

UCH-FC
DOC-EBE
A662
C. J

**MODIFICACIÓN DE INTERACCIONES MEDIADA
POR DEFENSAS INDUCIBLES: UNA
APROXIMACIÓN EXPERIMENTAL EN
ZOOPLANCTON**

**Tesis
Entregada a La
Universidad De Chile
En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos
Para Optar Al Grado De
Doctor en Ciencias con Mención en Ecología Y
Biología Evolutiva
Facultad De Ciencias**

Por

Adriana Paz Aránguiz Acuña



Junio, 2009

Directores de Tesis

**Dr. Ramiro Bustamante Araya
Dr. Rodrigo Ramos Jiliberto**

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

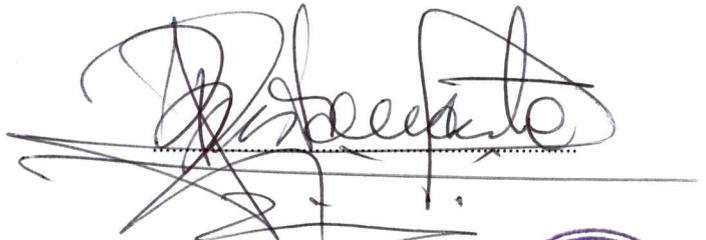
Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato

ADRIANA PAZ ARÁNGUIZ ACUÑA

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Ecología y Biología Evolutiva, en el examen de Defensa de Tesis rendido el día 25 de mayo de año 2009.

Directores de Tesis:

Dr. Ramiro Bustamante Araya



Dr. Rodrigo Ramos Jiliberto

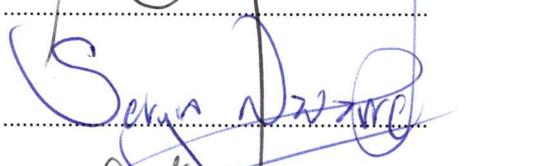


Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Mauricio Canals

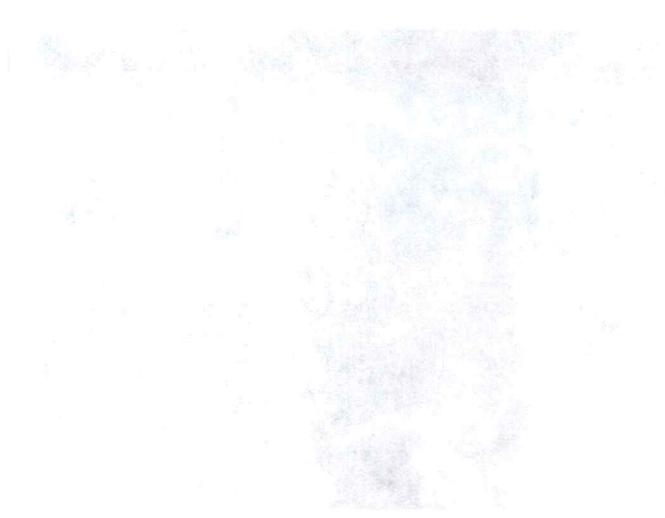


Dr. Sergio Navarrete



Dr. David Véliz





A mi hijo, Salvador.

BIOGRAFÍA



Adriana Paz Aránguiz Acuña es Biólogo Marino de la Universidad de Valparaíso, de donde egresó el año 2001, obteniendo el título el año 2002, con la tesis titulada “Modelación de la dinámica poblacional del recurso congrio dorado *Genypterus blacodes* Schneider (1801)”. El año 2004 ingresó al Programa de Doctorado en Ciencias mención Ecología y Biología Evolutiva de la Universidad de Chile, con el apoyo de la Beca CONICYT para estudios de postgrado. Durante el doctorado, realizó dos pasantías de investigación en el laboratorio de Dr. Sarma y Dr. Nandini en la Universidad Nacional Autónoma de México, financiadas por MECESUP y por la Vicerrectoría de Asuntos Académicos de la Universidad de Chile. El interés que ha dirigido sus labores académicas ha sido el análisis demográfico de poblaciones, y en la actualidad se suma el estudio experimental de ciclos de vida y ecotoxicología en zooplancteres, en particular rotíferos monogonontos. Actualmente se desempeña en el Laboratorio de Bioensayos del Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA, U. de Chile) y ejerce docencia en la Carrera de Biología Marina de la Universidad Andrés Bello.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis tutores, Dr. Rodrigo Ramos Jiliberto y Dr. Ramiro Bustamante Araya, de quienes valoro profundamente sus sugerencias y dirección; el tiempo, esfuerzo y comprensión dedicado en todo este largo proceso, y la experiencia y conocimiento volcado en este trabajo. A los miembros de mi Comisión, Dr. Mauricio Canals, Dr. Sergio Navarrete y Dr. David Véliz, quienes generosamente colaboraron con importantes sugerencias y oportunos comentarios que contribuyeron a incrementar la calidad de los manuscritos.

Al Director del Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA, U. de Chile), Dr. Italo Serey, y particularmente a la Jefe del Laboratorio de Bioensayos de dicho Centro, Sra. María Isabel Olmedo y al personal del laboratorio a su cargo, donde realicé gran parte de mi trabajo experimental.

Mi gratitud enorme al Dr. SSS Sarma y a la Dra. Nandini Sarma, de la Universidad Nacional Autónoma de México, quienes hicieron posible que aprendiera el correcto manejo de rotíferos, y generosamente me recibieron junto a mi hijo en diversas oportunidades en su laboratorio. Sin su muy generosa ayuda, paciencia, soporte y cariño fraternalísimo, sin duda alguna esta tesis no habría alcanzado la culminación esperada. Asimismo, agradezco también a todo el laboratorio de Ecología Acuática de la FES Iztacala, mis amigos recordados y queridos Diego Chaparro, Gerzon García, Cecilia Enríquez y Rocío Fernández, cuyo cariño y ayuda en el laboratorio me sostuvieron en mis travesías al hermoso país del norte.

Al Dr. Manuel Serra del Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva de la Universidad de Valencia, España, por toda su inestimable y atenta ayuda.

A mis queridos compañeros de "Rotifera-Chile", José Luis Carvajal, Ana Karina Carriel y Verónica Toledo, por su tremendo apoyo, compañía y amistad, tanto en las productivas sesiones de seminario que tuvimos durante estos años, como en las salidas a los lagos y tranques de la zona central, sesiones de fotos, conteos de experimentos, y otras más lúdicas.

A quienes generosamente me brindaron su tiempo y ayuda en alguna etapa de los análisis realizados: Sergio Alvarado, Mauricio Carter y Leslie Garay.

A mis muy queridos compañeros y amigos del laboratorio de Ecología, de cuerpo presente y los que permanecen en el recuerdo, quienes fueron receptores de todas mis



penas, alegrías e inquietudes durante estos años: Alicia Arredondo, Pablo Becerra, Paulina González, Silvina Ippi, Wara Marcelo, Ronny Zúñiga y Yuri Zúñiga.

Finalmente, a mis familiares y amigos, quienes me ayudaron en lo principal, con su cariño, amistad, preocupación y cuidando a mi hijo Salvador para que yo pudiera trabajar con mayor tranquilidad: mi papá, mi prima Sara, mis amigos Alicia Arredondo, Anita Carriel, Alejandra Paredes, Boris Canales, Claudia Quiróz, Paz Ovalle, Sandra Núñez y hermano, Carolina Miranda y familia, Ximena Molina y familia, Fabiola & Mario, Malu & Julio, Panchita & Chifla, Astrid & Pato, Javiera & José, Wara & Iván, Carolina & José Luis. Para todos ellos mi gratitud más sincera y comprometida, sin su feliz presencia en nuestras vidas, el costo personal e involuntario para Salvador no habría sido compensado con el beneficio de este logro.

Esta tesis fue realizada con el apoyo del Instituto de Ecología y Biodiversidad (ICM-P05-002), y mi sostenimiento fue parcialmente cubierto por las becas CONICYT para estudios de postgrado y término de tesis. Agradezco también el financiamiento recibido de MECESUP y de la Vicerrectoría de Asuntos Académicos de la Universidad de Chile través de las becas para Pasantías Cortas de Investigación.



INDICE DE MATERIAS



Dedicatoria.....	ii
Biografía.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice de Materias.....	vi
Lista de Tablas.....	viii
Lista de Figuras.....	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Literatura citada.....	9
Capítulo I. BENEFICIOS, COSTOS Y REACTIVIDAD DE DEFENSAS INDUCIBLES: UNA PRUEBA EXPERIMENTAL CON ROTÍFEROS BRACHIÓCIDOS.....	20
Resumen.....	21
Introducción.....	23
Materiales y Métodos.....	28
Resultados.....	33
Discusión.....	40
Literatura citada.....	45
Capítulo II. COMPROMISOS ENTRE EXPRESIÓN DE DEFENSAS INDUCIBLES Y APTITUD COMPETITIVA EN ROTÍFEROS.....	52
Resumen.....	53
Introducción.....	55
Materiales y Métodos.....	59
Resultados.....	64
Discusión.....	72
Literatura citada.....	76

CAPÍTULO III. DEFENSAS INDUCIBLES COMO PROMOTORAS DE COEXISTENCIA ENTRE COMPETIDORES ZOOPLANCTÓNICOS.....	83
Resumen.....	84
Introducción.....	85
Materiales y Métodos.....	89
Resultados.....	92
Discusión.....	97
Literatura citada.....	100
DISCUSIÓN GENERAL.....	106
Literatura citada.....	112
APÉNDICE.....	115



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros estimados (\pm SE) de las respuestas funcionales de *A. brightwelli* para las dos especies presa en condiciones con y sin defensa. Las curvas tipo II, de la forma $y = ax/(1 + aHx)$, fueron ajustadas mediante mínimos cuadrados ($p < 0.001$).



LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Estimador del costo de la defensa para las dos especies de este estudio, calculado como el complemento del cociente entre las tasas de intrínsecas de crecimiento poblacional con inducción (> 0.025 *Asplanchna*-mL⁻¹) y sin inducción (control y 0.005 *Asplanchna*-mL⁻¹). Barras de error corresponden a IC 95%. Los valores son significativamente diferentes (t-test, $p < 0.001$).

Figura 2. Beneficio bruto de la defensa de las especies presa en respuesta a *A. brightwelli*, evaluado como el cociente entre los parámetros de la respuesta funcional tipo II (a : tasa de ataque, H : tiempo de manipulación) con (0.1 *Asplanchna*-mL⁻¹) y sin defensa. Asteriscos señalan cocientes significativos (3000 permutaciones).

Figura 3. Reactividad de la defensa inducible de las especies presa en respuesta a kairomona de *A. brightwelli*. Panel izquierdo: tiempo de exposición requerido para inducir incremento de los atributos morfológicos analizados en el 50% de la población de presas (A: espina anterior, B: espina posterior y C: ancho corporal). Panel derecho: concentración de kairomona requerida para inducir incremento de los atributos morfológicos analizados en el 50% de la población de presas (D: espina anterior, E: espina posterior y F: ancho corporal). Barras de error corresponden a IC 95% y asteriscos muestran diferencias significativas entre especies.

CAPÍTULO II

Figura 1. Relación entre densidad de recurso (*C. vulgaris*) y las tasas intrínsecas de crecimiento de *Brachionus calyciflorus*: no defendido en línea continua y círculo lleno, y

defendido en línea segmentada y círculo vacío. Se indican parámetros de r_{max} y R^* para ambas curvas

Figura 2. Relación entre densidad de recurso (*C. vulgaris*) y las tasas intrínsecas de crecimiento de *Brachionus havanaensis*: no defendido en línea continua y círculo lleno, y defendido en línea segmentada y círculo vacío. Se indican parámetros de r_{max} y R^* para ambas curvas.

Figura 3. Umbrales de recurso para crecimiento cero (A) y tasa máxima de crecimiento (B) de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* creciendo aisladamente en medio fresco (sin inducción de defensa) y medio precondicionado con infoquímico del depredador *A. brightwelli* (inductor de defensa). Las barras de error corresponden a IC 95%. Los asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (ANOVA, $P < 0.05$).

Figura 4. Densidad poblacional media en experimentos de competencia entre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en: (A) medio fresco, y (B) medio precondicionado con infoquímico de depredador. Barras de error corresponden a IC 95%. Asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Figura 5. Coeficientes de variación de las densidades poblacionales medias en experimentos de competencia entre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en: (A) medio fresco, y (B) medio precondicionado con infoquímico de depredador. Barras de error corresponden a IC 95%. Asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (Tukey, $P < 0.005$).

CAPTULO III

Figura 1. Densidades poblacionales y coeficiente de variación de densidades poblacionales de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* compitiendo por un recurso único, sometidos a depredación de *A. brightwelli*. A y C: sólo con efectos letales; B y D: con efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%, y asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (Tukey, $P < 0.005$).

Figura 2. Índice de Diversidad de Shannon en experimentos conducidos en distintas densidades de recurso con A: sólo efectos letales de depredación y B: con efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%.

Figura 3. Probabilidad de persistencia de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en distintas densidades de recurso con A: sólo efectos letales de depredación y B: con efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%.

APÉNDICE

Figura 1. Cambios morfológicos inducidos por infoquímicos del depredador *Asplanchna brightwelli* en rotíferos herbívoros. A-C, *Brachionus calyciflorus* y D-F, *B. havanaensis*. A y D previo a la exposición al infoquímico, B y E tras 2 días de exposición a la señal, y C y F, tras 4 días de exposición a la señal.

Figura 2. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* y B) *Brachionus havanaensis* en el tiempo, expuestos a infoquímico (kairomona) de depredador, en niveles: control, 0.005, 0.1 y 0.5 *Asplanchna*-mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%

Figura 3. Tasa intrínseca de crecimiento de poblaciones experimentales de A) *Brachionus calyciflorus*, y B) *Brachionus havanaensis* expuestos seis concentraciones de kairomona de depredador, obtenidas de agua preconditionada con seis densidades distintas del depredador *Asplanchna*, más un control. Diferencias son señaladas con letras diferentes.

Figura 4. Consumo de *Asplanchna brightwelli* sobre un gradiente de presas *B. calyciflorus* en su condición no defendida (A) y defendida (B), y *B. havanaensis* no defendida (C) y defendida (D).

Figura 5. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* y B) *Brachionus havanaensis* en el tiempo, creciendo aisladamente en distintos niveles de recurso: 0.25, 0.5, 1 y $2 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%.

Figura 6. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* en condición no defendido, B) *Brachionus calyciflorus* en condición defendido, C) *Brachionus havanaensis* en condición no defendido, y D) *Brachionus havanaensis* en condición defendido en el tiempo, creciendo aisladamente en distintos niveles de recurso: 0.5, 1, 2 y $4 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La mayoría de las especies viven inmersas en complejas redes de interacciones, tanto directas como indirectas. En una interacción directa, la especie iniciadora tiene un efecto directo sobre la especie receptora si un cambio en una propiedad de la especie iniciadora produce un cambio en una propiedad de la especie receptora. La alteración en terceras especies no es requerida para transmitir tal efecto. En cambio, se producen efectos indirectos si la transmisión del efecto entre iniciador y receptor requiere un cambio en propiedades de otra especie (transmisora) (Abrams 1995, 2007, Abrams *et al.* 1996).

Dependiendo de la fuerza de los efectos indirectos, estos podrían favorecer o neutralizar los efectos directos, lo que arroja un resultado neto que puede no ser predicho basado en el conocimiento de las interacciones directas (Yodzis 1988). De esta manera, las interacciones indirectas a menudo son cuantitativamente tan importantes como las relaciones directas (Menge 1997).

Existe un creciente interés en el estudio de la influencia de los efectos indirectos sobre interacciones entre especies y sobre la dinámica de la comunidad (Sih *et al.* 1985, Kerfoot & Sih 1987, Huang & Sih 1990, Peacor & Werner 2001, Mouritsen & Poulin 2005, Griffin & Thaler 2006, van der Stap *et al.* 2007, Ramos-Jiliberto *et al.* 2008). La interacción depredador-presa es señalada como determinante en la estructuración de los sistemas naturales (Murdoch & Bence 1987, Abrams 1992, véase Abrams 2000 y referencias). Por ejemplo, la depredación es uno de los factores que mayor impacto genera sobre las interacciones competitivas, existiendo variados resultados: experimentos diseñados para evaluar el efecto de depredadores sobre presas compitiendo

han mostrado diversos resultados posibles, con un aumento o una disminución de la fuerza de la interacción competitiva (ver Chase *et al.* 2002).

Se ha reconocido que los efectos de un depredador pueden extenderse más allá de las especies que consumen. El consumo de una presa puede afectar indirectamente a otros depredadores alternativos (generando competición explotativa), así como a los recursos de la presa (lo que genera, por ejemplo, cascadas tróficas). Los depredadores, sin embargo, también interactúan con sus presas induciendo cambios en su fenotipo. Distintas especies de presa a menudo responden a los cambios en la densidad de sus predadores y al aumento en el riesgo de depredación mediante la modificación de su comportamiento, morfología o atributos de historia de vida (Tollrian & Harvell 1999, Anholt *et al.* 2000). Por lo tanto, el consumo de una presa puede afectar a especies que interactúan con ella a través de efectos indirectos mediados por un cambio en la densidad de la población presa (interacción indirecta mediada por densidad, DMII, Peacor & Werner 2001) o por efectos indirectos mediados por cambio en rasgos de la presa (interacciones indirectas mediadas por rasgo, TMII, Peacor & Werner 2001).

Cambios dinámicos en rasgos fenotípicos que afectan interacciones interespecíficas pueden ser muy importantes en la comprensión de las dinámicas poblacionales de las especies interactuantes. Estudios teóricos (Abrams 1992, 1995, 1999, 2000, Matsuda *et al.* 1996, Krivan 1996, 1997, Fryxell & Lundberg 1998, Krivan & Schmitz 2004) y evidencia empírica (Werner & Anholt 1996, Peacor 2002, Werner & Peacor 2003) señala que la presencia de tal dinamismo puede introducir nuevas

interacciones o puede cambiar la forma funcional de las interacciones que estarían presentes en ausencia de dichos rasgos.

Dentro de las respuestas plásticas a la presencia de un depredador se encuentran las defensas antidepredatorias inducibles, las que pueden definirse como el mecanismo inducible que incrementa la adecuación biológica en presencia de depredadores (Harvell & Tollrian 1999). Las defensas inducibles son respuestas activadas por la presencia de un enemigo natural que confiere algún grado de resistencia a ataques posteriores (Harvell 1990). Este tipo de defensas son propias de poblaciones sometidas a riesgo de depredación variable y en que la presa es capaz de percibir señales ambientales informativas del cambio en el riesgo de depredación. Estas respuestas deben ser efectivas, en cuanto tienen como consecuencia un consumo reducido por parte del depredador, sin embargo, una defensa inducible incurriría en un costo el cual debe ser balanceado por los beneficios de adquirirla (Kohler & McPeck 1989, Harvell 1990, Padilla & Adolph 1996, Tollrian & Harvell 1999, Relyea 2002, Benard 2004).

Posibles costos a nivel de individuos de esta plasticidad incluyen: 1) costos de mantención de la respuesta sensorial y de las vías que inducen las respuestas plásticas, 2) costos de producción, 3) costos genéticos, en los que los genes relacionados con la plasticidad interactúan con otros genes, y cuyo resultado es una adecuación biológica reducida, y finalmente 4) costos de adquisición de información que son requeridos para detectar cambios en el ambiente (Lima 1998, Tollrian & Harvell 1999, Relyea 2002, Benard 2004).

El desarrollo de defensas inducibles ha sido documentado en un sinnúmero de taxa, como por ejemplo: defensas químicas en plantas (Eldestein-Keshet & Rausher 1989, Rausher *et al.* 1993, Berenbaum & Zangerl 1999, de Mazancourt & Loreau 2000), y algas (Lürling 2003, Rhode *et al.* 2004, Verschoor *et al.* 2004, Ceh *et al.* 2005), polimorfismos en protozoos (Havel 1987), formación de espinas en briozoos marinos (Harvell 1984), presencia de “neck teeth” y yelmo en cladóceros (Dodson 1989, Jeschke & Tollrian 2000, Riessen & Young 2005, Petrušek *et al.* 2009), migración vertical en zooplancton de agua dulce (Lampert 1989) y marino (Bollens *et al.* 1992), cambios en la forma corporal en peces (Brönmark & Miner 1992), en la forma de la concha de moluscos (Trussell & Smith 2000) y cirripedios (Lively 1986), adelantamiento del tiempo de metamorfosis en ranas (Barnett & Richardson 2002) y formación de espinas y elongación de apéndices en rotíferos (Gilbert 1966, 1999, Stemberger & Gilbert 1987).

En este último grupo, se conocen diversas especies de distintos géneros que exhiben cambios morfológicos, elongación de espinas y/o apéndices, en respuesta a los infoquímicos (kairomona) producidos por distintos depredadores, como son otros rotíferos (particularmente del género *Asplanchna*), copépodos e incluso vertebrados (Enríquez-García *et al.* 2007). Los costos de fenotipos inducidos de rotíferos han sido experimentalmente evaluados a nivel de sobrevivencia, fecundidad y potencial reproductivo (Gilbert 1980, Epp & Lewis 1984, Stemberger 1988), sin embargo, no existe real claridad acerca de su tipo y magnitud, y los resultados son a menudo contradictorios (Gilbert & Stemberger 1984, Stemberger & Gilbert 1987, Gilbert 1999).

Debido a que los efectos indirectos son transmitidos a las otras especies vía cadena de interacciones directas o por cambios en la magnitud de los efectos directos *per cápita* (Wootton 1994, Morin 1999), las consecuencias de la depredación pueden extenderse, vía efectos indirectos, a muchas de las poblaciones componentes de la trama de interacciones. Es por ello que aparte de los costos a nivel individual y poblacional ya señalados, una defensa puede reflejar otro tipo de costos que emergen solo dentro del ámbito comunitario, como son incremento en el riesgo de ser depredados por otras especies, y disminución en la tasa de consumo de las presas sobre sus recursos, lo que podría reducir su capacidad competitiva (Lubchenco & Gaines 1981, Lima 1998, Sih *et al.* 1998, Agrawal & Karban 1999, Dicke 1999, Dicke & Grostal 2001, Harvell 1990, Tollrian & Harvell 1999, Bolker *et al.* 2003, Werner & Peacor 2003, Peacor & Werner 2004). Estos costos han sido denominados costos ecológicos (Strauss *et al.* 2002), o costos ambientales (Harvell 1990, Tollrian & Harvell 1999). De esta forma, al alterar la red de interacciones las defensas inducibles son potencialmente capaces de generar múltiples efectos indirectos, no evidentes sobre la base del conocimiento de las interacciones directas, y eventualmente ejercer un rol significativo en el funcionamiento de la comunidad (Huang & Sih 1990, Werner 1991, Werner & Anholt 1996, Peacor 2002, Werner & Peacor 2003).

Asimismo, se ha documentado a nivel teórico (Ramos-Jiliberto & González-Olivares 2000, Ramos-Jiliberto *et al.* 2002, Ramos-Jiliberto 2003, Rinaldi *et al.* 2004, Vos *et al.* 2004a, b, Yamauchi & Yamamura 2005) y empírico (Fussman *et al.* 2000, Verschoor *et al.* 2004, van Veen *et al.* 2005, van der Stap *et al.* 2007) el comportamiento

de sistemas depredador-presa y cadenas tritróficas donde el nivel intermedio presenta defensas del tipo inducible. Estos estudios sugieren que la presencia de estas defensas en respuesta a los efectos no letales de la depredación tiene un efecto estabilizante sobre los sistemas y promueven la coexistencia de las especies.

En síntesis, la alteración de rasgos plásticos puede conformar una defensa inducible, lo que resulta en compromisos entre disminución de la tasa de depredación y reducción del crecimiento poblacional. Finalmente, al considerar que estas interacciones indirectas funcionan dentro de una estructura trófica compleja, los efectos de un depredador sobre su presa pueden propagarse a través de la red, pudiendo resultar en modificación de las relaciones competitivas entre especies presa. Resulta poco conocido el mecanismo por el cual estos efectos son transmitidos (interacciones directas) y bajo qué condiciones pudiera verse alterado el resultado neto observado.

En esta tesis doctoral se desarrolló experimentalmente un sistema modelo de 4 especies y 3 niveles tróficos: dos poblaciones de rotíferos herbívoros (*Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*) compartiendo un recurso único (*Chlorella vulgaris*) y rotífero carnívoro (*Asplanchna brightwelli*). El objetivo central fue evaluar las consecuencias de los efectos no letales del depredador sobre la dinámica de poblaciones presa y sus interacciones competitivas.

Se organizaron los capítulos según un criterio de creciente complejidad en el montaje experimental. En el capítulo I se abordó el efecto de las defensas inducibles vinculando el nivel individual con el poblacional. Específicamente, se cuantificó la modificación de estructuras morfológicas de las dos especies herbívoras *B. calyciflorus*

y *B. havanaensis* creciendo de manera aislada, y se estimaron tiempos y concentraciones umbrales de inducción. De esta manera se establece una relación entre reactividad a la señal ambiental y efectividad de la defensa.

En el capítulo II se determinó la existencia de compromiso entre la expresión de defensas antidepredatorias inducibles y la aptitud competitiva en especies de rotíferos herbívoros. De manera específica se probó que (1) un consumidor que disminuye su vulnerabilidad a la depredación via expresión de defensas inducibles aumenta su requerimiento de recurso para mantener un crecimiento poblacional cero, disminuyendo por tanto su potencial competitivo; y (2) la inducción de defensas inducibles promueve un cambio cualitativo en el resultado de la competición por recurso entre dos herbívoros que comparten un recurso.

Finalmente, en el capítulo III se evaluó la capacidad de las defensas inducibles como promotoras de coexistencia entre especies, a través de un incremento en la uniformidad y la probabilidad de persistencia de dos especies de rotíferos que comparten depredadores y recursos.

Estos tres estudios cubren aspectos relevantes y no explorados previamente, en los tópicos referentes a la forma de expresión de las defensas inducibles en rotíferos, la evaluación de costos poblacionales y comunitarios de la plasticidad fenotípica, así como la estructuración comunitaria en términos de diversidad, exclusión y persistencia de poblaciones, mediadas por respuestas plásticas.

Literatura citada

- Abrams PA (1992) Predator that benefit prey and prey that harm predators: unusual effects of interacting foraging adaptations. *Am. Nat.* 140: 573-600.
- Abrams PA (1995) Implications of dinamicly variable traits for identifying, clasifying and measuring direct and indirect effects in ecological communities. *Am. Nat* 146: 112-134.
- Abrams PA (1999) Is predator-mediated coexistence possible in unestable systems?. *Ecology* 80 (2): 608-621.
- Abrams PA (2000) The impact of Habitat Selection on the Spatial Heterogeneity of Resources in varying environments. *Ecology* 81: 2902-2913.
- Abrams PA (2007) Defining and measuring the impact of dynamic traits on interspecific interactions. *Ecology* 88: 2555-2562.
- Abrams PA, Menge BA, Mittelbach GG, Spiller DA & P Yodzis (1996) The Role of Indirect Effects in Food Webs. In: Polis GA & KÖ Winemiller (Eds) *Food Webs. Integration of Patterns & dynamics*. Chapman & Hall. New York.
- Agrawal AA & Karban R (1999) Why Induced defenses may be favoured over constitutive strategies in plants. In: Tollrian R & Harvell CD (Eds) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 45-61.

- Anholt BR, Werner E & Skelly DK (2000) Effect of food and predators on the activity of four larval ranid frogs. *Ecology* 81: 3509-3521.
- Barnett HK & JS Richardson (2002) Predation risk and competition effects on the life-history characteristics of larval Oregon spotted frog and larval red-legged frog. *Oecologia* 132:436-444.
- Benard MF (2004) Predator-Induced Phenotypic Plasticity in Organisms with Complex Life Histories. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35:651-73
- Berenbaum MR & AR Zangerl (1999) Coping with life as a menu option: inducible defenses of the wild parsnip. pp. 10-32. In: Harvell, D. and Tollrian (eds.) *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Bollens SM, BW Frost & TS Lin (1992) Recruitment, growth, and diel vertical migration of *Euphausia pacifica* in a temperate fjord. *Mar. Biol.* 114: 219-228.
- Bolker B, Holyoak M, Krivan V, Rowe L & Schmitz O (2003) Connecting theoretical and empirical studies of trait-mediated interactions. *Ecology* 84, 1101-1114.
- Brönmark C & JG Miner (1992) Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science* 258:1348-1350.
- Ceh J, Molis M, Dzaha TM & M Wahl (2005) Induction And Reduction Of Anti-Herbivore Defenses In Brown And Red Macroalgae Off The Kenyan Coast. *J. Phycol.* 41: 726-731

- Chase JM, Abrams PA, Grover JP, Diehl S, Chesson P, Holt RD, Richards SA, Nisbet RM & TJ Case (2002) The interaction between predation and competition: a review and synthesis. *Ecology Letters*, 5: 302–315.
- de Mazancourt C & M Loreau (2000) Grazing optimization, nutrient cycling, and spatial heterogeneity of plant-herbivore interactions: should a palatable plant evolve?. *Evolution* 54 (1): 81-92.
- Dicke M (1999) Evolution of induced indirect defense of plants. In: Tollrian R & Harvell CD (Eds), *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 62-88.
- Dicke M, & Grostal P (2001) Chemical detection of natural enemies by arthropods: An Ecological Perspective. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 32: 1-23.
- Dodson S (1989) Predator-induced reaction norms. *BioScience* 39: 447-452.
- Eldestein-Keshet L & MD Rausher (1989) The effects of inducible plant defenses on herbivore populations. 1. Mobile Herbivores in continuous time. *Am. Nat.* 133 (6): 787-810.
- Enríquez-García C, Chaparro-Herrera DJ, Nandini S & Sarma SSS (2007) Life history strategies of *Brachionus havanaensis* subject to kairomones of vertebrate and invertebrate predators. *Chemistry and Ecology* 23(4): 303-313
- Epp RW & Lewis WM (1984) Cost and speed of locomotion for rotifers. *Oecologia* 61:289-292.

- Fryxell JM & Lundberg P (1998) Individual Behavior and Community Dynamics. In: Population and Community Biology Series 20. Chapman and Hall, NY, pp 70-79.
- Fussmann GF, Ellner Sp, Shertzer KW & NG Hairston Jr. (2000) Crossing the Hopf Bifurcation in a Live Predator-Prey System. *Science* 290: 1358-1360.
- Gilbert JJ (1966) Rotifer Ecology and Embryological Induction. *Science* 151: 1234-1237.
- Gilbert JJ (1980) Further observations on developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Freshw. Biol.* 10: 281-294.
- Gilbert J (1999) Kairomone-Induced Morphological Defenses in Rotifers. In: Tollrian R & CD Harvell (eds). *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press.
- Gilbert JJ & RS Stemberger (1984) Control of *Keratella* populations by interference competition from *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.* 30: 180-188.
- Griffin & Thaler (2006) Insect predators affect plant resistance via density- and trait-mediated indirect interactions. *Ecol. Lett.* 9: 338 – 346.
- Harvell CD (1984) Predator-induced defense in a marine bryozoan. *Science* 224: 1357-1359.
- Harvell CD (1990) The ecology and evolution of inducible defenses. *Quarterly Review of Biology* 65: 323-340.

- Harvell CD & Tollrian R (1999) Why Inducible Defenses?. In: Tollrian R & Harvell CD (Eds) The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University Press. Pp: 3-9.
- Havel JE (1987) Predator-Induced Defenses: A Review. In: Kerfoot WC & A Sih (Eds) Predation. Direct and indirect impacts on aquatic communities. University Press Of New England. London.
- Huang C & A Sih (1990) Experimental studies on behaviorally mediated, indirect interactions through a shared predator. *Ecology* 71: 1515-1522.
- Jeschke JM & R Tollrian (2000) Density-dependent effects of prey defences. *Oecologia* 123: 391-396.
- Kerfoot WC & Sih A (1987) Predation. Direct and indirect impacts on aquatic Communities. University Press Of New England. London.
- Kohler SL & MA McPeck (1989) Predation risk and the foraging behavior of competing stream insects. *Ecology* 70 (6): 1811-1825.
- Krivan V (1996) Optimal foraging and predator-prey dynamics. *Theor. Popul. Biol.* 49: 265-290.
- Krivan V (1997) Dynamic ideal free distribution: effects of optimal patch choice on predator-prey dynamics. *Am. Nat.* 149: 164-178.
- Krivan V & Schmitz OJ (2004) Trait and density mediated indirect interactions in simple food webs. *Oikos* 107: 239-250.

- Lampert W (1989) The adaptive significance of diel vertical migration of zooplankton. *Functional Ecology* 3: 21-27.
- Lima S (1998) Nonlethal effects in the ecology of Predator-Prey Interactions. What are the ecological effects of antipredator decision-making?. *Bioscience* 48 (1): 25-34.
- Lively CM (1986) Predator-induced shell dimorphism in the acorn barnacle *Chthamalus anisopoma*. *Evolution* 40: 232-242.
- Lubchenco J & SD Gaines (1981) An unified approach to marine plant-herbivore interactions. I. Populations and Communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 405-437.
- Lüring M (2003) The effect of substances from different zooplankton species and fish on the induction of defensive morphology in the green alga *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Plankton Research* 25: 979-989.
- Matsuda H, Michio H & Abrams P (1996) Effects of predator-specific defense on biodiversity and community complexity in two-trophic-level communities. *Evol. Ecol.* 10: 13-28.
- Menge B (1997) Dection of Direct Versus Indirect Effects: Were Experiments Long Enough?. *Am. Nat.* 149: 801-823
- Morin PJ (1999) *Community Ecology*. Blackwell Science, Inc.
- Mouritsen KN & Poulin R (2005) Parasites boosts biodiversity and changes animal community structure by trait-mediated indirect effects. *Oikos* 108: 344-350.

- Murdoch WW & Bence JR (1987) General predators and unstable prey populations. In: Kerfoot C & Sih A (Eds) Predation in aquatic communities: direct and indirect effects. University Press of New England, Hanover, New Hampshire, USA. Pp: 17–29.
- Padilla DK & Adolph SC (1996) Plastic inducible morphologies are not always adaptive: the importance of time delays in a stochastic environment. *Evolutionary Ecology* 10: 105-117
- Peacor SD (2002) Positive effect of predators on prey growth rate through induced modifications of prey behaviour. *Ecology Letters* 5: 77-85.
- Peacor SD & EE Werner (2001) The contribution of trait-mediated indirect effects to the net effects of a predator. *PNAS* 98 (7): 3904-3908.
- Peacor SD & Werner EE (2004) How dependent are species-pair interactions strengths on other species in the food web? *Ecology* 85: 2754–2763.
- Petrusek A, Tollrian R, Schwenk K, Haas A & Laforsch C (2009) A “crown of thorns” is an inducible defense that protects *Daphnia* against an ancient predator. *PNAS* 106: 2248–2252.
- Ramos-Jiliberto R (2003) Population dynamics of prey exhibiting inducible defenses: the role of associated costs and density-dependence. *Theoretical Population Biology* 64: 221-231.

- Ramos-Jiliberto R & E González-Olivares (2000) Relating behavior to population dynamics: a predator-prey metaphysiological model emphasizing zooplankton diel vertical migration as an inducible response. *Ecological Modelling* 127: 221-233.
- Ramos-Jiliberto R, González-Olivares E & F Bozinovic (2002) Population-level consequences of antipredator behavior: a metaphysiological model based on the functional ecology of the leaf-eared mouse. *Theor. Popul. Biol.* 62: 63-80.
- Ramos-Jiliberto R, Mena-Lorca J, Flores JD, Morales-Álvarez W (2008) Role of inducible defenses in the stability of a tritrophic system. *Ecological complexity* 5: 183-192.
- Rausher MD, Iwao K, Simms EL, Ohsaki N and D Hall (1993) Induced resistance in *Ipomoea purpurea*. *Ecology* 74 (1): 20-29.
- Relyea RA (2002) Costs of phenotypic plasticity. *Am Nat* 159: 272-282.
- Rhode S, Molis M & M Wahl (2004) Regulation of anti-herbivore defence by *Fucus vesiculosus* in response to various cues. *Journal of Ecology* 92: 1011-1018.
- Riessen HP & JD Young (2005) Daphnia defense strategies in fishless lakes and ponds: one size does not fit all. *Journal of Plankton Research* 27 (6): 531-544.
- Rinaldi S, Gragnani A & S De Monte (2004) Remarks on antipredator behavior and food chain dynamics. *Theor. Popul. Biol.* 66: 277-286.

- Sih A, Crownley PH, McPeck MA, Petranka JW & Strohmeir K (1985) Predation, competition and prey communities: a review of field experiments. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 269-311.
- Sih A, Englund G & Wooster D (1998) Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends in Ecology and Evolution*. 13: 350-355.
- Stemberger RS (1988) Reproductive costs and hydrodynamic benefits of chemically induced defenses in *Keratella testudo*. *Limnol Oceanogr* 33: 593-606
- Stemberger RS & JJ Gilbert (1987) Defenses of planktonic rotifers against predators. In: Kerfoot WC & A Sih (Eds) *Predation. Direct and indirect impacts on aquatic communities*. University Press Of New England. London.
- Strauss S Y, Rudgers JA, Lau JA & Irwin RE (2002) Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 278-285.
- Tollrian R & CD Harvell (1999). *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press. London
- Trussell GC & LD Smith (2000) Induced defenses in response to an invading crab predator: An explanation of historical and geographic phenotypic change. *PNAS* 97(5): 2123-2127.
- van der Stap I, Vos M, Verschoor AM, Helmsing NR & Mooij WM (2007) Induced defenses in herbivores and plants differentially modulate a trophic cascade. *Ecology* 88: 2474-2481.

- Van Veen F, van Holland PD & HC Godfray (2005) Stable coexistence in insect communities due to density- and trait-mediated indirect effects. *Ecology* 86 (12): 1382-1389.
- Verschoor AM, Vos M & I van der Stap (2004) Inducible defences prevent strong population fluctuations in bi- and tritrophic food chains *Ecology Letters* 7: 1143–1148.
- Vos M, Kooi BW, DeAngelis DL & WM Mooij (2004a) Inducible defences and the paradox of enrichment. *OIKOS* 105: 471-480.
- Vos M, Verschoor AM, Kooi BW, Wäckers FL, DeAngelis DL & WM Mooij (2004b) Inducible defenses and trophic structure. *Ecology*, 85(10): 2783–2794.
- Werner EE (1991) Nonlethal effects of a predator on competitive interactions between two anuran larvae. *Ecology* 72 (5): 1709-1720.
- Werner EE & BR Anholt (1996) Predator-Induced Behavioral Indirect Effects: Consequences to Competitive Interactions in Anuran Larvae. *Ecology* 77 (1): 157-169.
- Werner EE & SD Peacor (2003) A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology* 84 (5): 1083-1100.
- Wootton JT (1994) Predicting direct and indirect effects: an integrated approach using experiments and path analysis. *Ecology* 75 (1): 151-165.

Yamauchi A & N Yamamura (2005) Effects of defense evolution and diet choice on population dynamics in a one-predator-two-prey system. *Ecology* 86: 2513-2524.

Yodzis P (1988) The indeterminacy of ecological interactions as perceived through perturbation experiments. *Ecology* 69: 508-515.

CAPÍTULO I.

BENEFICIOS, COSTOS Y REACTIVIDAD DE DEFENSAS

INDUCIBLES: UNA PRUEBA EXPERIMENTAL CON

ROTIFEROS BRACHIÓNIDOS

Resumen

Defensas antidepredatorias inducibles, son un importante tipo de respuesta por parte de diversas especies presas a señales químicas liberadas por depredadores. La reactividad morfológica ante cambios en las señales ambientales puede descomponerse en la capacidad de modificación fenotípica en función del tiempo de exposición al infoquímico y de la concentración del infoquímico. Se postula que la inducción de defensas muy costosas requerirá mayor tiempo de exposición al infoquímico y/o de mayor concentración de éste.

En rotíferos de agua dulce, *Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*, se probó experimentalmente la hipótesis de que especies capaces de desarrollar defensas que otorgan un mayor beneficio y son menos costosas, son más reactivas a la presencia de señales de depredadores, requiriendo un menor tiempo de exposición y una menor concentración de infoquímico para ser inducidas que aquellas especies con defensas menos beneficiosas y más costosas.

Ambas especies presentaron costos poblacionales asociados a la inducción de defensa antidepredatoria, que se traducen en una disminución de tasas de crecimiento en presencia de infoquímicos. Este costo fue mayor para *B. calyciflorus* que para *B. havanaensis*. Las modificaciones morfológicas de ambas especies constituyeron defensas efectivas. Estas defensas otorgaron un mayor beneficio bruto para *B. havanaensis* respecto a *B. calyciflorus*, estimado a través del cambio, ejercido por la inducción de defensas, en la respuesta funcional del depredador a la densidad de cada

una de las dos especies presa. La reactividad exhibida por *B. calyciflorus* fue mayor que la presentada por *B. havanaensis*, lo que sugiere que la relación beneficio/costo evaluada en poblaciones aisladas no explica diferencias en reactividad a la señal inductora.

Palabras clave: estrategia antidepredatoria, plasticidad fenotípica, umbrales de inducción, infoquímicos.

Introducción

En sistemas planctónicos, las defensas antidepredatorias inducibles representan un importante tipo de respuesta por parte de las presas a señales químicas liberadas por sus depredadores. Cuatro son los factores que se han identificado como necesarios para la evolución y persistencia de defensas inducibles: (1) la presión selectiva del agente inductor debe ser variable, (2) es necesaria una señal indicadora de amenaza confiable que active la defensa, (3) la defensa debe ser efectiva, y (4) una defensa inducible incurriría en un costo compensado por el beneficio de la defensa (Harvell 1990, Padilla & Adolph 1996, Tollrian & Harvell 1999, Relyea 2002).

La teoría predice que las respuestas fenotípicamente plásticas son inducidas en ambientes donde confieren una mayor adecuación biológica respecto del fenotipo no inducido (beneficio), mientras que en otros ambientes no son inducidas dado que presentan una menor adecuación biológica que el fenotipo no inducido (costo) (Stemberger 1988, Harvell 1990, Tollrian & Harvell 1999). A partir de esta consideración, se ha concluido que los organismos desarrollarán defensas en directa proporción al riesgo de depredación y en proporción inversa al costo de la defensa (Tollrian & Harvell 1999). Así, el beneficio de la defensa será máximo en cuanto se logre una mayor razón efectividad/costo, que será función del tiempo de exposición y de la intensidad de la señal ambiental requeridos para que la defensa sea gatillada, implicando un menor costo para ello (Harvell & Padilla 1990, Padilla & Adolph 1996, De Witt *et al.* 1998).

La presencia de señales ambientales confiables es crucial en el tipo de defensa que se verá favorecida en dicho ambiente (Padilla & Adolph 1996). Dado que los infoquímicos se pueden acumular en el medio, éstos constituyen buenas señales para gatillar defensas como las de tipo morfológico, que a menudo requieren un período de latencia desde que la señal es percibida hasta que la defensa es exhibida y que requieren de umbrales de concentración de infoquímico para su activación. Se postula que esto previene a las presas contra la formación de defensas costosas ante “falsas alarmas” (Tollrian & Harvell 1999, Duquette *et al.* 2005).

En rotíferos se han descrito varios tipos de defensas inducibles, destacando el desarrollo y elongación de espinas (Gilbert 1966, 1999, Stemberger & Gilbert 1987), así como conductas de evasión de depredadores (Gilbert & Hampton 2001, Gilbert & Kirk 1988), cambios en rasgos de historia de vida (Walz 1995), e incremento en la producción de deterrentes químicos (Félix *et al.* 1995, Walsh *et al.* 2006). Los rotíferos muestran una gran variabilidad interespecífica, e incluso interclonal, en el desarrollo de espinas en respuesta a la presencia de depredadores zooplanctónicos (Gilbert 1999, 2001), lo que ha sido reportado especialmente para la interacción brachiópidos-*Asplanchna* en aguas dulces (Gilbert 1966, Sarma 1993, Iyer & Rao 1996). La elongación de espinas anteriores y/o posteriores es una conspicua defensa antidepredatoria inducible, comúnmente observada en rotíferos brachiópidos, que confiere el beneficio de un reducido éxito en los ataques de sus depredadores (Nandini *et al.* 2003).

Existen varias especies de rotíferos que desarrollan espinas en respuesta a infoquímicos liberados por depredadores tales como *Asplanchna*, sin embargo es escasa la literatura que se ha enfocado en la evaluación de sus costos a nivel poblacional (Epp & Lewis 1984, Stemberger 1988). Si bien la relación entre producción de espinas y riesgo de depredación ha sido analizada para diversas especies de rotíferos (Garza-Mouriño *et al.* 2005, Enríquez-García *et al.* 2007, Green 2007, Pavón-Meza *et al.* 2007), especialmente brachióidos, muchos de los estudios que abordan este tipo de polimorfismos analizan la magnitud de la defensa tras un período prolongado de exposición a kairomonas, relativo al tiempo de vida del individuo. Esta aproximación, por tanto, no permite estimar el tiempo de exposición a infoquímicos requerido para la producción o elongación de espinas de una población experimental.

Gilbert (1966) mostró tempranamente que la inducción de fenotipos defendidos (exuberantes, según su propia definición) ocurre durante la formación de huevos producidos por madres cultivadas en un medio condicionado con *Asplanchna*, de manera tal que la inducción de la defensa ocurre de una generación a la siguiente. Sin embargo, defensas en rotíferos, así como en otros organismos, involucran un retardo desde que se produce el cambio en el ambiente hasta que el nuevo fenotipo está disponible. Por tanto, en un ambiente que es variable a la escala del ciclo de vida de un individuo, la rapidez de cambios ambientales podría ser mayor que la capacidad de un individuo de producir el fenotipo defendido (Levins 1968), lo que teóricamente reduciría la ventaja de la plasticidad (Padilla & Adolph 1996). Por tanto, en poblaciones naturales donde las generaciones se superponen, es esperable encontrar proporciones variables de fenotipos

defendidos y no defendidos dependiendo del momento en que la señal ambiental se hace perceptible para los individuos y del tiempo requerido para que cada individuo produzca una nueva generación.

Este aspecto resulta de interés dado que las densidades de poblaciones naturales de rotíferos depredadores alcanzan un máximo durante breves períodos del año (Nandini 1999), tras el cual sufren una fuerte declinación. Por tanto, una defensa eficiente en estos sistemas debiera involucrar una rápida respuesta a cambios en señales de depredadores.

La magnitud de las respuestas defensivas morfológicas desarrolladas en rotíferos se relaciona directamente con el tamaño corporal de la presa (Sarma 1993, Sarma *et al.* 1998, Nandini *et al.* 2003, Garza-Mouriño *et al.* 2005), sin embargo una misma especie presa responderá diferencialmente según el tipo de depredador (Duncan 1983, Enríquez-García *et al.* 2007). *Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis* son comunes habitantes coexistentes en cuerpos de agua dulce, cuyos rangos de tamaño son 180-250 μm , y 100-175 μm , respectivamente. Mientras *B. calyciflorus* pierde completamente o reduce de manera importante la longitud de sus espinas postero-laterales en ausencia de *Asplanchna* (Gilbert 2001), *B. havanaensis*, retiene largas espinas posteriores incluso durante largos períodos en ausencia de depredador (Garza-Mouriño *et al.* 2005). Sin embargo, esta especie muestra cambios morfológicos estacionales que, por lo general, se correlacionan fuertemente con la abundancia de *Asplanchna*. Por tanto se espera encontrar diferencias en las respuestas defensivas entre poblaciones de ambas especies, tanto en el tamaño relativo de sus estructuras, así como en la reactividad de su morfología ante cambios en las señales ambientales. Este último aspecto puede

descomponerse en dos rasgos específicos: la capacidad de modificación fenotípica en función del tiempo de exposición al infoquímico y la capacidad de respuesta en función de la concentración del infoquímico. Teóricamente es posible postular que defensas muy costosas deben expresarse sólo cuando éstas sean necesarias y por tanto su inducción requerirá de mayor tiempo de exposición al infoquímico y/o de mayor concentración de éste. Por el contrario, especies que presenten defensas poco costosas pueden ser más sensibles al riesgo de depredación.

Las diferencias reportadas entre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* respecto del tiempo de retención de defensas morfológicas tras la relajación de la depredación y el tamaño relativo de sus estructuras defensivas, permiten considerar a estas especies como modelos biológicos para someter a prueba la siguiente hipótesis: especies que presenten defensas que otorguen un mayor beneficio (protección contra depredadores) y que impongan un menor costo (disminución del crecimiento poblacional) serán más reactivas a la presencia de señales de depredadores, requiriendo un menor tiempo de exposición y una menor concentración de infoquímico para la inducción de la defensa que aquellas especies con defensas menos beneficiosas y más costosas..

A fin de cuantificar la reactividad de la respuesta defensiva al infoquímico, y sus costos asociados, se estimó la variación en rasgos morfológicos y tasas de crecimiento poblacional para los rotíferos presa *Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*, en función del tiempo de exposición a infoquímicos y de la concentración de infoquímicos liberados por el rotífero depredador *Asplanchna brightwelli*. La evaluación del "beneficio" asociado a la defensa se estimó a través del cambio, ejercido por la

inducción de defensas, en la respuesta funcional del depredador a la densidad de cada una de las dos especies presa.

Materiales y Métodos

Cultivo de especies experimentales

El depredador *Asplanchna brightwelli* y los herbívoros *B. calyciflorus* y *B. havanensis* fueron aislados de lagos templados de Chile Central: Tranque Pitama (33°27'S-70°49'O) y Embalse Rapel (34°09'S-71°26'O). Se iniciaron cultivos monoclonales a partir de una única hembra amíctica que fueron mantenidos bajo condiciones de laboratorio por dos meses antes de su uso en experimentos. Tanto para mantener los cultivos como para llevar a cabo los experimentos se utilizó agua dulce reconstituída (U.S. EPA, Weber 1993) enriquecido con vitaminas: 100 mg·L⁻¹ tiamina (B1), 0.5 mg·L⁻¹ biotina, y 0.5 mg·L⁻¹ cianocobalamina (B12).

Los cultivos stock de rotíferos presa fueron alimentados diariamente con el alga verde *Chlorella vulgaris* en una densidad de 0.5·10⁶ cel·mL⁻¹, la que fue cultivada en medio basal Bold (Borowitzka & Borowitzka 1988). Para su utilización como alimento, el alga fue cosechada en fase de crecimiento exponencial y centrifugada a 3000 rpm por 5 min.

A. brightwelli fue cultivada en vasos de 500 mL y alimentada diariamente *ad libitum* con una mezcla de presas del género *Brachionus* (*B. calyciflorus*, *B. caudatus*, *B. havanaensis* y *B. patulus*). Las condiciones experimentales fueron: pH 7.5 ± 0.1,

temperatura $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$, e iluminación fluorescente difusa con un fotoperíodo de 12:12 (1:d). Los medios de cultivo fueron reemplazados diariamente.

Crecimiento poblacional

Los rotíferos *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* fueron expuestos a infoquímicos del depredador en ausencia de *Asplanchna*. Este medio EPA condicionado (Wallace *et al.* 2006) por el depredador fue preparado separadamente en régimen diario manteniendo *Asplanchna* en seis densidades: 0.005, 0.01, 0.02, 0.1, 0.25 y 0.5 ind·mL⁻¹, y un medio control sin *Asplanchna*. El medio control consistió en agua precondicionada sólo con la mezcla de rotíferos que sirvieron de presa para el depredador. En la preparación del medio precondicionado, cada día individuos de *Asplanchna* fueron removidos del medio tras permanecer en él por 24 h, con ayuda de un filtro de 50 μm . El medio fue entonces filtrado a través de un filtro de membrana de 0.45 μm , y el pH fue ajustado a 7.5 ± 0.1 para ser utilizado como medios experimentales en los distintos niveles del tratamiento.

Se utilizaron vasos precipitados de 50 mL conteniendo 20 mL de medio con microalga *C. vulgaris* en una densidad de 10^6 cel·mL⁻¹ para cada especie de brachiónimo por separado. Los experimentos fueron iniciados con una densidad de brachiónidos de 1 ind·mL⁻¹ obtenidos de los cultivos stock en fase de crecimiento exponencial. Se utilizaron 56 contenedores experimentales (2 especies de rotíferos x 7 niveles de kairomona x 4 réplicas). Los rotíferos de cada vaso fueron contados diariamente, usando 3-4 alícuotas de 1 mL toda vez que no fue posible realizar censos exhaustivos debido a las altas densidades poblacionales. Posterior a ello, todos los rotíferos de cada vaso

fueron transferidos a medio control o medio condicionado según la densidad de depredador fijada, con microalga en la densidad señalada. Los experimentos de crecimiento fueron finalizados después de 15 días, cuando las poblaciones comenzaron a declinar.

Las trayectorias de densidad poblacional fueron comparadas mediante ANOVA de medidas repetidas, previa revisión de los supuestos de normalidad (prueba K-S), homocedasticidad (prueba de Levene) y esfericidad (prueba de Mauchley) (Fig. 2 del Apéndice). La tasa de crecimiento poblacional intrínseco r (día^{-1}) fue calculada para cada réplica como la pendiente de la curva $\ln N_t$ versus tiempo (Fernández-Araiza *et al.* 2005), dentro de la fase de crecimiento exponencial para todas las réplicas de ambas especies. Las tasas fueron comparadas mediante ANOVA de una vía y se realizó un test Dunnett de comparaciones múltiples (Fig. 3 del Apéndice).

Con estos resultados se identificaron las densidades de *Asplanchna* que no tuvieron efecto sobre los valores de r estimados para *B. calyciflorus* y *B. havanaensis*, y aquellas que determinaron valores de r reducidos respecto del control. Para ambas especies se estimó un valor de costo poblacional como la razón entre los valores de r de estos dos grupos.

Respuestas funcionales

Con el propósito de cuantificar el consumo de cada presa por *Asplanchna* y compararlo con el consumo de ambas presas cuando se encuentran inducidas, se estimaron las

respuestas funcionales sobre cada ítem de presa, tanto en su condición normal sin la señal inductora, como después de desarrollar espinas. El medio precondicionado fue preparado con una densidad de depredadores mayor al umbral de inducción identificado previamente, y por un período superior al mínimo necesario para inducir defensas. Para cada una de las dos especies presa se utilizaron 7 densidades poblacionales diferentes (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 ind·mL⁻¹) con 5 réplicas en cada nivel. Se introdujeron 2 individuos de *A. brightwelli* (previamente mantenidos en inanición por 2 h) en cada vaso experimental con 20 mL de medio y un tipo de presa en las densidades especificadas. Se permitió que los depredadores se alimentaran por 45 minutos, tras lo cual fueron fijados con formalina diluida (5%) y se revisó su contenido estomacal. El número de presas consumidas por depredador fue expresado como la media del número de presas por depredador registradas dentro de sus estómagos.

Se realizó una regresión no lineal por mínimos cuadrados de los datos, de manera de estimar el ajuste a una respuesta funcional tipo II, de la forma $y = ax/(1 + aHx)$, donde a y H corresponden a la tasa de ataque y tiempo de manipulación, respectivamente, y x a la densidad de presa. Se estimó una medida del beneficio de la defensa como la razón entre los parámetros a y H de la ecuación de la respuesta funcional obtenida para organismos defendidos y no defendidos. La significancia de los beneficios calculados se probó mediante pruebas de permutación (3000 aleatorizaciones).

Cambios morfológicos inducidos

Con el propósito de medir la respuesta morfológica de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* al infoquímico (kairomona) de *Asplanchna*, se mantuvieron cultivos experimentales como se explicó previamente. Las concentraciones de kairomona utilizadas fueron seleccionadas entre las densidades de depredador descritas en el punto anterior. El cultivo de cada especie de brachiónimo fue iniciado con densidad de $1 \text{ ind}\cdot\text{mL}^{-1}$ en 150 mL, alimentado con *C. vulgaris* en densidad de $10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}$. Se utilizaron 24 vasos experimentales (2 especies de rotífero x 4 niveles de kairomona x 3 réplicas). De cada vaso se extrajeron 50 individuos maduros (portando huevos) y se fijaron en formalina al 5% en los días 0, 2, 4, 6, y 8. Se obtuvieron imágenes digitales bajo microscopio, sobre las que se midieron la longitud de las espinas anteriores y posteriores, y la longitud y ancho corporal. Todas las mediciones fueron hechas con el software UTHSCSA Image Tool para Windows v.3.0.

Cada medida morfológica registrada por individuos fue contrastada con el percentil 95 de la distribución de medidas obtenidas en el control (sin kairomona), para cada día analizado. De esta manera se categorizaron las medidas morfológicas con valores 1 o 0, según si el atributo resultó mayor o menor que el percentil 95.

Se estimaron concentraciones de kairomona umbrales y tiempos de exposición a la kairomona umbrales para inducir el cambio de estado en cada atributo al 50% de la población medida, mediante una regresión probit.

Resultados

Crecimiento poblacional

La duración de la fase de crecimiento exponencial de ambas especies de *Brachionus* dependió de la densidad de *Asplanchna* con que se preconditionó el medio, variando desde 5-9 días para *B. calyciflorus* y 10-12 días para *B. havanaensis*. Los resultados del ANOVA de medidas repetidas, mostraron efectos significativos de interacción ($p < 0.001$) entre factores (kairomona y tiempo) sobre las densidades poblacionales de ambas especies (Fig. 2 del Apéndice).

Tanto en *B. calyciflorus* como en *B. havanensis*, las poblaciones experimentales mostraron mayores valores de r en los controles y en el tratamiento con densidad $0.005 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$, respecto de las restantes densidades de kairomona (Dunnett, $p < 0.05$). No hubo diferencias significativas en valores de r entre los tratamientos 0.025 , 0.1 , 0.25 y $0.5 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$, por lo que la concentración de kairomona presente en una densidad de $0.1 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$ se consideró suficiente para producir un costo en las poblaciones presa, evaluado en una disminución significativa de la tasa intrínseca de crecimiento. En la Figura 1 se muestra la disminución en tasas de crecimiento promedio de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* entre los tratamientos agrupados que mostraron disminución significativa en r ($\geq 0.025 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$) respecto de los tratamientos control y $0.005 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$. Esta medida se consideró indicativa de un mayor costo de la defensa para *B. calyciflorus* respecto de *B. havanaensis*.

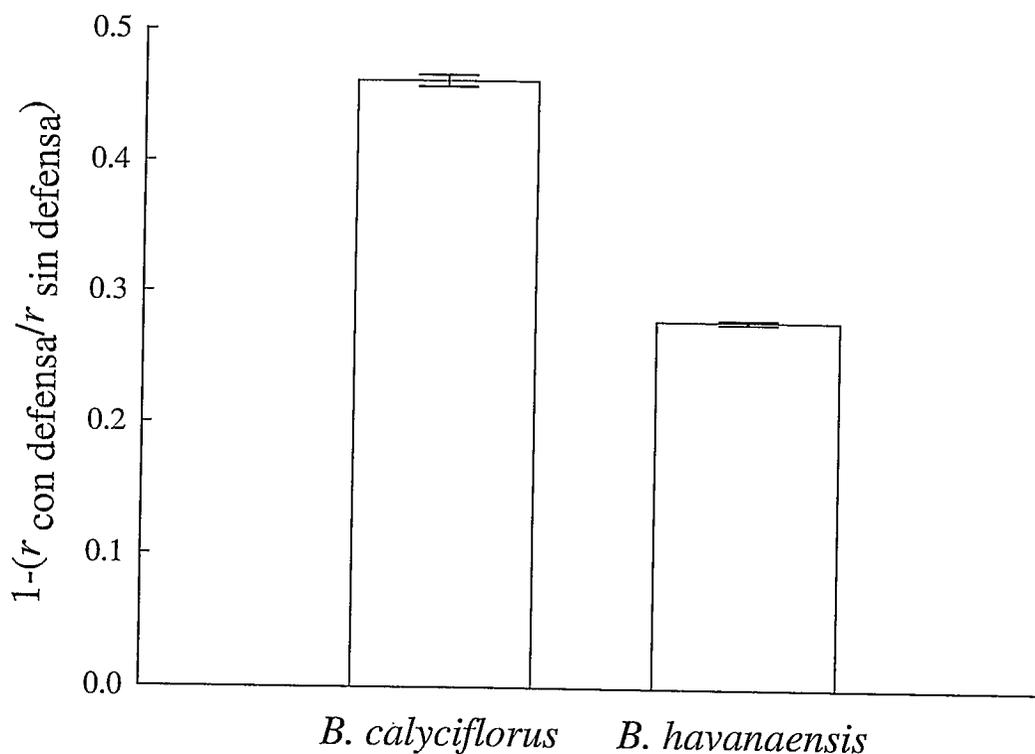


Figura 1. Estimador del costo de la defensa para las dos especies de este estudio, calculado como el complemento del cociente entre las tasas de intrínsecas de crecimiento poblacional con inducción (> 0.025 *Asplanchna*·mL⁻¹) y sin inducción (control y 0.005 *Asplanchna*·mL⁻¹). Barras de error corresponden a IC 95%. Los valores son significativamente diferentes (t-test, $p < 0.001$).

Respuestas funcionales

Las curvas de respuesta funcional de *Asplanchna* se ajustaron significativamente ($p < 0.05$) a una respuesta tipo II para ambos tipos de presa, tanto para morfos inducidos como no inducidos (Tabla 1, Fig. 4 del Apéndice). *Asplanchna* consumió *B. havanaensis*

a una mayor tasa que *B. calyciflorus* en todas las densidades de herbívoros probadas. La tasa de ataque (a) por parte de *Asplanchna* se ve igualmente disminuida en ambas especies como consecuencia de las defensas, sin embargo *B. havanaensis* también se favorece mediante un incremento en el tiempo de manipulación (H) requerido para ser consumido por el depredador (Fig. 2). Esto sugiere que el desarrollo de defensas resulta en un mayor beneficio para *B. havanaensis* que para *B. calyciflorus*.

Tabla 1. Parámetros estimados (\pm SE) de las respuestas funcionales de *A. brightwelli* para las dos especies presa en condiciones con y sin defensa. Las curvas tipo II, de la forma $y = ax/(1 + aHx)$, fueron ajustadas mediante mínimos cuadrados ($p < 0.001$).

	Sin defensa			Defendidos		
	a	H	R^2	a	H	R^2
<i>B. calyciflorus</i>	0.02 ± 0.02	0.66 ± 0.59	0.52	0.004 ± 0.005	0.69 ± 0.84	0.50
<i>B. havanaensis</i>	0.076 ± 0.08	0.38 ± 0.31	0.62	0.01 ± 0.01	0.68 ± 0.55	0.70

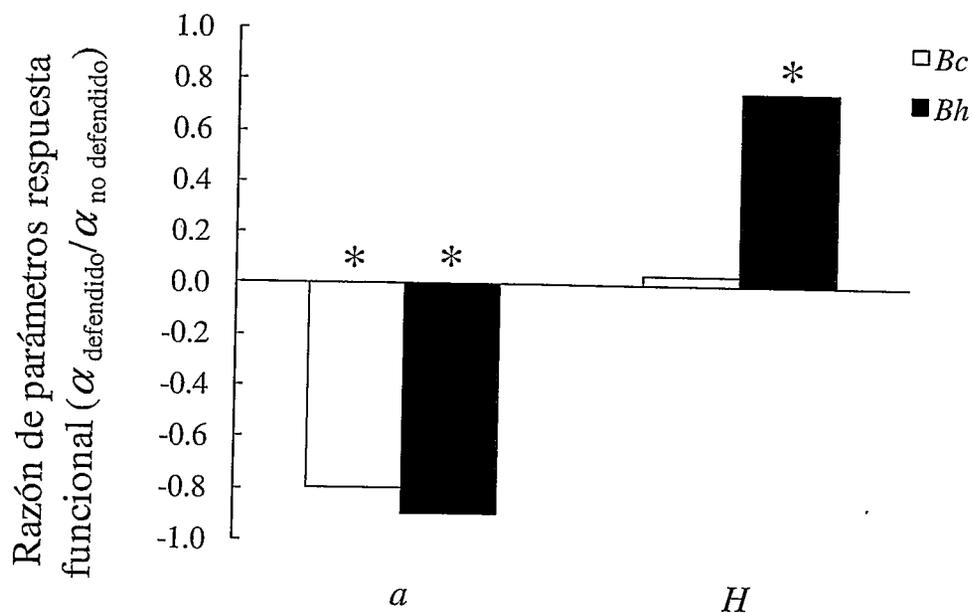


Figura 2. Beneficio bruto de la defensa de las especies presa en respuesta a *A. brightwelli*, evaluado como el cociente entre los parámetros de la respuesta funcional tipo II (*a*: tasa de ataque, *H*: tiempo de manipulación) con ($0.1 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$) y sin defensa. Asteriscos señalan cocientes significativos (3000 permutaciones).

Estructuras defensivas

De los rasgos morfológicos medidos, la longitud de las espinas anteriores y posteriores y el ancho corporal permitieron el ajuste de la función probit, de manera que fue posible realizar para esas medidas una estimación consistente de umbrales de inducción.

En el caso de *B. calyciflorus*, el tiempo de exposición a la kairomona requerido para inducir un incremento de las espinas anteriores en el 50% de la población varió entre 1 y 6 días, dependiendo de la concentración experimental de kairomona (Fig. 3A). Por otro lado, la concentración de kairomona necesaria para la inducción del 50% de la población varió entre 0.016 *Asplanchna*·mL⁻¹ en el día 2 y 0.002 *Asplanchna*·mL⁻¹ en promedio a partir del día 4 (Fig. 3D). El tiempo umbral de inducción 50% para el incremento de las espinas posteriores fue mayor para la concentración 0.005 *Asplanchna*·mL⁻¹, y no difirió entre las concentraciones superiores, con un valor medio de 2.8 días (Fig. 3B). La concentración umbral para la inducción de la elongación de las espinas posteriores fue en promedio 0.001 *Asplanchna*·mL⁻¹ ya a partir del día 2 (Fig. 3E). Para el ancho corporal, el umbral de tiempo de inducción fue de 6.2 días en promedio para las mayores concentraciones de kairomona (Fig. 3C), mientras que la concentración umbral fue de 0.11 *Asplanchna*·mL⁻¹ a partir del día 6 (Fig. 3F).

Para *B. havanaensis*, las espinas anteriores fueron inducidas en un período entre 1 y 6 días, dependiendo de la concentración de kairomona (Fig. 3A). La concentración de kairomona para el 50% de inducción en espinas anteriores varió entre 0.42 *Asplanchna*·mL⁻¹ el día 2 y 0.065 *Asplanchna*·mL⁻¹ para el día 8 (Fig. 3D). El tiempo de

inducción 50% para el incremento de las espinas posteriores fue mayor para la concentración $0.1 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$, y no difirió entre las concentraciones superiores, con un valor medio de 2.1 días (Fig. 3B). La concentración umbral de kairomona para la inducción de la elongación de las espinas posteriores varió entre 0.15 y $0.05 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$ desde el día 2 al día 8 de exposición (Fig. 3E). Para el ancho corporal el tiempo de inducción fue de 7.5 días en promedio para las concentraciones de kairomona entre 0.5 y $0.1 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Fig. 3C), mientras que la concentración umbral de kairomona fue de $0.12 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$ a partir del día 8 (Fig. 3D).

Estos resultados indican que *B. calyciflorus* en general requiere de menores tiempos de exposición y menores concentraciones de kairomona para expresar las defensas morfológicas, en comparación con *B. havanaensis*.

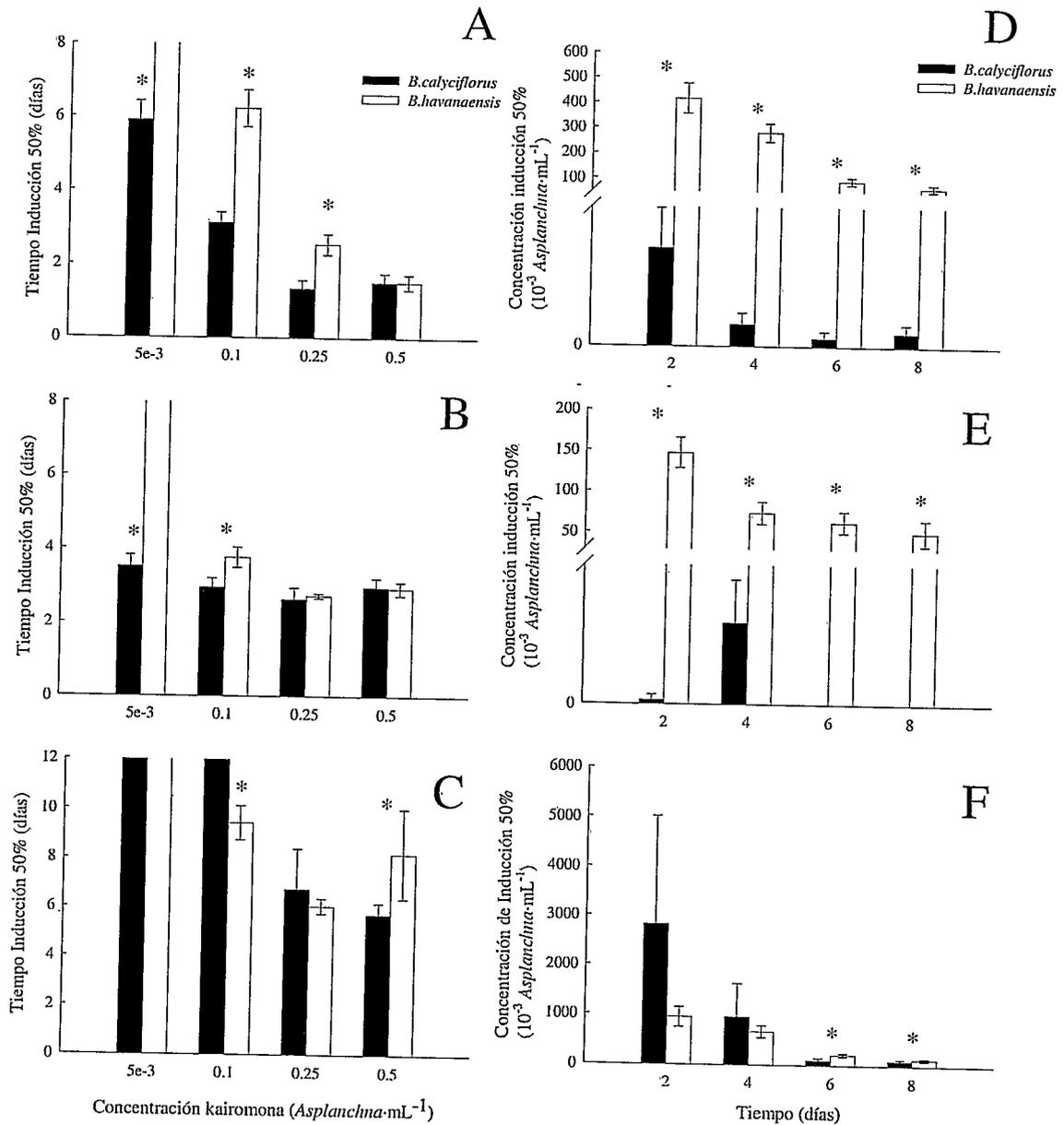


Figura 3. Reactividad de la defensa inducible de las especies presa en respuesta a kairomona de *A. brightwelli*. Panel izquierdo: tiempo de exposición requerido para inducir incremento de los atributos morfológicos analizados en el 50% de la población de presas (A: espina anterior, B: espina posterior y C: ancho corporal). Panel derecho: concentración de kairomona requerida para inducir incremento de los atributos

morfológicos analizados en el 50% de la población de presas (D: espina anterior, E: espina posterior y F: ancho corporal). Barras de error corresponden a IC 95% y asteriscos muestran diferencias significativas entre especies.

Discusión

Tanto *B. calyciflorus* como *B. havanaensis* presentaron menores tasas de crecimiento en presencia de infoquímicos en comparación al control. Esto revela, para ambas especies en estudio, un costo asociado a la inducción de defensa reflejado a nivel poblacional. Trabajos anteriores han revelado un patrón similar en diversos sistemas *Asplanchna*-rotífero (Stemberger 1988, Conde-Porcuna & Declerck 1998, Pavón-Meza *et al.* 2008, pero ver Stemberger 1990). Nuestros resultados indican también que el costo en crecimiento poblacional es, sin embargo, mayor para *B. calyciflorus* que para *B. havanaensis*. Esta conclusión es sostenida por una mayor disminución relativa de r para *B. calyciflorus*.

Por otra parte, las respuestas funcionales del depredador *A. brightwellii* se ajustan a curvas tipo II, consistentemente con los resultados reportados por Nandini *et al.* (2003) y Sarma & Nandini (2007) para distintas presas brachiópidos. Nuestros resultados muestran un menor consumo por parte de *A. brightwellii* sobre ambas presas cuando estas presentan morfos inducidos, lo que sugiere que las modificaciones morfológicas experimentadas por ambas especies constituyen una defensa antidepredatoria efectiva. Nuestros resultados muestran que la expresión de defensas morfológicas otorga un

mayor beneficio bruto para *B. havanaensis* respecto a *B. calyciflorus*, debido a que la primera especie exhibe una mayor disminución relativa en la tasa de consumo por parte del depredador. *B. havanaensis* es de menor tamaño que *B. calyciflorus* pero con una mayor razón longitud espina/longitud corporal, lo que parece ser un efectivo mecanismo de defensa. Nandini *et al.* (2003) y Sarma *et al.* (2003) evaluaron experimentalmente la conducta depredatoria de dos especies de *Asplanchna* (*A. sieboldi* y *A. girodi*) sobre diferentes presas brachiópidas y determinaron bajas tasas de captura y tasas de crecimiento poblacional de depredadores consumiendo exclusivamente *B. havanaensis*.

Las densidades de *Asplanchna* equivalentes a las concentraciones de kairomona utilizadas en nuestros experimentos caen dentro del rango reportado para cuerpos de agua naturales (Nandini *et al.* 2005), y cubrieron un rango que abarcó desde la ausencia de respuesta defensiva a concentraciones bajas hasta un nivel superior asintótico donde la respuesta fue máxima y no mostró aumentos sucesivos a concentraciones mayores de kairomona.

La expresión completa de los cambios morfológicos en ambas especies fue observada tras 2-6 días de exposición a la kairomona. Esto sugiere que, en las densidades de depredador analizadas, ambas especies incrementan gradualmente el tamaño de sus estructuras defensivas durante 2 a 6 días, periodo tras el cual la respuesta alcanza un máximo. Conforme a esto, Van der Stap *et al.* (2007) detectaron *B. calyciflorus* completamente defendidos 3 días después de la inoculación con *A. brightwelli*.

Los umbrales temporales de inducción registrados, indican que a densidades intermedias de depredador, *B. havanaensis* requiere más tiempo que *B. calyciflorus* para inducir una elongación de las espinas tanto anteriores como posteriores. Sin embargo, con alta concentración de kairomona ambas especies gatillan rápidamente la espinación (2-3 días de exposición). En el caso de *B. havanaensis* la espinación fue dependiente tanto del tiempo de exposición como de la concentración de kairomona a la que es expuesto. Por el contrario, la concentración umbral requerida para inducir cambios en *B. calyciflorus* fue baja en relación a *B. havanaensis* e independiente del tiempo de exposición. Los cambios morfológicos en *B. calyciflorus* revelaron un incremento en longitud de 100 y 400% de las espinas anteriores y postero-laterales, respectivamente, y entre 30-40% para los otros rasgos. En *B. havanaensis*, el incremento de la longitud de las espinas fue de 70% (anteriores) y 100% (posteriores), otros rasgos incrementaron entre 30-55%. Ambas especies incrementaron su tamaño corporal con altas concentraciones de kairomona, aún cuando ese incremento requirió más tiempo y de mayores concentraciones de kairomona que la espinación. El incremento en el tamaño corporal de los dos brachionidos analizados en este trabajo caen dentro del rango 30-40% reportado para *Brachionus* por Pourriot (1974).

La reactividad a la depredación exhibida por *B. calyciflorus* fue considerablemente mayor que la presentada por *B. havanaensis*, en especial respecto de la concentración de kairomona necesaria para inducir la defensa. Consecuentemente, nuestros resultados rechazan la hipótesis planteada: la especie *B. havanaensis* obtuvo un mayor beneficio de la defensa y exhibió un menor costo poblacional que su congénere *B.*

calyciflorus en el rango de concentración de kairomona analizado, sin embargo presentó menor reactividad a la señal, en oposición a lo esperado.

No conocemos de estudios anteriores que hayan sometido a prueba una relación entre la reactividad *-timing-* de defensas inducibles en zooplancton y el beneficio neto de éstas. Posibles explicaciones al patrón observado, entre otras, apuntan a cuatro alternativas no-excluyentes: (1) el costo de la defensa en un contexto natural puede manifestarse como una reducción de tasas de crecimiento como consecuencia de cambios en las interacciones con otras especies. Se han documentado compromisos entre defensas y capacidad competitiva (Werner & Anholt 1996, Relyea 2000, 2001, Werner & Peacor 2003) y entre defensas y vulnerabilidad a otros depredadores (Taylor & Gabriel 1992, Tollrian & Dodson 1999). De este modo, la reducción de r en nuestro sistema aislado sería un mal índice del costo de la defensa en el ambiente natural. Un estimador más fino, pero de compleja implementación, sería la estimación de reducción de r en un sistema multiespecífico (e.g. mesocosmos). (2) Costos energéticos asociados a respuestas fenotípicas defensivas a kairomonas requieren un examen de potenciales reproductivos de fenotipos básicos y exhuberantes sobre un rango de concentraciones de recurso (Sarma & Rao 1987, Sarma 1989, Gilbert 1999) por lo que la estimación aquí realizada en un nivel de recurso abundante entrega solo una visión parcial de la variación del costo. Se requiere entonces una evaluación de costos y beneficios de las defensas en un gradiente de recursos, particularmente en niveles limitantes. (3) La magnitud del beneficio, medido como reducción en la respuesta funcional del depredador, es función de las abundancias relativas de las presas alternativas y/o de la

densidad del depredador. Nuestras mediciones de tasas de consumo fueron realizadas con cada una de las presas por separado y bajo condiciones constantes de densidad del depredador. En este caso, un siguiente paso sería ofrecer las presas en forma conjunta a fin de evaluar una respuesta funcional multi-específica y en un gradiente de densidades relativas a fin de medir cambios en selectividad diferencial. (4) La hipótesis inicial es efectivamente incorrecta. En este caso sería necesario extender este trabajo a más especies de presas y depredadores, a fin de establecer el grado de generalidad de nuestra conclusión, y establecer si la relación entre beneficio neto y reactividad se mantiene negativa o aparece como no-significativa. Esta posibilidad requiere de la realización de posteriores investigaciones destinadas a indagar más profundamente, tanto en el plano experimental como en el teórico, acerca de las causas y consecuencias de la reactividad de las defensas inducibles en la naturaleza (Duquette *et al.* 2005, Garay-Narváez & Ramos-Jiliberto 2009).

Literatura citada

- Borowitzka MA & Borowitzka LJ (1988) *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, UK
- Conde-Porcuna JM & Declerck S (1998) Regulation of rotifer species by invertebrate predators in a hypertrophic lake: selective predation on egg-bearing females and induction of morphological defences. *J Plankton Res* 20: 605-618
- DeWitt TJ, Sih A & Wilson DS (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 77-81
- Duncan A (1983) The composition, density and distribution of the zooplankton of Parakrama Samudra. In: Schiemer F (ed) *Limnology of Parakrama Samudra*, Sri Lanka. Junk, The Hague, pp 85-94
- Duquette SL, Altwegg R & Anholt BR (2005) Factors affecting the expression of inducible defences in *Euplotes*: genotype, predator density and experience. *Functional Ecology* 19: 648-655
- Enríquez-García C, Chaparro-Herrera DJ, Nandini S & Sarma SSS (2007) Life history strategies of *Brachionus havanaensis* subject to kairomones of vertebrate and invertebrate predators. *Chemistry and Ecology* 23(4): 303-313
- Epp RW, Lewis WM (1984) Cost and speed of locomotion for rotifers. *Oecologia* 61:289-292

- Félix A, Stevens ME, Wallace RL (1995) Unpalatability of a colonial rotifer, *Sinantherina socialis*, to small zooplanktivorous fishes. *Invertebr Biol* 114: 139-144
- Fernández-Araiza MA, Sarma SSS & Nandini S (2005) Combined effects of food concentration and temperature on competition among four species of *Brachionus* (Rotifera). *Hydrobiologia* 546: 519-534
- Garay-Narváez L & Ramos-Jiliberto R (2009) Induced defenses within food webs: the role of community trade-offs, delayed responses, and defense specificity. *Ecological Complexity*, in press.
- Garza-Mouriño G, Silva-Briano M, Nandini S, Sarma SSS & Castellanos-Páez ME (2005) Morphological and morphometrical variations of selected rotifer species in response to predation: a seasonal study of selected brachionid species from Lake Xochimilco (Mexico). *Hydrobiologia* 546: 169-179
- Gilbert JJ (1966) Rotifer Ecology and Embryological Induction. *Science* 151: 1234-1237
- Gilbert JJ (1999) Kairomone-Induced Morphological Defenses in Rotifers. In: Tollrian R, Harvell CD (eds) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, pp 127-141
- Gilbert JJ (2001) Spine development in *Brachionus quadridentatus* from an Australian billabong: genetic variation and induction by *Asplanchna*. *Hidrobiologia* 446/447: 19-28

- Gilbert JJ, Hampton SE (2001) Diel vertical migrations of zooplankton in a shallow, fishless pond: a possible avoidance response cascade by notonectids. *Freshw Biol* 46: 611-621
- Gilbert JJ, Kirk KL (1988) Escape response of the rotifer *Keratella*: description, stimulation, fluid dynamics, and ecological significance. *Limnol Oceanogr* 33: 1440-1450
- Green J (2007) Morphological variation of *Keratella cochlearis* (Gosse) in Myanmar (Burma) in relation to zooplankton community structure. *Hydrobiologia* 593: 5-12
- Harvell CD (1990) The ecology and evolution of inducible defenses. *Quarterly Review of Biology* 65: 323-340.
- Harvell, C.D. and Padilla, D.K. (1990) Inducible morphology, heterochrony, and size hierarchies in a colonial invertebrate monoculture. *Proc. NatL Acad. Sci. USA* 87, 508-12.
- Iyer N, Rao RT (1996) Responses of predatory rotifer *Asplanchna intermedia* to prey species differing in vulnerability: laboratory and field studies. *Freshw Biol* 36:521-533
- Levins, R. (1968) *Evolution in Changing Environments*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Nandini S (1999) Variations in physicochemical parameters and plankton community structure in a series of sewage stabilization ponds. *Rev Biol Trop* 47(1): 149-156

- Nandini S, Pérez-Chávez R, Sarma SSS (2003) The effect of prey morphology on the feeding behaviour and population growth of the predatory rotifer *Asplanchna sieboldi*: a case study using five species of *Brachionus* (Rotifera). *Freshw Biol* 48: 2131–2140
- Nandini S, Ramírez-García P, Sarma SSS (2005) Seasonal variations in the species diversity of planktonic rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *J Freshw Ecol* 20(2): 287-294
- Padilla DK & Adolph SC (1996) Plastic inducible morphologies are not always adaptive: the importance of time delays in a stochastic environment. *Evolutionary Ecology* 10: 105-117
- Pavón-Meza EL, Sarma SSS & Nandini S (2007) Combined effects of temperature, food (*Chlorella vulgaris*) concentration and predation (*Asplanchna girodi*) on the morphology of *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Hydrobiologia* 593: 95-101
- Pavón-Meza EL, Sarma SSS & Nandini S (2008) Combined effects of temperature, food availability and predator's (*Asplanchna girodi*) allelochemicals on the demography and population growth of *Brachionus havanaensis* (Rotifera). *Allelopathy Journal* 21: 95-106.
- Pourriot R (1974) Predator-prey relationships in rotifers: Effect of the predator (*Asplanchna brightwelli*) on the morphology of the prey (*Brachionus bidentata*). *Ann. Hydrobiol.* 5: 43-55

- Relyea RA (2000) Trait-mediated indirect effects in larval anurans: reversing competition with the threat of predation. *Ecology* 81: 2278–2289
- Relyea RA (2001) Morphological and behavioral plasticity of larval anurans in response to different predators. *Ecology* 82: 523–540.
- Relyea RA (2002) Costs of phenotypic plasticity. *Am Nat* 159: 272–282
- Sarma SSS (1989) Effect of *Chlorella* density and temperature on somatic growth and age at maturity of the rotifer *Brachionus patulus* (Muller) (Rotifera). *Current Science* 58: 788–791 (India)
- Sarma SSS (1993) Feeding responses of *Asplanchna brightwelli* (Rotifera): laboratory and field studies. *Hydrobiologia* 255/256: 275–282
- Sarma SSS, Nandini S (2007) Small prey size offers immunity to predation: a case study on two species of *Asplanchna* and three brachionid prey (Rotifera). *Hydrobiologia* 593: 67–76
- Sarma SSS, Rao TR (1987) Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Muller. *Arch Hydrobiol* 111: 245–253
- Sarma SSS, Dumont HJ, Nandini S (1998) Feeding preference and population growth of *Asplanchna brightwelli* (Rotifera) offered two non-evasive prey rotifers. *Hydrobiologia* 361: 77–87
- Sarma SSS, Pavón-Meza L, Nandini S (2003) Comparative population growth and life table demography of the rotifer *Asplanchna girodi* at different prey (*Brachionus*

- calyciflorus* and *Brachionus havanaensis*) (Rotifera) densities. *Hydrobiologia* 491:309-320
- Stemberger RS (1988) Reproductive costs and hydrodynamic benefits of chemically induced defenses in *Keratella testudo*. *Limnol Oceanogr* 33: 593-606
- Stemberger RS (1990) Food limitation, Spination, and Reproduction in *Brachionus calyciflorus*. *Limnol Oceanogr* 35: 33-44.
- Stemberger RS, Gilbert JJ (1987) Multiple species induction of morphological defenses in the rotifer *Keratella testudo*. *Ecology* 68: 370-378
- Taylor BE & Gabriel W (1992) To grow or not to grow: Optimal resource allocation for *Daphnia*. *Am Nat* 139: 248-266
- Tollrian R & Dodson SI (1999) Inducible defenses in Cladocera: constraints, costs, and multipredator environments. In: Tollrian, R., Harvell, C.D. (eds.), *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 177-202
- Tollrian R & Harvell CD (1999) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press. London
- Van der Stap I, Vos M, Verschoor AM, Helmsing NR, Mooij WM (2007). Induced defenses in herbivores and plants differentially modulate a trophic cascade. *Ecology* 88: 2474-2481.

- Wallace RL, Snell TW, Ricci C, Nogrady T (2006) Rotifera: Volume 1: Biology, Ecology and Systematics, 2nd ed. In: Dumont HJF (ed) Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands
- Walsh EJ, Salazar M, Remírez J, Moldes O, Wallace RL (2006) Predation by invertebrate predators on the colonial rotifer, *Sinantherina socialis*. Invertebr Zool 125: 325-335
- Walz N (1995) Rotifer populations in plankton communities: Energetics and life history strategies. Experientia 51: 437 - 453
- Weber CI (1993) Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F, xv + 293 pp.
- Werner EE & Anholt BR (1996) Predator induced behavioural indirect effects: Consequences to competitive interactions in anuran larvae. Ecology 77, 157-169.
- Werner EE & Peacor SD (2003) A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. Ecology 84: 1083-1100.

CAPITULO II.

**COMPROMISOS ENTRE EXPRESIÓN DE DEFENSAS
INDUCIBLES Y APTITUD COMPETITIVA EN ROTÍFEROS**

Resumen

En ambientes con suplemento constante de recurso, una especie capaz de alcanzar una densidad de equilibrio con una menor concentración umbral de recurso R^* excluirá a especies que requieran de mayores niveles de recurso para alcanzar el equilibrio. Dado que los umbrales de recurso no permanecen fijos para cada especie se espera observar variaciones de R^* en ambientes variables. Rotíferos responden de manera plástica a densidades variables de depredadores en el ambiente. Estas respuestas involucran defensas antidepredatorias frente a la presencia de infoquímicos liberados por depredadores. Una defensa puede reflejar, además de los costos individuales y poblacionales, aumento en vulnerabilidad a otros depredadores o una reducción en su capacidad competitiva.

Se determinó la existencia de compromiso entre la expresión de defensas antidepredatorias inducibles y la aptitud competitiva interespecífica en rotíferos (*Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*). Específicamente, se mostró que: (1) un consumidor que disminuye su vulnerabilidad a la depredación vía expresión de defensas inducibles aumenta su requerimiento de recurso para mantener un crecimiento poblacional cero, R^* . Ambos rotíferos aislados presentaron mayores umbrales de recurso en morfos defendidos respecto de los morfos no inducidos. (2) Defensas inducibles promueven un cambio cualitativo en el resultado de la competencia por recurso entre dos herbívoros que comparten un recurso único. La adición de kairomona revirtió el resultado de la competencia en baja densidad de recurso, esto debido a un incremento en la densidad de la especie originalmente subordinada y a un aumento de su estabilidad.

Nuestros resultados muestran compromiso intra-específico entre aptitud competitiva y expresión de defensas, lo que refuerza la visión dinámica de las redes de interacciones en comunidades naturales.

Palabras clave: Umbrales de recurso, competición explotativa, infoquímicos, kairomona, plasticidad fenotípica.

Introducción

La competición por recurso (Case & Gilpin 1974) es un tipo de interacción indirecta entre dos especies, mediada por la variación de la densidad o disponibilidad de una población recurso. Esta relación refleja efectos recíprocamente negativos entre consumidores que comparten un recurso único, vía remoción de este recurso limitante.

El principio de exclusión competitiva predice que la competición tenderá a disminuir la diversidad de especies dado que dos especies compitiendo por el mismo recurso no podrán alcanzar una coexistencia estable en el tiempo. Una versión mecanicista de esta teoría confirma esta predicción: en ambientes con suplemento constante de recurso, una especie capaz de alcanzar una densidad de equilibrio con una cantidad de recurso R^* excluirá a especies que requieran una mayor cantidad de recurso para alcanzar el equilibrio (Tilman 1982). Así, se predice que especies con menor R^* desplazarán competitivamente a todas las otras especies cuando están limitadas por el mismo recurso, y solamente podrían coexistir si presentan umbrales idénticos (Tilman 1982).

Evidencias experimentales que corroboran las predicciones de la competición basada en sus recursos renovables son los trabajos de Rothhaupt (1988) y de Ciro-Pérez et al (2001). Estos estudios muestran, para especies de rotíferos, los requerimientos de uno y dos recursos en el equilibrio, y el trabajo de Kreutzer & Lampert (1999) donde utiliza concentraciones umbrales en un gradiente de recurso como una medida análoga al R^* de Tilman, para identificar aptitudes competitivas entre dos especies de *Daphnia*.

La variabilidad en el tamaño de especies de rotíferos favorece un uso diferencial de los recursos disponibles (Stemberger & Gilbert 1985, Rothhaupt, 1988, Sarma *et al.* 1996, Ciro-Pérez *et al.* 2001). Evidencias en terreno y experimentales indican que especies de rotíferos de gran tamaño presentan un mayor crecimiento que especies pequeñas en altos niveles de comida, mientras que especies de menor tamaño excluyen a las especies grandes bajo condiciones de alimento limitante (Sarma *et al.* 1996). Asimismo, los umbrales de recurso no permanecen fijos para cada especie, sino que varían en función de factores extrínsecos, como son el tamaño de la microalga o la temperatura para el caso de rotíferos (Rothhaupt 1990, Stelzer 2006). Se espera por tanto, observar variaciones de concentraciones umbrales de recurso en rotíferos en ambientes variables.

Diversas especies de rotíferos responden de manera plástica a densidades variables de depredadores en el ambiente. Estas respuestas involucran el desarrollo de espinas y apéndices frente a la presencia de infoquímicos (kairomona) liberados por depredadores tales como *Asplanchna*. La expresión de estas respuestas morfológicas disminuyen la probabilidad de éxito del ataque y/o depredación, y por tanto son consideradas defensas antidepredatorias. Los costos de fenotipos inducidos de rotíferos han sido experimentalmente evaluados a nivel de sobrevivencia, fecundidad y potencial reproductivo (Gilbert 1980, Epp & Lewis 1984, Stemberger 1988). Posibles costos a nivel de individuos de esta plasticidad incluyen: 1) costos de mantención de la respuesta sensorial y de las vías que inducen las respuestas plásticas, 2) costos de producción, 3) costos genéticos, en los que los genes relacionados con la plasticidad interactúan con

otros genes, y cuyo resultado es una adecuación biológica reducida, 4) costos de adquisición de información que son requeridos para detectar cambios en el ambiente, y finalmente, límites a la capacidad del organismo para evaluar su entorno (Relyea 2002).

Dado que en una interacción simple consumidor-recurso ambas especies focales interactúan simultáneamente con otros componentes de la comunidad, efectos indirectos son transmitidos a las otras especies vía cadena de interacciones directas o por cambios en la magnitud de los efectos directos (Wootton 1994, Morin 1999, Werner & Peacor 2003). Por tanto, las consecuencias de la depredación pueden extenderse, vía efectos indirectos, a muchas de las poblaciones componentes de la trama de interacciones. Es por ello que además de los costos a nivel individual y poblacional, una defensa puede reflejar otro tipo de costos que emergen solo dentro del ámbito comunitario, como son un aumento en vulnerabilidad a otros depredadores o una reducción en su capacidad competitiva (Lubchenco & Gaines 1981, Lima 1998, Gilbert 1999, Werner & Peacor 2003). De esta forma, al alterar la red de interacciones las defensas inducibles son potencialmente capaces de generar múltiples efectos, no evidentes sobre la base del conocimiento de las interacciones directas, y eventualmente tener un efecto significativo en el funcionamiento de la comunidad (Huang & Sih 1990, Werner 1991, Werner & Anholt 1996, Peacor 2002, Werner & Peacor 2003, Dambacher & Ramos-Jiliberto 2007, Ramos-Jiliberto & Garay-Narváez 2007, Chesson & Kuang 2008). Pese a que el estudio de la ecología de defensas inducibles ha sido particularmente fructífero en organismos planctónicos y en rotíferos en particular, ha habido un escaso desarrollo experimental orientado a esclarecer la existencia e importancia de potenciales compromisos entre el desarrollo de defensas y el desempeño de las presas en el marco de otras interacciones

comunitarias (Berenbaum & Zangerl 1999, Peacor & Werner 2001, Relyea 2000, Tollrian & Dodson 1999, van Veen *et al.* 2005, van der Stap *et al.* 2007, 2008).

Dentro de un contexto comunitario, es pertinente sugerir las siguientes preguntas generales: las defensas inducibles ¿modifican las relaciones de competencia y la probabilidad de coexistencia entre especies que comparten depredadores y recursos?, ¿es posible detectar experimentalmente la existencia de un compromiso entre resistencia a la depredación y aptitud competitiva?.h

En este estudio el objetivo es determinar la existencia de compromiso entre la expresión de defensas antidepredatorias inducibles y la aptitud competitiva en especies de rotíferos herbívoros. Específicamente, en este trabajo mostramos que: (1) un consumidor que disminuye su vulnerabilidad a la depredación via expresión de defensas inducibles aumenta su requerimiento de recurso para mantener un crecimiento poblacional cero, disminuyendo por tanto su potencial competitivo; y (2) la inducción de defensas inducibles promueve un cambio cualitativo en el resultado de la competición por recurso entre dos herbívoros que comparten un recurso único.

Materiales y Métodos

Cultivo de especies experimentales

El depredador (*Asplanchna brightwelli*) y los herbívoros *Brachionus calyciflorus* y *B. havanensis* fueron aislados de lagos templados de Chile Central. Se iniciaron cultivos monoclonales a partir de una única hembra amíctica y fueron mantenidos bajo condiciones de laboratorio por dos meses antes de su uso en experimentos. Tanto para mantener los cultivos como para llevar a cabo los experimentos se utilizó agua dulce reconstituida (U.S. EPA).enriquecida con vitaminas: 100 mg·L⁻¹ tiamina (B1), 0.5 mg·L⁻¹ biotina, and 0.5 mg·L⁻¹ cianocobalamina (B12).

Los cultivos stock de rotíferos presa fueron alimentados diariamente con el alga verde *Chlorella vulgaris* en una densidad de $0.5 \cdot 10^6$ cells·mL⁻¹, la que fue cultivada en botellas de vidrio de 2 L, usando medio basal Bold (Borowitzka & Borowitzka 1988). El alga fue cosechada en fase de crecimiento exponencial y centrifugada a 3000 rpm por 5 min, La densidad de alga fue estimada por recuento en una cámara Neubauer.

A. brightwelli fue cultivada en vasos de 500 mL y alimentada diariamente *ad libitum* con una mezcla de presas del género *Brachionus* (*B. calyciflorus*, *B. caudatus*, *B. havanaensis* y *B. patulus*). Las condiciones experimentales fueron: pH 7.5 ± 0.1 , temperatura $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$, e iluminación fluorescente difusa, con un fotoperíodo de 12:12 (l:d). Los medios de cultivo fueron reemplazados diariamente.

Estimación de umbrales de recurso

Se realizaron experimentos de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis*, separadamente, en medio fresco, bajo distintas densidades de recurso. Se utilizaron vasos precipitados de 50 mL conteniendo 20 mL de medio con microalga *C. vulgaris* en cuatro densidades diferentes: 0.25, 0.5, 1 y $2 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹·día⁻¹ para cada especie de brachiópodo. Los experimentos fueron iniciados con una densidad de brachiópodos de 1 ind·mL⁻¹ obtenidos de los cultivos stock en fase de crecimiento exponencial. Los animales fueron seleccionados de manera de asegurar que todos los estados estuviesen representados en los experimentos. Se utilizaron 32 contenedores experimentales (2 especies de rotíferos x 4 niveles recurso x 4 réplicas). Los rotíferos de cada vaso fueron contados diariamente, usando 3-4 alícuotas de 1 mL toda vez que no fue posible realizar censos exhaustivos debido a las altas densidades poblacionales. Posterior a ello, todos los rotíferos de cada vaso fueron transferidos a medio fresco con alimento en la densidad establecida para cada nivel. Los experimentos de crecimiento fueron finalizados después de 17-29 días, cuando las poblaciones comenzaron a declinar.

Posteriormente se realizó un segundo experimento de iguales características al anterior, pero en lugar de utilizar medio fresco, se utilizó medio precondicionado con el depredador *A. brightwelli*. Este medio EPA condicionado (Wallace *et al.* 2006) fue preparado separadamente en régimen diario con *Asplanchna* en densidad de 0.1 ind·mL⁻¹. El medio control consistió en agua precondicionada sólo con la mezcla de rotíferos que sirvieron de presa para el depredador. Cada día, individuos de *Asplanchna* fueron removidos del medio con ayuda de un filtro de 50 µm. El medio fue entonces filtrado a

través de un filtro de membrana de 0.45 μm , y el pH fue ajustado a 7.5 ± 0.1 . Los experimentos de crecimiento fueron finalizados después de 15 días, cuando las poblaciones comenzaron a declinar.

Las trayectorias de densidad bajo distintas concentraciones de recurso fueron comparadas mediante ANOVA de medidas repetidas, previa comprobación de supuestos de normalidad (prueba K-S), homocedasticidad (prueba de Levene) y esfericidad (prueba de Mauchley). Se utilizó una transformación raíz cuadrada cuando los supuestos no fueron satisfechos.

Se estimaron tasas intrínsecas de crecimiento poblacional para ambas especies y en ambas condiciones (defendidos y no defendidos). La tasa intrínseca de crecimiento poblacional fue estimada para intervalos diarios como

$$r = \ln N_t - \ln N_{t-1} \quad (1)$$

donde N_{t-1} y N_t es densidad de rotíferos en días consecutivos, excluyendo los 5 primeros días para prevenir una sobre-representación de la fase inicial transiente. Se representó $\ln(N)$ vs. tiempo para cada réplica, y se identificó la región lineal de cada trayectoria maximizando un criterio de ajuste (R^2). Se obtuvo un único valor de r para cada réplica como el promedio de los valores diarios obtenidos mediante la ecuación (1) para la región lineal seleccionada.

Se ajustó una curva Monod para la relación entre densidad de recurso y tasa de crecimiento de los herbívoros, mediante una regresión no lineal ejecutada en SPSS 15.0 para Windows, sobre la base de la siguiente ecuación:

$$r = \frac{r_{max}(R - R^*)}{R - R^* + K_C} \quad (2)$$

donde r es la tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}) por réplica, estimada como se mencionó anteriormente, y R es concentración experimental de recurso. Los parámetros de ajuste del modelo son: r_{max} , la tasa máxima de crecimiento poblacional, R^* , concentración de recurso para crecimiento poblacional 0, y K_C , la constante de Monod (Rothhaupt 1993, Ciroso-Perez et al 2001). Se realizó un test F para probar la significancia de los umbrales R^* .

Experimentos de competición entre dos herbívoros

Se utilizaron vasos precipitados de 250 mL con 200 mL de medio. Cada vaso fue inoculado con las dos especies de *Brachionus* en densidad de 1 ind·mL⁻¹ para cada especie, conteniendo el alga *C. vulgaris* en cuatro densidades diferentes: 0.25, 0.5, 1 y 2 10⁶ cel·mL⁻¹·día⁻¹. Se utilizaron 32 contenedores experimentales (2 especies de rotíferos x 4 niveles recurso x 4 réplicas). Los rotíferos de cada vaso fueron contados diariamente, usando 3-4 alícuotas de 10 mL. Posterior a ello, todos los rotíferos de cada vaso fueron transferidos a medio fresco con alimento en la densidad establecida para cada nivel. Los experimentos de crecimiento fueron finalizados después de 17-29 días, cuando las poblaciones comenzaron a declinar.

Posteriormente, se realizó un segundo experimento de iguales características al anterior, pero en lugar de utilizar medio fresco, se utilizó medio precondicionado con *A.*

brightwelli, preparado como se indicó en el punto anterior. Las densidades de recurso utilizadas fueron las mismas señaladas en el experimento previo. Ambos experimentos fueron finalizados cuando se observó exclusión de alguna de las dos especies o bien cuando las densidades poblacionales se estabilizaron.

Las trayectorias de densidad poblacional de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* fueron analizadas para coeficientes de variación (CV) en el tiempo, y valores medios en el tiempo (excluyendo los 6 primeros días de período transiente), mediante ANOVAs de una vía, previa revisión de los supuestos paramétricos.

Resultados

La trayectorias de densidad poblacional para distintas densidades de recurso difieren significativamente en ambas especies de rotíferos (ANOVA de medidas repetidas, $P < 0.001$), tanto en las poblaciones cultivadas en medio fresco como en las poblaciones cultivadas en medio con infoquímico, observándose un crecimiento más acelerado, y mayores máximos poblacionales con mayores niveles de recurso (ver Fig. 5 del Apéndice).

Las curvas estimadas de la relación entre tasas de crecimiento de poblaciones de rotíferos y concentraciones de alga, para ambas especies y para las dos condiciones analizadas, son caracterizadas por un incremento asintótico con la concentración de recurso, tendiendo a una tasa máxima de crecimiento poblacional (Figs. 1 y 2). Ambas especies aumentan su umbral de recurso (R^*) cuando están defendidas respecto de la condición sin defensa (ANOVA, $P < 0.05$, Fig. 3A). Además, *B. havanaensis* presenta una menor tasa máxima de crecimiento $r_{m\acute{a}x}$ cuando está defendida. *B. havanaensis* presenta menor R^* , y un mayor valor de $r_{m\acute{a}x}$ que *B. calyciflorus* (Fig. 3B). De estos resultados se predice que *B. havanaensis* debiera excluir a *B. calyciflorus* cuando compiten por un recurso único. Sin embargo, no existen diferencias interespecíficas en ambos parámetros cuando son cultivados con kairomona (Fig. 3).

Los experimentos de competición muestran que con medio fresco, *B. havanaensis* logró densidades medias mayores y más estables en baja densidad de recurso (0.25 y $0.5 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹), relativo a *B. calyciflorus*. Por otro lado, en alta

densidad de recurso (1 y $2 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹) *B. calyciflorus* alcanza mayores densidades medias, mientras las densidades de ambas especies son igualmente estables (Fig. 4A y 5A).

En medio con señal de depredación en cambio, la densidad media de *B. calyciflorus* es mayor y más estable que la de *B. havanaensis* en todos los niveles de recurso $\geq 0.5 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹. Con recurso bajo ($0.25 \cdot 10^6$ cel·mL⁻¹) ambas especies tienden a la extinción (Fig. 4B y 5B).

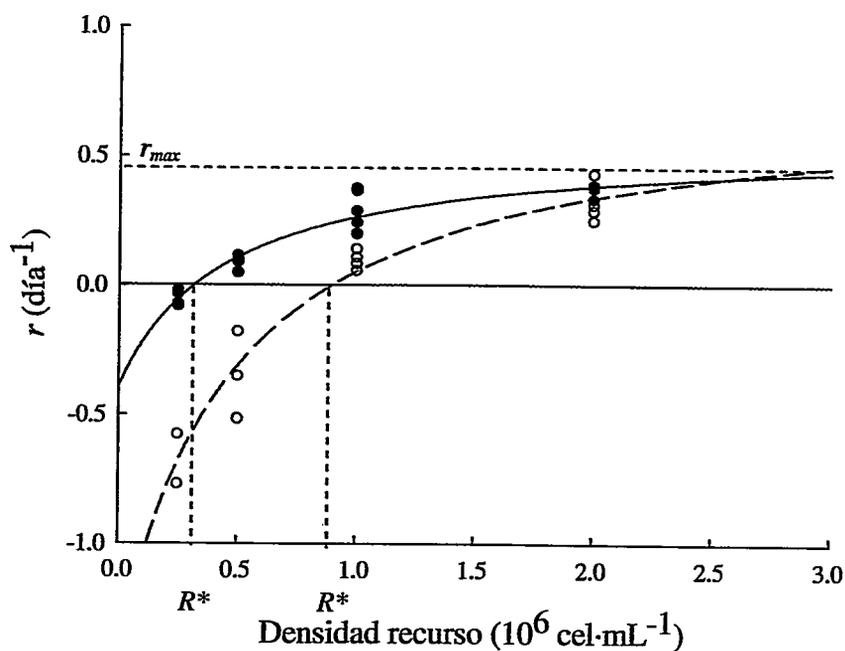


Figura 1. Relación entre densidad de recurso (*C. vulgaris*) y las tasas intrínsecas de crecimiento de *Brachionus calyciflorus*: no defendido en línea continua y círculo lleno, y defendido en línea segmentada y círculo vacío. Se indican parámetros de r_{max} y R^* para ambas curvas.

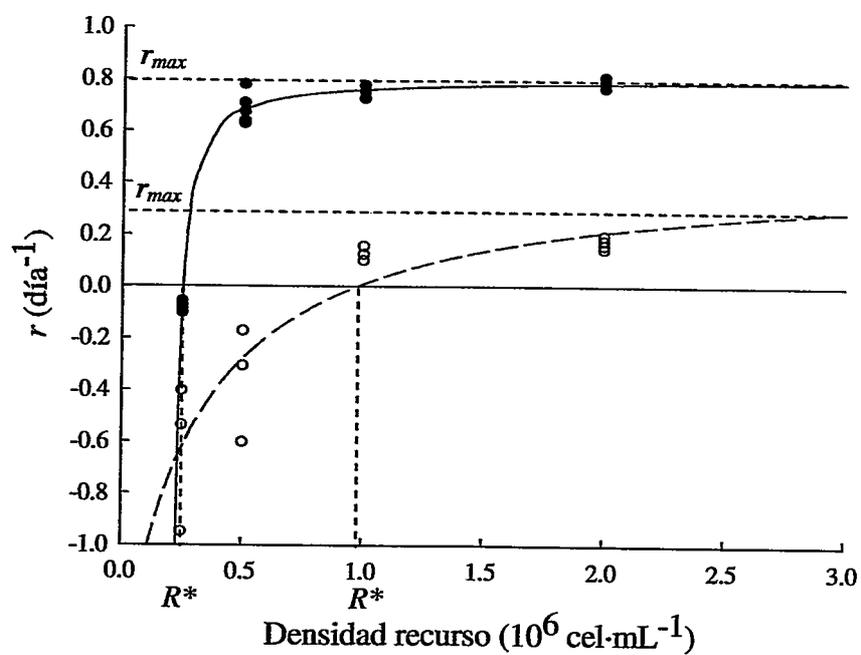


Figura 2. Relación entre densidad de recurso (*C. vulgaris*) y las tasas intrínsecas de crecimiento de *Brachionus havanaensis*: no defendido en línea continua y círculo lleno, y defendido en línea segmentada y círculo vacío. Se indican parámetros de r_{max} y R^* para ambas curvas.

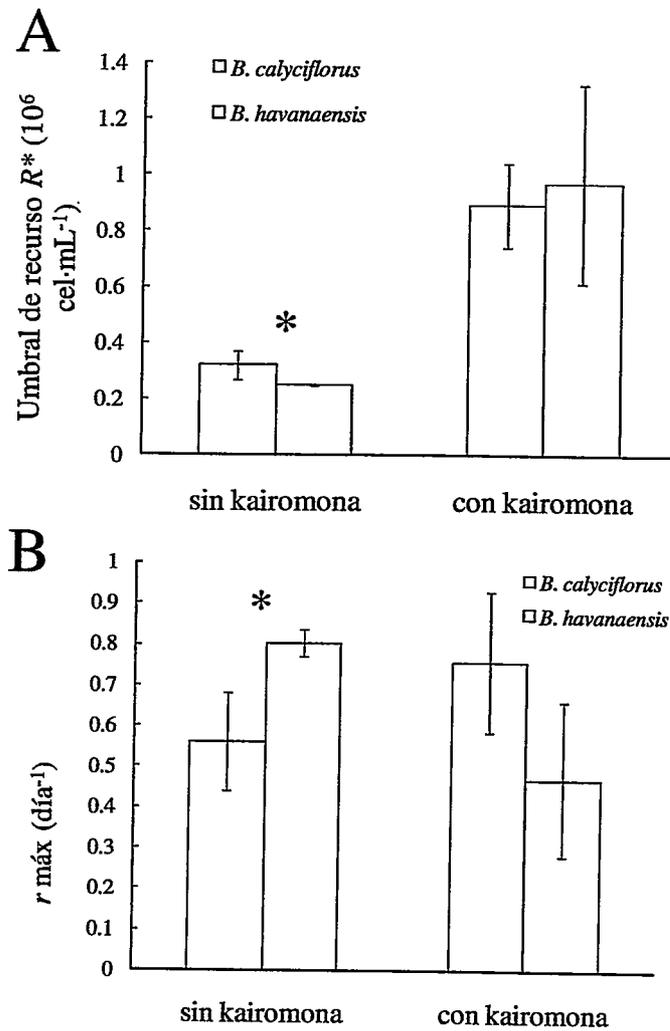


Figura 3. Umbrales de recurso para crecimiento cero (A) y tasa máxima de crecimiento (B) de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* creciendo aisladamente en medio fresco (sin inducción de defensa) y medio precondicionado con infoquímico del depredador *A. brightwelli* (inductor de defensa). Las barras de error corresponden a IC 95%. Los asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (ANOVA, $P < 0.05$).

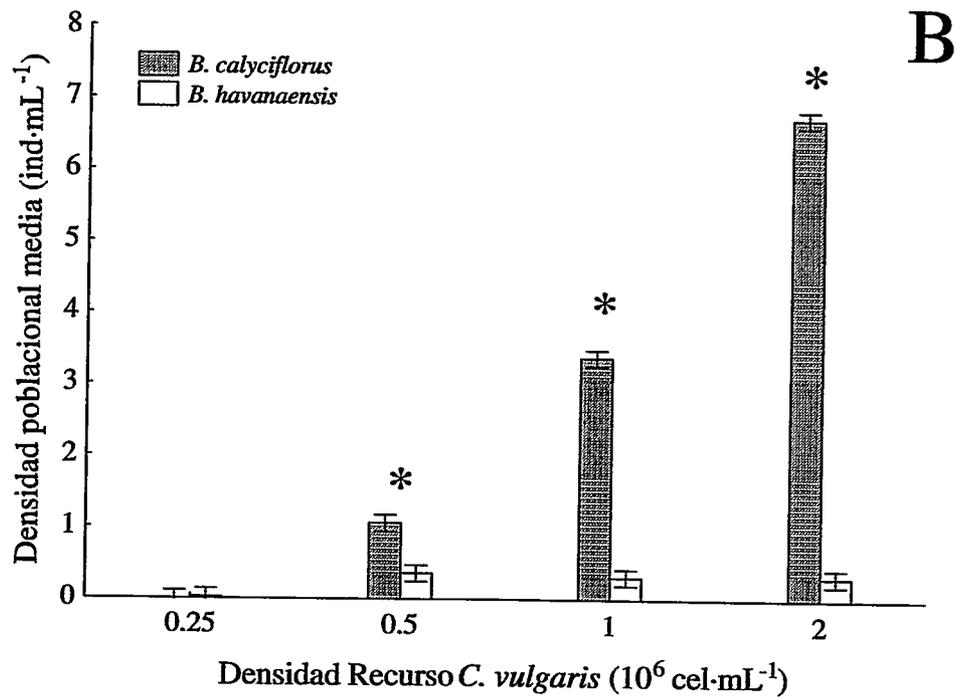
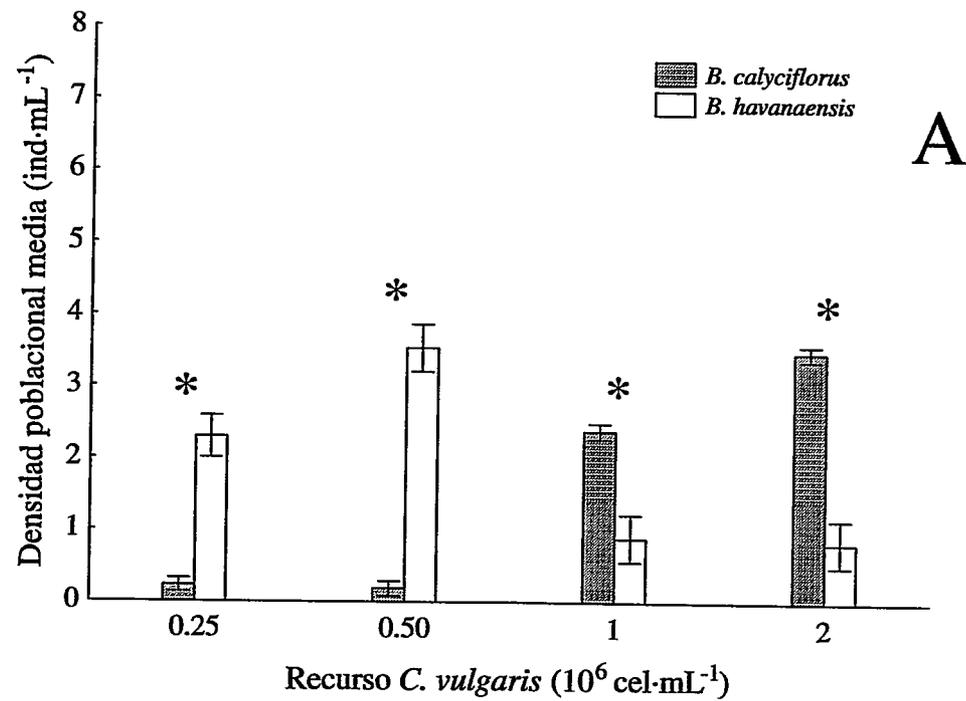


Figura 4. Densidad poblacional media en experimentos de competencia entre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en: (A) medio fresco, y (B) medio precondicionado con infoquímico de depredador. Barras de error corresponden a IC 95%. Asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (prueba de Tukey, $P < 0.05$).

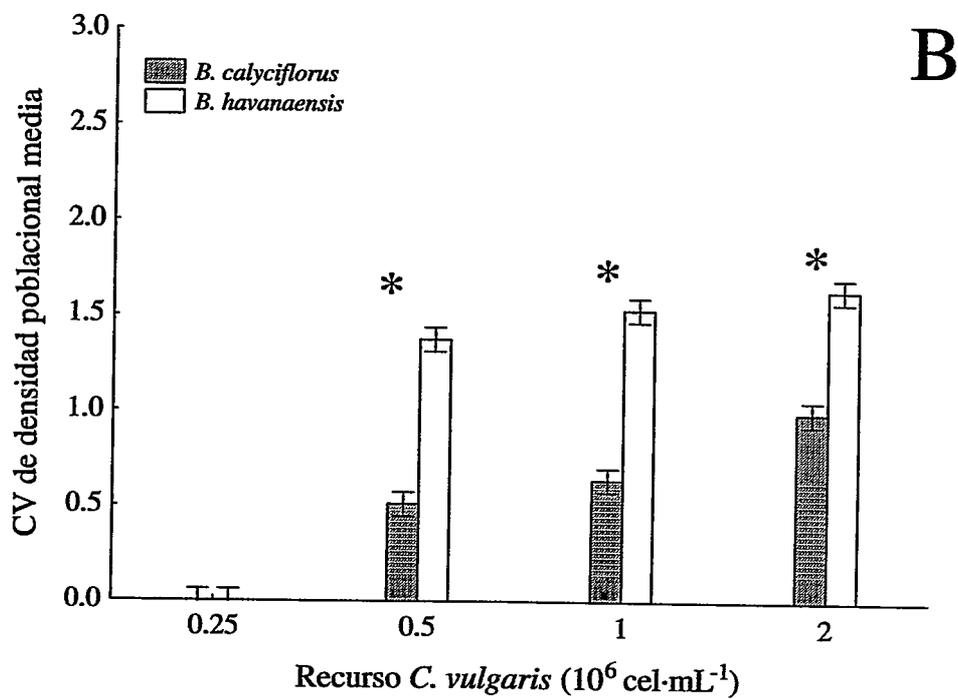
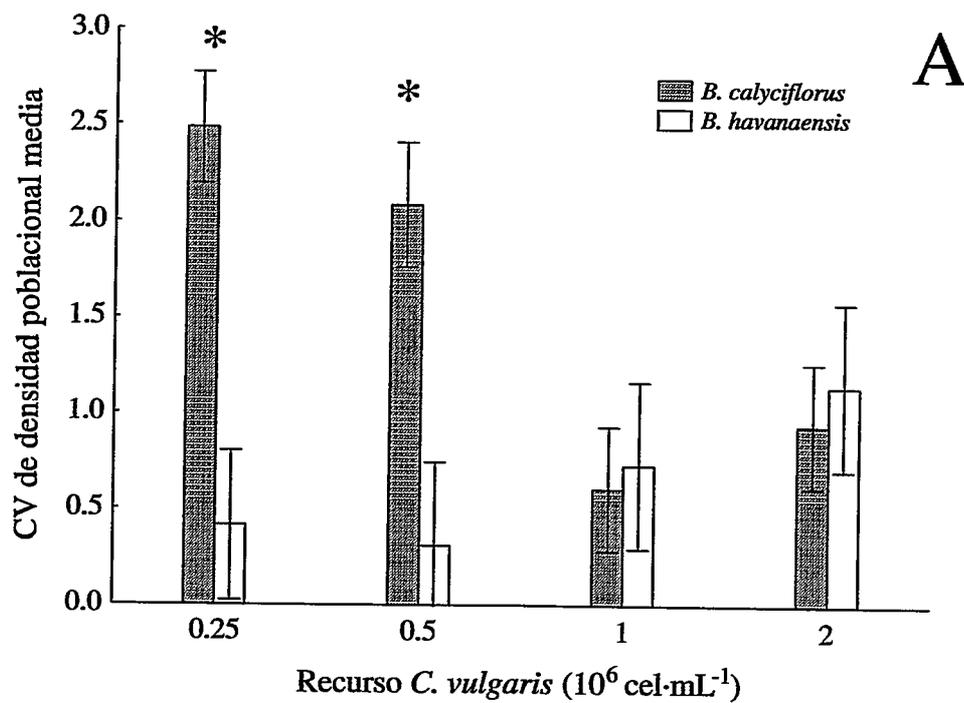


Figura 5. Coeficientes de variación de las densidades poblacionales medias en experimentos de competencia entre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en: (A) medio fresco, y (B) medio precondicionado con infoquímico de depredador. Barras de error corresponden a IC 95%. Asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (Tukey, $P < 0.005$).

Discusión

Tanto *B. calyciflorus* como *B. havanaensis*, creciendo como poblaciones aisladas, presentaron mayores umbrales de recurso en morfos defendidos respecto de los morfos no inducidos. Este resultado indica la existencia de un compromiso entre la expresión de defensas y la aptitud competitiva en rotíferos.

Bajo coexistencia de ambas poblaciones de herbívoros, la inducción de defensas previene la dominancia de *B. havanaensis* en bajas densidades de recurso y disminuye su estabilidad poblacional con alto recurso. En contraposición, la inducción de defensas favorece la dominancia de *B. calyciflorus* en gran parte del gradiente de recurso y aumenta la estabilidad de su trayectoria en bajo recurso. Por tanto, se destacan los efectos de la adición de kairomona en bajos niveles de recurso: se extinguen ambas especies herbívoras o éstas coexisten en densidades más homogéneas. Esto concuerda con la obtención de valores semejantes de umbrales de recurso para las especies inducidas. Al no existir una diferencia significativa entre umbrales de ambas especies, éstas pueden considerarse competitivamente equivalentes y teóricamente podrían coexistir (Tilman 1982).

En altas densidades de recurso sin embargo, cuando las abundancias de ambas especies de herbívoros alcanzan niveles mayores, los resultados difieren de lo esperado a través del cálculo de los umbrales. Una explicación a ello es que si bien ambas especies disminuyen su capacidad explotativa con la adición de kairomona, *B. havanaensis* también ve disminuida su tasa máxima de crecimiento $r_{m\acute{a}x}$; es decir, su capacidad de

crecimiento poblacional en altos niveles de recurso. Es esperable que especies con bajos umbrales R^* presenten bajas tasas máximas de crecimiento poblacional (r_{max}) y sean, por tanto, exitosas en ambientes de bajo recurso. En oposición, especies con altas tasas máximas de crecimiento serán capaces de explotar rápidamente períodos transitorios de alta disponibilidad de recurso, pero debido a sus altos R^* tendrán un pobre desempeño cuando las concentraciones de recurso son crónicamente bajas (Kirk 2002). En *B. calyciflorus* la adición de señal de depredación afecta esta relación sólo a través del aumento de R^* , que lo convierte en mal competidor en bajo recurso, pero en el caso *B. havanaensis* el incremento de R^* y la disminución de r_{max} conducidos por la respuesta plástica, disminuye sus capacidades relativas tanto en bajo como en alto recurso. Su defensa constituye por tanto una estrategia más costosa en términos de interacciones ecológicas (“costo ambiental”, Tollrian & Harvell 1999).

Existen otros factores no relacionados directamente con la aptitud para explotar recurso que influyen en el resultado de la competición a mayores densidades, como son la tolerancia relativa a altas densidades poblacionales (*crowding*) y la capacidad especie-específica de almacenamiento de recursos. Las densidades relativas de especies competidoras (Romanovsky & Feniova 1985, Sarma et al 1996, Kirk 1997, Nandini et al. 2002), así como la resistencia a la inanición (Kirk 1997, 2002, Kirk et al. 1999, Merriman & Kirk 2000), se han reconocido como factores relevantes en el resultado de la competición entre especies. Cuando la disponibilidad de recurso cae bajo un nivel umbral fisiológicamente definido, las reservas energéticas y la tasa respiratoria son determinantes para la sobrevivencia y el éxito competitivo. En cultivos como los

aplicados en este trabajo, tipo *batch*, el alimento es incorporado en pulsos diarios y su disponibilidad decae en el lapso de 24 h. Especies de mayor tamaño soportan períodos más prolongados de inanición y en este caso, *B. calyciflorus* ha sido caracterizada como una especie con mayores capacidades para soportar inanición respecto de *B. havanaensis* (Kirk 1997, Kirk *et al.* 1999).

Werner & Peacor (2003) señalan que la sola presencia de un depredador puede cambiar el efecto competitivo de una especie sobre otra, mediante la modificación de rasgos fenotípicos en las presas. Estudios teóricos (Matsuda *et al.* 1996, Krivan 1996, 1997, Fryxell & Lundberg 1998, Krivan & Schmitz 2004, Abrams 2007 y referencias) y empíricos (Peacor 2002, Peacor & Werner 1997, 2000, 2001, Werner 1991, Werner & Anholt 1996, Werner & Peacor 2003) han señalado que la presencia de rasgos dinámicos conductuales, morfológicos y de historia de vida, tales como defensas antidepredatorias, pueden cambiar la forma funcional de las interacciones. Así, la presencia no letal de depredadores podría revertir el resultado de la competición entre presas, sin afectar directamente la densidad de ninguna de ellas. Nuestros resultados apoyan este postulado, particularmente a baja densidad de recurso, donde se revierte la identidad de la especie dominante a través de un aumento de la densidad media y la disminución de las oscilaciones poblacionales en el herbívoro beneficiado. Confirmación experimental de una reversión de dominancia competitiva y estabilización son los trabajos de Werner & Anholt (1996), Raimondi *et al.* (2000), Relyea (2000), Peacor & Werner (2001), Verschoor *et al.* (2004) y van der Stap *et al.* (2008). Sin embargo, estos estudios no han sido dirigidos a en orden a proponer un compromiso entre la plasticidad fenotípica y la

resultante de la competición. Nuestros resultados permiten evidenciar mecanismos que se encuentran normalmente enmascarados dentro de los efectos netos del depredador sobre la trama de interacciones. Actualmente existe una creciente evidencia respaldando que los efectos no letales podrían contribuir fuertemente al efecto total de depredadores (Peacor & Werner 2001).

Este trabajo confirma experimentalmente la existencia de consecuencias comunitarias derivadas de la expresión de defensas inducibles. Particularmente, mostramos un compromiso intra-específico entre aptitud competitiva y expresión de defensas, junto a la modificación -recurso dependiente- del resultado competitivo entre dos especies producto de efectos no-letales de la depredación. Esto revela la ocurrencia de mecanismos complejos de modificación, tanto de la magnitud como del signo, de los efectos inter-específicos; reforzando la visión cuantitativa y cualitativamente dinámica de las redes de interacciones en comunidades naturales.

Literatura citada

- Abrams PA (2007) Defining and measuring the impact of dynamic traits on interspecific interactions. *Ecology* 88: 2555-2562.
- Berenbaum MR & Zangerl AR (1999) Coping with life as a menu option: Inducible defenses of Wild Parsnip In: Tollrian R & Harvell CD (eds) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 10-32.
- Borowitzka MA & Borowitzka LJ (1988) *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, UK.
- Case TJ & ME Gilpin (1974) Interference Competition and Niche Theory. *PNAS* 71 (8): 3073-3077.
- Chesson P & Kuang JJ (2008) The interaction between predation and competition. *Nature* 456: 235-237.
- Ciros-Pérez J, Carmona MJ & M Serra (2001) Resource competition between sympatric sibling rotifer species. *Limnol. Oceanogr.* 46 (6): 1511-1523.
- Dambacher JM & Ramos-Jiliberto R (2007) Understanding and predicting effects of modified interactions through a qualitative analysis of community structure. *The Quarterly Review of Biology* 82, 227-250.
- Epp RW & Lewis WM (1984) Cost and speed of locomotion for rotifers. *Oecologia* 61:289-292.

- Fryxell JM & Lundberg P (1998) Individual Behavior and Community Dynamics. In: Population and Community Biology Series 20. Chapman and Hall, NY, pp 70-79.
- Gilbert JJ (1980) Further observations on developmental polymorphism and its evolution in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Freshw. Biol.* 10: 281-294.
- Gilbert JJ (1999) Kairomone-Induced Morphological Defenses in Rotifers. In: Tollrian R & Harvell CD (eds) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, pp 127-141.
- Huang C & Sih A (1990) Experimental studies on behaviorally mediated, indirect interactions through a shared predator. *Ecology* 71: 1515-1522.
- Kirk KL (1997) Life-history responses to variable environments: Starvation and reproduction in planktonic rotifers. *Ecology* 78, 434-441
- Kirk KL (2002) Competition in variable environments: experiments with planktonic rotifers. *Freshw. Biol.* 47: 1089-1096.
- Kirk KL, Ellis J & Taylor J (1999) Physiological responses to variable environments: storage and respiration in starving rotifers *Freshw. Biol.* 42: 637-644.
- Kreutzer C & Lampert W (1999) Exploitative competition in differently sized *Daphnia* species: a mechanistic explanation. *Ecology* 80 (7): 2348-2357.
- Krivan V (1996) Optimal foraging and predator-prey dynamics. *Theor. Popul. Biol.* 49: 265-290.

- Krivan V (1997) Dynamic ideal free distribution: effects of optimal patch choice on predator-prey dynamics. *Am. Nat.* 149: 164-178.
- Krivan V & Schmitz OJ (2004) Trait and density mediated indirect interactions in simple food webs. *Oikos* 107: 239-250.
- Lapesa S, Snell TW, Fields DM & Serra M (2002) Predatory interactions between a cyclopoid copepod and three sibling rotifer species. *Freshw. Biol.* 47: 1685-1695.
- Lima S (1998) Nonlethal effects in the ecology of Prdator-Prey Interactions. What are the ecological effects of antipredator decision-making? *Bioscience* 48 (1): 25-34.
- Lubchenco J & Gaines SD (1981) An unified approach to marine plant-herbivore interactions. I. Populations and Communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 405-437.
- Matsuda H, Michio H & Abrams P (1996) Effects of predator-specific defense on biodiversity and community complexity in two-trophic-level communities. *Evol. Ecol.* 10: 13-28.
- Merriman JL & Kirk KL (2000) Temporal patterns of resource limitation in natural populations of rotifers. *Ecology* 81: 141-149.
- Morin PJ (1999) *Community Ecology*. Blackwell Science, Inc.
- Nandini S, Muro-Cruz G & Sarma SSS (2002) Competition between littoral cladocerans *Macrothrix triserialis* and *Alona rectangular* (Cladocera) in relation to algal food level and inoculation density. *Acta Hydrochim. et Hydrobiol.* 30(1): 16-23

- Peacor SD (2002) Positive effect of predators on prey growth rate through induced modifications of prey behaviour. *Ecol. Letters* 5: 77-85.
- Peacor SD & EE Werner (1997) Trait-mediated indirect interactions in a simple aquatic food web. *Ecology* 78: 1146-1156.
- Peacor SD & Werner EE (2000) Predator effects on an assemblage of consumers through induced changes in consumer foraging behavior. *Ecology* 81: 1998-2010.
- Peacor SD & Werner EE (2001) The contribution of trait-mediated indirect effects to the net effects of a predator. *PNAS* 98: 3904-3908.
- Raimondi PT, Forde SE, Delph LF & Lively CM (2000) Processes structuring communities: evidence for trait-mediated indirect effects through induced polymorphisms. *Oikos* 91: 353-361.
- Ramos-Jiliberto R & Garay-Narváez L (2007) Qualitative effects of inducible defenses in trophic chains. *Ecological Complexity* 4: 58-70.
- Relyea RA (2000) Trait-mediated indirect effects in larval anurans: reversing competition with the threat of predation. *Ecology* 81: 2278-2289.
- Relyea RA (2002) Costs of phenotypic plasticity. *Am Nat* 159: 272-282.
- Romanovsky YE & Feniova IY (1985) Competition among Cladocera: effect of different levels of food supply. *Oikos* 44, 243-252.
- Rothhaupt KO (1988) Mechanistic resource competition theory applied to laboratory experiments with zooplankton. *Nature* 333: 660-662.

- Rothhaupt KO (1990) Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. *Limnol. Oceanogr.* 35: 24-32.
- Rothhaupt KO (1993) Steady-state growth and carbon metabolism of *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus*. In: Walz N (ed.) *Plankton regulation dynamics: Experiments and Models in rotifer continuous cultures*. Springer-Verlag Pp: 123-132.
- Sarma SSS, Nandini Iyer & Dumont HJ (1996) Competitive interactions between herbivorous rotifers: importance of food concentration and initial population density. *Hydrobiologia* 331: 1-7.
- Stelzer CP (2006) Competition between two planktonic rotifer species at different temperatures: an experimental test. *Freshw. Biol.* 51: 2187-2199.
- Stemberger RS (1988) Reproductive costs and hydrodynamic benefits of chemically induced defenses in *Keratella testudo*. *Limnol Oceanogr* 33: 593-606
- Stemberger RS & Gilbert JJ (1985) Body Size, Food Concentration, and Population Growth in Planktonic Rotifers. *Ecology* 66: 1151-1159.
- Stemberger RS & JJ Gilbert (1987) Defenses of planktonic rotifers against predators. In: Kerfoot WC & A Sih (eds.) *Predation. Direct and indirect impacts on aquatic communities*. University Press of New England. London.
- Tilman D (1982) *Resource competition and community structure*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

- Tollrian R & Dodson SI (1999) Inducible defenses in Cladocera: constraints, costs, and multipredator environments. In: Tollrian R & Harvell CD (eds) The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 177-202.
- Tollrian R & Harvell CD (1999) The Evolution of Inducible Defenses: Current Ideas. In: Tollrian R & Harvell CD (eds) The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 306-321
- van der Stap I, Vos M, Verschoor AM, Helmsing NR & Mooij WM (2007) Induced defenses in herbivores and plants differentially modulate a trophic cascade. *Ecology* 88: 2474-2481.
- van der Stap I, Vos M, Tollrian R & Mooij WM (2008) Inducible defenses, competition and shared predation in planktonic food chains. *Oecologia* 157: 697-705.
- van Veen F, van Holland PD & HC Godfray (2005) Stable coexistence in insect communities due to density- and trait-mediated indirect effects. *Ecology* 86 (12): 1382-1389.
- Verschoor AM, Vos M & van der Stap I (2004) Inducible defenses prevent strong population fluctuations in bi-and tritrophic food chains. *Ecology letters* 7(12): 1143-1148.
- Wallace RL, Snell TW, Ricci C, Nogrady T (2006) Rotifera: Volume 1: Biology, Ecology and Systematics, 2nd ed. In: Dumont HJF (ed) Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.

- Werner EE (1991) Nonlethal effects of a predator on competitive interactions between two anuran larvae. *Ecology* 72: 1709-1720.
- Werner EE & BR Anholt (1996) Predator-Induced Behavioral Indirect Effects: Consequences to Competitive Interactions in Anuran Larvae. *Ecology* 77: 157-169.
- Werner EE & SD Peacor (2003) A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology* 84: 1083-1100.
- Wootton JT (1994) Predicting direct and indirect effects: an integrated approach using experiments and path analysis. *Ecology* 75: 151-165.

CAPITULO III

DEFENSAS INDUCIBLES COMO PROMOTORAS DE

COEXISTENCIA ENTRE COMPETIDORES

ZOOPLANCTÓNICOS

Resumen

La depredación es una interacción biológica de potencial importancia en la estructuración de comunidades. La sola presencia de un depredador puede alterar los efectos *per cápita* de especies en interacción. Esto revela la importancia de efectos no letales, modificadores de rasgos en las presas, dentro del efecto neto de la depredación. Defensas inducibles corresponden a un cambio fenotípico en las presas como respuesta a una señal de depredación, y han sido ampliamente documentadas en rotíferos. Estas defensas podrían incrementar o disminuir la probabilidad del herbívoro presa de coexistir con competidores superiores, dependiendo tanto de la intensidad de depredación, como de la disponibilidad de recursos.

En este trabajo se estimó experimentalmente el efecto de la inducción de defensas sobre la densidad, uniformidad y la probabilidad de persistencia de dos especies de herbívoros (*Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*) que comparten depredador (*Asplanchna brightwelli*) y recurso (*Chlorella vulgaris*). Para ello se aislaron efectos letales de los netos a través de la manipulación del nivel de señal inductora en la comunidad experimental. Nuestros resultados muestran que la inducción de defensas antidepredatorias genera un efecto positivo sobre la coexistencia, estabilidad y uniformidad de la densidad de los herbívoros. Estos resultados se discuten en términos de proponer las defensas inducibles como promotoras de la diversidad.

Palabras clave: Efectos no-letales, diversidad, efectos indirectos, plasticidad fenotípica, rotíferos.

Introducción

La depredación es una interacción biológica que puede resultar de importancia fundamental en la estructuración de comunidades, ya sea directamente mediante la eliminación local de especies, o indirectamente a través de la prevención de la exclusión competitiva (Paine 1966, Connell 1975, Chase *et al.* 2002, Chesson & Kuang 2008).

La adición de un depredador usualmente reduce el tamaño poblacional de sus presas, lo que permite el aumento de un recurso compartido por éstas (Chase *et al.* 2002). Esto promovería la coexistencia de presas competidoras que de otra manera se excluirían, debido a que la reducción de las densidades de estas poblaciones disminuye la intensidad de la competición (Caswell 1978, Hämbäck 1998, Abrams 1999). Sin embargo, dependiendo de cómo actúan la depredación y la competencia en estas especies, los efectos sobre la coexistencia podrían ser positivos, negativos o ausentes (Chase *et al.* 2002). De esta manera, exclusión competitiva podría afectar a uno u otro competidor debido a aptitudes competitivas diferenciales (Leibold 1996), o a vulnerabilidad diferencial de las presas frente al depredador, generada por polimorfismos (Verschoor *et al.* 2004, van der Stap *et al.* 2008), heterogeneidad espacial (Abrams *et al.* 1998), y conductas de forrajeo óptimo (Hämbäck 1998, Yamauchi & Yamamura 2005) o *switching* (Abrams & Matsuda 1996).

Los depredadores, además del consumo que ejercen sobre las presas, también interactúan con ellas induciendo cambios en su fenotipo (efectos no letales), los que pueden ejercer influencias importantes en las dinámicas depredador-presa (Bolnick & Preisser 2005). Evidencia experimental sugiere que la sola presencia de un depredador

puede alterar los efectos competitivos per cápita de una especie sobre otra (Werner 1991, Peacor & Werner 1997, Relyea 2000), más aún si el depredador se encuentra a bajas densidades, y que los efectos indirectos totales se explicarían en mayor medida por los efectos indirectos mediados por rasgo (EIMR) más que por los efectos indirectos mediados por densidad (EIMD) (Werner & Peacor 2003, para estudios en el tema ver Huang & Sih 1990, 1991, Werner 1991, Werner & Anholt 1996, Relyea 2001, Damiani 2005).

Las defensas inducibles (Harvell 1990) provienen de un cambio fenotípico en las presas como respuesta a una señal de depredación. En rotíferos planctónicos se ha documentado el desarrollo de defensas inducibles, a través de la formación de espinas y elongación de apéndices en respuesta a los infoquímicos (kairomona) producidos por distintos depredadores, como son: otros rotíferos (particularmente del género *Asplanchna*) y copépodos (Gilbert 1966, 1999, Stemberger & Gilbert 1987).

Se ha explorado a nivel teórico (Ramos-Jiliberto & González-Olivares 2000, Ramos-Jiliberto *et al.* 2002, 2008a, b, Ramos-Jiliberto 2003, Rinaldi *et al.* 2004, Vos *et al.* 2004a, b, Yamauchi & Yamamura 2005) el comportamiento de sistemas depredador-presa y cadenas tritróficas donde el nivel intermedio presenta defensas del tipo inducible. Sus resultados sugieren que la presencia de estas defensas tiene un efecto estabilizante sobre los sistemas y promotor de la coexistencia de las especies. Sin embargo, la contrastación empírica de esos resultados ha sido escasa (Underwood & Rausher 2002, Verschoor *et al.* 2004, van Veen *et al.* 2005, van der Stap *et al.* 2006,

2007, 2008), particularmente en evaluar resultados dinámicos de defensas en niveles tróficos específicos.

Acercamientos experimentales han evaluado el resultado neto de interacciones de depredación y competición en rotíferos del género *Brachionus* en presencia de su depredador *Asplanchna* (Halbach 1969, van der Stap *et al.* 2008, Yin & Niu 2008). Estos antecedentes sugieren que la plasticidad fenotípica de la defensa inducible podría incrementar la probabilidad del herbívoro de coexistir con su depredador, y aún de coexistir con competidores superiores, dependiendo tanto de la intensidad de depredación, como de la disponibilidad de recursos. Sin embargo, estos estudios no evalúan el efecto competitivo de la expresión de defensas en una misma especie en la que se midan efectos del morfo defendido y no defendido, lo que requiere necesariamente aislar efectos letales y no letales del depredador sobre especies de rotíferos. Este procedimiento tiene la dificultad de requerir de manipulación previa para la obtención de un efecto únicamente letal del depredador no induciendo defensas en las presas. Probablemente esto ha contribuido a un limitado avance en estudios experimentales que contrasten el efecto letal del depredador con el efecto neto del depredador (modificador de rasgos y de densidad) sobre el resultado de la competición, por lo que la relevancia de la inducción de defensas en los rotíferos herbívoros como factor modificador del resultado de la interacción competición/depredación no ha sido suficientemente comprendida.

Nuestro objetivo en este trabajo es estimar el efecto de la inducción de defensas sobre la densidad, uniformidad y la probabilidad de persistencia de dos especies de

herbívoros que comparten depredador y recurso. Para ello desarrollamos experimentalmente un sistema modelo tritrófico de 4 especies: dos poblaciones de rotíferos herbívoros (*Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*) que comparten una microalga como recurso único (*Chlorella vulgaris*) y un depredador común (*Asplanchna brightwelli*). A fin de evaluar las consecuencias de los efectos no-letales, fuimos capaces de separar experimentalmente los efectos letales de los efectos netos del depredador a través de la manipulación del nivel de señal inductora en la comunidad experimental. Nuestros resultados muestran un efecto positivo de la defensa inducida sobre la coexistencia y uniformidad de los herbívoros.

Materiales y Métodos

Cultivo de especies experimentales

El depredador (*Asplanchna brightwelli*) y los herbívoros *B. calyciflorus* y *B. havanensis* fueron aislados lagos templados de Chile Central: Tranque Pitama (33°27'S-70°49'O) y Embalse Rapel (34°09'S-71°26'O). Se iniciaron cultivos clonales a partir de una única hembra amíctica y mantenidos bajo condiciones de laboratorio por dos meses previo a su uso en experimentos. Tanto para mantener los cultivos como para llevar a cabo los experimentos se utilizó agua dulce reconstituída (U.S. EPA).enriquecida con vitaminas: 100 mg·L⁻¹ tiamina (B1), 0.5 mg·L⁻¹ biotina, and 0.5 mg·L⁻¹ cianocobalamina (B12).

Los cultivos stock de rotíferos presa fueron alimentados diariamente con el alga verde *Chlorella vulgaris* en una densidad de 0.5·10⁶ cel·mL⁻¹, la que fue cultivada en botellas de vidrio de 2 L, usando medio basal Bold (Borowitzka & Borowitzka 1988). El alga fue cosechada en fase de crecimiento exponencial y centrifugada a 3000 rpm por 5 min. La densidad de alga fue estimada por recuento en una cámara Neubauer.

A. brightwelli fue cultivada en vasos de 500 mL y alimentada diariamente *ad libitum* con una mezcla de presas del género *Brachionus* (*B. calyciflorus*, *B. caudatus*, *B. havanaensis* y *B. patulus*). Las condiciones experimentales fueron: pH 7.5 ± 0.1, temperatura 25 ± 0.5°C, e iluminación fluorescente difusa, con un fotoperíodo de 12:12 (l:d). Los medios de cultivo de las poblaciones stock fueron reemplazados diariamente.

Experimentos competición/depredación

Se utilizaron vasos precipitados de 250 mL con 200 mL de medio. Cada vaso fue inoculado con las dos especies de *Brachionus* (*B. calyciflorus* y *B. havanaensis*), cada una en densidad de $1 \text{ ind}\cdot\text{mL}^{-1}$, conteniendo microalga *C. vulgaris* en cuatro densidades diferentes: 0.5, 1, 2 y $4 \cdot 10^6 \text{ cel}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$. En experimentos previos se determinó las densidades de depredador que permiten detectar efectos letales y efectos no-letales (defensa inducible). Para un set de tratamientos, el depredador *A. brightwelli* fue inoculado en densidad $0.005 \text{ ind}\cdot\text{mL}^{-1}$, que resultó suficientemente baja como para obtener efectos letales, pero sin inducir variaciones morfológicas. Se realizó en paralelo un experimento de iguales características al anterior, pero en lugar de utilizar medio fresco, se utilizó medio precondicionado con *A. brightwelli*. Este medio EPA condicionado (Wallace *et al.* 2006) por el depredador fue preparado separadamente en régimen diario con *Asplanchna* en densidad de $0.1 \text{ ind}\cdot\text{mL}^{-1}$, densidad suficientemente alta como para obtener morfos inducidos en ambas especies de herbívoros (ver Capítulo I). El medio control consistió en agua precondicionada sólo con la mezcla de rotíferos que sirvieron de presa para el depredador. Cada día, individuos de *Asplanchna* fueron removidos del medio con ayuda de un filtro de $50 \mu\text{m}$. El medio fue entonces filtrado a través de un filtro de membrana de $0.45 \mu\text{m}$, y el pH fue ajustado a 7.5 ± 0.1 . Los experimentos fueron iniciados con individuos extraídos de poblaciones stock cultivadas en igual medio precondicionado por un período de siete días previo al inicio del experimento. Se utilizaron por tanto 32 contenedores experimentales: 2 niveles de defensa (0-1) x 4 niveles recurso x 4 réplicas. Los rotíferos herbívoros de cada vaso

fueron contados diariamente, usando 3-4 alícuotas de 10 mL. Posterior a ello, todos los rotíferos de cada vaso fueron transferidos a medio fresco o medio precondicionado, según fuera el caso, con microalga en la densidad señalada para cada nivel. El depredador fue mantenido en densidad constante durante todo el experimento (0.005 *Asplanchna*-mL⁻¹). Los experimentos de crecimiento fueron finalizados después de 16 días, cuando las poblaciones de brachióidos comenzaron a declinar.

Las densidades poblacionales de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* fueron analizadas en sus valores medios y coeficientes de variación a través del tiempo (excluyendo los 6 primeros días de período transiente), mediante ANOVAs de una vía, previa revisión de los supuestos paramétricos. En caso de haber diferencias significativas, se realizó una prueba a posteriori Tukey.

Se estimó también el índice de diversidad de Shannon H' diariamente en base a las densidades de ambas especies, el cual refleja el grado de uniformidad de la abundancia (Stiling 1996). Finalmente, se realizó un análisis de viabilidad poblacional (AVP) de acuerdo al método de Dennis *et al.* (1991) a fin de estimar la probabilidad de extinción de cada réplica en un horizonte temporal de 60 días. Se consideró una población extinta aquella que presente una densidad inferior a 0.002 ind mL⁻¹. Para este análisis se eliminó un periodo transiente de 4 días. Las probabilidades de persistencia (1-P(extinción)) fueron comparadas mediante ANOVA de 2 vías, siendo los factores densidad de recurso y presencia de defensa, previa transformación arcoseno.

Resultados

Las trayectorias de densidad poblacional de ambas especies se muestran en la Fig. 6 del Apéndice. Sin inducción de defensas, la densidad poblacional de *Brachionus calyciflorus* aumenta con la densidad de recurso, mientras que *B. havanaensis* alcanza su mayor densidad con bajo recurso (Fig. 1A). Asimismo, las densidades de *B. calyciflorus* muestran mayor variación en bajo recurso, contrariamente a *B. havanaensis* cuya densidad es más estable en bajo recurso (Fig. 1C). Con inducción de defensas, los valores medios de las densidades de ambas especies son homogéneos para todo el gradiente de recurso (en torno a $0.5 \text{ ind}\cdot\text{mL}^{-1}$), registrándose diferencias interespecíficas tan sólo en el mayor nivel de recurso. Asimismo, los coeficientes de variación de ambas especies disminuyen consistentemente con la inducción de defensa y no difieren entre especies a lo largo del gradiente de recurso (Fig. 1).

La uniformidad lograda por la inducción de defensas se revela a través de la evolución de la diversidad H' (Fig. 2). En ausencia de efectos no letales, la diversidad declinó a través del tiempo y de forma más pronunciada a menores densidades de recurso (Fig. 2A). Con defensas inducidas, el índice de diversidad permanece virtualmente constante a lo largo del tiempo en todas las densidades de recurso.

Los resultados derivados del AVP (Fig. 3) muestran que la exhibición de defensas promueve un aumento significativo en la probabilidad de persistencia. Esto se verifica para *B. calyciflorus* en todo el gradiente de recurso, y para *B. havanaensis* en

todos los niveles de recurso salvo el menor, donde la probabilidad de persistir se mantiene igualmente elevada (Fig. 3).

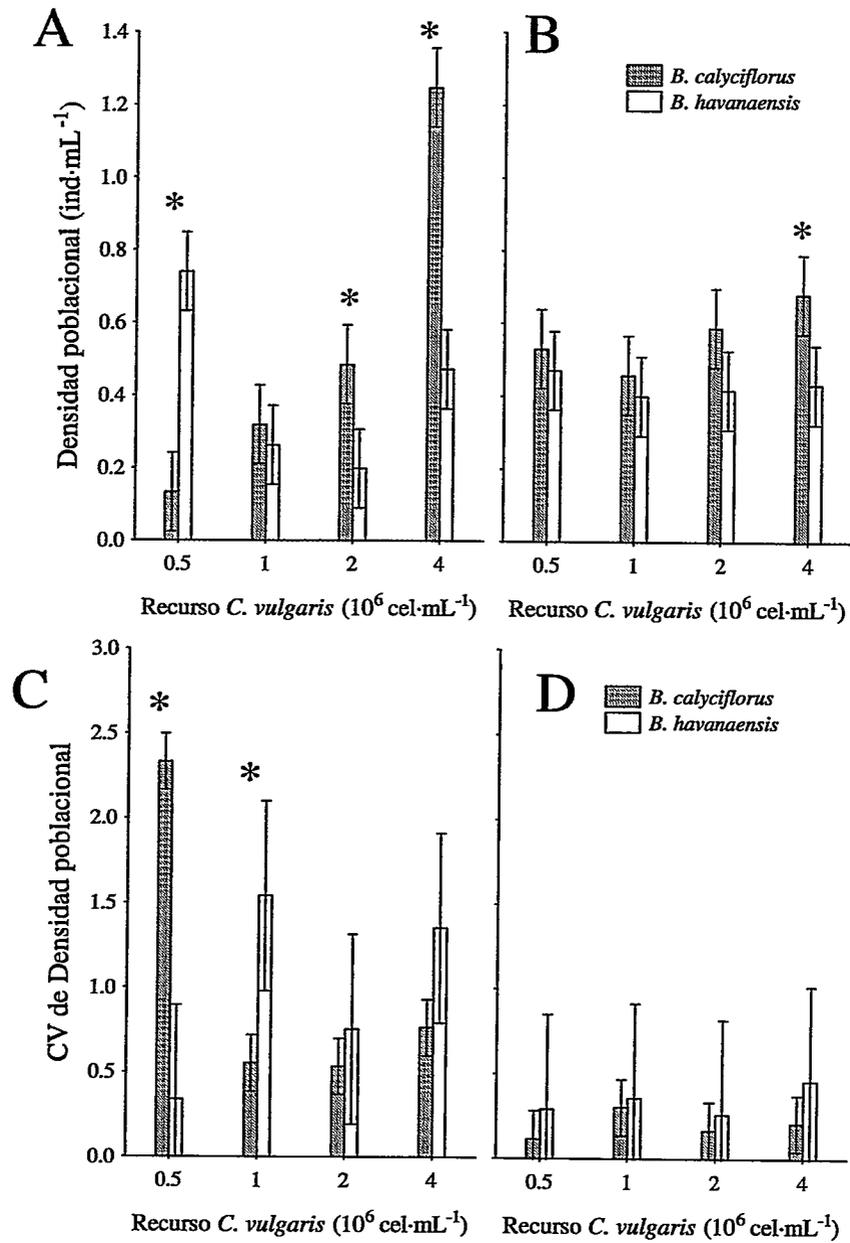


Figura 1. Densidades poblacionales y coeficiente de variación de densidades poblacionales de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* compitiendo por un recurso único, sometidos a depredación de *A. brightwelli*. A y C: sólo con efectos letales; B y D: con

efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%, y asteriscos muestran diferencias significativas entre especies (Tukey, $P < 0.005$).

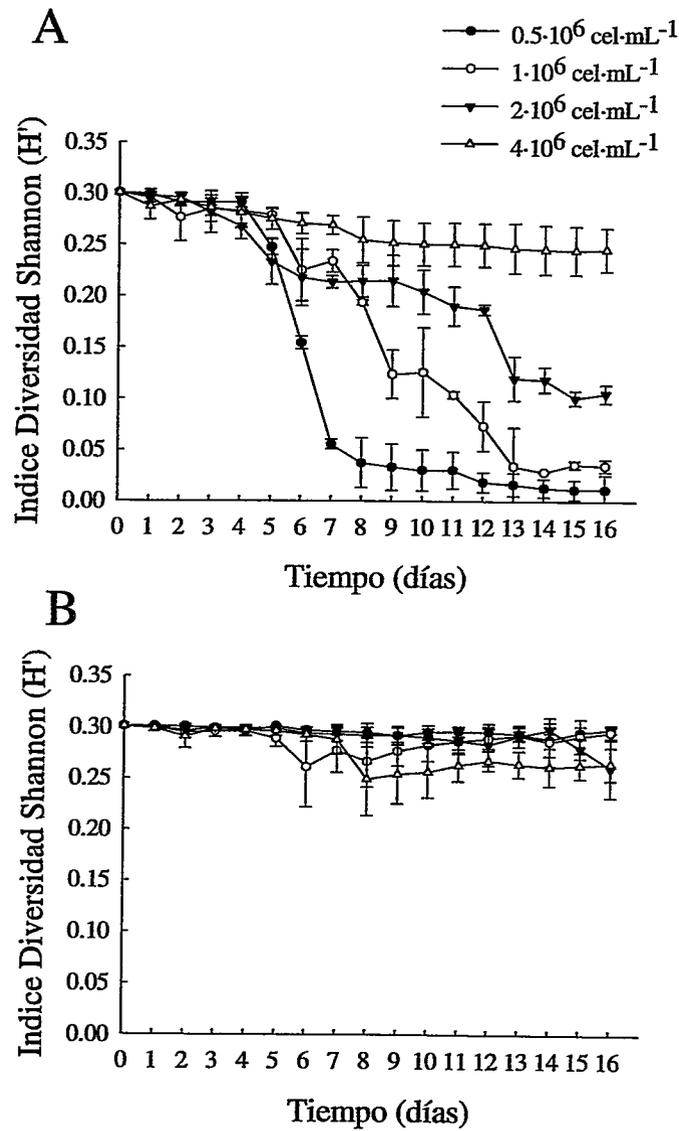


Figura 2. Índice de Diversidad de Shannon en experimentos conducidos en distintas densidades de recurso con A: sólo efectos letales de depredación y B: con efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%.

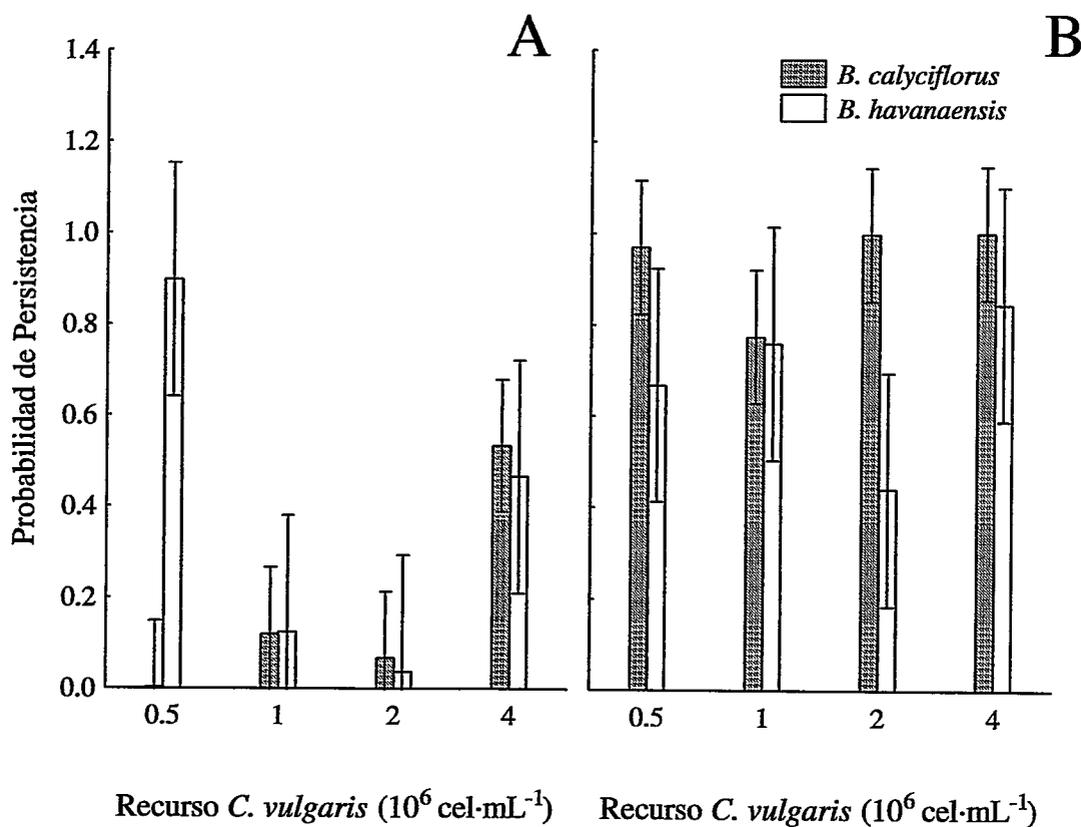


Figura 3. Probabilidad de persistencia de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en distintas densidades de recurso con A: sólo efectos letales de depredación y B: con efectos letales y no-letales. Barras de error corresponden a IC 95%.

Discusión

Los efectos no-letales de la depredación de *A. brightwelli* sobre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* exhibiendo defensas inducidas genera una homogenización entre las densidades poblacionales de los herbívoros y una estabilización de su dinámica: altas densidades disminuyen, bajas densidades aumentan, y las oscilaciones temporales disminuyen, de manera tal que ambas especies se mantienen igualmente uniformes y estables sobre un gradiente de recurso. Esta “equivalencia competitiva” mediada por defensas inducidas determina un aumento de la probabilidad de persistencia de los herbívoros en todos los niveles de recurso. Por otro lado, la dependencia que presentan - en ausencia de efectos no-letales- la abundancia y la estabilidad de ambas poblaciones respecto de la densidad del recurso es relajada tras la inducción de defensas antidepredatorias.

La visión parcial de que la competición por recurso limita la diversidad constituye una sobresimplificación cuando se aplica a sistemas ecológicos realistas. En sistemas tritróficos donde existe competición y depredación, es esperable una interacción entre ambas fuerzas, lo que haría a estas relaciones tróficas igualmente capaces de limitar o de promover diversidad de herbívoros (Chase *et al.* 2002, Chesson & Kuang 2008). En nuestros resultados se muestra que *B. havanaensis* tiene una mayor capacidad de crecimiento en bajo recurso. Sin embargo, la expresión de la defensa inducida constituiría una estrategia más costosa que para *B. calyciflorus* (Capítulo II), lo que se evidencia con recurso escaso, donde la competición es mayor. Sin embargo, tal como se mostró en resultados previos (Capítulo I), *B. havanaensis* gana un mayor

beneficio del desarrollo de defensas (menor consumo por parte del depredador), lo que permite que con abundante recurso mantenga su densidad media, mientras *B. calyciflorus* se ve disminuido.

Un aporte metodológico de nuestro trabajo consistió en la manipulación experimental de las densidades de *Asplanchna*, probadas con el propósito de discriminar entre efecto no-letal y efecto neto (letal y no-letal) del depredador. El procedimiento planteado fue efectivo por cuanto la densidad de depredador letal ($0.005 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$), fue suficiente para causar un efecto negativo sobre la densidad de ambas presas, respecto de las densidades alcanzadas en iguales niveles de recurso sin depredador (ver Fig. 4 Capítulo II), pero insuficiente como para causar cambios morfológicos en las presas como consecuencia de la liberación de infoquímicos al medio. Por otra parte, la densidad de depredador no-letal ($0.1 \text{ Asplanchna} \cdot \text{mL}^{-1}$) fue probadamente alta como para inducir cambios morfológicos en ambas presas (ver Capítulo I). Esta aproximación permitió analizar separadamente el efecto de la presencia de defensas sobre herbívoros compitiendo, del efecto de un depredador letal pero que no induce defensas, lo que según nuestro conocimiento no había sido probado experimentalmente hasta ahora.

Respecto de la falta de relación entre la dominancia de las especies y el nivel de recurso, la probabilidad de coexistencia estaría determinada por la partición de la interacción dominante (depredación o competición). En sistemas tritróficos sería posible en un amplio espectro de combinaciones posibles de partición de recursos o de depredadores, pero aún sin existir partición en ningún nivel, la coexistencia es posible si

hay un compromiso entre sensibilidad al recurso y sensibilidad a la depredación (Chesson & Kuang 2008). A pesar de que la interacción de depredación se ve debilitada, debido a las defensas inducidas de las presas, el crecimiento de los herbívoros no depende del recurso disponible. Esto sugiere una variación en el consumo de recursos por ambas especies cuando son inducidos a exhibir defensas. Si bien, aquí no fueron evaluados costos de la defensa relacionados con el consumo de recurso, costos de producción de la defensa, y costos de adquisición de información a nivel individual (Relyea 2002), éstos podrían ser determinantes en la salida observada (Chase *et al.* 2002).

Finalmente, nuestros resultados presentan una clara evidencia experimental de promoción de la biodiversidad a través del aumento en la uniformidad y en la estabilidad de poblaciones de herbívoros, producto del desarrollo de defensas inducibles. Como consecuencias, las defensas inducidas son capaces de facilitar la coexistencia de especies mediante la disminución de la probabilidad de extinción estocástica (Verschoor *et al.* 2004, van der Stap *et al.* 2008). Si bien los mecanismos específicos que generan las salidas obtenidas no han sido clarificados, nuestros resultados constituyen un aporte al entendimiento de la relevancia de la inducción de defensas en herbívoros como factor modificador del resultado de las interacciones ecológicas.

Literatura citada

- Abrams PA (1999) Is predator-mediated coexistence possible in unstable systems?.
Ecology 80 (2): 608-621.
- Abrams PA & Matsuda (1996) Positive indirect effects between prey species that share
predators. Ecology 77 (2): 610-616.
- Abrams PA, Holt RD & Roth JD (1998) Apparent Competition or Apparent Mutualism?
Shared Predation when populations cycle. Ecology 79: 201-212.
- Bolnick DI & EL Preisser (2005) Resource competition modifies the strength of trait-
mediated predator-prey interactions: a meta-analysis. Ecology 86 (10): 2771-
2779.
- Borowitzka MA & Borowitzka LJ (1988) Micro-Algal Biotechnology. Cambridge
University Press, UK
- Caswell H (1978) Predator-mediated coexistence: a nonequilibrium model. Am. Nat.
112 (983): 127-154.
- Chase JM, Abrams PA, Grover JP, Diehl S, Chesson P, Holt RD, Richards SA, Nisbet
RM & TJ Case (2002) The interaction between predation and competition: a
review and synthesis. Ecology Letters, 5: 302-315.
- Chesson P & Kuang JJ (2008) The interaction between predation and competition.
Nature 456: 235-238.

- Connell JH (1975) Connell JH. 1975. Some mechanisms producing structure in natural communities: a model and evidence from field experiments. In: Cody ML & Diamond JM (Eds) *Ecology and Evolution of Communities*, pp. 460–91. Cambridge, MA: Belknap.
- Damiani CC (2005) Integrating direct effects and trait-mediated indirect effects using a projection matrix model. *Ecology* 86: 2068–2074.
- Dennis B, Munholland PL & Scott JM (1991) Estimation of Growth and Extinction Parameters for Endangered Species. *Ecological Monographs* 61: 115-143.
- Gilbert JJ (1966) Rotifer Ecology and Embryological Induction. *Science* 151: 1234-1237
- Gilbert JJ (1999) Kairomone-Induced Morphological Defenses in Rotifers. In: Tollrian R, Harvell CD (eds) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, pp 127-141
- Hämbäck PA (1998) Seasonality, Optimal Foraging, and Prey Coexistence. *The American Naturalist* 152 (6): 881-895.
- Harvell CD (1990) The ecology and evolution of inducible defenses. *Quarterly Review of Biology* 65: 323-340.
- Huang C & Sih A (1990) Experimental Studies on Behaviorally Mediated, Indirect Interactions through a Shared Predator. *Ecology*: 71: 1515-1522.

- Leibold MA (1996) A graphical model of keystone predators in food webs: Trophic regulation of abundance, incidence, and diversity patterns in communities. *Am. Nat.* 147: 784-812.
- Paine RT (1966) Food Web Complexity and species diversity. *Am. Nat.* 100: 65-75.
- Peacor SD (2002) Positive effect of predators on prey growth rate through induced modifications of prey behaviour. *Ecol. Letters* 5: 77-85.
- Peacor SD & EE Werner (1997) Trait-mediated indirect interactions in a simple aquatic food web. *Ecology* 78: 1146-1156.
- Peacor SD & Werner EE (2001) The contribution of trait-mediated indirect effects to the net effects of a predator. *PNAS* 98: 3904-3908.
- Ramos-Jiliberto R (2003) Population dynamics of prey exhibiting inducible defenses: the role of associated costs and density-dependence. *Theor. Pop. Biol.* 64: 221-231.
- Ramos-Jiliberto R & González-Olivares E (2000) Relating behavior to population dynamics: a predator-prey metaphysiological model emphasizing zooplankton diel vertical migration as an inducible response *Ecol. Model.* 127: 221-233.
- Ramos-Jiliberto R, González-Olivares E & Bozinovic F (2002) Population-Level Consequences of Antipredator Behavior: A Metaphysiological Model Based on the Functional Ecology of the Leaf-Eared Mouse. *Theor. Pop. Biol.* 62: 63-80.

- Ramos-Jiliberto R, Duarte H & Frodden E (2008a) Dynamic effects of inducible defenses in a one-prey two-predators system. *Ecol. Model.* 214: 242–250.
- Ramos-Jiliberto R, Mena-Lorca J, Flores JD & Morales-Alvarez W (2008b) Role of inducible defenses in the stability of a tritrophic system. *Ecological Complexity* 5: 183-192.
- Relyea RA (2000) Trait-mediated indirect effects in larval anurans: reversing competition with the threat of predation. *Ecology* 81: 2278-2289.
- Relyea RA (2001) Morphological and behavioral plasticity of larval anurans in response to different predators. *Ecology* 82: 523–540.
- Relyea RA (2002) Costs of phenotypic plasticity. *Am Nat* 159: 272-282.
- Relyea RA & EE Werner (2000) Morphological Plasticity in Four Larval Anurans Distributed along an Environmental Gradient. *Copeia* 1: 178-190.
- Rinaldi S, Gagnani A & S De Monte (2004) Remarks on antipredator behavior and food chain dynamics. *Theor. Popul. Biol.* 66: 277-286.
- Stemberger RS & Gilbert JJ (1987) Multiple-Species Induction of Morphological Defenses in the Rotifer *Keratella testudo*. *Ecology* 68: 370-378.
- Underwood N & Rausher M (2002) Comparing the consequences of induced and constitutive plant resistance for herbivore population dynamics. *Am. Nat.* 160: 20-30.

- van der Stap I, Vos M, Mooij WM (2006) Linking herbivore-induced defenses to population dynamics. *Freshw. Biol.* 51: 424-434.
- van der Stap I, Vos M, Verschoor AM, Helmsing NR & Mooij WM (2007) Induced defenses in herbivores and plants differentially modulate a trophic cascade. *Ecology* 88: 2474-2481.
- van der Stap I, Vos M, Tollrian R & Mooij WM (2008) Inducible defenses, competition and shared predation in planktonic food chains. *Oecologia* 157: 697-705.
- van Veen F, van Holland PD & HC Godfray (2005) Stable coexistence in insect communities due to density- and trait-mediated indirect effects. *Ecology* 86 (12): 1382-1389.
- Verschoor AM, Vos M & I van der Stap (2004) Inducible defences prevent strong population fluctuations in bi- and tritrophic food chains *Ecology Letters* 7: 1143-1148.
- Vos M, Verschoor AM, Kooi BW, Wäckers FL, DeAngelis DL & WM Mooij (2004a) Inducible defenses and trophic structure. *Ecology*, 85(10): 2783-2794.
- Vos M, Kooi BW, DeAngelis DL & Mooij WM (2004b) Inducible defenses and the paradox of enrichment. *Oikos* 105: 471-480.
- Wallace RL, Snell TW, Ricci C, Nogrady T (2006) Rotifera: Volume 1: Biology, Ecology and Systematics, 2nd ed. In: Dumont HJF (ed) Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands

- Werner EE (1991) Nonlethal effects of a predator on competitive interactions between two anuran larvae. *Ecology* 72 (5): 1709-1720.
- Werner EE & Anholt BR (1996) Predator induced behavioural indirect effects: Consequences to competitive interactions in anuran larvae. *Ecology* 77, 157-169.
- Werner EE & SD Peacor (2003) A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology* 84: 1083-1100.
- Yamauchi A & N Yamamura (2005) Effects of defense evolution and diet choice on population dynamics in a one-predator-two-prey system. *Ecology* 86: 2513-2524.
- Yin XW & Niu CJ (2008) Predatory rotifer *Asplanchna brightwelli* mediated competition outcome between *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Hydrobiologia* 610: 131-138.

DISCUSIÓN GENERAL

En este trabajo de tesis se abordó el estudio de las defensas inducibles desde una perspectiva poblacional-comunitaria, mediante la cual se indagaron mecanismos por los cuales los efectos del desarrollo de defensas inducidas en un nivel trófico intermedio promueven la coexistencia y sostienen la biodiversidad.

Para ello se planteó un sistema experimental de 4 especies y 3 niveles tróficos: dos poblaciones de rotíferos herbívoros (*Brachionus calyciflorus* y *B. havanaensis*) compartiendo un recurso único (*Chlorella vulgaris*) y un depredador natural de ambos (*Asplanchna brightwelli*). Ambas especies de herbívoros mostraron defensas morfológicas efectivas ante la señal de depredación de *A. brightwelli* (Capítulo I).

En el capítulo I se evaluó la existencia de un compromiso entre beneficio y costo de defensas inducibles, de manera que se intentó probar que especies que presentan defensas más beneficiosas (mayor protección contra depredadores) y que generan un menor costo (menor disminución del crecimiento poblacional) son más reactivas a la presencia de señales de depredadores. Nuestros resultados confirmaron la existencia de costos asociados a la inducción de defensa en ausencia del depredador, reflejado a nivel poblacional. Sin embargo, la especie más reactiva a la señal (con menor tiempo de exposición y menor concentración de infoquímico requeridos para la inducción de la defensa), *B. calyciflorus*, presentó también una menor relación beneficio/costo que *B. havanaensis*. Este resultado contraintuitivo podría ser explicado porque la reducción de r en un sistema aislado no debería ser considerado como un índice exclusivo del costo de la defensa en el ambiente natural.

En el capítulo II confirmamos la existencia de un compromiso entre formación de estructuras defensivas y aptitud competitiva, lo que se ve manifestado por los

mayores umbrales de recurso en morfos defendidos respecto de los morfos no inducidos tanto en *B. calyciflorus* como en *B. havanaensis*. La adición de kairomona genera una salida competitiva altamente dependiente de la densidad del recurso: existe reversión en la dominancia competitiva en bajo recurso, tal como pronosticó la estimación de umbrales de recurso, no así en alto recurso. Esta dependencia del nivel de recurso podría deberse a la importancia no sólo de los umbrales como determinantes de las aptitudes competitivas, sino también de $r_{m\acute{a}x}$ en condiciones de recurso no limitante. Este resultado sugiere que para *B. havanaensis*, la respuesta plástica disminuye sus capacidades relativas tanto en bajo como en alto recurso. Su defensa constituye por tanto una estrategia más costosa en términos de interacciones ecológicas (“costo ambiental”, Tollrian & Harvell 1999).

En el sistema tritrófico completo (Capítulo III), los efectos no-letales de la depredación de *A. brightwelli* sobre *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* generan una homogenización de las densidades de los herbívoros, favoreciendo densidades uniformes y estables para ambos competidores sobre un gradiente de recurso. Estos procesos sostienen un aumento de la probabilidad de persistencia de los herbívoros. Existe también un debilitamiento de la interacción de competición mediada por recurso, dado que densidades de los herbívoros logradas no dependen del nivel de recurso disponible. En sistemas tritróficos la coexistencia es posible si hay un compromiso entre sensibilidad al recurso y sensibilidad a la depredación (Chesson & Kuang 2008), lo que sugiere una variación en el consumo de recurso de ambas especies como un efecto lateral de la depredación. Si bien aquí no fueron evaluados costos de la defensa relacionados con el consumo de recurso, costos de producción de la defensa, y costos de

adquisición de información a nivel individual (Relyea 2002), éstos podrían ser determinantes en la salida observada (Chase *et al.* 2002). Esto constituye una medida, además de las aquí evaluadas (cambios en las densidades promedio y en la probabilidad de exclusión o coexistencia), sugerida para evaluar el cambio de la competencia al incorporar un depredador (Chase *et al.* 2002).

En sistemas tritróficos donde existe competencia y depredación, es esperable una interacción entre ambas, lo que haría a estas relaciones tróficas igualmente capaces de limitar o de promover diversidad de herbívoros (Chase *et al.* 2002, Chesson & Kuang 2008). En nuestros resultados se muestra que *B. havanaensis* tiene una mayor capacidad de crecimiento en bajo recurso, sin embargo, la expresión de la defensa inducida constituiría una estrategia más costosa en términos de interacciones ecológicas que para *B. calyciflorus* (Capítulo II). Sin embargo, tal como se mostró en el Capítulo I, *B. havanaensis* gana un mayor beneficio del desarrollo de defensas que *B. calyciflorus*. En consecuencia, magnitudes relativas de costo/beneficio de la defensa en un gradiente de recurso, podrían determinar la co-dominancia observada entre herbívoros.

De igual manera se confirman las propiedades estabilizantes de las defensas antidepredatorias inducibles mediante la disminución de las oscilaciones poblacionales en el herbívoro beneficiado en todos los sistemas analizados (depredación no letal, y depredación neta) (Werner & Anholt 1996, Raimondi *et al.* 2000, Relyea 2000, Peacor & Werner 2001, Verschoor *et al.* (2004) y van der Stap *et al.* (2008).

Nuestros resultados confirman estudios teóricos (Matsuda *et al.* 1996, Krivan 1996, 1997, Fryxell & Lundberg 1998, Krivan & Schmitz 2004, Abrams 2007 y referencias) y empíricos (Peacor 2002, Peacor & Werner 1997, 2000, 2001, Werner

1991, Werner & Anholt 1996, Werner & Peacor 2003) que señalan que la presencia de rasgos dinámicos conductuales, morfológicos y de historia de vida, tales como defensas antidepredatorias, pueden cambiar la forma funcional de las interacciones, y que la sola presencia de un depredador puede cambiar el efecto competitivo de una especie sobre otra (Werner & Peacor 2003). Sin embargo, estos estudios no evalúan el efecto competitivo de la expresión de defensas en una especie con claros morfos defendidos y no defendido, lo que requiere necesariamente aislar efectos letales y no letales del depredador sobre especies de rotíferos. Probablemente la dificultad metodológica para aislar ambos efectos ha mermado el número de estudios experimentales que contrasten el efecto letal del depredador con el efecto neto del depredador (modificador de rasgos y de densidad) sobre el resultado de la competición, por lo que la relevancia de la inducción de defensas en los rotíferos herbívoros como factor modificador de la salida de la interacción competición/depredación no ha sido suficientemente comprendida.

Finalmente, este trabajo confirma experimentalmente la existencia de consecuencias comunitarias derivadas de la expresión de defensas inducibles. Particularmente, mostramos existencia de costos posibles de ser detectados a nivel poblacional, (disminución en r en poblaciones aisladas), así como compromisos intra-específico entre aptitud competitiva y expresión de defensas. La relación entre el costo y el beneficio de desarrollar defensas es siempre recurso-dependiente, por lo que debieran considerarse futuros estudios tendientes a evaluar la plasticidad de rasgos asociada a costos dinámicos, en orden a distinguir escenarios donde la evolución de las defensas inducibles se hace más probable. Los efectos no letales modifican el resultado competitivo entre dos especies (cambio de dominancia competitiva) y frente a un

depredador letal favorecen la persistencia de los potenciales competidores, uniformando las densidades de ambas.

Se refuerza por tanto la relevancia de las respuestas defensivas plásticas en la estructuración de comunidades simples, así como de la utilidad de aproximaciones experimentales en orden a evaluar mecanismos no detectables en sistemas naturales y a confirmar predicciones teóricas estableciendo una deseable conexión entre ambas aproximaciones. Luego, nuestros resultados constituyen un aporte desde dos perspectivas fundamentales: (1) se incrementa nuestra comprensión acerca de las consecuencias de una modificación de rasgos individuales en el funcionamiento comunitario, y (2) se contribuye a generar una conexión entre resultados teóricos y empíricos, dado que si bien en el ámbito teórico ha habido importantes avances en el estudio de las interacciones poblacionales, la escasez de contrastación experimental ha retrasado el sinergismo deseado entre estas dos aproximaciones.

Literatura citada

- Abrams PA (2007) Defining and measuring the impact of dynamic traits on interspecific interactions. *Ecology* 88: 2555–2562.
- Chase JM, Abrams PA, Grover JP, Diehl S, Chesson P, Holt RD, Richards SA, Nisbet RM & TJ Case (2002) The interaction between predation and competition: a review and synthesis. *Ecology Letters*, 5: 302–315.
- Chesson P & Kuang JJ (2008) The interaction between predation and competition. *Nature* 456: 235–237.
- Fryxell JM & Lundberg P (1998) Individual Behavior and Community Dynamics. In: *Population and Community Biology Series 20*. Chapman and Hall, NY, pp 70–79.
- Krivan V (1996) Optimal foraging and predator-prey dynamics. *Theor. Popul. Biol.* 49: 265–290.
- Krivan V (1997) Dynamic ideal free distribution: effects of optimal patch choice on predator-prey dynamics. *Am. Nat.* 149: 164–178.
- Krivan V & Schmitz OJ (2004) Trait and density mediated indirect interactions in simple food webs. *Oikos* 107: 239–250.
- Matsuda H, Michio H & Abrams P (1996) Effects of predator-specific defense on biodiversity and community complexity in two-trophic-level communities. *Evol. Ecol.* 10: 13–28.

- Peacor SD (2002) Positive effect of predators on prey growth rate through induced modifications of prey behaviour. *Ecology Letters* 5: 77-85.
- Peacor SD & EE Werner (1997) Trait-mediated indirect interactions in a simple aquatic food web. *Ecology* 78: 1146-1156.
- Peacor SD & Werner EE (2000) Predator effects on an assemblage of consumers through induced changes in consumer foraging behavior. *Ecology* 81: 1998-2010.
- Peacor SD & EE Werner (2001) The contribution of trait-mediated indirect effects to the net effects of a predator. *PNAS* 98 (7): 3904-3908.
- Raimondi PT, Forde SE, Delph LF & Lively CM (2000) Processes structuring communities: evidence for trait-mediated indirect effects through induced polymorphisms. *Oikos* 91: 353-361.
- Relyea RA (2000) Trait-mediated indirect effects in larval anurans: reversing competition with the threat of predation. *Ecology* 81: 2278-2289
- Relyea RA (2002) Costs of phenotypic plasticity. *Am Nat* 159: 272-282.
- Tollrian R & CD Harvell (1999). *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press. London
- van der Stap I, Vos M, Tollrian R & Mooij WM (2008) Inducible defenses, competition and shared predation in planktonic food chains. *Oecologia* 157: 697-705.

- Verschoor AM, Vos M & I van der Stap (2004) Inducible defences prevent strong population fluctuations in bi- and tritrophic food chains *Ecology Letters* 7: 1143–1148.
- Werner EE (1991) Nonlethal effects of a predator on competitive interactions between two anuran larvae. *Ecology* 72 (5): 1709-1720.
- Werner EE & BR Anholt (1996) Predator-Induced Behavioral Indirect Effects: Consequences to Competitive Interactions in Anuran Larvae. *Ecology* 77 (1): 157-169.
- Werner EE & SD Peacor (2003) A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology* 84 (5): 1083-1100.

APÉNDICE

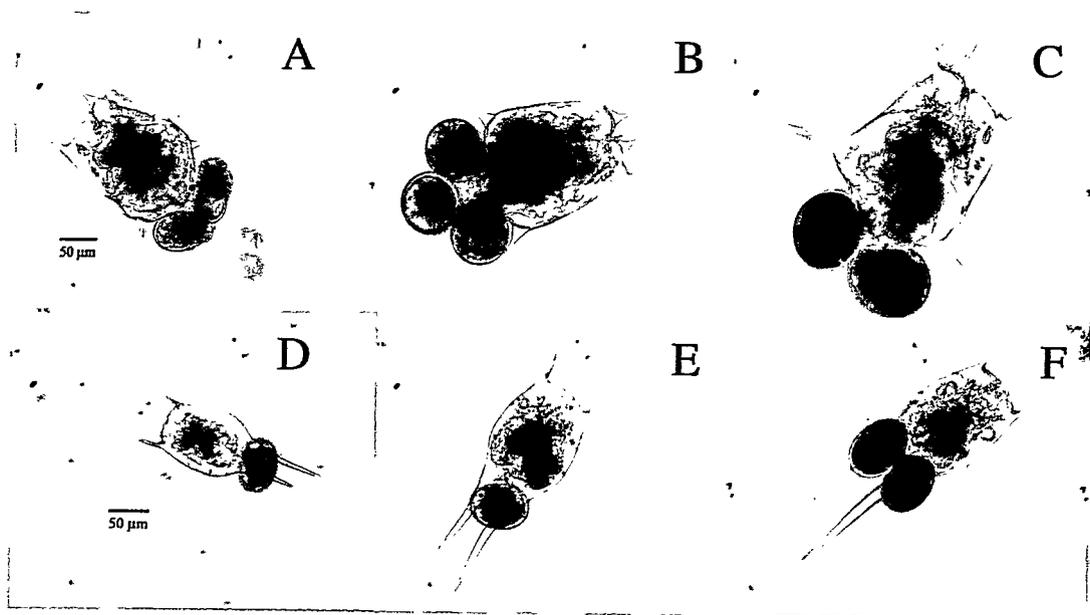


Figura 1. Cambios morfológicos inducidos por infoquímicos del depredador *Asplanchna brightwelli* en rotíferos herbívoros. A-C, *Brachionus calyciflorus* y D-F, *B. havanaensis*. A y D previo a la exposición al infoquímico, B y E tras 2 días de exposición a la señal, y C y F, tras 4 días de exposición a la señal.

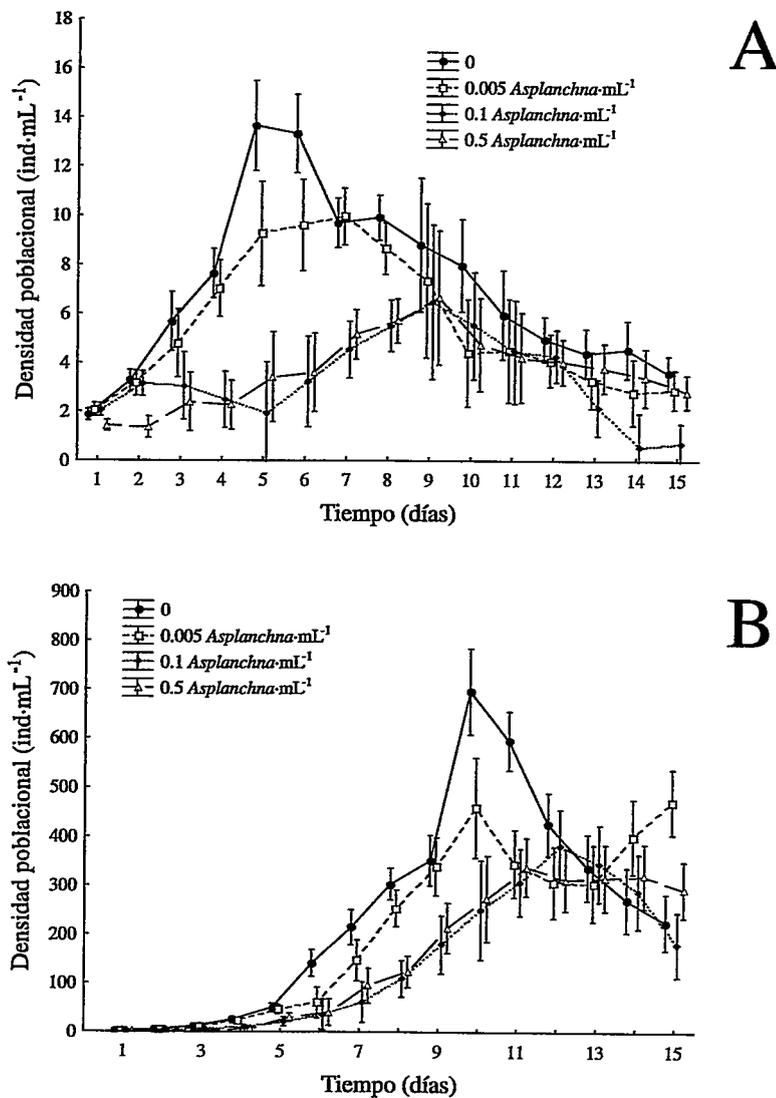


Figura 2. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* y B) *Brachionus havanaensis* en el tiempo, expuestos a infoquímico (kairomona) de depredador, en niveles: control, 0.005, 0.1 y 0.5 *Asplanchna*·mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%.

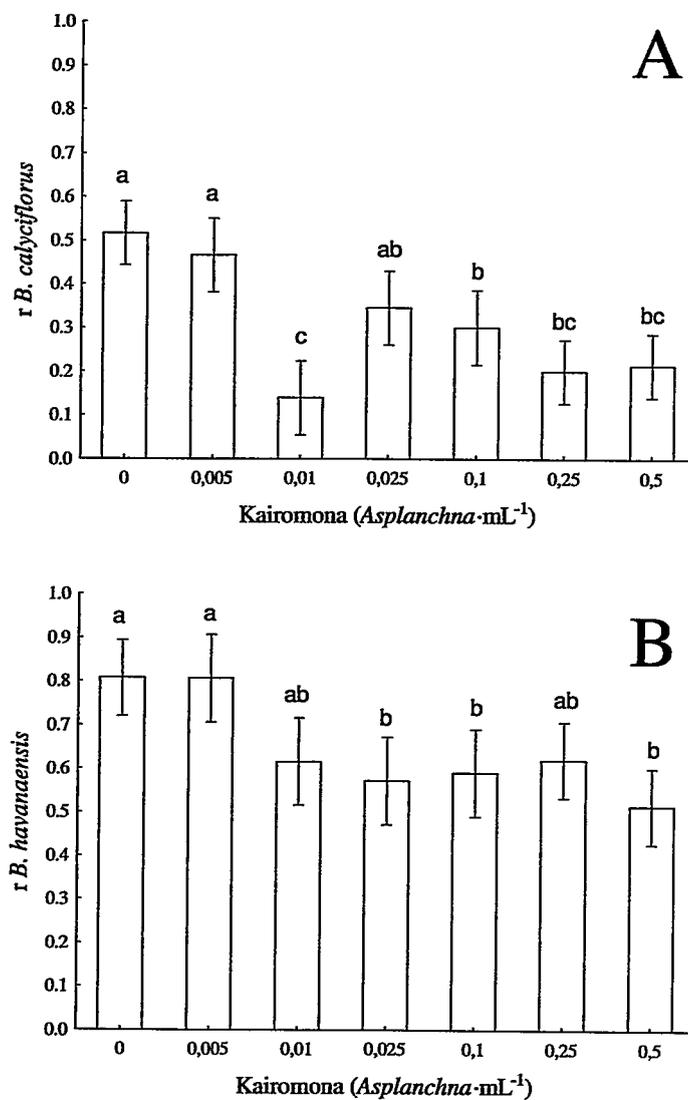


Figura 3. Tasa intrínseca de crecimiento de poblaciones experimentales de A) *Brachionus calyciflorus*, y B) *Brachionus havanaensis* expuestos seis concentraciones de kairomona de depredador, obtenidas de agua preconditionada con seis densidades distintas del depredador *Asplanchna*, más un control. Diferencias son señaladas con letras diferentes.

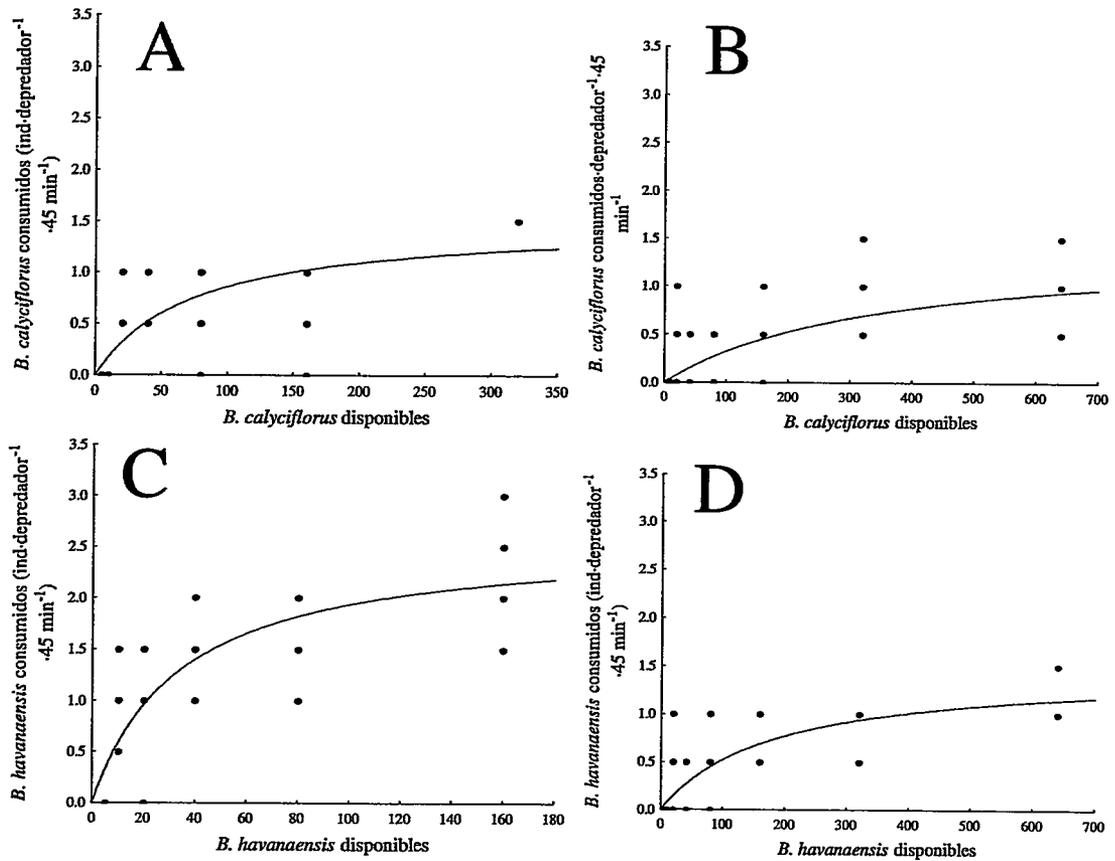


Figura 4. Consumo de *Asplanchna brightwelli* sobre un gradiente de presas *B. calyciflorus* en su condición no defendida (A) y defendida (B), y *B. havanaensis* no defendida (C) y defendida (D).

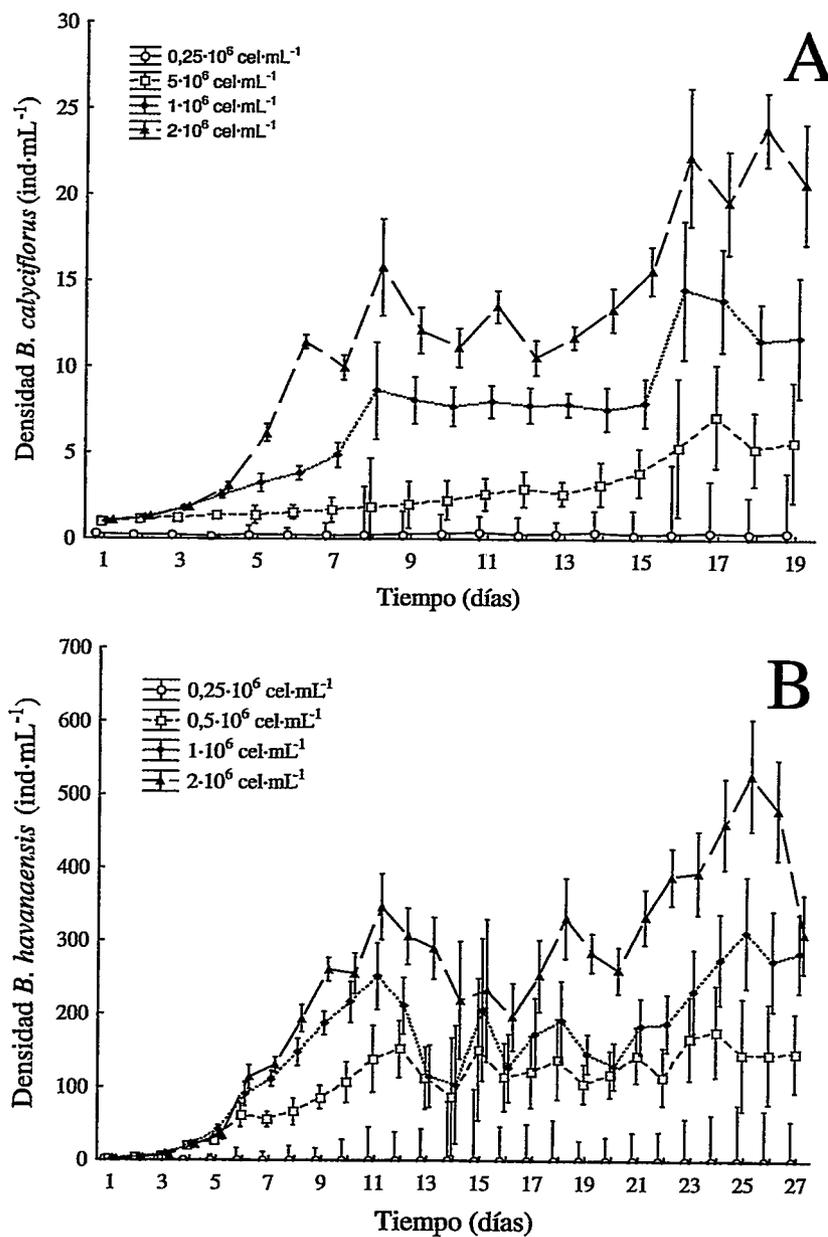


Figura 5. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* y B) *Brachionus havanaensis* en el tiempo, creciendo aisladamente en distintos niveles de recurso: 0.25, 0.5, 1 y 2·10⁶ cel·mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%.

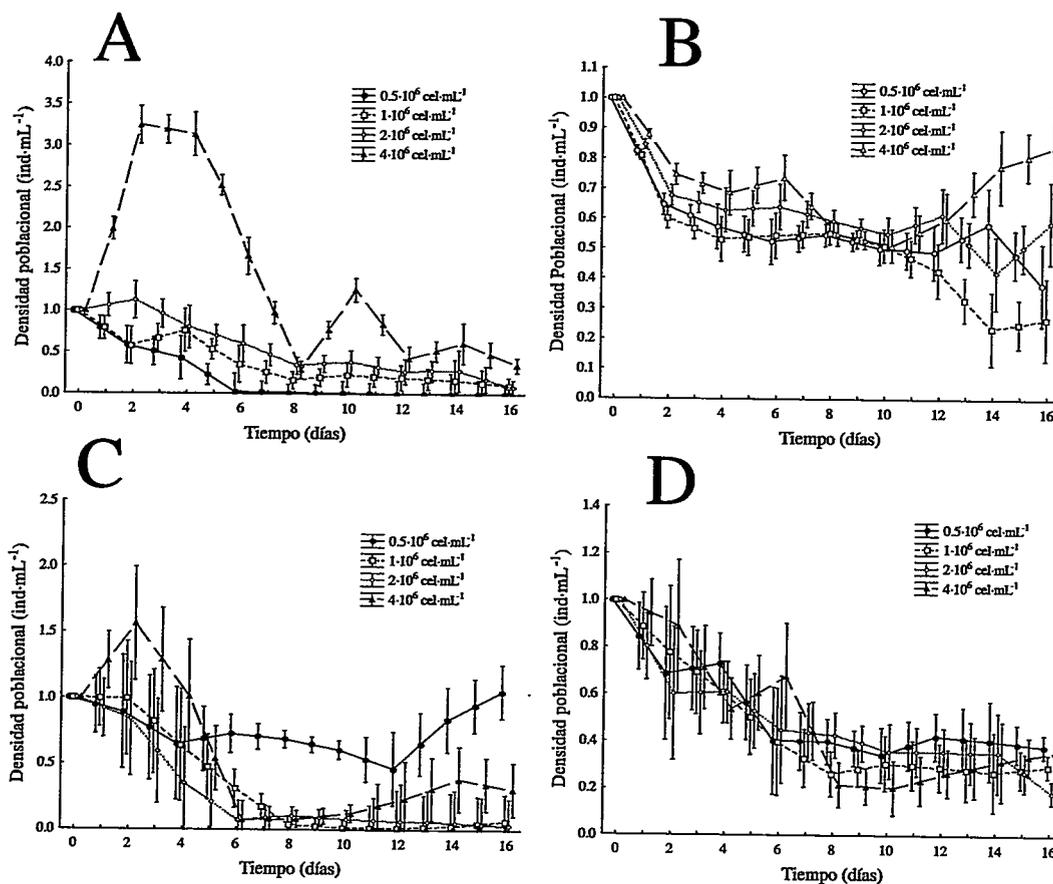


Figura 6. Trayectorias de densidad poblacional de A) *Brachionus calyciflorus* en condición no defendido, B) *Brachionus calyciflorus* en condición defendido, C) *Brachionus havanaensis* en condición no defendido, y D) *Brachionus havanaensis* en condición defendido en el tiempo, creciendo aisladamente en distintos niveles de recurso: 0.5, 1, 2 y 4·10⁶ cel·mL⁻¹. Barras de error corresponden a IC 95%.