
		MnCl ₂ •4H ₂ O (180 g/l)	1,0 ml
		Agua destilada	1,0 L
		Solución de vitaminas	Cantidad
		Vitamina B ₁₂ (1 g/l)	1,0 ml
		Biotina (0,1 g/l)	10,0 ml
		Tiamina HCl	200,0 mg
		Agua destilada	1,0 l

Adaptado de Guillard (1975).

B. rotundiformis se cultivó en fiolas esterilizadas de 100 ml, con medio f/2 diluido al 25%, a una salinidad de 35 g/l y fue alimentado dos veces a la semana con

Tetraselmis sp. a una concentración final en el medio de cultivo de 500.000 células/ml. Los cultivos fueron mantenidos con un fotoperiodo de 12 horas de luz – 12 horas de oscuridad y a temperatura ambiente (24 – 28°C). Luego de una semana, los rotíferos fueron cosechados y transferidos a recipientes de 1 l con aireación suave. A la siguiente semana se transfirieron los rotíferos a un tanque de 50 l, manteniendo las condiciones iniciales del cultivo. Cuando el cultivo alcanzó la densidad requerida para los bioensayos, se cosecharon a los rotíferos y una alícuota de estos fue transferida como inóculo para los siguientes experimentos, a un tanque con medio y alimento frescos.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL:

3.2.1. Condiciones generales de los bioensayos:

En el Set Experimental #3 del CENAIM, se evaluaron la tasa de aclaramiento ($\mu\text{l/h/rotífero}$) y la tasa de ingestión ($\text{células/min/rotífero}$) de *B. rotundiformis*, a tres temperaturas (24, 28 y $32^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$), con cuatro tipos de fitoplancton (*Synechocystis* sp., *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp.) y para concentraciones teóricas iniciales del fitoplancton variando entre 25.000 y 5.000.000 células/ml. En total se efectuaron 111 bioensayos (Tabla 3), utilizando en cada uno 12 frascos de vidrio de 400 ml de capacidad; la mitad con rotíferos expuestos a la concentración deseada del fitoplancton y la otra mitad sin presencia del rotífero y sirviendo de control para el comportamiento del fitoplancton bajo las condiciones de los bioensayos (ambos tratamientos tuvieron seis réplicas). Cada frasco recibió aireación

a través de una punta para micropipeta, manteniendo un flujo de aire uniforme entre todos los recipientes conectados a una sola válvula de control. La aireación se mantuvo suave durante el transcurso de los experimentos para asegurar un sistema homogéneo en los frascos y evitar ocasionar mortalidad en los rotíferos. El tiempo de cada bioensayo se limitó al tiempo requerido para que se consuma alrededor del 70% de la concentración inicial del fitoplancton en los frascos con rotíferos, sin exceder de 24 h, para cada combinación de concentración, especie de fitoplancton y temperatura.

Tabla 3: Niveles de las variables ensayadas (Concentración teórica del fitoplancton, tipo de fitoplancton y temperatura).

Bioensayo	Tipo de fitoplancton											
	<i>Synechocystis</i> sp.			<i>Isochrysis</i> sp.			<i>Tetraselmis</i> sp.			<i>Thalassiosira</i> sp.		
	24°C	28°C	32°C	24°C	28°C	32°C	24°C	28°C	32°C	24°C	28°C	32°C
25.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
50.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
75.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
100.000/ml	X	X	X	2X*	2X*	2X*	2X*	2X*	2X*	2X*	2X*	2X*
250.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
500.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2.000.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
3.000.000/ml	X	X	X									
4.000.000/ml	X	X	X									
5.000.000/ml	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Cada cruz representa a un bioensayo.

*Para la concentración teórica de 100.000 células/ml, se realizaron dos bioensayos a cada temperatura para *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp.

Los 12 frascos de un mismo bioensayo se repartieron en una sola bandeja con agua para poder controlar la temperatura durante la prueba (Fig. 3). Para obtener la temperatura de 24°C se utilizó un flujo de agua fría proporcionado por un enfriador (Chiller). Las temperaturas de 28°C y 32°C se lograron con la ayuda de un

calentador de agua a gas que proporcionó un flujo de agua caliente, el mismo que se ajustó hasta obtener las temperaturas deseadas. Los flujos de agua fueron independientes y circulaban por un sistema cerrado a través de tres baños ubicados a la derecha e izquierda del laboratorio. Durante el transcurso de los bioensayos, se controló la temperatura del agua cada dos horas.

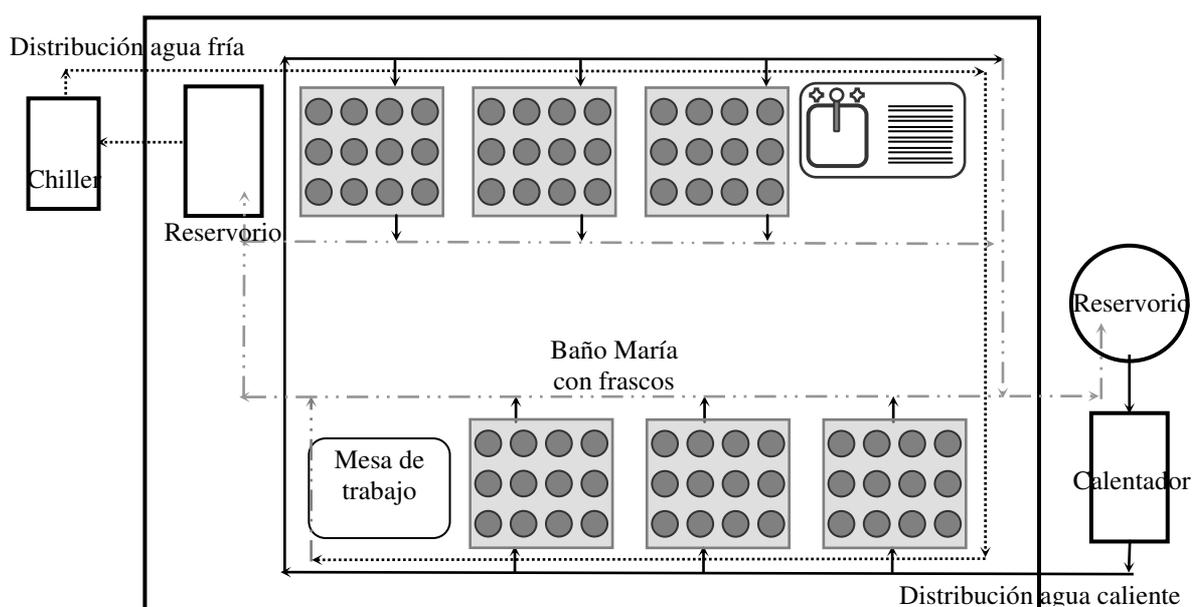


Figura 3: Representación esquemática del set experimental.

3.2.2. Aclimatación de los organismos previo a los bioensayos:

Todos los cultivos de fitoplancton, antes de su utilización en los bioensayos, fueron centrifugados, enjuagados y resuspendidos en un volumen menor de agua de mar filtrada, para aumentar su concentración y disminuir el exceso de nitratos proveniente del medio de cultivo que podría ocasionar un estrés químico sobre los rotíferos. En la

Tabla 4 se presentan las concentraciones de nitrato estimadas por reducción en una columna de cadmio y determinación por diazotización, para cada lote de cultivo de fitoplancton ensayado (APHA *et al.*, 1998). Los cultivos de fitoplancton una vez resuspendidos fueron trasladados al set experimental, donde fueron mantenidos 24 horas a temperatura ambiente, con luz continua y aireación suave para evitar su sedimentación.

Tabla 4: Concentraciones de nitrato (mg N/l) en la muestra de fitoplancton para cada bioensayo y presentadas por tipo y concentración de fitoplancton.

	<i>Synechocystis</i> sp.	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Tetraselmis</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.
25.000/ml	0,032	0,055	0,316	0,105
50.000/ml	0,168	0,053	0,137	0,102
75.000/ml	0,107	0,169	0,085	0,092
100.000/ml	0,046	0,160 – MP*	0,180 – 2,210	0,063 – 0,189
250.000/ml	0,039	3,304	0,032	0,152
500.000/ml	0,080	0,851	1,720	0,120
2.000.000/ml	0,071	0,028	0,160	0,134
3.000.000/ml	0,027	-	-	-
4.000.000/ml	0,026	-	-	-
5.000.000/ml	0,077	0,047	0,040	0,170

*MP = Muestra perdida.

Los rotíferos fueron aclimatados a las condiciones del set experimental durante cuatro días, manteniéndolos en un tanque de 50 l, con luz continua, y alimentados una vez al inicio con *Tetraselmis* sp. a una concentración final en el tanque de 500.000 células/ml. La alimentación de los rotíferos durante este periodo fue siempre con *Tetraselmis* sp., independientemente del tipo de fitoplancton con el cual se iba a estimar la tasa de filtración. Antes de la realización del bioensayo, los rotíferos fueron cosechados con malla de 60 μ m, enjuagados con abundante agua de mar

filtrada, y transferidos a vasos de precipitados de vidrio (2 l de capacidad) colocados en las bandejas de agua a las temperaturas deseadas (24, 28 y 32°C ± 1°C). Durante las siguientes 12 horas de aclimatación, los rotíferos fueron alimentados con el tipo y la concentración del fitoplancton con los cuales se llevará a cabo el bioensayo. Al final de este periodo, los rotíferos fueron enjuagados con agua de mar filtrada y a la misma temperatura a la que fueron aclimatados y se estimó su concentración tomando una muestra de 5 ml fijada con 0,03 ml de Lugol, por conteo con la ayuda de una cámara de Sedgewick-Rafter y un microscopio de luz. En base a esta concentración, se colocó un volumen adecuado del cultivo de rotíferos para lograr una concentración aproximada de 50 rotíferos/ml en los frascos que contenían 300 ml del cultivo del fitoplancton a la concentración deseada para el bioensayo.

3.3. ESTIMACIÓN DE LAS TASAS DE ACLARAMIENTO E DE INGESTIÓN:

De cada uno de los 12 frascos (seis con rotíferos y seis control), se tomaron 10 ml de agua al inicio y de nuevo al final del bioensayo, que fueron fijados inmediatamente con 0,06 ml de Lugol. Se estimó la concentración del fitoplancton y de los rotíferos en cada muestra con la ayuda de una cámara de Sedgewick-Rafter y una retícula calibrada situada en el ocular de un microscopio de luz, a una magnificación de 100 X para los rotíferos y de 200 X para el fitoplancton (APHA *et al.*, 1998). Las concentraciones iniciales reales del fitoplancton se presentan en la Tabla 5, mientras que las concentraciones iniciales de *B. rotundiformis* se presentan en la Tabla 6.

Tabla 5: Concentraciones iniciales (promedio \pm desviación estándar de 36 replicas) del fitoplancton para cada tipo y concentración ensayados (expresadas en 10^3 células/ml).

Bioensayo	<i>Synechocystis</i> sp.	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Tetraselmis</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.
25.000/ml	30 \pm 4	28 \pm 3	24 \pm 3	26 \pm 3
50.000/ml	48 \pm 8	47 \pm 4	46 \pm 5	50 \pm 14
75.000/ml	66 \pm 10	82 \pm 12	80 \pm 8	79 \pm 9
100.000/ml	93 \pm 14	106 \pm 16	96 \pm 9	104 \pm 10
100.000/ml		102 \pm 8	102 \pm 19	106 \pm 8
250.000/ml	226 \pm 35	232 \pm 11	243 \pm 21	267 \pm 25
500.000/ml	474 \pm 41	466 \pm 40	500 \pm 28	526 \pm 36
2.000.000/ml	1.927 \pm 235	1.732 \pm 125	1.971 \pm 117	2.215 \pm 175
3.000.000/ml	3.570 \pm 504			
4.000.000/ml	4.965 \pm 902			
5.000.000/ml	6.693 \pm 1.004	5.159 \pm 318	5.056 \pm 312	5.274 \pm 376

Tabla 6: Concentraciones iniciales (promedio \pm desviación estándar de las seis replicas) de *B. rotundiformis* para cada bioensayo (expresadas en rotíferos/ml).

Bioensayo	<i>Synechocystis</i> sp.			<i>Isochrysis</i> sp.		
	24°C	28°C	32°C	24°C	28°C	32°C
25.000/ml	49 \pm 8	56 \pm 6	47 \pm 7	28 \pm 4	30 \pm 7	15 \pm 3
50.000/ml	68 \pm 8	75 \pm 5	37 \pm 12	25 \pm 5	20 \pm 3	39 \pm 8
75.000/ml	54 \pm 14	103 \pm 18	58 \pm 11	156 \pm 16	135 \pm 11	147 \pm 23
100.000/ml	29 \pm 6	34 \pm 3	38 \pm 5	135 \pm 38	158 \pm 13	185 \pm 24
100.000/ml				56 \pm 6	48 \pm 5	71 \pm 12
250.000/ml	39 \pm 3	40 \pm 4	25 \pm 6	42 \pm 14	54 \pm 7	61 \pm 21
500.000/ml	52 \pm 9	53 \pm 13	54 \pm 11	85*	89*	68*
2.000.000/ml	48 \pm 8	53 \pm 5	28 \pm 5	65*	74*	112*
3.000.000/ml	50 \pm 4	63 \pm 25	61 \pm 7			
4.000.000/ml	61 \pm 8	49 \pm 9	53 \pm 23			
5.000.000/ml	47 \pm 10	42 \pm 7	60 \pm 9	69*	32*	32*
Bioensayo	<i>Tetraselmis</i> sp.			<i>Thalassiosira</i> sp.		
	24°C	28°C	32°C	24°C	28°C	32°C
25.000/ml	86 \pm 15	68 \pm 10	58 \pm 7	50 \pm 6	46 \pm 7	44 \pm 7
50.000/ml	42 \pm 4	50 \pm 8	77 \pm 6	35 \pm 3	43 \pm 6	43 \pm 6
75.000/ml	43 \pm 7	50 \pm 6	37 \pm 9	72 \pm 8	82 \pm 9	81 \pm 6
100.000/ml	50 \pm 10	39 \pm 10	52 \pm 2	69 \pm 11	77 \pm 13	92 \pm 11
100.000/ml	48 \pm 8	50 \pm 7	97 \pm 20	78 \pm 8	131 \pm 25	85 \pm 14
250.000/ml	25 \pm 8	56 \pm 16	58 \pm 15	85 \pm 11	123 \pm 20	119 \pm 21
500.000/ml	91 \pm 18	64 \pm 19	94 \pm 17	28 \pm 9	32 \pm 5	32 \pm 10
2.000.000/ml	76 \pm 14	47 \pm 11	59 \pm 23	75 \pm 17	85 \pm 14	42 \pm 15
5.000.000/ml	13 \pm 9	24 \pm 11	29 \pm 10	79 \pm 30	128 \pm 17	81 \pm 10

*Se efectuó un solo conteo.

Debido a que las tasas de aclaramiento e ingestión de los rotíferos están influenciadas por el diámetro oral de los rotíferos y el tamaño de las partículas ingeridas (Rothhaupt, 1990a), ambas medidas fueron estimadas sobre una muestra tomada al azar al inicio de cada bioensayo. En el caso de los rotíferos, se midió el diámetro oral de 20 rotíferos (10 al inicio y 10 al final) para cada bioensayo realizado con *Synechocystis* sp. y para los cuatro bioensayos realizados con las concentraciones más bajas en el caso de los tres otros tipos de fitoplancton (Tabla 7). Las mediciones se realizaron con la ayuda de una cuadrícula calibrada adaptada al ocular del microscopio y a una magnificación de 200 X. El diámetro oral promedio fue de $86,8 \pm 12,4 \mu\text{m}$ con un coeficiente de variación del 14%.

Tabla 7: Promedio \pm desviación estándar del diámetro (n = 60) oral de *B. rotundiformis* (expresado en μm).

Bioensayo	<i>Synechocystis</i> sp.	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Tetraselmis</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.
25.000/ml	$83,4 \pm 11,3$	$88,3 \pm 11,4$	$90,8 \pm 13,0$	$77,3 \pm 13,8$
50.000/ml	$78,5 \pm 11,3$	$90,6 \pm 12,2$	$90,1 \pm 12,2$	$78,8 \pm 9,1$
75.000/ml	$81,5 \pm 13,2$	$88,5 \pm 12,2$	$87,4 \pm 8,3$	$91,2 \pm 10,0$
100.000/ml	$84,6 \pm 10,8$	$91,9 \pm 12,7$	$89,9 \pm 7,4$	$92,1 \pm 9,0$
250.000/ml	$85,3 \pm 11,7$	-	-	-
500.000/ml	$83,8 \pm 12,3$	-	-	-
2.000.000/ml	$87,2 \pm 11,9$	-	-	-
3.000.000/ml	$92,7 \pm 13,0$	-	-	-
4.000.000/ml	$93,4 \pm 12,4$	-	-	-
5.000.000/ml	$83,4 \pm 11,3$	-	-	-

El tamaño referencial del fitoplancton se expresa mediante el diámetro esférico equivalente o ESD para sus siglas en Inglés (Hansen *et al.*, 1994). El ESD se estimó dividiendo el volumen del fitoplancton por un factor 0,523 y elevando el resultado a

la potencia 0,33, lo que permite convertir partículas que no tienen una forma esférica a una geometría equivalente a una esfera, facilitando la comparación entre fitoplancton de diferente formas (Hansen *et al.*, 1997). Los volúmenes de cada tipo de fitoplancton fueron estimados en base a las siguientes ecuaciones:

$$\textit{Synechocystis sp.} - \text{Volumen de un cilindro} = \Pi \times \left(\frac{\text{Diámetro}}{2} \right)^2 \times \text{Alto};$$

$$\textit{Isochrysis sp.} - \text{Volumen de una esfera} = \Pi \times \left(\frac{\text{Diámetro}}{3} \right)^3;$$

$$\textit{Tetraselmis sp.} - \text{Volumen de un cilindro elipse} = \frac{\Pi \times \text{Largo} \times (\text{Diámetro})^2}{6};$$

$$\textit{Thalassiosira sp.} - \text{Volumen de un cubo} = (\text{Ancho})^3.$$

Las mediciones se realizaron sobre una muestra tomada al azar en uno de los seis frascos control al inicio del bioensayo, con la ayuda de una cuadrícula calibrada adaptada al ocular del microscopio y a una magnificación de 400 X. Un resumen de los valores promedios encontrados en cada lote de fitoplancton se presenta en las Tablas 8 y 9. Un análisis estadístico (Kruskal-Wallis para datos no paramétricos) identificó a cinco lotes en base al ESD ($p < 0,01$), separando en un grupo a la mayoría de los lotes de *Synechocystis sp.* e *Isochrysis sp.*, en otro grupo a todos los lotes de *Tetraselmis sp.* y *Thalassiosira sp.*, y en tres grupos los lotes restantes (Tabla 9).

Tabla 8: Promedio \pm desviación estándar del volumen de cada lote de fitoplancton utilizado (expresado en μm^3).

Volumen (μm^3)	<i>Synechocystis</i> sp.	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Tetraselmis</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.
25.000/ml	9,4 \pm 0,0	38,3 \pm 17,3	473,8 \pm 185,5	395,8 \pm 190,6
50.000/ml	9,7 \pm 1,0	44,1 \pm 23,0	426,3 \pm 149,1	386,8 \pm 171,4
75.000/ml	9,5 \pm 0,6	59,7 \pm 29,6	442,5 \pm 132,7	384,3 \pm 231,5
100.000/ml	9,4 \pm 1,2	51,5 \pm 29,4	447,6 \pm 192,5	393,9 \pm 216,1
100.000/ml	-	40,4 \pm 18,4	292,7 \pm 115,9	322,0 \pm 174,7
250.000/ml	9,7 \pm 1,0	50,9 \pm 19,5	365,0 \pm 122,3	322,0 \pm 174,7
500.000/ml	9,5 \pm 1,0	59,2 \pm 21,4	317,3 \pm 127,1	333,5 \pm 170,5
2.000.000/ml	9,8 \pm 1,1	42,3 \pm 17,8	344,2 \pm 114,6	325,7 \pm 188,6
3.000.000/ml	9,0 \pm 1,6	-	-	-
4.000.000/ml	9,4 \pm 0,8	-	-	-
5.000.000/ml	9,8 \pm 1,4	39,7 \pm 18,7	292,7 \pm 115,9	343,9 \pm 196,3

Tabla 9: Promedio \pm desviación estándar del ESD para cada lote de fitoplancton utilizado (expresado en μm).

ESD (μm)	<i>Synechocystis</i> sp.	<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Tetraselmis</i> sp.	<i>Thalassiosira</i> sp.
25.000/ml	2,6 \pm 0,0 ^{ab}	4,0 \pm 0,6 ^{ab}	9,3 \pm 1,1 ^d	8,7 \pm 1,4 ^d
50.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,2 \pm 0,7 ^{ab}	9,0 \pm 1,0 ^d	8,7 \pm 1,3 ^d
75.000/ml	2,6 \pm 0,0 ^{ab}	4,6 \pm 0,8 ^b	9,2 \pm 0,9 ^d	8,5 \pm 1,6 ^d
100.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,4 \pm 0,8 ^{ab}	9,1 \pm 1,3 ^d	8,6 \pm 1,5 ^d
100.000/ml	-	4,1 \pm 0,6 ^{ab}	7,9 \pm 1,0 ^d	8,1 \pm 1,4 ^d
250.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,5 \pm 0,6 ^{ab}	8,6 \pm 1,0 ^d	8,1 \pm 1,4 ^d
500.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,7 \pm 0,6 ^c	8,1 \pm 1,1 ^d	8,2 \pm 1,4 ^d
2.000.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,2 \pm 0,6 ^{ab}	8,4 \pm 1,0 ^d	8,1 \pm 1,5 ^d
3.000.000/ml	2,5 \pm 0,2 ^a	-	-	-
4.000.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	-	-	-
5.000.000/ml	2,6 \pm 0,1 ^{ab}	4,1 \pm 0,6 ^{ab}	7,9 \pm 1,0 ^d	8,2 \pm 1,5 ^d

Promedios con diferentes letras son significativamente diferentes (Kruskal-Wallis para datos no paramétricos).

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y DESCRIPCIÓN MATEMÁTICA DE LA TASA DE ACLARAMIENTO:

Se evaluó por medio de una análisis de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos, las diferencias entre estaciones de muestreos de los promedios obtenidos para cada grupo de fitoplancton y zooplancton identificado.

Los efectos principales de la temperatura, concentración inicial del fitoplancton y tipo de fitoplancton sobre las tasas generales de aclaramiento e ingestión fueron explorados a través de una análisis de varianza (ANOVA de una vía) o su equivalente para datos no paramétricos (Análisis de Kruskal-Wallis) en caso de no cumplir con el requisito de homogeneidad de varianza. Después de esta exploración inicial de los datos, se evaluaron por separado el efecto de la temperatura y el efecto de la concentración inicial del fitoplancton dentro de cada tipo de fitoplancton ensayado, sobre las tasas de aclaramiento e ingestión, a través de una análisis de varianza (ANOVA de una vía) o su equivalente para datos no paramétricos (Análisis de Kruskal-Wallis) en caso de no cumplir con el requisito de homogeneidad de varianza. En el caso del efecto de la temperatura se trabajó con tres niveles: 24, 28 y 32°C. En el caso de la concentración inicial del fitoplancton se trabajó con siete niveles de acuerdo a los valores reales estimados: <50.000 células/ml, entre 50.000 y 75.000 células/ml, entre 75.000 y 100.000 células/ml, entre 100.000 y 300.000 células/ml, entre 300.000 y 600.000 células/ml, entre 600.000 y 3.000.000 células/ml, y >3.000.000 células/ml. Finalmente, para el efecto principal “tipo de fitoplancton” se

trabajó con cuatro niveles, cada uno representando un tipo de fitoplancton ensayado.

Para poder determinar el tipo de respuesta funcional que mejor se ajustaba a la evolución de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* en relación con la concentración inicial del fitoplancton, para cada combinación de tipo del fitoplancton y temperatura evaluada, se procedió a graficar los datos y evaluar a varios escenarios. En un primer escenario se transformó a todos los datos en base a \log_{10} y se estimó la ecuación de regresión lineal, lo que permitía verificar el ajuste de acuerdo al modelo curvilíneo. Los siguientes escenarios permitieron verificar el ajuste de acuerdo a los modelos rectilíneo y sigmoideal, estimando la ecuación de regresión lineal sobre un rango de datos no transformados y combinando con el resto de los datos transformados en base a \log_{10} y estimación de una segunda ecuación de regresión lineal. Se probó el escenario sobre varios rangos iniciales de datos no transformados (de 0 a 30.000 células/ml, de 0 a 60.000 células/ml, de 0 a 90.000 células/ml, de 0 a 300.000 células/ml, de 0 a 600.000 células/ml, de 0 a 3.000.000 células/ml, y de 0 a 4.000.000 células/ml). La diferencia entre el modelo rectilíneo y el modelo sigmoideal se estimó por medio de la pendiente de la primera regresión calculada. La comparación entre escenarios para estimar el mejor ajuste de las ecuaciones de predicción se evaluó a través del cálculo de tres parámetros estadísticos:

- (1) El coeficiente de determinación (r^2) o coeficiente de correlación de Pearson que varía entre 0,0 (baja predicción) y 1,0 (buena predicción):

$$r^2 = \left(\frac{\sum_{i=1}^N (O_i - O_{\text{prom}}) (P_i - P_{\text{prom}})}{\left(\sqrt{\sum_{i=1}^N (O_i - O_{\text{prom}})^2} \right) \left(\sqrt{\sum_{i=1}^N (P_i - P_{\text{prom}})^2} \right)} \right)^2$$

- (2) El coeficiente de eficiencia (E) desarrollado por Nash y Sutcliffe (1970) que varía entre menos infinito (baja predicción) y 1,0 (buena predicción):

$$E = \frac{\left(\sum_{i=1}^N (O_i - O_{\text{prom}})^2 - \left(\sum_{i=1}^N (O_i - P_i)^2 \right) \right)}{\left(\sum_{i=1}^N (O_i - O_{\text{prom}})^2 \right)}$$

- (3) El índice de ajuste (d) desarrollado por Willmott (1981) que varía entre menos infinito (baja predicción) y 1,0 (buena predicción):

$$d = \frac{\left(\sum_{i=1}^N (|P_i - O_{\text{prom}}| + |O_i - O_{\text{prom}}|)^2 - \left(\sum_{i=1}^N (O_i - P_i)^2 \right) \right)}{\left(\sum_{i=1}^N (|P_i - O_{\text{prom}}| + |O_i - O_{\text{prom}}|)^2 \right)}$$

Donde:

O_i y P_i es el valor observado o predicho por la regresión seleccionada;

O_{prom} y P_{prom} es el valor promedio observado o predicho para el rango de datos evaluados.

La combinación de los mejores resultados para los tres parámetros estadísticos dio el mejor ajuste para el modelo considerado.

4. RESULTADOS

4.1. EL PLANCTON DEL ESTUARIO DE PALMAR:

Las muestras de fitoplancton analizadas fueron dominadas por la presencia de cianobacterias, con conteos fluctuando entre 11.480 y 429.486 células/ml y representando en promedio el 98,2% de los conteos (Tabla 10). Las cianobacterias coccoidales de pequeño tamaño fueron las más abundantes, incluyendo al género *Synechocystis* que por sí sólo representó entre 76 y 100% de los conteos totales de fitoplancton. Se notó una tendencia hacia un incremento de estos representantes en las muestras tomadas desde el canal saliendo del manglar, en comparación con las muestras provenientes del mar o del canal de entrada en el manglar ($p=0,28$). El otro género representativo de las cianobacterias fue *Oscillatoria* con conteos que fluctuaron entre 1.556 y 20.748 filamentos/ml.

El segundo grupo en importancia dentro de las muestras de fitoplancton fueron las diatomeas, con conteos que fluctuaron entre 389 y 3.420 células/ml, equivalente en promedio a 1,3% de los conteos (Tabla 10). Las diatomeas fueron representadas en proporciones iguales por las Centrales y las Pennales, no presentaron diferencias entre estaciones de muestreo ($p=0,95$) y se destaca la presencia de los géneros *Amphipora*, *Navicula*, *Nitzschia* y *Thalassiosira*. El tercer grupo en importancia fueron los dinoflagelados representados por los géneros *Dinophysis* (una muestra proveniente del canal de entrada en el manglar) y *Prorocentrum* (en las tres

estaciones de muestreo). Adicionalmente, se encontró en una muestra proveniente del mar el género *Tetraselmis*, representante de los Flagelados.

Tabla 10: Promedio \pm desviación estándar de los conteos de fitoplancton encontrado en el estuario de Palmar entre febrero y julio del 2007 (expresado en individuos/ml).

Grupo	Mar	Entrada Manglar	Salida Manglar	p
Cianobacterias				
<i>Oscillatoria</i>	6.916 \pm 14.155	1.556 \pm 1.626	9.932 \pm 15.176	0,37
<i>Synechocystis</i>	74.966 \pm 81.267	88.450 \pm 103.800	266.070 \pm 403.018	0,28
Otras coccoidales	1.728 \pm 2.044	4.010 \pm 8.724	1.696 \pm 3.208	0,70
Diatomeas Centrales				
<i>Thalassiosira</i>	160 \pm 392	490 \pm 692	65 \pm 159	0,07
Otras	247 \pm 285	1.723 \pm 128	1.814 \pm 0	0,06
Diatomeas Pennales				
<i>Amphypora</i>	-	54 \pm 133	-	0,37
<i>Navicula</i>	-	510 \pm 0	566 \pm 802	0,09
<i>Nitzschia</i>	494 \pm 1.095	1.234 \pm 821	1.710 \pm 3.239	0,35
Otras	340 \pm 833	968 \pm 913	491 \pm 844	0,19
Dinoflagelados				
<i>Dinophysis</i>	-	59 \pm 133	-	0,37
<i>Prorocentrum</i>	1.287 \pm 2.186	-	454 \pm 1.111	0,30
Otros				
<i>Tetraselmis</i>	340 \pm 833	-	-	0,37
TOTAL	87.718 \pm 95.052	97.097 \pm 111.134	281.109 \pm 427.791	

Promedios en una misma línea con diferentes letras son significativamente diferentes

El zooplancton fue representado por Ostracodos (62% de los conteos), Copépodos (20%), Tintinados (13%), Nemátodos (4%) y Rotíferos (0,5%) (Tabla 11). Se encontró un solo género de Ostracodo, sin poder encontrar diferencias significativas entre estaciones de muestreo a pesar de los conteos más altos en las muestras provenientes del canal de entrada en el manglar ($p=0,52$). Los Tintinados fueron representados por siete géneros, dominados por *Eutintinnus*, *Favella*, *Rabdonella* y

Tintinnopsis. El género *Eutintinnus* fue presente en concentración más alta en las muestras provenientes del mar en comparación con las muestras provenientes del canal de entrada en el manglar ($p=0,03$). El género *Calanoides* dominó los conteos de Copépodos sin presentar diferencias entre las estaciones de muestreo ($p=0,69$). Al nivel de los rotíferos, se encontró *B. plicatilis* en dos muestras y *B. rotundiformis* en una muestra proveniente del canal de entrada en el manglar.

Tabla 11: Promedio \pm Desviación estándar de los conteos de zooplancton encontrado en el estuario de Palmar entre febrero y julio del 2007 (expresado en individuos/l).

Grupo	Mar	Entrada Manglar	Salida Manglar	p
Ostracodos				
<i>Cipridina</i>	1.000 \pm 1.265	60.000 \pm 85.489	1.833 \pm 4.021	0,52
Tintinados				
<i>Eutintinnus</i>	7.833 \pm 11.720 ^b	- ^a	667 \pm 1.633 ^{ab}	0,03
<i>Favella</i>	333 \pm 816	500 \pm 837	333 \pm 516	0,85
<i>Ptychocylis</i>	-	167 \pm 468	-	0,37
<i>Rabdonella</i>	333 \pm 816	1.167 \pm 1.602	333 \pm 516	0,44
<i>Rabdonellopsis</i>	167 \pm 408	-	-	0,37
<i>Tintinnopsis</i>	167 \pm 408	333 \pm 816	833 \pm 1.329	0,62
<i>Tintinnus</i>	-	333 \pm 816	167 \pm 408	0,59
Copépodos				
<i>Calanoides</i>	4.500 \pm 6.473	7.667 \pm 6.802	7.333 \pm 6.088	0,69
<i>Evadne</i>	-	-	1.167 \pm 2.858	0,37
Nemátodos	1.667 \pm 4.082	1.333 \pm 2.338	1.333 \pm 1.211	0,41
Rotíferos				
<i>B. plicatilis</i>	167 \pm 408	-	167 \pm 408	0,59
<i>B. rotundiformis</i>	-	167 \pm 408	-	0,37
Otros				
<i>Zoea Brachyuran</i>	-	167 \pm 468	-	0,37
TOTAL	25.000 \pm 27.408	74.333 \pm 89.480	16.500 \pm 11.962	

Promedios en una misma línea con diferentes letras son significativamente diferentes

4.2. TASA DE ACLARAMIENTO Y TASA DE INGESTIÓN DE *B. rotundiformis*:

4.2.1. Efectos de la temperatura, de la concentración inicial del fitoplancton y del tipo de fitoplancton:

La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* fluctuó entre 0.1 $\mu\text{l/h}$ (dos muestras de 25.000 células/ml a 24°C y una a 28°C de *Isochrysis* sp., tres muestras a 24°C y tres muestras a 28°C de 2.000.000 células/ml de *Tetraselmis* sp., y una muestra de 5.000.000 células/ml de *Thalassiosira* sp. a 24°C) y 24.8 $\mu\text{l/h}$ (una muestra de *Thalassiosira* sp. a 32°C y para una concentración inicial de 100.000 células/ml). La tasa de ingestión fluctuó entre 0 células/min (dos muestras de 25.000 células/ml a 28°C, una muestra de 75.000 células/ml a 24°C y dos muestras de 75.000 células/ml a 28°C de *Synechocystis* sp.) y 287 células/min (una muestra de *Synechocystis* sp. a 32°C y para una concentración inicial de 4.000.000 células/ml).

Independientemente del tipo de fitoplancton o de su concentración, la tasa de aclaramiento y la tasa de ingestión promedio fueron más altas a 32°C y más bajas a 24°C, con valores intermedios a 28°C (Tabla 12). El efecto de la concentración inicial del fitoplancton, independientemente de la temperatura o del tipo de fitoplancton, fue opuesto para la tasa de aclaramiento y para la tasa de ingestión (Tabla 13). Las tasas de aclaramiento más altas fueron alcanzadas con las concentraciones más bajas de fitoplancton (entre 25.000 y 300.000 células/ml), mientras que las tasas de ingestión más altas corresponden a concentraciones iniciales de fitoplancton mayores a 3.000.000 células/ml. Finalmente, al nivel del tipo de

fitoplancton, las mayores tasas de aclaramiento promedio fueron alcanzadas con *Isochrysis* sp. y *Thalassiosira* sp. (Tabla 14). Sin embargo, los promedios más altos para la tasa de ingestión fueron alcanzados con *Synechocystis* sp., *Isochrysis* sp., y *Thalassiosira* sp.

Tabla 12: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por tipo de fitoplancton o concentración inicial.

	24°C	28°C	32°C	p	n
TA ($\mu\text{l/h/rotífero}$)	5,1 \pm 5,0 ^a	6,0 \pm 5,9 ^{ab}	7,3 \pm 6,9 ^b	<0,001	663
TI (células/min/rotífero)	20 \pm 33 ^a	22 \pm 37 ^{ab}	28 \pm 47 ^b	0,012	663

Promedios en una misma línea con diferentes letras son significativamente diferentes

Tabla 13: Promedios (\pm desviaciones estándares) por concentración inicial del fitoplancton de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por tipo de fitoplancton o temperatura.

	TA ($\mu\text{l/h/rotífero}$)	TI (células/min/rotífero)
0 – 50.000 células/ml	10,1 \pm 5,7 ^c	4 \pm 2 ^a
50.000 – 75.000 células/ml	7,6 \pm 6,5 ^c	5 \pm 5 ^{ab}
75.000 – 100.000 células/ml	8,4 \pm 7,2 ^c	8 \pm 7 ^b
100.000 – 300.000 células/ml	7,9 \pm 5,8 ^c	14 \pm 12 ^c
300.000 – 600.000 células/ml	2,9 \pm 1,7 ^b	15 \pm 8 ^c
600.000 – 3.000.000 células/ml	2,0 \pm 2,7 ^a	44 \pm 58 ^c
>3.000.000 células/ml	1,3 \pm 1,2 ^a	72 \pm 61 ^d
p	<0,001	<0,001
n	663	663

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tabla 14: Promedios (\pm desviaciones estándares) por tipo de fitoplancton de las tasas de aclaramiento (TA) e ingestión (TI), sin diferenciar por temperatura o concentración inicial del fitoplancton.

	TA ($\mu\text{l/h/rotífero}$)	TI (células/min/rotífero)
<i>Synechocystis</i> sp.	$2,7 \pm 1,6^a$	52 ± 67^b
<i>Isochrysis</i> sp.	$7,6 \pm 5,2^b$	14 ± 8^b
<i>Tetraselmis</i> sp.	$5,5 \pm 6,6^a$	9 ± 8^a
<i>Thalassiosira</i> sp.	$9,2 \pm 7,1^b$	14 ± 7^b
p	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>
n	663	663

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes.

4.2.2. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con *Synechocystis* sp.:

La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Synechocystis* sp. fluctuó entre 0,3 $\mu\text{l/h}$ (5.795.918 células/ml a 24°C) y 11,3 $\mu\text{l/h}$ (1.877.551 células/ml a 32°C), mientras que la tasa de ingestión se encontró entre 0 célula/min (22.284, 28.022 y 56.599 células/ml a 24°C, y 51.020, 54.966 y 59.475 células/ml a 28°C) y 287 células/min (5.591.837 células/ml a 32°C). Independientemente de la concentración inicial, no hubo efecto de la temperatura sobre ambas tasas (Tablas 15 y 16). Sin embargo, analizando los datos separadamente en cada rango de concentraciones iniciales considerado, ambas tasas tienden a ser más altas a 32°C en comparación con 24°C. El efecto de la concentración inicial de *Synechocystis* sp. fue muy marcado sobre la tasa de aclaramiento, así como sobre la tasa de ingestión ($p < 0,001$ en todos los casos). Las tasas de aclaramiento más altas corresponden a concentraciones iniciales de entre 300.000 y 3.000.000 de células/ml (Tabla 15), mientras que las tasas de ingestión más altas fueron asociadas con concentraciones

iniciales de entre 300.000 y 8.571.429 células/ml (Tabla 16).

Tabla 15: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con *Synechocystis* sp.

Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
22.283 – 45.805	2,2 \pm 0,5 ^{ab-***} (n=10)	1,9 \pm 0,4 ^{ab-*} (n=11)	3,2 \pm 1,1 ^{ac-***} (n=12)	0,002	2,5 \pm 0,9 ^{ab} (n=33)
51.020 – 74.212	1,8 \pm 0,9 ^{ab} (n=9)	1,1 \pm 0,6 ^a (n=7)	1,9 \pm 0,3 ^b (n=6)	0,090	1,6 \pm 0,7 ^a (n=22)
75.695 – 93.424	1,7 \pm 0,3 ^{ab-*} (n=4)	2,2 \pm 0,5 ^{abc-*} (n=5)	3,3 \pm 0,7 ^{ac-***} (n=6)	0,001	2,5 \pm 0,8 ^{ab} (n=15)
102.041 – 230.612	1,6 \pm 0,6 ^{a-*} (n=7)	1,9 \pm 0,5 ^{ab-***} (n=7)	2,6 \pm 0,9 ^{ab-***} (n=6)	0,027	2,0 \pm 0,7 ^a (n=20)
394.557 – 517.007	2,7 \pm 0,7 ^{ab-*} (n=6)	3,2 \pm 0,8 ^{c-*,**} (n=6)	4,2 \pm 0,7 ^{c-***} (n=6)	0,008	3,4 \pm 1,0 ^{bc} (n=18)
1.523.810 – 2.367.347	4,2 \pm 1,9 ^{b-*} (n=7)	5,9 \pm 0,8 ^{d-*} (n=5)	8,6 \pm 2,0 ^{d-***} (n=6)	0,003	6,1 \pm 2,3 ^c (n=18)
3.091.837 – 8.571.429	2,3 \pm 0,8 ^{ab} (n=17)	2,5 \pm 0,7 ^{bc} (n=18)	2,8 \pm 0,6 ^{ab} (n=18)	0,068	2,3 \pm 0,7 ^a (n=53)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	2,2 \pm 1,3 (n=60)	2,4 \pm 1,0 (n=59)	3,5 \pm 2,0 (n=60)	0,103	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

Tabla 16: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con *Synechocystis* sp.

Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
22.283 – 45.805	1 \pm 0 ^{a-***} (n=10)	1 \pm 0 ^{a-*} (n=11)	1 \pm 1 ^{a-***} (n=12)	0,028	1 \pm 1 ^a (n=33)
51.020 – 74.212	1 \pm 1 ^a (n=9)	1 \pm 0 ^a (n=3)	1 \pm 0 ^a (n=6)	0,064	1 \pm 1 ^a (n=22)
75.695 – 93.424	2 \pm 0 ^{ab-*} (n=4)	2 \pm 1 ^{b-***} (n=5)	3 \pm 1 ^{c-***} (n=6)	0,014	2 \pm 1 ^{ab} (n=15)
102.041 – 230.612	3 \pm 1 ^{b-*} (n=7)	4 \pm 1 ^{b-*} (n=7)	7 \pm 2 ^{d-***} (n=6)	0,003	4 \pm 2 ^b (n=20)
394.557 – 517.007	14 \pm 4 ^d (n=6)	16 \pm 4 ^d (n=6)	19 \pm 3 ^e (n=6)	0,074	16 \pm 4 ^{bc} (n=18)
1.523.810 – 2.367.347	101 \pm 45 ^{c-*} (n=7)	116 \pm 22 ^{c-*} (n=5)	184 \pm 46 ^{b-***} (n=6)	0,007	130 \pm 56 ^{cd} (n=18)
3.091.837 – 8.571.429	88 \pm 54 ^{c-*} (n=17)	145 \pm 45 ^{c-*} (n=18)	152 \pm 24 ^{b-*} (n=18)	0,040	123 \pm 46 ^d (n=53)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	43 \pm 55 (n=60)	50 \pm 62 (n=59)	64 \pm 79 (n=60)	0,276	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

Para las tres temperaturas ensayadas, la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Synechocystis* sp. se ajustó mejor a un modelo sigmoideal (Fig. 4a, 4b y 4c). La tasa de aclaramiento incrementó a medida que se incrementó la concentración inicial del fitoplancton, hasta alcanzar un valor máximo para una concentración de $\pm 3.000.000$ células/ml, y después disminuir de manera logarítmica (Tabla 17). Los coeficientes de ajuste fueron mejores para 28 y 32°C, obteniendo en estos casos valores superiores a 0,700.

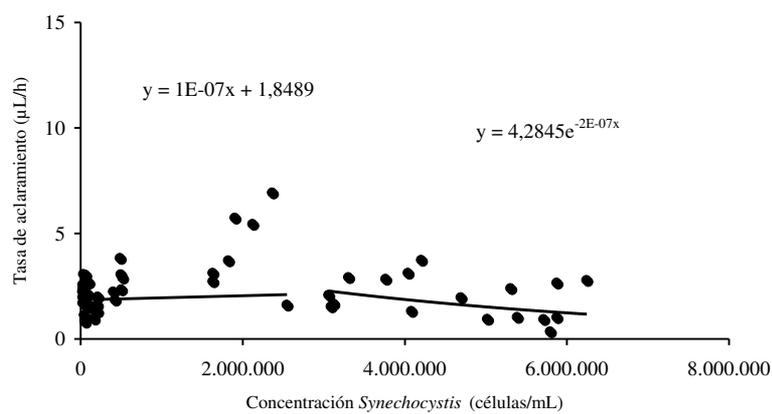
Tabla 17: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los ocho escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con *Synechocystis* sp. a 24, 28 y 32°C.

Rango de concentraciones	Ecuaciones	Coeficientes		
		r^2	Eficiencia	Ajuste
24°C				
Todos los datos	$y = 2,0816 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$	0,014	0,014	0,168
0 – 30.000	$y = -0,3798 + 1 \cdot 10^{-4} x$	0,040	0,040	0,233
>30.000	$y = 2,0716 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 60.000	$y = 2,958 - 2 \cdot 10^{-5} x$	0,153	0,153	0,512
>60.000	$y = 2,3046 e^{-5 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 90.000	$y = 2,3578 - 7 \cdot 10^{-6} x$	0,051	0,051	0,278
>90.000	$y = 2,5026 e^{-7 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 300.000	$y = 2,1812 - 4 \cdot 10^{-6} x$	0,132	0,132	0,452
>300.000	$y = 3,7239 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 600.000	$y = 1,8014 + 1 \cdot 10^{-6} x$	0,134	0,134	0,476
>600.000	$y = 5,9416 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 3.000.000	$y = 1,8489 + 1 \cdot 10^{-6} x$	0,437	0,437	0,775
>3.000.000	$y = 4,524 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 4.000.000	$y = 2,0474 + 4 \cdot 10^{-7} x$	0,142	0,142	0,473
>4.000.000	$y = 7,6524 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			
28°C				
Todos los datos	$y = 2,0436 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$	0,021	0,021	0,159
0 – 30.000	$y = 0,3887 + 5 \cdot 10^{-5} x$	No se puede calcular	- 0,089	0,226
>30.000	$y = 2,0907 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 60.000	$y = 2,5807 - 2 \cdot 10^{-5} x$	0,148	0,090	0,522
>60.000	$y = 2,5078 e^{-9 \cdot 10^{-9} x}$			
0 – 90.000	$y = 1,8333 - 3 \cdot 10^{-6} x$	0,022	- 0,034	0,218
>90.000	$y = 2,8761 e^{-5 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 300.000	$y = 1,6598 + 1 \cdot 10^{-6} x$	0,058	0,012	0,261
>300.000	$y = 4,121 e^{-1 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 600.000	$y = 2,2243 + 2 \cdot 10^{-7} x$	0,079	0,076	0,320
>600.000	$y = 2,8425 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			

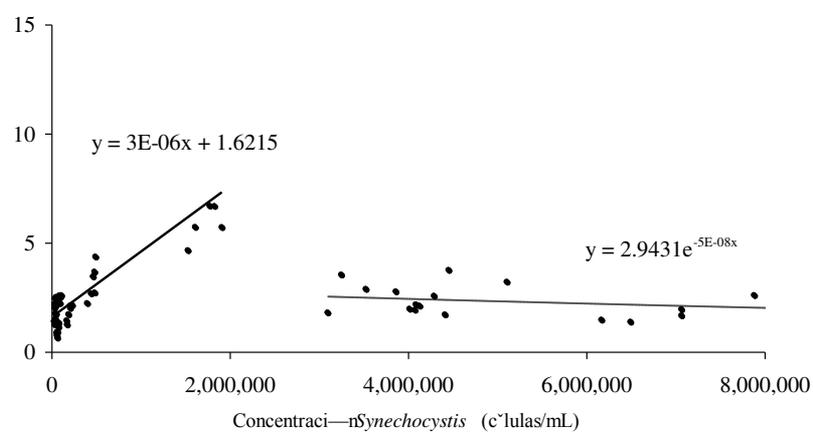
Tabla 17 (continuación)

Rango de concentraciones	Ecuaciones	Coeficientes		
		r^2	Eficiencia	Ajuste
0 – 3.000.000	$y = 1,6215 + 3 \cdot 10^{-6} x$	<u>0,828</u>	<u>0,823</u>	<u>0,950</u>
>3.000.000	$y = 2,9431 e^{-5 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 4.000.000	$y = 2,0164 + 9 \cdot 10^{-7} x$	0,253	0,249	0,592
>4.000.000	$y = 2,5651 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$			
32°C				
Todos los datos	$y = 3,2404 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$	0,016	0,016	0,152
0 – 30.000	$y = -18,127 + 7 \cdot 10^{-4} x$	0,385	0,385	0,726
>30.000	$y = 3,3869 e^{-2 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 60.000	$y = 4,0025 - 3 \cdot 10^{-5} x$	0,078	0,078	0,346
>60.000	$y = 3,7618 e^{-5 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 90.000	$y = 2,8259 + 9 \cdot 10^{-7} x$	0,011	0,011	0,074
>90.000	$y = 4,3072 e^{-9 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 300.000	$y = 2,8865 - 7 \cdot 10^{-7} x$	0,023	0,023	0,133
>300.000	$y = 5,8911 e^{-1 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 600.000	$y = 2,6114 + 3 \cdot 10^{-6} x$	0,202	0,202	0,579
>600.000	$y = 8,4275 e^{-2 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 3.000.000	$y = 2,6089 + 3 \cdot 10^{-6} x$	<u>0,765</u>	<u>0,709</u>	<u>0,915</u>
>3.000.000	$y = 3,5917 e^{-7 \cdot 10^{-8} x}$			
0 – 4.000.000	$y = 3,3194 + 5 \cdot 10^{-7} x$	0,070	0,070	0,325
>4.000.000	$y = 4,8742 e^{-1 \cdot 10^{-7} x}$			

(a)



(b)



(c)

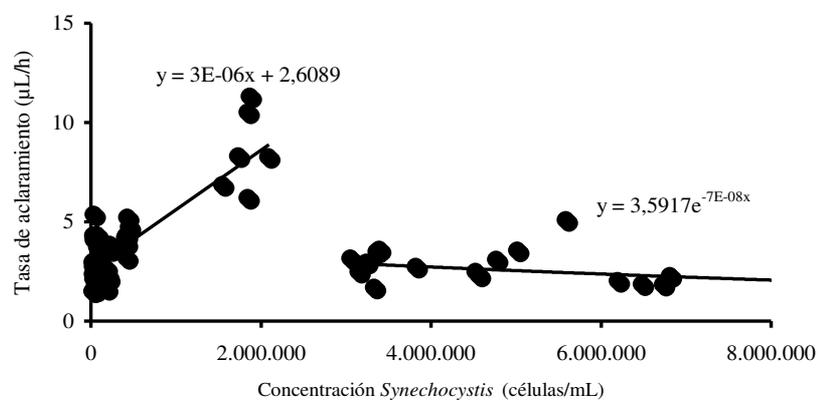


Figura 4: Respuesta de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* a la concentración de *Synechocystis* sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).

4.2.3. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con *Isochrysis* sp.:

La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Isochrysis* sp. fluctuó entre 0,1 $\mu\text{l/h}$ (4.653.061 y 4.748.299 células/ml a 24°C y 4.598.639 células/ml a 28°C) y 21,6 $\mu\text{l/h}$ (89.796 células/ml a 28°C), mientras que la tasa de ingestión se encontró entre 2 células/min (23.324, 27.296 y 30.029 células/ml a 24°C, y 26,020 células/ml a 28°C) y 41 células/min (1.937.415 células/ml a 32°C). Independientemente de la concentración inicial, se observó un efecto general de la temperatura solamente sobre la tasa de ingestión promedio, con valores más altos a 28 y 32°C (Tabla 19). Analizando los datos separadamente en cada rango de concentraciones iniciales considerado, el efecto de la temperatura se manifestó solamente para las concentraciones iniciales mayores a 300.000 células/ml (Tablas 18 y 19), obteniendo tasas de aclaramiento y de ingestión más altas a 32°C. El efecto de la concentración inicial de *Isochrysis* sp. fue muy marcado sobre la tasa de aclaramiento, así como sobre la tasa de ingestión ($p < 0,001$ en todos los casos). Las tasas de aclaramiento más altas corresponden a las concentraciones iniciales menores a 300.000 células/ml, mientras que las tasas de ingestión más altas fueron asociadas con concentraciones iniciales de entre 419.048 y 5.537.415 células/ml (Tabla 19).

Tabla 18: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con *Isochrysis* sp.

Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
23.324 – 49.887	9,3 \pm 1,9 ^c (n=11)	11,4 \pm 3,7 ^c (n=11)	10,7 \pm 1,8 ^c (n=11)	0,205	10,5 \pm 2,7 ^c (n=33)
51.381 – 74.954	10,2 \pm 2,9 ^{bc} (n=3)	13,6 \pm 2,2 ^c (n=3)	12,4 ^{abc} (n=1)	0,358	12,0 \pm 2,7 ^c (n=7)
75.510 – 99.773	9,2 \pm 3,6 ^c (n=9)	12,5 \pm 6,6 ^c (n=9)	12,1 \pm 4,2 ^c (n=12)	0,292	11,4 \pm 5,0 ^c (n=30)
100.680 – 246.939	7,6 \pm 4,8 ^{bc} (n=13)	9,7 \pm 3,6 ^{bc} (n=13)	9,9 \pm 3,4 ^{bc} (n=12)	0,279	9,0 \pm 4,0 ^{bc} (n=38)
419.048 – 514.286	4,2 \pm 0,5 ^{abc-*} (n=6)	5,2 \pm 0,3 ^{abc-*} (n=6)	6,1 \pm 0,4 ^{abc-**} (n=6)	<u><0,001</u>	5,2 \pm 0,9 ^{ab} (n=18)
1.559.184 – 2.087.075	0,5 \pm 0,1 ^{a-*} (n=6)	1,1 \pm 0,1 ^{ab-**} (n=6)	1,4 \pm 0,3 ^{b-**} (n=6)	<u>0,001</u>	1,0 \pm 0,4 ^a (n=18)
4.598.639 – 5.537.415	0,2 \pm 0,1 ^{a-*} (n=6)	0,3 \pm 0,1 ^{a-*} (n=6)	0,4 \pm 0,1 ^{a-**} (n=6)	<u>0,001</u>	0,3 \pm 0,1 ^a (n=18)
p	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>	<u><0,001</u>		<u><0,001</u>
Promedio por temperatura	6,4 \pm 4,6 (n=54)	8,2 \pm 5,8 (n=54)	8,2 \pm 5,0 (n=54)	0,103	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

Para las tres temperaturas ensayadas, la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Isochrysis* sp. se ajustó mejor a un modelo curvilíneo, presentando una disminución de tipo logarítmico a lo largo del rango considerado para las concentraciones del fitoplancton (Fig. 5a, 5b y 5c). Los coeficientes de ajuste fueron semejantes para las tres temperaturas ensayadas, obteniendo valores mayores a 0,810 en todos los casos (Tabla 20).

Tabla 19: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas para *Isochrysis* sp.

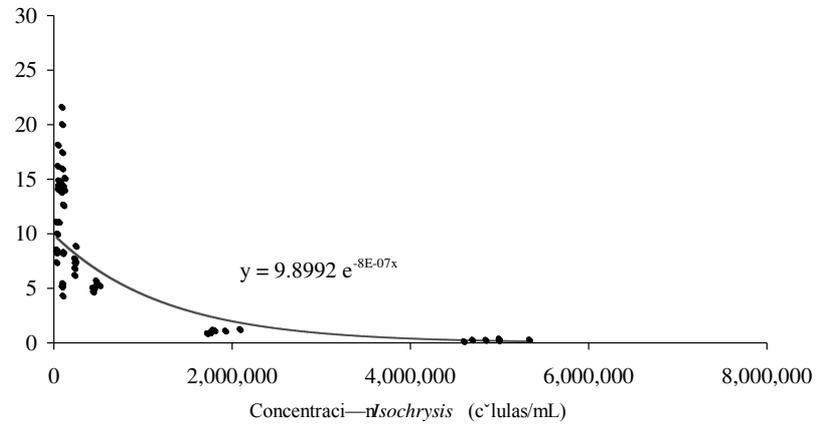
Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
23.324 – 49.887	4 \pm 2 ^b (n=11)	5 \pm 3 ^a (n=11)	4 \pm 1 ^a (n=11)	0,682	4 \pm 2 ^a (n=33)
51.381 – 74.954	8 \pm 2 ^{ab} (n=3)	9 \pm 2 ^{ab} (n=3)	7 \pm 0 ^{abc} (n=1)	0,495	8 \pm 2 ^{ab} (n=7)
75.510 – 99.773	8 \pm 2 ^a (n=9)	12 \pm 6 ^b (n=9)	11 \pm 4 ^{ab} (n=12)	0,194	11 \pm 4 ^b (n=30)
100.680 – 246.939	12 \pm 5 ^a (n=13)	15 \pm 4 ^b (n=13)	15 \pm 7 ^{bc} (n=12)	0,162	14 \pm 6 ^{bc} (n=38)
419.048 – 514.286	22 \pm 3 ^{c*} (n=6)	25 \pm 3 ^{d*} (n=6)	31 \pm 2 ^{c**} (n=6)	<0,001	26 \pm 4 ^d (n=18)
1.559.184 – 2.087.075	11 \pm 3 ^{a*} (n=6)	23 \pm 4 ^{cd**} (n=6)	31 \pm 7 ^{c***} (n=6)	<0,001	21 \pm 10 ^{cd} (n=18)
4.598.639 – 5.537.415	14 \pm 4 ^{ac*} (n=6)	17 \pm 5 ^{bc***} (n=6)	23 \pm 4 ^{bc**} (n=6)	0,007	18 \pm 6 ^{bcd} (n=18)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	11 \pm 6 ^a (n=54)	15 \pm 8 ^b (n=54)	16 \pm 10 ^b (n=54)	0,011	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

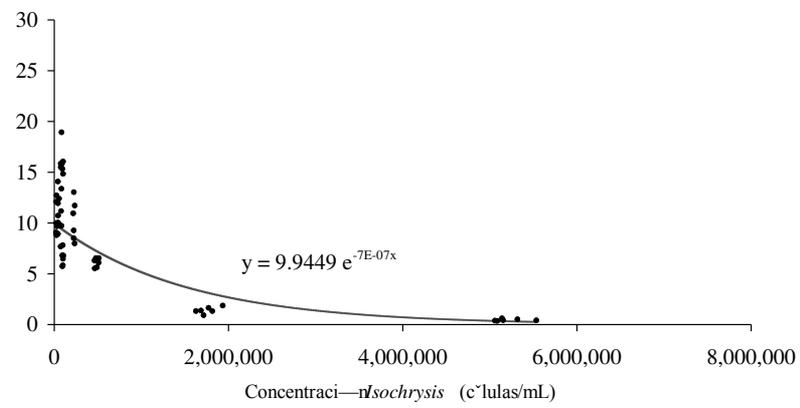
Tabla 20: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con *Isochrysis* sp. a 24, 28 y 32°C.

Rango de concentraciones	Ecuaciones	Coeficientes		
		r^2	Eficiencia	Ajuste
24°C				
Todos los datos	$y = 7,3841 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$	0,814	0,814	0,946
0 – 30.000	$y = 0,8652 - 4 \cdot 10^{-7} x$	0,482	0,374	0,778
>30,000	$y = 7,3316 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60,000	$y = 0,7789 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,829	0,027	0,785
>60,000	$y = 6,5569 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90,000	$y = 0,7452 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,173	0,173	0,532
>90,000	$y = 5,5616 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$			
28°C				
Todos los datos	$y = 9,8992 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$	0,871	0,872	0,964
0 – 30.000	$y = 0,9891 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,692	0,543	0,870
>30.000	$y = 9,7499 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,9538 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,488	0,573	0,820
>60.000	$y = 9,2555 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90.000	$y = 0,9342 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,081	-2,347	0,463
>90.000	$y = 8,5941 e^{-8 \cdot 10^{-7} x}$			
32°C				
Todos los datos	$y = 9,9449 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,865	0,866	0,963
0 – 30.000	$y = 0,9913 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,486	0,287	0,772
>30.000	$y = 9,8017 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,9775 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,302	0,302	0,674
>60.000	$y = 9,4798 e^{-6 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90.000	$y = 0,9292 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,199	0,199	0,580
>90.000	$y = 8,4957 e^{-6 \cdot 10^{-7} x}$			

(a)



(b)



(c)

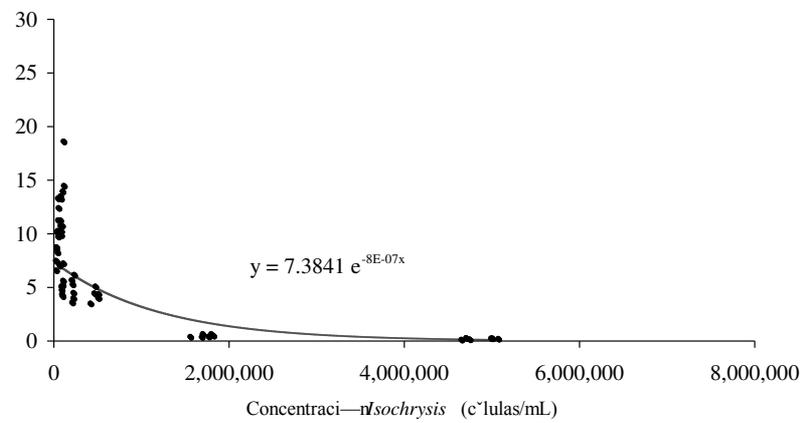


Figura 5: Respuesta de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* a la concentración de *Isochrysis* sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).

4.2.4. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con *Tetraselmis* sp.:

La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Tetraselmis* sp. fluctuó entre 0,1 μ l/h (1.858.503, 1.953.741 y 2.062.585 células/ml a 24°C y 1.828.571, 1.934.694 y 1.980.952 células/ml a 28°C) y 24,3 μ l/h (21.141 células/ml a 32°C), mientras que la tasa de ingestión se encontró entre 1 célula/min (71.429, 82.375, 82.449, 92.517 y 104.082 células/ml a 24°C, y 63.422 y 85.714 células/ml a 28°C) y 68 células/min (5.197.279 células/ml a 24°C). Independientemente de la concentración inicial, se observó un efecto general de la temperatura solamente sobre la tasa de ingestión promedio, con valores más altos a 24°C (Tabla 22). Sin embargo, analizando los datos separadamente en cada rango de concentraciones iniciales considerado, el efecto de la temperatura se manifestó de manera aleatoria (Tablas 21 y 22), obteniendo generalmente tasas de aclaramiento y tasas de ingestión más altas a 28 y 32°C. El efecto de la concentración inicial de *Tetraselmis* sp. fue muy marcado sobre la tasa de aclaramiento, así como sobre la tasa de ingestión ($p < 0,001$ en todos los casos). Las tasas de aclaramiento más altas corresponden a las concentraciones iniciales menores a 75.000 células/ml (Tabla 21), mientras que las tasas de ingestión más altas fueron asociadas con concentraciones iniciales mayores a 1.814.966 células/ml (Tabla 22).

Tabla 21: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con *Tetraselmis* sp.

Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
20.110 – 48.499	12,9 \pm 2,2 ^c *	15,8 \pm 3,5 ^c ***	17,7 \pm 4,2 ^a **	0,007	15,5 \pm 3,9 ^d (n=35)
54.966 – 74.954	5,4 \pm 5,8 ^{abc} (n=3)	1,9 \pm 0,6 ^{ab} (n=3)	6,5 \pm 6,8 ^{ab} (n=3)	0,557	4,6 \pm 4,9 ^{bcd} (n=9)
76.438 – 98.866	2,1 \pm 0,6 ^{bc*} (n=11)	2,8 \pm 1,5 ^{a**} (n=12)	4,9 \pm 2,6 ^{a**} (n=13)	0,004	3,3 \pm 2,2 ^c (n=36)
101.587 – 275.510	6,1 \pm 6,5 ^{bc} (n=11)	3,2 \pm 1,2 ^a (n=9)	6,9 \pm 10,4 ^{ab} (n=7)	0,903	5,3 \pm 6,7 ^c (n=27)
435.374 – 549.660	0,5 \pm 0,2 ^{ab*} (n=6)	1,1 \pm 0,2 ^{b**} (n=6)	1,4 \pm 0,2 ^{ab***} (n=6)	<0,001	1,0 \pm 0,4 ^{ab} (n=18)
1.814.966 – 2.146.939	0,2 \pm 0,1 ^{a*} (n=6)	0,2 \pm 0,1 ^{c*} (n=6)	1,1 \pm 0,6 ^{b**} (n=6)	0,003	0,5 \pm 0,6 ^a (n=18)
4.816.327 – 5.755.102	0,5 \pm 0,2 ^{ab} (n=6)	0,4 \pm 0,2 ^d (n=6)	0,4 \pm 0,1 ^b (n=6)	0,288	0,4 \pm 0,2 ^a (n=18)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	4,7 \pm 6,0 (n=54)	5,0 \pm 6,2 (n=54)	6,8 \pm 7,7 (n=53)	0,110	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

Para las tres temperaturas ensayadas, el mejor ajuste de la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Tetraselmis* sp. se presentó para una combinación de dos curvas con un valor de corte alrededor de 90.000 células/ml para 24 y 32°C y alrededor de 30.000 células/ml para 28°C (Tabla 23). Sin embargo, una evaluación minuciosa de las pendientes encontró que presentaban un valor negativo, indicando que el ajuste de la curva a los datos observados tenía una tendencia a disminuir a medida que la concentración inicial del fitoplancton

incrementaba para estos rangos. Par tal razón se definió que la respuesta funcional seguía un modelo curvilíneo, presentando una disminución logarítmica a lo largo del rango considerado para las concentraciones del fitoplancton (Fig. 6a, 6b y 6c). En este caso, los coeficientes de ajuste fueron mejores para 32°C, obteniendo valores bajos para 24°C.

Tabla 22: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con *Tetraselmis* sp.

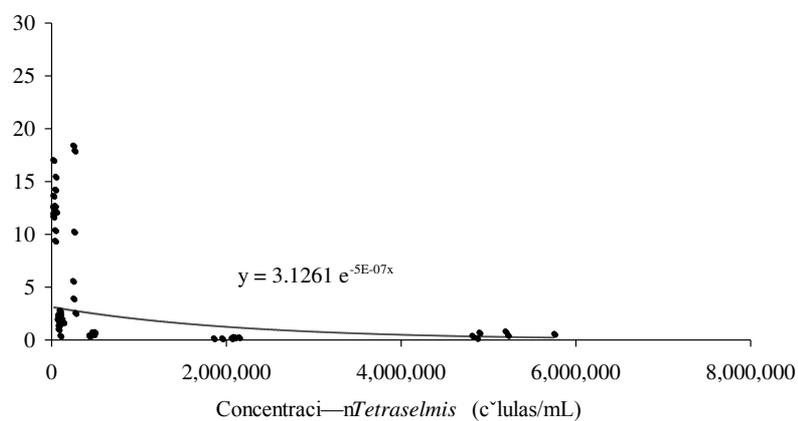
Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
20.110 – 48.499	5 \pm 2 ^{bc} (n=11)	6 \pm 3 ^{ab} (n=12)	6 \pm 1 ^a (n=12)	0,151	5 \pm 2 ^{bc} (n=35)
54.966 – 74.954	3 \pm 3 ^{ab} (n=3) ^a	2 \pm 1 ^a (n=3)	4 \pm 4 ^{ab} (n=3)	0,539	3 \pm 3 ^{ab} (n=9)
76.438 – 98.866	2 \pm 1 ^{a*} (n=11)	3 \pm 1 ^{a***} (n=12)	5 \pm 3 ^{a***} (n=13)	0,002	3 \pm 2 ^a (n=36)
101.587 – 275.510	16 \pm 2 ^{abc} (n=11)	7 \pm 2 ^b (n=9)	14 \pm 21 ^{ab} (n=7)	0,785	12 \pm 16 ^c (n=27)
435.374 – 549.660	3 \pm 1 ^{ab*} (n=6)	6 \pm 1 ^{ab**} (n=6)	8 \pm 1 ^{ab**} (n=6)	<0,001	6 \pm 2 ^{abc} (n=18)
1.814.966 – 2.146.939	6 \pm 2 ^{bc*} (n=6)	5 \pm 2 ^{ab*} (n=6)	21 \pm 9 ^{b**} (n=6)	0,003	11 \pm 9 ^{cd} (n=18)
4.816.327 – 5.755.102	43 \pm 20 ^c (n=6)	29 \pm 13 ^b (n=6)	23 \pm 7 ^b (n=6)	0,069	31 \pm 16 ^d (n=18)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	11 \pm 16 ^b (n=54)	8 \pm 9 ^{ab} (n=54)	10 \pm 10 ^a (n=53)	0,006	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

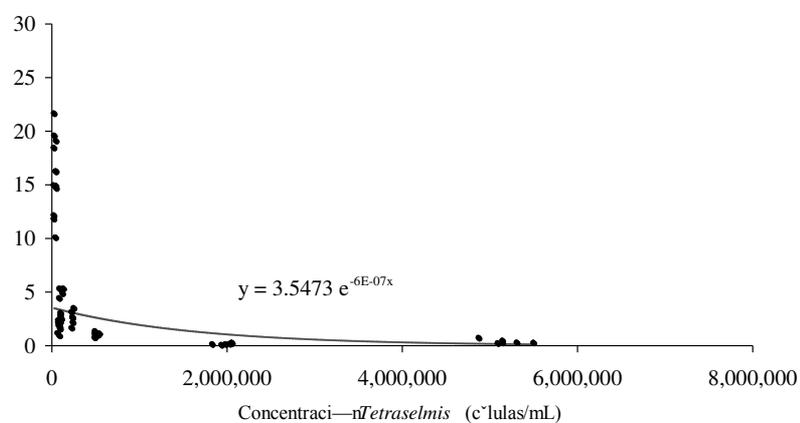
Tabla 23: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con *Tetraselmis* sp. a 24, 28 y 32°C.

Rango de concentraciones	Ecuaciones	Coeficientes		
		r^2	Eficiencia	Ajuste
24°C				
Todos los datos	$y = 3,1261 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$	0,283	0,313	0,644
0 – 30.000	$y = 0,376 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,194	0,211	0,569
>30.000	$y = 2,3768 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,2301 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,082	0,061	0,319
>60.000	$y = 1,6982 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90.000	$y = 0,2184 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,754	0,772	0,930
>90.000	$y = 1,652 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
28°C				
Todos los datos	$y = 3,5473 e^{-6 \cdot 10^{-7} x}$	0,439	0,439	0,765
0 – 30.000	$y = 0,4373 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,511	0,507	0,811
>30.000	$y = 2,7372 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,2769 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,041	0,021	0,219
>60.000	$y = 1,0678 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90.000	$y = 0,255 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,326	0,334	0,687
>90.000	$y = 1,7989 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
32°C				
Todos los datos	$y = 5,7148 e^{-6 \cdot 10^{-7} x}$	0,559	0,559	0,842
0 – 30.000	$y = 0,6532 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,192	0,092	0,552
>30.000	$y = 4,5478 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,5533 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,583	0,594	0,855
>60.000	$y = 3,567 e^{-5 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 90.000	$y = 0,4507 - 2 \cdot 10^{-7} x$	0,639	0,628	0,875
>90.000	$y = 2,8229 e^{-4 \cdot 10^{-7} x}$			

(a)



(b)



(c)

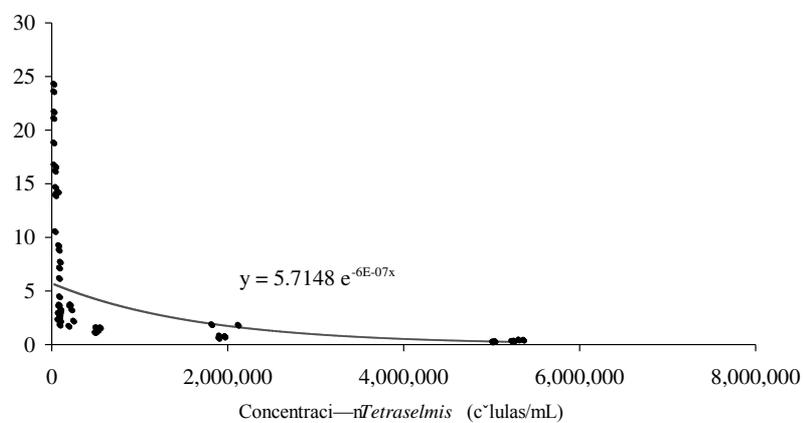


Figura 6: Respuesta de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* a la concentración de *Tetraselmis* sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).

4.2.5. Tasa de aclaramiento y tasa de ingestión estimadas con *Thalassiosira* sp.:

La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Thalassiosira* sp. fluctuó entre 0,1 $\mu\text{l/h}$ (5.278.912 células/ml a 24°C) y 32,1 $\mu\text{l/h}$ (93.424 células/ml a 32°C), mientras que la tasa de ingestión se encontró entre 2 células/min (22.284, 25.727 y 27.913 células/ml a 24°C, y 23.129 células/ml a 32°C) y 43 células/min (288.435 células/ml a 32°C). Independientemente de la concentración inicial, hubo una tendencia a obtener tasas de aclaramiento y de ingestión más altas a medida que incrementaba la temperatura, sin encontrar una diferencia estadística marcada (Tablas 24 y 25). Sin embargo, analizando los datos separadamente en cada rango de concentraciones iniciales considerado, el efecto de la temperatura se manifestó para las concentraciones más altas, obteniendo generalmente tasas de aclaramiento y tasas de ingestión más altas a 32°C en comparación con 24°C y tasas intermedias a 28°C. Se nota dos excepciones: una tasa de aclaramiento mayor a 28°C para una concentración inicial menor a 50.000 células/ml (Tabla 24) y una tasa de ingestión mayor a 28°C para una concentración inicial mayor a 3.000.000 células/ml (Tabla 25). El efecto de la concentración inicial de *Thalassiosira* sp. fue muy marcado sobre la tasa de aclaramiento, así como sobre la tasa de ingestión ($p < 0,001$ en todos los casos). Las tasas de aclaramiento más altas corresponden a las concentraciones iniciales menores a 300.000 células/ml, mientras que las tasas de ingestión más altas fueron asociadas con concentraciones iniciales entre 75.000 y 600.000 células/ml y para concentraciones mayores a 4.653.061 células/ml.

Tabla 24: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de aclaramiento estimadas con *Thalassiosira* sp.

Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
20.816 – 48.980	9,3 \pm 3,0 ^{a*} (n=8)	13,6 \pm 2,5 ^{a***} (n=12)	12,5 \pm 2,6 ^{a***} (n=9)	0,007	12,1 \pm 3,2 ^b (n=29)
51.020 – 74.212	14,7 \pm 2,2 ^a (n=6)	13,4 \pm 2,7 ^a (n=6)	16,3 \pm 2,2 ^{ab} (n=6)	0,166	14,6 \pm 2,6 ^b (n=18)
76.438 – 98.866	13,1 \pm 2,0 ^a (n=5)	14,1 \pm 6,1 ^a (n=5)	21,1 \pm 7,4 ^b (n=10)	0,085	17,3 \pm 7,0 ^b (n=20)
101.587 – 293.878	9,9 \pm 2,6 ^{a*} (n=16)	10,9 \pm 4,5 ^{a*} (n=13)	14,5 \pm 5,2 ^{ab***} (n=11)	0,020	11,5 \pm 4,4 ^b (n=40)
436.735 – 574.150	1,5 \pm 0,3 ^{c*} (n=6)	2,3 \pm 0,5 ^{c***} (n=6)	2,7 \pm 1,0 ^{e***} (n=6)	0,016	2,2 \pm 0,8 ^a (n=18)
1.795.918 – 2.448.980	0,4 \pm 0,1 ^{b*} (n=6)	0,5 \pm 0,1 ^{b***} (n=6)	0,7 \pm 0,1 ^{d***} (n=6)	<0,001	1,0 \pm 0,2 ^a (n=18)
4.653.061 – 5.578.231	0,3 \pm 0,1 ^{b*} (n=6)	0,4 \pm 0,0 ^{b***} (n=6)	0,3 \pm 0,1 ^{c*} (n=6)	0,011	0,0 \pm 0,1 ^a (n=18)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	7,5 \pm 6,0 (n=53)	8,8 \pm 6,0 (n=54)	11,1 \pm 9,0 (n=54)	0,056	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

Para la temperatura de 24°C, el mejor ajuste de la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Thalassiosira* sp. se presentó para una combinación de dos curvas con un valor de corte alrededor de 60.000 células/ml (Tabla 26). Sin embargo, una evaluación minuciosa de la pendiente para la primera ecuación de regresión encontró que presentaba un valor negativo, indicando que el ajuste de la curva a los datos observados tenía una tendencia a disminuir a medida que la concentración inicial del fitoplancton incrementaba hasta 60.000 células/ml. Par tal razón se definió que la respuesta funcional seguía un modelo curvilíneo (Fig.

7a). Para las dos otras temperaturas ensayadas (28 y 32°C), la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* estimada con *Thalassiosira* sp. se ajustó mejor a un modelo curvilíneo, presentando una disminución de tipo logarítmico a lo largo del rango considerado para las concentraciones del fitoplancton (Fig. 7b y 7c). Los coeficientes de ajuste fueron semejantes para las tres temperaturas ensayadas, obteniendo valores mayores a 0,610 en todos los casos (Tabla 26).

Tabla 25: Promedios (\pm desviaciones estándares) por temperatura y concentración inicial del fitoplancton, de las tasas de ingestión estimadas con *Thalassiosira* sp.

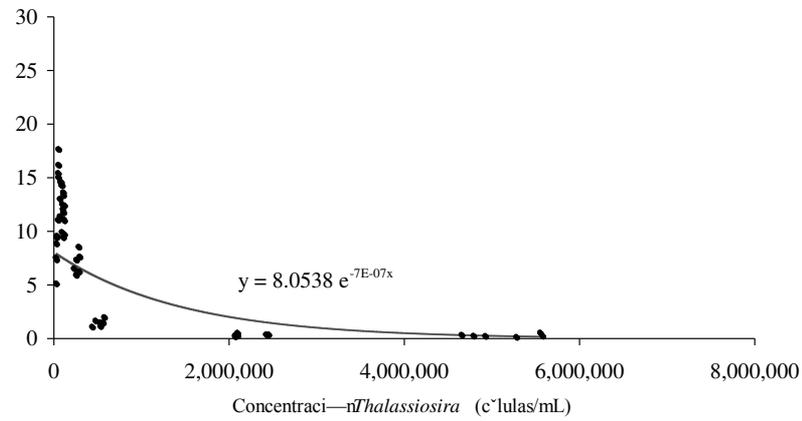
Concentración inicial (células/ml)	24°C	28°C	32°C	p	Promedio por concentración
20.816 – 48.980	4 \pm 2 ^a (n=8)	5 \pm 2 ^a (n=12)	4 \pm 2 ^a (n=9)	0,103	5 \pm 2 ^a (n=29)
51.020 – 74.212	10 \pm 1 ^{ab} (n=6)	11 \pm 2 ^{ab} (n=6)	11 \pm 3 ^{ab} (n=6)	0,755	11 \pm 2 ^b (n=18)
76.438 – 98.866	12 \pm 2 ^{ab} (n=5)	14 \pm 6 ^{ab} (n=5)	20 \pm 7 ^b (n=10)	0,127	17 \pm 7 ^{bcd} (n=20)
101.587 – 293.878	16 \pm 4 ^{b*} (n=16)	18 \pm 7 ^{b***} (n=13)	27 \pm 11 ^{b**} (n=11)	0,050	20 \pm 9 ^d (n=40)
436.735 – 574.150	10 \pm 3 ^{ab*} (n=6)	14 \pm 3 ^{b***} (n=6)	15 \pm 3 ^{ab**} (n=6)	0,043	13 \pm 4 ^{bcd} (n=18)
1.795.918 – 2.448.980	10 \pm 3 ^{ab*} (n=6)	10 \pm 2 ^{ab*} (n=6)	15 \pm 3 ^{ab**} (n=6)	0,013	12 \pm 4 ^{bc} (n=18)
4.653.061 – 5.578.231	19 \pm 9 ^{b***} (n=6)	22 \pm 3 ^{b**} (n=6)	13 \pm 1 ^{ab*} (n=6)	0,007	18 \pm 6 ^{cd} (n=18)
p	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
Promedio por temperatura	12 \pm 6 (n=53)	13 \pm 7 (n=54)	16 \pm 10 (n=54)	0,116	

Promedios en una misma columna con diferentes letras son significativamente diferentes (efecto concentración), mientras que promedios en una misma línea con diferente número de (*) son significativamente diferentes (efecto temperatura).

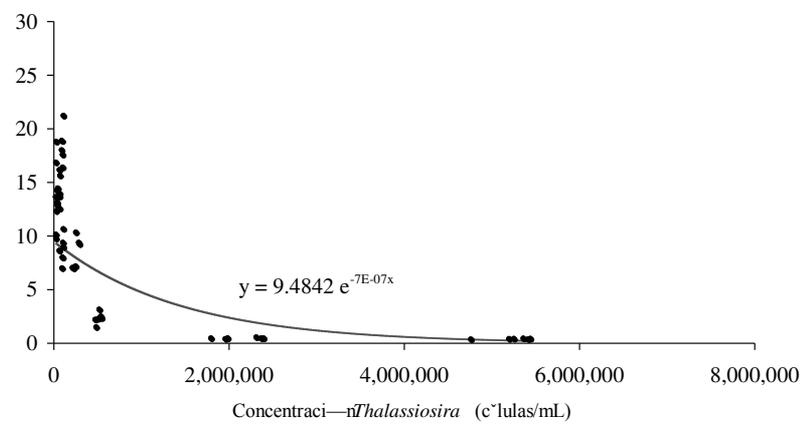
Tabla 26: Ecuaciones de regresión y estimación de los coeficientes de ajuste para los cuatro escenarios considerados, de la tasa de aclaramiento estimada con *Thalassiosira* sp. a 24, 28 y 32°C.

Rango de concentraciones	Ecuaciones	Coeficientes		
		r^2	Eficiencia	Ajuste
24°C				
Todos los datos	$y = 8,0538 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,617	0,695	0,893
0 – 30.000	$y = 0,909 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,489	0,521	0,812
>30.000	$y = 8,1096 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,8353 - 3 \cdot 10^{-7} x$			
>60.000	$y = 7,1945 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,719	0,792	0,938
0 – 90.000	$y = 0,7962 - 3 \cdot 10^{-7} x$			
>90.000	$y = 6,2517 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,421	0,390	0,767
28°C				
Todos los datos	$y = 9,4842 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,685	0,722	0,910
0 – 30.000	$y = 0,9515 - 3 \cdot 10^{-7} x$	0,296	0,204	0,651
>30.000	$y = 8,9331 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 0,9119 - 3 \cdot 10^{-7} x$			
>60.000	$y = 8,147 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,146	0,145	0,429
0 – 90.000	$y = 0,8538 - 3 \cdot 10^{-7} x$			
>90.000	$y = 7,1285 e^{-7 \cdot 10^{-7} x}$	0,091	0,086	0,320
32°C				
Todos los datos	$y = 12,647 e^{-9 \cdot 10^{-7} x}$	0,847	0,820	0,950
0 – 30.000	$y = 1,1095 - 4 \cdot 10^{-7} x$	0,165	0,922	0,979
>30.000	$y = 12,853 e^{-9 \cdot 10^{-7} x}$			
0 – 60.000	$y = 1,0879 - 4 \cdot 10^{-7} x$			
>60.000	$y = 12,388 e^{-9 \cdot 10^{-7} x}$	0,638	0,081	0,742
0 – 90.000	$y = 1,0309 - 4 \cdot 10^{-7} x$			
>90.000	$y = 10,715 e^{-9 \cdot 10^{-7} x}$	0,794	0,766	0,933

(a)



(b)



(c)

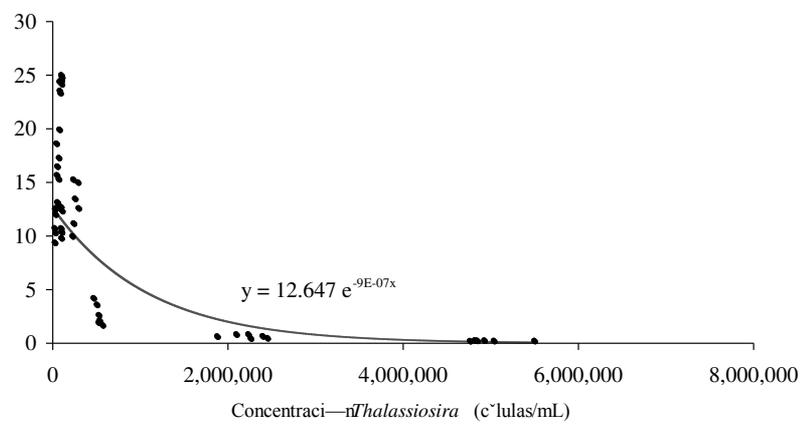


Figura 7: Respuesta de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* a la concentración de *Thalassiosira* sp. a 24°C (a), 28°C (b) y 32°C (c).

5. DISCUSIÓN

5.1. EL PLANCTON DEL ESTUARIO DE PALMAR:

Ecuador tiene una diversidad alta de organismos pelágicos. Cruz *et al.* (2003) reportan 601 especies diferentes de organismos pelágicos en el mar ecuatoriano, donde dominan las diatomeas (295 especies reportadas) y los dinoflagelados (103 especies), seguidos por los tintinados (50 especies), coccolitoforidos (37 especies), las cianobacterias (18 especies) y los foraminíferos planctónicos (17 especies). Los estudios de identificación del fitoplancton en estuarios del Ecuador (Golfo de Guayaquil, Estero Salado, Canal de Cascajal, Estuario del río Esmeraldas, Estuario del río San Lorenzo) describen a representantes con tamaño superior a 50 μm , donde dominan las diatomeas, los dinoflagelados y los coccolitoforidos, y aparecen en concentraciones menores a representantes grandes de las cianobacterias y de las algas verdes (Jiménez y Pesantez, 1978; Jiménez y Bonilla, 1980; Coello y Moya, 1999; Tapia, 2001; Naranjo y Tapia, 2002).

La composición fitoplanctónica del estuario de Palmar fue netamente dominada por un representante pequeño de las cianobacterias (*Synechocystis* sp.), sin embargo, se observó también la presencia de diatomeas en todas las muestras y estaciones muestreadas, así como de dinoflagelados y flagelados en algunas muestras, coincidiendo para la descripción de los representantes de mayor tamaño con los estudios arriba mencionados. Sin embargo, el picoplancton es un componente ubicuo

y abundante de las comunidades de plancton de los ecosistemas tanto marinos como costeros (Schmidt y Jónasdóttir, 1997; Agawin *et al.*, 2000). Las cianobacterias coccoidales de tamaño menor a 2 μm contribuyen significativamente al total de la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas, y en océanos oligotróficos pueden ser responsables del 80-90% del total diario de la producción de carbono orgánico (Iturriaga y Mitchell, 1986; Stockner, 1988; Olson *et al.*, 1990).

En la zona fótica de los océanos, las cianobacterias coccoidales están presentes en concentraciones de 10^3 a 10^4 células/ml y pueden constituir cerca del 20% del total de la biomasa del bacterioplancton y entre el 6 y 15% del total del plancton (Johnson y Sieburth, 1979; Li, 1998.) Un estudio realizado en el Océano Pacífico y en el Atlántico Norte encontró que *Synechococcus* sp. contribuye con más de la mitad de la producción primaria de la columna del agua y se encuentra en concentraciones promedio de 25.000 células/ml (Olson *et al.*, 1990). Las mayores concentraciones reportadas para el estuario de Palmar (>75.000 células/ml) puede deberse a las condiciones eutróficas del estuario, el lento proceso de recambio de agua del estuario y las descargas de los efluentes de las camaroneras situadas alrededor del estuario que podrían incrementar la disponibilidad en nutrientes, factor que favorece las altas concentraciones de cianobacterias (Duarte *et al.*, 1992; Kozlowsky-Suzuky y Bozelli, 2002; Yusoff *et al.*, 2002).

Varios estudios reportan que los copépodos dominan la composición del zooplancton en los estuarios del Ecuador, representando hasta un 80% de los conteos totales, y describen en menor proporción la presencia de representantes de los rotíferos, cladóceros, quetognatos, tintinados, y larvas de peces (Jiménez y Bonilla, 1980; Bonilla, 1990; Luzuriaga *et al.*, 1998; Coello y Moya, 1999; Naranjo y Tapia, 2002). Ningún estudio menciona a la presencia de nemátodos y ostracodos, por ser más asociados con el bentos que con el plancton, sin embargo, son organismos comunes de los ecosistemas costeros marinos y pueden encontrarse en la columna de agua de sistemas de poca profundidad, como es el caso de las estaciones de muestreo del estuario de Palmar.

Las cianobacterias coccoidales que forman parte del picoplancton son generalmente ingeridas por flagelados, ciliados, rotíferos y tintinados, contribuyendo así al flujo de energía hacia los niveles tróficos superiores (Iturriaga y Mitchell, 1986; Stockner, 1988; Olson *et al.*, 1990; Hirose *et al.*, 2008). Estos representantes del fitoplancton no son aprovechados directamente por los copépodos, por tener un pequeño tamaño que no facilita su retención, pero influyen de manera indirecta a este mesozooplancton a través de su pastoreo sobre los consumidores intermedios mencionados arriba (Calbet y Landry, 1999). Iturriaga y Mitchell (1986) estiman que un 30 a 40% de la biomasa de las cianobacterias es consumido diariamente en sistemas marinos. Los rotíferos están en capacidad de ingerir partículas de entre 1 y 5 μm (Bogdan y Gilbert, 1984) y son considerados como los mayores depredadores del

picoplancton en lagos oligotróficos y sistemas costeros por presentar tasas de pastoreo muy altas (Stockner, 1988; Kozlowsky-Suzuky y Bozelli, 2002).

5.2. TASA DE ACLARAMIENTO Y TASA DE INGESTIÓN DE *B. rotundiformis*:

Se encontraron tasas de aclaramiento máximas en el orden de 30 $\mu\text{l/h}$ para *Thalassiosira* sp., 20-25 $\mu\text{l/h}$ para *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis* sp., y 10-12 $\mu\text{l/h}$ para *Synechocystis* sp. Estos valores son más altos que los reportados en la literatura. Por ejemplo, Navarro (1999) reporta una tasa de aclaramiento máxima en el orden de 3-5 $\mu\text{l/h}$ para *B. rotundiformis*. La diferencia puede deberse al hecho que los experimentos reportados por Navarro (1999) fueron realizados a 25°C, mientras que los máximos encontrados en el presente estudios coinciden con una temperatura del agua de $32 \pm 1^\circ\text{C}$. De hecho, los resultados de los bioensayos confirman que la tasa de aclaramiento varía de acuerdo a la temperatura del agua, encontrando en general valores mayores a 32°C en comparación con 24°C. Eso podría explicar porque se observa un mejor crecimiento de *B. rotundiformis* para una temperatura del agua de entre 28 y 35°C (Dhert, 1996). Además, los resultados confirman que la tasa de aclaramiento fue más variables a temperatura más baja (Montagnes *et al.*, 2001).

Las tasas de ingestión máximas fueron de 287 células/min para *Synechocystis* sp., 65 a 70 células/min para *Tetraselmis* sp., y entre 40 y 45 células/min para *Isochrysis* sp. y *Thalassiosira* sp. En los últimos tres casos, los valores se encuentran dentro de los rangos reportados en la literatura, de entre 30-40 células/min (Montagnes *et al.*, 2001)

y 120-150 células/min (Navarro, 1999; Hotos, 2003). Como fue para la tasa de aclaramiento, los resultados de los bioensayos confirman que la tasa de ingestión varía de acuerdo a la temperatura del agua, encontrando en general valores mayores a 32°C en comparación con 24°C. Sin embargo, los datos de la tasa de ingestión fueron más variables y no fue siempre posible determinar un efecto de la temperatura para el rango ensayado (24 a 32°C).

Brachionus sp. ha mostrado tener eficiencias alimenticias dependientes del tamaño de la partícula ofrecida como alimento, cuyo rango de retención abarca partículas de entre 1 µm y 15 µm, siendo el tamaño óptimo de 8 µm de Diámetro Esférico Equivalente (ESD) (Rothhaupt, 1990a). Además, diferentes especies o cepas de rotíferos exhiben diferentes niveles de preferencia para el tamaño de las partículas de acuerdo a su diámetro oral. Por ejemplo, Rothhaupt (1990a,b) reporta un tamaño óptimo para partículas a ser ingeridas de ~5 µm ESD para *B. rubens* cepa F con un diámetro oral promedio de 120-180 µm y de ~10 µm ESD para *B. rubens* cepa B con un diámetro oral promedio de 200-260 µm. La cepa de *R. rotundiformis* utilizada en el presente estudio tiene un diámetro oral promedio de $86,8 \pm 12,4$ µm y presentó una mayor tasa de aclaramiento promedio con *Isochrysis* sp. ($4,3 \pm 0,7$ µm ESD) y *Thalassiosira* sp. ($8,3 \pm 1,5$ µm ESD). La tasa de aclaramiento promedio fue menor para *Tetraselmis* sp. ($8,6 \pm 1,2$ µm ESD) a pesar de presentar un ESD similar al de *Thalassiosira* sp. En el caso de la tasa de ingestión, los valores promedio más altos se encontraron con *Synechocystis* sp. ($2,6 \pm 0,1$ µm ESD), *Isochrysis* sp. y

Thalassiosira sp. La asociación de *Synechocystis* sp. dentro del grupo de fitoplancton donde se exhibieron las mayores tasas de ingestión pero no para la tasa de aclaramiento, puede deberse a la habilidad de los rotíferos de coleccionar y procesar numerosas células pequeñas simultáneamente sin interferencia entre las partículas y el proceso de alimentación (Rothhaupt 1990b).

Otro factor importante en determinar las tasas de aclaramiento e ingestión de los rotíferos, es la concentración de la presa (Rothhaupt, 1990a). Los resultados de la tasa de ingestión son parecidos para los cuatro tipos de fitoplancton ensayados, con valores mayores correspondiendo a concentraciones del fitoplancton mayores a 3.000.000 células/ml. Sin embargo, en el caso de la tasa de aclaramiento, los resultados del presente estudio se diferencian de acuerdo al tipo de fitoplancton ensayado. Se reportan tasas de aclaramiento más altas para las concentraciones menores a 300.000 células/ml para *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp., coincidiendo con los trabajos de Hansen *et al.* (1997), Navarro (1999), Montagnes *et al.* (2001), y Hotos (2003). Mientras que los resultados obtenidos con *Synechocystis* sp. dan tasas de aclaramiento más altas para una concentración del fitoplancton de entre 300.000 y 3.000.000 células/ml.

Estos resultados fueron confirmados al momento de estimar el mejor ajuste de la respuesta funcional de la tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis*. Independientemente de la temperatura, el modelo curvilíneo resultó ser el mejor

ajuste para *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp., indicando que la tasa de aclaramiento disminuye a medida que incrementa la concentración de la presa desde 25.000 hasta 5.000.000 células/ml. El modelo curvilíneo representa un patrón típico de la interferencia de la concentración de las partículas con el proceso de filtración (Rothhaupt, 1990a). Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos por Rothhaupt (1990b), Hansen *et al.* (1997), Navarro (1999), Ciro-Perez *et al.* (2001) y Montagnes *et al.* (2001) y asociados con varias especies y cepas de *Brachionus*. En el caso de *Synechocystis* sp., la tasa de aclaramiento a las tres temperaturas se ajusta mejor al modelo sigmoideal de respuesta funcional, el cual se caracteriza por exhibir una tasa máxima a concentraciones intermedias de alimento. Estos resultados coinciden con Hotos (2003) y Fussman *et al.* (2005) trabajando con *B. plicatilis* y *B. calyciflorus*, respectivamente.

Los patrones de respuesta funcional determinan como los depredadores influyen y están influenciados por el medio. Para el género *Brachionus*, se han reportado los tres tipos de respuesta funcional y generalmente el mejor ajuste está en función del tamaño de las partículas. Cada especie de *Brachionus* tiene un tamaño óptimo de partículas para el cual se ajusta mejor el modelo curvilíneo y para tamaños mayores o menores se ajustan mejor los modelos rectilíneo y sigmoideal (Rothhaupt, 1990b). El modelo sigmoideal indica también que por debajo de una concentración crítica en alimento (reportada alrededor de 10.000 células/ml en el caso de los rotíferos), las poblaciones naturales podrían estar limitadas y controladas por la disponibilidad de

recursos (control de tipo “Bottom-up”) antes que por la depredación (Montagnes *et al.*, 2001). Lo que podría significar que a pesar de ser muy abundante en el estuario de Palmar, *Synechocystis* sp. no estaría en capacidad de proveer una buena fuente de alimento a los rotíferos, lo que daría una ventaja competitiva a representantes del zooplancton mejor preparados para filtrar y aprovechar de este tipo de recursos, tales como los ciliados y tintinados (Christaki *et al.*, 1999; Dolan *et al.*, 2003).

6. CONCLUSIONES

- El fitoplancton del estuario de Palmar es dominado por *Synechocystis* sp., una cianobacteria coccoidal del picoplancton, representando entre 76 y 100% de los conteos totales.
- El zooplancton del estuario de Palmar es representado por ostracodos (62% de los conteos), copépodos (20%), tintinados (13%), nemátodos (4%) y rotíferos (0,5%).
- La tasa de aclaramiento de *B. rotundiformis* fluctuó entre 0,1 y 24,8 $\mu\text{l/h}$, mientras que la tasa de ingestión fluctuó entre 0 y 287 células/min.
- Se encontraron tasas de aclaramiento máximas en el orden de 30 $\mu\text{l/h}$ para *Thalassiosira* sp., 20-25 $\mu\text{l/h}$ para *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis* sp., y 10-12 $\mu\text{l/h}$ para *Synechocystis* sp., más altas que las reportadas en la literatura.
- Las tasas de ingestión máximas fueron de 287 células/min para *Synechocystis* sp., 65 a 70 células/min para *Tetraselmis* sp., y entre 40 y 45 células/min para *Isochrysis* sp. y *Thalassiosira* sp.
- La tasa de aclaramiento y la tasa de ingestión fueron en general más altas a 32°C en comparación con 24°C.
- El efecto de la concentración del fitoplancton sobre la tasa de aclaramiento fue diferente de acuerdo al tipo de fitoplancton ensayado. Se reportan tasas de aclaramiento más altas para las concentraciones menores a 300.000 células/ml para *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp. Mientras que los

resultados obtenidos con *Synechocystis* sp. dan tasas de aclaramiento más altas para una concentración del fitoplancton de entre 300.000 y 3.000.000 células/ml.

- El efecto de la concentración del fitoplancton sobre la tasa de ingestión fue similar para los cuatro tipos de fitoplancton, encontrando valores mayores para concentraciones del fitoplancton mayores a 3.000.000 células/ml.
- El tipo de respuesta funcional de las tasas de filtración determinadas con *Isochrysis* sp., *Tetraselmis* sp. y *Thalassiosira* sp. se ajusta al modelo curvilíneo, mientras que el modelo sigmoideal se ajusta mejor en el caso de *Synechocystis* sp.

7. RECOMENDACIONES

- En vista que los rotíferos no son el grupo dominante dentro del zooplancton herbívoro del estuario de Palmar, se recomienda continuar el estudio con *Calanoides* sp., un representante herbívoro de los copépodos, y con los representantes más abundantes de los tintinados, para determinar su capacidad en filtrar el fitoplancton y su participación en la transferencia de energía hacia los niveles tróficos superiores.
- Dado la abundancia de los ostracodos dentro del zooplancton del estuario de Palmar, se recomienda investigar su rol y posición dentro de la trama trófica del estuario.
- En base a los datos presentados aquí y los resultados de los estudios arriba recomendados, se podrá elaborar un modelo matemático completo para determinar el rol ecológico del zooplancton en el estuario de Palmar.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Agawin, N.S., C.M. Duarte, y S. Agusti. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnology and Oceanography* 45:591-600.
- Almeida, M., A. M.A. Cunha, y F. Alcântara. 2001. Factors influencing bacterial production in a shallow estuarine system. *Microbial Ecology* 42:416-426.
- Álvarez, H. 1994. Folletos de Algas. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 46 pp.
- American Public Health Association (APHA), American Water Work Association, y Water Environment Federation. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition. APHA, Washington D.C., EE.UU.
- Bautista, B., R.P. Harris, P.R.G. Tranter, y D. Harbour. 1992. In situ copepod feeding and grazing rates during a spring bloom dominated by *Phaeocystis* sp. in the English Channel. *Journal of Plankton Research* 14:691-703.
- Bergquist, A.M., S.R. Carpenter, y J.C. Latino. 1985. Shifts in phytoplankton size structure and community composition during grazing by contrasting zooplankton assemblages. *Limnology and Oceanography* 30(5):1037-1045.
- Bíró, P. 1995. Management of pond ecosystems and trophic webs. *Aquaculture* 129:373-386.
- Bogdan, K.G., y J.J. Gilbert. 1984. Body size and food size in freshwater zooplankton. *Proceedings of the National Academy of Science* 82:6427-6431.

- Bonilla, M.A. 1990. Variación mensual del plancton en una estación fija La Libertad (Salinas), Ecuador – Periodo 1988:1989. Acta Oceanográfica del Pacífico, INOCAR, 6(1), Guayaquil, Ecuador.
- Cajas de, L., D. Coello, y O. Moya. 1998. Comunidades del fitoplancton en los ríos Daule y Guayas. Páginas 163-179 *En* Instituto Nacional de Pesca (editor), Comportamiento Temporal y Especial de las Características Físicas, Químicas y Biológicas del Golfo de Guayaquil y sus Afluentes Daule y Babahoyo Entre 1994-1996, Guayaquil, Ecuador.
- Cajas de, L., M. Prado, D. Coello, y J. Cajas. 2000. Fitoplancton y mesozooplancton en piscinas camaroneras en la costa ecuatoriana durante el evento del síndrome de la mancha blanca. Páginas 61-85 *En* F.I. Ormaza (editor), Boletín Especial, Situación de la Problemática por la Presencia del Virus “Mancha Blanca (WSSV)” en el Cultivo del Camarón en el Litoral Ecuatoriano Durante 1999. Instituto Nacional de Pesca, Guayaquil, Ecuador.
- Calbet, A., y M.R. Landry. 1999. Mesozooplankton influences on the microbial food web: direct and indirect trophic interactions in the oligotrophic open ocean. *Limnology and Oceanography* 44(6):1370-1380.
- Calbet, A., y M.R. Landry. 2004. Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. *Limnology and Oceanography* 49(1):51-57.
- Calewaert, J.-B. 2004. Environmental Impact Statement (EIS) for a new experimental station for aquaculture research near Palmar (Province of Guayas,

- Ecuador). Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Ecological Marine Management, Vrije Universiteit Brussel and Universiteit Antwerpen, Belgium.
- Christaki, U., S. Jacquet, J.R. Dolan, D. Vaultot, y F. Rassoulzadegan. 1999. Growth and grazing on *Prochlorococcus* and *Synechococcus* by two marine ciliates. *Limnology and Oceanography* 44(1):52-61.
- Ciros-Perez, J., M.J. Carmona, y M. Serra. 2001. Resource competition between sympatric sibling rotifer species. *Limnology and Oceanography* 46:1511-1523.
- CLIRSEN (Centro de Levantamientos Integrados de Recursos Naturales por Sensores Remotos). 1999. Carta Temática de Manglares, Camaroneras y Áreas Salinas; Zona Colonche. Guayaquil, Ecuador.
- Coello, D., y O. Moya. 1999. Fitoplancton y Tintinnidos en Aguas Costeras Ecuatorianas Durante Junio de 1999. *Boletín Científico y Técnico del Instituto Nacional de Pesca, Ecuador* 17(13):25-35.
- Cole, J.J., S. Findlay, y M.L. Pace. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series* 43:1-10.
- Conde-Porcuna, J.M., E. Ramos-Rodríguez, y C. Pérez-Martínez. 2002. Correlations between nutrient concentrations and zooplankton populations in a mesotrophic reservoir. *Freshwater Biology* 47:1463-1473.
- Cottingham, K., S.E. Knight, S.R. Carpenter, J.J. Cole, M.L. Pace, y A.E. Wagner. 1997. Response of phytoplankton and bacteria to nutrients and zooplankton: a mesocosm experiment. *Journal of Plankton Research* 19(8):995-1010.

- Cruz, M., N. Gabor, E. Mora, R. Jiménez, y J. Mair. 2003. The known and unknown about marine biodiversity in Ecuador (Continental and Insular). *Gayana* 67(2):232-260.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. Páginas 61-98 *En* P. Lavens y P. Sorgeloos (editores) *Manuel of the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Technical Paper, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Dolan, J.R., N. Sall, A. Metcalfe, y B. Gasser. 2003. Effects of turbulence on the feeding and growth of a marine oligotrich ciliate. *Aquatic Microbial Ecology* 31:183-192.
- Duarte, C., S. Agusti, y D.E. Canfield. 1992. Patterns in phytoplankton community structure in Florida lakes. *Limnology and Oceanography* 37(1):155-161
- Elser, J.J., y C.R. Goldman. 1990. Experimental separation of the direct and indirect effects of herbivorous zooplankton on phytoplankton in a subalpine lake. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 24:493:498.
- Fincham, A.A. 1986. *Basic Marine Biology*. British Museum of London, Inglaterra, 156 pp.
- Fussmann, G.F., G. Weithoff, y T. Yoshida. 2005. A direct, experimental test of resource vs. consumer dependence. *Ecology* 86(11):2924-2930.
- Gasol, J.M., M. Comerma, J.M. García, J. Armengol, E.O. Casamayor, P. Kojecká, y K. Simek. 2002. A transplant experiment to identify the factors controlling bacterial abundance, activity, production, and community composition in a eutrophic canyon-shaped reservoir. *Limnology and Oceanography* 47(1):62-77.

- Grigorszky, I., S. Nagy, A. Tóth, C. Máthé, Z. Müller, y G. Borbély. 1998. Effect of large and small-bodied zooplankton on phytoplankton in a eutrophic oxbow. *Journal of Plankton Research* 20(10):1989-1995.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Páginas 29 – 60 *En* Culture of Marine Invertebrate Animals, W.L. Smith y M.H. Chanley (editores), Plenum Publishing Corporation, New York, EE.UU.
- Hansen, B., P.K. Bjørnsen, y P.J. Hansen. 1994. The size ratio between planktonic predators and their prey. *Limnology and Oceanography* 39(2):395-403.
- Hansen, B., T. Wernberg-Møller, y L. Wittrup. 1997. Particle grazing efficiency and specific growth efficiency of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 215:217- 233.
- Havens, K.E. 1998. Size structure and energetics in a plankton food web. *Oikos* 81:346-358.
- Hirose, M., T. Katano, Y S.-I. Nakano. 2008. Growth and grazing mortality rates of *Prochlorococcus*, *Synechococcus* and eukaryotic picophytoplankton in a bay of the Uwa Sea, Japan. *Journal of Plankton Research* 30(3):241-250.
- Hotos, G.N. 2003. Growth, filtration and ingestion rate of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed with large (*Asteromonas gracilis*) and small (*Chlorella* sp.) celled algal species. *Aquaculture Research* 34:793-802.
- Hulot, F.D., P.J. Morin, y M. Loreau. 2001. Interactions between algae and the microbial loop in experimental microcosms. *Oikos* 95(2):231-238.
- Iturriaga, R., y B.G. Mitchell. 1986. Chroococcoid cyanobacteria: a significant

- component in the food web dynamics of the open ocean. *Marine Ecology Progress Series* 28:291-297.
- Jiménez, R., y F. Pesantes. 1978. Fitoplancton, producción primaria y pigmentos en aguas costeras ecuatorianas. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 2(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Jiménez, R., y M.A. Bonilla. 1980. Composición y distribución de la biomasa del plancton en el Frente Ecuatorial. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 1(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Johnson, P.W., y J.M. Sieburth. 1979. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnology and Oceanography* 24(5):928-935.
- Katano, T., A. Kaneda, H. Takeoka, y S.-i. Nakano. 2005. Seasonal changes in the abundance and composition of picophytoplankton in relation to the occurrence of “Kyucho” and bottom intrusion in Uchiumi Bay, Japan. *Marine Ecology Progress Series* 298:59-67.
- Katano, T., A. Kaneda, N. Kanzaki, Y. Obayashi, A. Morimoto, G. Onitsuka, H. Yasuda, S. Mizutani, Y. Kon, K. Hata, H. Takeoka, y S.-i. Nakano. 2007. Distribution of prokaryotic picophytoplankton from Seto Inland Sea to the Kuroshio region, with special reference to “Kyucho” events. *Aquatic Microbial Ecology* 46:191-201.
- Kozlowsky-Suzuky, B., y R.L. Bozelli. 2002. Experimental evidence of the effect of nutrient enrichment on the zooplankton in a Brazilian coastal lagoon. *Brazilian*

- Journal of Biology 62(4B):835-846.
- Lampert, W. 1987. Laboratory studies on zooplakton-cyanobacteria interactions. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 21:483-490.
- Li, W.K.W. 1998. Annual average abundance of heterotrophic bacteria and *Synechococcus* in surface ocean waters. Limnology and Oceanography 43(7):1746-1753.
- Luzuriaga de Cruz, M., Elias, E., Flores, M. E. 1998. Abundancia y distribución del ictioplancton, fito y zooplancton en el mar ecuatoriano en abril de 1995. Acta Oceanográfica del Pacífico 9(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Malchow, H., S. Petrovskii, y A. Medvinsky 2001. Pattern formation in models of plankton dynamics. A synthesis. Oceanologica Acta 24(5):479-487.
- Maljuf, P. 2002. Los ecosistemas Marinos y Costeros. Documento preparado para el "Proyecto Estrategia Regional de Biodiversidad para los Países del Trópico Andino", Convenio de cooperación técnica no reembolsable ATN/JF-5887/RG CAN-BID, La Paz, Bolivia. En Internet: www.comunidadandina.org/desarrollo/dct2.PDF.
- Mohr, S., y R. Adrian. 2000. Functional responses of the rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus rubens* feeding on armored and unarmored ciliates. Limnology and Oceanography 45(5):1175-1180.
- Montagnes, D.J.S., S.A. Kimmance, G. Tsounis, y J.C. Gumbs. 2001. Combined effect of temperature and food concentration on the grazing rate of the rotifer *Brachionus plicatilis*. Marine Biology 139:975-979.

- Moore, L.R., A. Coe, E.R. Zinser, M.A. Saito, M.B. Sullivan, D. Lindell, K. Frois-Moniz, J. Waterbury, y S.W. Chisholm. 2007. Culturing the marine cyanobacterium *Prochlorococcus*. *Limnology and Oceanography: Methods* 5:353-362.
- Moreano, H.R. 1993. Interacción oceano-atmósfera sobre la zona costera del Ecuador. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 2(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Murrell, M.C., y E.M. Loes. 2004. Phytoplankton and zooplankton seasonal dynamics in a subtropical estuary: importance of cyanobacteria. *Journal of Plankton Research* 26(3):371-382.
- Nagata, T. 2000. Production mechanisms of dissolved organic matter. Páginas 121-152 *En* D.L. Kirchman (editor), *Microbial Ecology of the Oceans*. John Wiley & Sons, Inc., New York, EE.UU.
- Naranjo, C., y M.E. Tapia. 2002. Composición, distribución y abundancia del plancton en el Estuario de San Lorenzo, Esmeraldas – Ecuador. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 11(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Nash, J.E., y J.V. Sutcliffe. 1970. River flow forecasting through conceptual models. Part I – A discussion of principles. *Journal of Hydrology* 10:282-290.
- Navarro, N. 1999. Feeding behaviour of the rotifers *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis* with two types of food: live and freeze-dried microalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 237:75- 87.
- Okuda, T., R. Trejos de Suescum, M. Valencia, y A. Rodriguez. 1983a. Variación estacional de la posición del frente ecuatorial y su efecto sobre la fertilidad de las

- aguas superficiales ecuatorianas. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 2(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador
- Okuda, T., M. Valencia, y R. Trejos de Suescum. 1983b. Nutrientes en las aguas superficiales y subsuperficiales en el área frente a Ecuador. *Acta Oceanográfica del Pacífico* 2(1), INOCAR, Guayaquil, Ecuador.
- Olson, R.J., S.W. Chisholm, E.R. Zettler, y E.V. Armbrust. 1990. Pigments, size, and distribution of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific Oceans. *Limnology and Oceanography* 35(1):45-58.
- Pace, M.L. 2001. Prediction and the aquatic sciences. *Canadian Journal of Fishery and Aquatic Science* 58:63-72.
- Paffenhöfer, G.-A. 1998. Heterotrophic protozoa and small metazoa: feeding rates and prey-consumer interactions. *Journal of Plankton Research* 20(1):121-133.
- Pelczar, M., R. Reid, y E.C.S. Chan. 1996. *Microbiología*, Cuarta Edición. McGraw-Hill Book Co., EE.UU.
- Quinn, G.P., y M.J. Keough. 2002. *Experimental design and data análisis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra.
- Ravera, O., y S. Scotto. 1999. A sampler-incubator for studying zooplankton grazing and phytoplankton production. *Journal of Limnology* 58(1):49-57.
- Richardot, M., D. Devoras, A. Thouvenot, D. Sargos, J.L. Berthon, y J. Devaux. 2001. Influence of cladoceran grazing activity on dissolved organic matter, enzymatic hydrolysis and bacterial growth. *Journal of Plankton Research* 23:1249-1261.

- Rippka, R., J. Deruelles, J. Waterbury, M. Herdman, y R. Stanier. 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology* 111:1-61.
- Riquelme, C.E., y R.E. Avendaño-Herrera. 2003. Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y su uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural* 76:725-736.
- Rothhaupt, K.O. 1990a. Differences in particle size-dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. *Limnology and Oceanography* 35(1):16-23.
- Rothhaupt, K.O. 1990b. Changes on the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calcyflorus* with particle sizes. *Limnology and Oceanography* 35(1):24-32.
- Samuelsson, K. 2003. Mechanisms structuring the pelagic microbial food web – Importance of resources and predation. Doctoral Dissertation, Department of Ecology and Environmental Science, Umeå University, Umeå, Suecia.
- Schmidt, K., y S.H. Jónasdóttir. 1997. Nutritional quality of two cyanobacteria: how rich is “poor” food? *Marine Ecology Progress Series* 151:1-10.
- Shervette, V.R., W.E. Aguirre, E. Blacio, R. Cevallos, M. Gonzalez, F. Pozo, y F. Gelwick. 2007. Fish communities of a disturbed mangrove wetland and an adjacent tidal river in Palmar, Ecuador. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72(1-2):115-128.
- Solís-Coello, P., y W. Méndez. 1999. Puertos pesqueros artesanales de la Costa Ecuatoriana. Instituto de Pesca con el apoyo del Programa de Cooperación

- Técnica para la Pesca de la Unión Europea – VECEP a la 92/43, Guayaquil, Ecuador.
- Sommaruga, R. 1995. Microbial and classical food webs: A visit to a hypertrophic lake. *FEMS Microbiology Ecology* 17:257-270.
- Stockner, J.G. 1988. Phototrophic picoplankton: an overview from marine and freshwater ecosystems. *Limnology and Oceanography* 33(4):765-775.
- Tapia, M.E. 2001. Estudio de la comunidad fitoplanctónica en el estuario interior de Esmeraldas-Ecuador. *Acta Oceanográfica del Pacífico, INOCAR, X(X)*, Guayaquil, Ecuador.
- Tilman, D., S.S. Kilham, y P. Kilham. 1982. Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual Review in Ecological Systems* 13:349-372.
- Tomas, C.R. 1997. *Identifying Marine Phytoplankton*. Academic Press, New York, N.Y., EE.UU.
- Torres, G. 1996. Distribución de la densidad fitoplanctónica en una estación fija costera, la Libertad (Ecuador) durante 1989-1993. *Acta Oceanográfica del Pacífico, INOCAR, 8(1)*, Guayaquil, Ecuador.
- Valencia, M., y A.R. Moran, 1996. Características de las masas de agua costeras ecuatorianas en estaciones fijas: Península de Santa Elena y Puerto de Manta-Ecuador. *Acta áfica del Pacífico, INOCAR, 8(1)*, Guayaquil, Ecuador.
- Vörös, L., K.V. Balogh, E. Koncz, y A. Kovács. 2003. Phytoplankton and bacterioplankton production in a reed-covered water body. *Aquatic Botany* 7:99-110.

- Vrede, K., T. Vrede, A. Isaksson, y A. Karlsson. 1999. Effects of nutrients (phosphorous, nitrogen, carbon) and zooplankton on bacterioplankton and phytoplankton – a seasonal study. *Limnology and Oceanography* 44(7):1616-1624.
- Waleron, M., K. Waleron, W.F. Vincent, y A. Wilmotte. 2007. Allochthonous inputs of riverine picocyanobacteria to coastal waters in the Artic Ocean. *FEMS Microbiology Ecology* 59:356-365.
- Willmott, C.J. 1981. On the validation of models. *Physical Geography* 2:184-194.
- Yusoff, F.M., M.S. Zubaidah, H.B. Matias, y T.S. Kwan. 2002. Phytoplankton succession in intensive marine shrimp culture ponds treated with a commercial bacterial product. *Aquaculture Research* 33:269-278.