





EFECTOS DE LA SALINIDAD EN EVENTOS
DE DEPREDACIÓN ENTRE LARVAS DE
CARDISOMA GUANHUMI Y *TETRAHYMENA HEGEWISHI*Salinity effects in predation events between
Cardisoma guanhumi larvae and *Tetrahymena hegewishi*Francisco Santos Mella^{1a*}, José Leiro Vidal², Vasti García Gómez^{1b} y Karina Hierro Santos^{1c}

¹Acuario Nacional de Santo Domingo. Av. España no. 75, Santo Domingo Este, República Dominicana; ^{1a}  orcid.org/0000-0002-2892-5916; ^{1b}  orcid.org/0000-0002-9159-4830, vastigarcia@yahoo.es; ^{1c}  orcid.org/0000-0002-7729-3206, karinaesther@gmail.com ²Departamento de Microbiología y Parasitología, Instituto de Investigación en Análisis Químicos y Biológicos (IAQBUS), Campus Vida, Universidad de Santiago de Compostela, 15782. Santiago de Compostela, España,  orcid.org/0000-0001-6963-515X, josemanuel.leiro@usc.es. *Para correspondencia: franciscosantosmella@gmail.com

[Recibido: 04 de septiembre 2021. Aceptado para publicación: 3 de diciembre, 2021]

RESUMEN

Varios autores han asociado las relaciones entre protozoos ciliados y crustáceos con eventos de depredación en larvas. El presente estudio reporta eventos depredadores de larvas de *Cardisoma guanhumi* por *Tetrahymena hegewishi*, considerando la salinidad como factor de influencia. Se recolectaron zoeas en el primer estadio larvario de *C. guanhumi* y se colocaron en recipientes de 100 ml. Los recipientes fueron dispuestos para formar un diseño de bloques completamente al azar con diez repeticiones, constituyendo dos tratamientos regidos por su salinidad: un tratamiento de agua dulce (0.2 ppt) y un tratamiento de control basado en la salinidad del estanque de recolección de larvas (3.4 ppt). Después de 36 horas de ver el primer grupo de trofontes de *T. hegewishi*, todas las zoeas estaban muertas. Posteriormente, fueron llevadas al microscopio para contar los trofontes de *T. hegewishi* en un rango de 1 mm alrededor de estas. Para determinar el efecto de la salinidad en las densidades de población de *T. hegewishi* se utilizó una prueba *T*. Los resultados de la prueba *T* muestran diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando a la población de *T. hegewishi* una disminución considerable cuando aumenta la salinidad. Debido al efecto negativo de la salinidad sobre la población de *T. hegewishi*, se infiere que este factor puede ser una alternativa para eliminar *T. hegewishi* de los cultivos de cangrejos, interfiriendo en la proliferación de los ciliados.

Palabras clave: ciliados, depredación, salinidad, zoea.

ABSTRACT

The relationships between ciliated protozoa and crustacean have been associate with predation events in larvae by several authors. The present study reports predatory events of *Cardisoma guanhumi* larvae by *Tetrahymena hegewishi*, considering salinity as an influencing



factor. Stage one Zoeas of *C. guanhumí* were collected and placed in 100 ml recipients. The recipients were set forming a completely randomized block design with ten replications constituting two treatments ruled by their salinity: a freshwater treatment (0.2 ppt) and a control treatment based in the larvae collection pond salinity (3.4 ppt). After 36 hours by see the first group of *T. hegewishi* trophonts all zoeas were dead. All zoeas were taken to a microscope to count the trophonts of *T. hegewishi* in a range of 1 mm around. To determine the effect of salinity on the population densities of *T. hegewishi* a *T-test* were used. The results of the *T-test* show significant differences between the treatments, displaying the population of *T. hegewishi* a considerable decrease when the salinity increase. Due to the negative effect of salinity on the population of *T. hegewishi*, is demonstrated that this factor can be an alternative to eliminate *T. hegewishi* from crab cultures, interfering in the proliferation of the ciliates trophonts.

Keywords: ciliate, predation, salinity, zoea.

INTRODUCCIÓN

Tetrahymena es un género monofilético de protozoos ciliados con 41 especies descritas, muchas de las cuales son morfológicamente indistinguibles, siendo generalmente consideradas como morfoespecie (Lynn y Doerder, 2012; Xiong *et al.*, 2019). Algunas especies de este género se utilizan como modelos biológicos en el análisis genómico, ya que son fáciles de cultivar y por el hecho de que cualquier gen puede modificarse mediante reemplazo dirigido (Wilkes *et al.*, 2009; Ruehle *et al.*, 2016). Entre estas especies se encuentra *Tetrahymena hegewishi*, que se utiliza ampliamente en proyectos asociados con la composición y evolución del ADNr y la caracterización de metalotioneínas (Nielsen *et al.*, 1985; Schlegel, 1991; Van de Peer *et al.*, 1993; Coyne y Yao, 1996; Ye y Romero, 2002; Jung *et al.*, 2011; Chakraborty *et al.*, 2014; Chang *et al.*, 2014; Méndez-Vilas, 2014). A pesar de la importancia de esta especie de protozoos ciliados en la investigación microbiana, el comportamiento de la misma es poco conocido (Lynn y Doerder, 2012).

El cangrejo terrestre azul, *Cardisoma guanhumí* (Brachyura: Gecarcinidae) es una especie altamente adaptada a la vida terrestre que se encuentra comúnmente en costas, áreas de estuarios y manglares (De Oliveira-Neto *et al.*, 2008). Se sabe que tolera grandes variaciones de salinidad, desarrollando el estadio larvario (zoea) en el agua y los otros estadios en toda la zona costera (Giménez-Hurtado *et al.*, 2015). Su distribución va desde Bermuda hasta Florida, a través del Golfo de México, y desde las Antillas hasta el sur de Brasil (Barrios Saucedo, 2008).

Algunos autores han informado sobre eventos de depredación entre protozoos ciliados y larvas de artrópodos (Washburn *et al.*, 1988). Muchos de estos depredadores son miembros del género *Tetrahymena* (Hymenostomatida: Tetrahymenidae) que, aunque son bacteriófagos, pueden presentar histofagia (principalmente facultativa), siendo algunos de ellos considerados parásitos en crustáceos (Kaczanowski *et al.*, 2016). *C. guanhumí* tiene una importancia comercial relativa en República Dominicana, Estados Unidos, Brasil, Colombia y Cuba, donde se explota a gran escala y de forma artesanal (Giménez-Hurtado *et al.*, 2015). Con relación a lo expuesto anteriormente se sabe que el impacto del ciliado en los cultivos de *C. guanhumí* conduce a pérdidas económicas entre los cangrejeros. Según Hwang *et al.* (2019) la cantidad de células en cultivos de *T. hegewishi* aumenta a concentraciones bajas de salinidad, por lo que el uso de cambios bruscos de salinidad plantea una alternativa contra su proliferación. El presente trabajo reporta el efecto del uso de cambios bruscos de salinidad en poblaciones de *T. hegewishi* en eventos de depredación contra larvas de *C. guanhumí*.

OBJETIVOS

- Documentar los eventos de depredación de larvas de *Cardisoma guanhumi* por ciliados del género *Tetrahymena* ocurridos en cultivos de cangrejos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental. Se recolectaron zoeas de etapa uno de *C. guanhumi* en el Acuario Nacional de Santo Domingo. Estas se encontraban en un estanque de agua dulce con una temperatura de 28 °C y una salinidad de 3.40 ppm. En el laboratorio, las zoeas se dividieron en 20 recipientes con 100 ml de agua dulce con diferentes valores de salinidad. El tratamiento A contó con una salinidad de 0.2 ppm, debido a que esta salinidad es el estándar en los cultivos del Acuario Nacional. El tratamiento control se basó en la salinidad del estanque de recolección de larvas, siendo esta 3.4 ppt. Los valores de salinidad se midieron con un medidor multiparámetros APERA PC60.

Los recipientes se colocaron siguiendo un diseño de bloques completamente al azar constituyendo diez repeticiones por tratamiento. Cada recipiente contaba con tres zoeas representadas como subréplicas, ya que para el análisis estadístico se tomaron como datos los valores medios de cada recipiente. Después de 24 horas, se procedió a contar los trofontes de *T. hegewishi* aparecidos en un rango de 1 mm² alrededor de todo el cuerpo de la zoea utilizando una lupa estereoscópica y un microscopio Amscope T690C.

PCR, clonación e identificación molecular de ciliados. Los análisis de PCR, clonación e identificación molecular de ciliados fueron realizados en el laboratorio de Parasitología del Instituto de Investigación en Análisis Químicos y Biológicos (IAQBUS) perteneciente a la Universidad de Santiago de Compostela, España. Para la realización de estos análisis, se extrajo y purificó el ADN de los individuos de *T. hegewishi* con un kit DNAeasy Blood and Tissue (QIAGEN, 2021a) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se analizó el ADN para estimar su calidad, pureza y concentración, mediante la medición de A260 en un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., 2010). El ADN se almacenó a -20° C hasta su uso.

Para la amplificación por PCR, se seleccionó una región de 1132 pb del gen que codifica el ARN 18 S ribosómico de subunidad pequeña (SSUrRNA) utilizando un par de cebadores universales diseñados y optimizados mediante el programa Primer 3Plus (Untergasser *et al.*, 2007) con parámetros predeterminados. Las mezclas de PCR (25 µL) contenían buffer de reacción de PCR (Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 1.5 mM, pH 9.0), 0.2 mM de cada desoxinucleósido trifosfato (Roche Sequencing, 2021), 0.4 µM de cada cebador [adelante 5'-TGCTTGATCCTGCCAGTAGTC-3' /inverso 5'-GATCCTTCCGCAGGTTCA-3'] (F1118S / R1118S); 0.5 unidades de polimerasa Taq de alta fidelidad (Nzytech, 2021) y 50 ng de ADN genómico. Las reacciones se realizaron en un termociclador automático (BIORAD, 2021) de la siguiente manera: desnaturalización inicial a 94° C durante 5 min, seguida de 35 ciclos a 94° C durante 30 s, recocido a 55° C durante 45 s y 72° C durante 1 min; y finalmente una fase de extensión de 7 min a 72° C. Los productos de la PCR se analizaron en un gel de agarosa al 1 % en tampón de ácido etilendiaminotetraacético acetato de tris (TAE) (acetato de tris 40 mM, pH 8.0,

EDTA 2 mM) que contenía Sybr Green a una concentración 1X (Intron, Corea), para verificar la presencia de bandas. Los productos de PCR se clonaron en el kit de vector de clonación de ADN pSpark® II (CANVAX, 2021) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de la ligación del fragmento de PCR, las células de *E. coli* DH5 α se transformaron y luego se seleccionaron basándose en la sensibilidad a los antibióticos y el color mediante cultivo en placas de agar LB que contenían 100 μ g / ml de ampicilina, con 50 μ l de una solución madre de 20 mg / ml de 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -galactósido (X-Gal) y 20 μ l de una solución 0.5 M de isopropiltio- β -D-galactósido (IPTG) esparcidos sobre la superficie. Se amplificaron diez colonias blancas de *E. coli* por muestra de ligación en medio LB y se purificó el ADN plasmídico con el kit QiAprep® Spin Miniprep (QIAGEN, 2021b) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. A continuación, los productos amplificados por PCR se secuenciaron mediante el método de Sanger en direcciones complementarias (Sigma-Aldrich, 2021). Se utilizó la interfaz BLAST y el programa BlastN optimizado para secuencias muy similares (megablast) (U.S. National Library of Medicine, 2021), para calcular el grado de identidad entre las secuencias de nucleótidos y proceder a su identificación molecular.

Análisis estadístico. Se utilizó una prueba *t de Student* para determinar si existe un efecto de salinidad significativo en el evento de depredación de trofontes de *T. hegewishi* a larvas de *C. guanhumi*. La temperatura no fue considerada dentro del análisis estadístico ya que cumple con el rango de tolerancia mencionado por Nyberg (1981). Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de 0.05, utilizando el programa SPSS Statistics (IBM 2017).

RESULTADOS

Según el análisis de identificación molecular, se confirmó que el ciliado depredador es *T. hegewishi*. Después de 36 horas del avistamiento del primer grupo de trofontes de *T. hegewishi*, todas las zoeas estaban muertas en ambos tratamientos (Fig. 1). Algunas de estas presentaban hifas y zoosporangios de oomicetos del género *Lagenidium* tanto en el tejido exterior como en los tejidos interiores (Fig. 2). El hecho de que *Lagenidium* sp. no fue observado en todas las zoeas muertas nos indica que este no fue el factor principal en la muerte de estas.

Los resultados de la prueba *t de Student* (Fig. 3) muestran una diferencia significativa entre los tratamientos para la cantidad de trofontes de *T. hegewishi* ($t = -11.53$, $P < 0.05$), teniendo el tratamiento A mayor número de individuos en relación al tratamiento control.



Figura 1. Trofante de *T. hegewishi* alrededor de una zoea en el tratamiento A.



Figura 2. Zoea muerta de *Cardisoma guanhumi* del tratamiento control, con hifas y zoosporangios de *Lagenidium*.

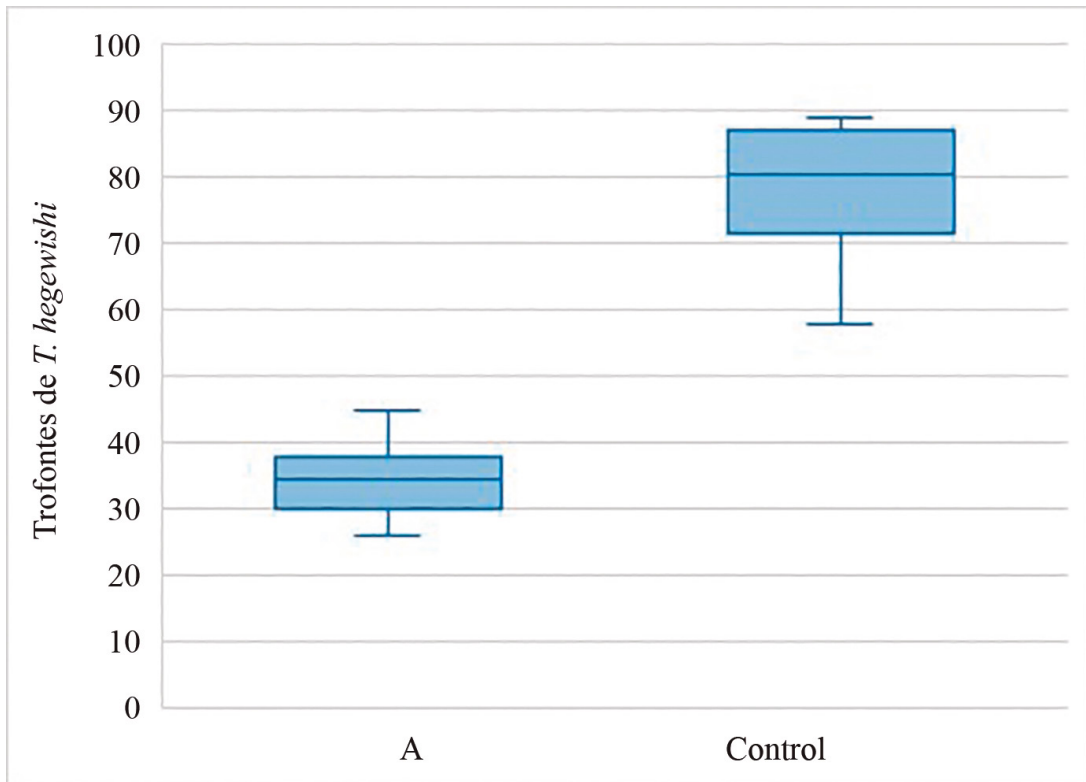


Figura 3. Gráfico de cajas mostrando la cantidad de trofotes de *T. hegewishi* en tratamientos.

DISCUSIÓN

Según los resultados de la prueba *t de Student*, *T. hegewishi* se ve afectado por cambios repentinos en la salinidad, correspondiendo a lo expuesto por (Hwang *et al.*, 2019), donde se asegura que asegura que la cantidad de células en los cultivos de *Tetrahymena* aumentan en bajas concentraciones de salinidad. En algunos estudios, la mortalidad de *Tetrahymena* se atribuye a la ineficacia de las vacuolas contráctiles para controlar la presión osmótica tras el aumento de la salinidad (Ayre *et al.*, 2017); sin embargo, otros niegan el efecto de la salinidad en la formación de estos orgánulos (Carnegie *et al.*, 2019).

La presencia de oomicetos es una variable a considerar en la mortalidad de las larvas ya que, aunque no se haya observado en todas las zoeas, algunos autores informan que algunas especies están exclusivamente relacionadas con cangrejos, tendiendo a colonizar la superficie del individuo desde donde dispersa sus zoosporas (Lee *et al.*, 2016). En algunos casos, se han observado las hifas de *Lagenidiun* sp. propagarse rápidamente en los cultivos de cangrejos afectando hasta el 100 % de los huevos y las zoeas (Van West y Beakes, 2014; Selvi *et al.*, 2019).

Cabe destacar que anteriormente han sido mencionadas relaciones interespecíficas entre ciliados y oomicetos. Se ha reportado competencia entre ambos organismos, siendo el oomiceto causante de bajas en la densidad del ciliado (Canter y Dick, 1994). También se ha descrito mutualismo, ya que en algunas ocasiones los ciliados sirven como agentes dispersores de propágulos del oomiceto (Larousse y Galiana, 2017). A diferencia de *T. hegewishi*, algunos representantes del género *Lagenidium* tienden a presentar crecimiento activo en salinidades con un rango tope de 30 ppm, por lo que no sorprende su presencia en cantidades similares en ambos tratamientos (Lee *et al.*, 2016).

CONCLUSIÓN

Una solución temporal, para reducir los eventos depredadores de *T. hegewishi* a larvas de *C. guanhumi* en los cultivos, es realizar cambios repentinos en la salinidad. Un punto a considerar es el hecho de que *C. guanhumi* es un organismo eurihalino, que soporta cambios repentinos en la salinidad (Giménez-Hurtado *et al.*, 2015). Un aumento gradual de la salinidad hasta la erradicación de los trofontes de *T. hegewishi* podría ser una alternativa. Sin embargo, una posible proliferación de oomicetos puede ser un problema, ya que estos son resistentes a salinidades relativamente altas. Estas razones hacen que no se pueda asegurar el éxito del uso de cambios bruscos en la salinidad como método de desinfección. El uso de otras variables fisicoquímicas del agua puede ser una opción, pero se necesitan realizar más ensayos para determinar su eficacia.

AGRADECIMIENTOS

A Nabab Feliz y Antonia Marte por su ayuda de laboratorio. A Omar Paíno y Frank Reyes por su apoyo en la identificación del oomiceto. Asimismo, a la Comisión General del Acuario Nacional de Santo Domingo por dar la aprobación del proyecto. Un agradecimiento especial a Phamela Acosta Pérez por brindar sugerencias invaluableles al manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Ayre, J., F. Ng y D. Suh. 2017. Don't be salty! The effects of salinity on vacuole formation of *Tetrahymena thermophila*. *The Expedition*, 7: 1–8.
- Barrios Saucedo, L. M. 2008. Aspectos biológicos y ecológicos del cangrejo azul (*Cardisoma guanhumi*, Latreille, 1825) en la Bahía de Cispatá Caribe colombiano (Grado). *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*, 138 pp.
- Bio-Rad Laboratories Inc. 2021. iCycler iQ Real Time PCR Detection System Instruction Manual. *Bio-Rad Laboratories Inc.*, pp 146.
- Canter, H. M. y M. W. Dick. 1994. *Eurychasmopsis multiseconda* gen. et sp. nov., a parasite of the suctorian ciliate *Podophrya*. *Mycological Research*, 98: 105–117.
- Canvax Biotech SL. 2012. pSpark® TA DNA Cloning System Product Manual. *Canvax Biotech SL*, pp 28.
- Carnegie, T., K. Donohoe, M. Puente y S. Saini. 2019. Effect of salinity on food vacuole formation in *T. thermophila*. *The Expedition*, 9: 1–23.

- Chakraborty, C., P. Doss, C. Patra y S. Bandyopadhyay. 2014. DNA barcoding to map the microbial communities: current advances and future directions. *Applied Microbiology Biotechnology*, 98: 3425–3436.
- Chang, Y., G. Liu, L. Guo, H. Liu, D. Yuan, J. Xiong, Y. Ning, C. Fu, y W. Miao. 2014. Cd–Metallothioneins in Three Additional *Tetrahymena* Species: Intragenic Repeat Patterns and Induction by Metal Ions. *Journal of Eukaryota Microbiology*, 61: 333–342.
- Coyne, R. S. y M. C. Yao. 1996. Evolutionary conservation of sequences directing chromosome breakage and rDNA palindrome formation in tetrahymenine ciliates. *Genetics*, 144: 1479–1487.
- De Oliveira-Neto, J. F., M. R. Pie, M. A. Chammas, A. Ostrensky y W. A. Boeger. 2008. Phylogeography of the blue land crab, *Cardisoma guanhumí* (Decapoda: Gecarcinidae) along the Brazilian coast. *Journal of Marine Biology Association*, 88: 1417–1423.
- Giménez-Hurtado, E., Y. Garcés, Y. González y A. Hurtado. 2015. Densidad poblacional de *Cardisoma guanhumí* (Latreille, 1825) Crustacea: Brachyura: Gecarcinidae) en el Parque Nacional Ciénaga de Zapata, Cuba. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 49: 110–124.
- Hwang, J. E., J. Kim, S. Subedi y J. Tamminga. 2019. The Effect of Salinity on the Growth Rate of *Tetrahymena thermophila*. *The Expedition*, 9: 1–15.
- International Business Machines Corporation (IBM). 2017. *IBM SPSS statistics – versión 25*. [Programa Informático]. Portsmouth, IBM.
- Jung, S. J., E. Y. Im, M. C. Strüder-Kypke, S.-I. Kitamura y P. Woo. 2011. Small subunit ribosomal RNA and mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene sequences of 21 strains of the parasitic scuticociliate *Miamiensis avidus* (Ciliophora, Scuticociliatia). *Parasitology Research*, 108: 1153–1161.
- Kaczanowski, A., C. F. Brunky y S. L. Kazubski. 2016. Cohesion of Clonal Life History, Senescence and Rejuvenation Induced by Autogamy of the Histophagous Ciliate *Tetrahymena rostrata*. *Protist*, 167: 490–510.
- Larousse, M. y E. Galiana. 2017. Microbial Partnerships of Pathogenic Oomycetes. *PLoS Pathogens*, 13: 1–7.
- Lee, Y. N., Q. Chuah y K. Hatai. 2016. Biological characteristics of an obligate marine strain *Lagenidium thermophilum* isolated from mud crab (*Scylla tranquebarica*) eggs in Sabah, Malaysia. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 36: 126–131.
- Lynn, D. H. y F. P. Doerder. 2012. The life and times of *Tetrahymena*. *Methods in cell biology*, 109: 9–27.
- Méndez-Vilas, A. 2014. Industrial, medical and environmental applications of microorganisms: current status and trends. *Wageningen academic publisher*, Wageningen, pp 693.

- Nielsen, H., E. M. Simon y J. Engberg. 1985. Updating rDNA Restriction Enzyme Maps of *Tetrahymena* Reveals Four New Intron-Containing Species. *The Journal of Protozoology*, 32: 480–485.
- Nyberg, D. 1981. Three New “Biological” Species of *Tetrahymena* (*T. hegewischi* n. sp., *T. sonneborni* n. sp., *T. nipissingi* n. sp.) and Temperature Tolerance of Members of the “pyriformis” Complex1. *The Journal of Protozoology*, 28: 65–69.
- Nzytech. 2021. NZYProof DNA polymerase | DNA Polymerases, End-Point PCR. NZYProof DNA polymerase.
- Qiagen. 2020a. DNeasy Blood & Tissue Kits Handbook. *Qiagen*, pp 64.
- Qiagen. 2020b. QIAprep® Miniprep Handbook. *Qiagen*, pp 57.
- Roche Sequencing. 2021. KAPA dNTPs. KAPA dNTPs. (/content/rochesequence/en/products-solutions/products/pcr/kapa-dntps.html).
- Ruehle, M. D., E. Orias y C. G. Pearson. 2016. *Tetrahymena* as a Unicellular Model Eukaryote: Genetic and Genomic Tools. *Genetics*, 203: 649–665.
- Schlegel, M. 1991. Protist evolution and phylogeny as discerned from small subunit ribosomal RNA sequence comparisons. *European Journal of Protistology*, 27: 207–219.
- Selvi, M., S. Afandi y U. A. Maria. 2019. Effect of Antifungal Treflan And Lentil Essential Oil Disc Inhibition Methods On *Lagenidium Callinectes*. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*, 89: 27–31.
- Sigma-Aldrich. 2021. Sanger Sequencing Steps | DNA Sequencing. Sigma-Aldrich. (<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/sanger-sequencing.html>).
- Thermo Fisher Scientific Inc. 2010. NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer V3,8 User’s Manual.
- Untergasser, A., H. Nijveen, X. Rao, T. Bisseling, R. Geurts y J. A. M. Leunissen. 2007. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic Acids Research*, 35: 71–74.
- U.S. National Library of Medicine. 2021. Nucleotide BLAST: Search nucleotide databases using a nucleotide query. Blast. (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch).
- Van de Peer, Y., J.-M. Neefs, P. De Rijk y R. De Wachter. 1993. Evolution of eukaryotes as deduced from small ribosomal subunit RNA sequences. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21: 43–55.
- Van West, P. y G. W. Beakes. 2014. Animal pathogenic Oomycetes. *Fungal Biology*, 118: 525–526.

- Washburn, J. O., D. E. Egerter, J. R. Anderson y G. A. Saunders. 1988. Density reduction in larval mosquito (Diptera: Culicidae) populations by interactions between a parasitic ciliate (Ciliophora: Tetrahymenidae) and an opportunistic fungal (Oömycetes: Pythiaceae) parasite. *Journal of medical entomology*, 25: 307–314.
- Wilkes, D. E., N. Bennardo, C. W. C. Chan, Y.-L. Chang, E. O. Corpuz, J. DuMond, J. A. Eboreime, J. Erickson, J. Hetzel, E. E. Heyer, M. J. Hubenschmidt, E. Kniazeva, H. Kuhn, M. Lum, A. Sand, A. Schep, O. Sergeeva, N. Supab, C. R. Townsend, L. V. Ryswyk, H. E. Watson, A. E. Wiedeman, V. Rajagopalan y D. J. Asai. 2009. Identification and Characterization of Dynein Genes in *Tetrahymena*, pp. 11–30. *In* Methods in Cell Biology. Elsevier.
- Xiong, J., W. Yang, K. Chen, C. Jiang, Y. Ma, X. Chai, G. Yan, G. Wang, D. Yuan, Y. Liu, S. L. Bidwell, N. Zafar, M. Hadjithomas, V. Krishnakumar, R. S. Coyne, E. Orias y W. Miao. 2019. Hidden genomic evolution in a morphospecies-The landscape of rapidly evolving genes in *Tetrahymena*. *PLoS Biology*, 17: 2297–2302.
- Ye, A. J. y D. P. Romero. 2002. Phylogenetic relationships amongst tetrahymenine ciliates inferred by a comparison of telomerase RNAs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52: 2297–2302.

Cómo citar: Santos-Mella, F., Leiro-Vidal, J., García-Gómez, V., & Hierro Santos, K. (2022). Efectos de la salinidad en eventos de depredación entre larvas de *Cardisoma guanhumi* y *Tetrahymena hegewishi*. *Novitates Caribaea*, (19), 105–114. <https://doi.org/10.33800/nc.vi19.281>. Artículo científico original.