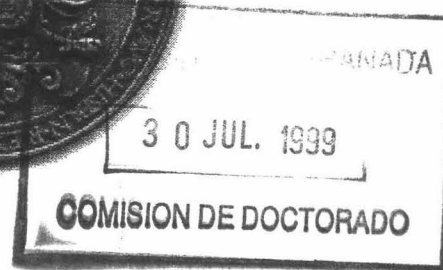


FC/T 7 119

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 3/9/99
ENTRADA NUM. 2941

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL Y**  
**ECOLOGÍA**



**REDES TRÓFICAS PELÁGICAS:**  
**UNA PERSPECTIVA ESTEQUIOMÉTRICA**

**TESIS DOCTORAL**

**MANUEL VILLAR ARGAIZ**  
**Granada, 1999**

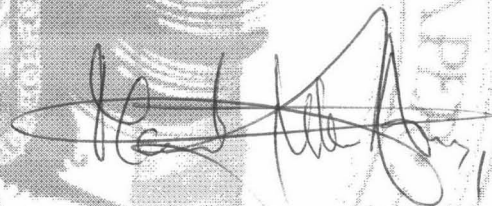
# REDES TRÓFICAS PELÁGICAS: UNA PERSPECTIVA ESTEQUIOMÉTRICA

Memoria que el Licenciado Manuel Villar Argañiz  
presenta para aspirar al Grado de Doctor  
por la Universidad de Granada

Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección de :

Dr. Luis Cruz Pizarro

Dra. Presentación Carrillo Lechuga



Ldo. Manuel Villar Argañiz  
aspirante a Grado de Doctor

Granada, Julio, 1999



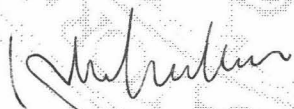
**Dr. Luis Cruz Pizarro, Catedrático de Ecología de la Universidad de Granada**

**Dra. Presentación Carrillo Lechuga, Profesora Titular de Ecología de la Universidad de Granada**

**CERTIFICAN**

Que los trabajos de investigación que se incluyen en la Memoria de Tesis Doctoral: “ REDES TRÓFICAS PELÁGICAS: UNA PERSPECTIVA ESTEQUIOMÉTRICA ”, se encuentran conforme para ser presentados por el Ldo. Para aspirar al Grado de Doctor en Biología por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente, con fecha veintiocho de Julio de mil novecientos noventa y nueve.



**Dr. Luis Cruz Pizarro**



**Dra. Presentación Carrillo Lechuga**



**Durante los cinco años de realización de esta Tesis Doctoral he disfrutado de una Beca del Plan de Formación de Personal Investigador del M.E.C. y de una Ayuda Puente para becarios predoctorales**

**Este trabajo estuvo financiado por los proyectos MOLAR (Project ENV4-CT95-0007), CICYT AMB94/0459 y CICYT AMB97/0996**

**Los estudios descritos en la presente Tesis Doctoral fueron realizados en el Departamento de Biología Animal y Ecología en colaboración con el Instituto del Agua de la Universidad de Granada.**

## ÍNDICE

	<u>Página</u>
<b>CAPÍTULO I.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	<b>1</b>
1.1. <i>Desarrollo histórico de la estequiometría</i>	3
1.2. <i>La estequiometría en el contexto de la ecología acuática</i>	4
1.3. <i>Estequiometría como herramienta en el análisis ecológico</i>	5
1.3.1. <u>Desde el individuo al ecosistema</u>	6
1.3.2. <u>La estequiometría en el análisis comparativo</u> entre ecosistemas	17
1.4. <i>Vías de profundización en la aproximación estequiométrica</i>	18
1.5. OBJETIVOS	21
<b>CAPÍTULO II.- MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>23</b>
2.1. Datos de campo y muestreos	25
2.1.1. <i>Precipitaciones atmosféricas</i>	25
2.1.2. <i>Parámetros físicos</i>	25
2.1.3. <i>Parámetros químicos y biológicos</i>	26
2.2. Determinaciones en laboratorio	27
2.2.1. <i>Análisis de los parámetros químicos</i>	27
2.2.2. <i>Análisis de los parámetros biológicos</i>	29
2.3. Composición elemental de bacterias, fitoplancton y zooplancton	33
2.3.1. <i>Justificación de la metodología empleada</i>	33
2.3.2. <i>Obtención de la fracción elemental</i>	34
2.3.3. <i>Determinación de la composición elemental</i>	36
2.4. Producción bacteriana	37
2.5. Producción primaria, carbono orgánico excretado y reasimilación bacteriana	39
<b>CAPÍTULO III.- ESTRUCTURA DE LA LAGUNA</b>	<b>43</b>

<b>3.1. Introducción</b>	<b>45</b>
<b>3.2. Resultados</b>	<b>46</b>
3.2.1. <i>Caracterización abiótica</i>	46
3.2.2. <i>Fitoplancton</i>	51
3.2.3. <i>Bacterioplancton</i>	56
3.2.4. <i>Nanoflagelados heterotróficos y ciliados</i>	57
3.2.5. <i>Zooplancton</i>	58
3.2.6. <i>Relación entre los componentes abióticos y bióticos</i>	59
<b>3.3. Discusión</b>	<b>61</b>
<b>CAPÍTULO IV.– COMPOSICIÓN ELEMENTAL C:N:P EN BACTERIAS Y FITOPLANCTON</b>	<b>67</b>
<b>4.1. Introducción</b>	<b>69</b>
<b>4.2. Materiales y Métodos</b>	<b>71</b>
<b>4.3. Resultados</b>	<b>72</b>
4.3.1. <i>Evaluación del material contenido en las fracciones</i>	72
4.3.2. <i>Estequiometría de las bacterias y del fitoplancton</i>	76
4.3.3. <i>Relación entre la composición estequiométrica y las     poblaciones de fitoplancton y bacterias</i>	81
4.3.4. <i>Producción y composición C:N:P de los organismos</i>	83
4.3.5. <i>Respuesta a corto plazo de fitoplancton y bacterias     a la modificación N:P del sustrato</i>	87
<b>4.3. Discusión</b>	<b>89</b>
4.3.1. <i>Estequiometría de las fracciones bacteriana y     fitoplanctónica</i>	89
4.3.2. <i>Factores que afectan a la estequiometría de algas y     bacterias</i>	93
4.3.3. <i>Respuesta del fitoplancton y las bacterias a un pulso     experimental a diferentes razones N:P iniciales</i>	94
<b>4.4. Conclusiones finales</b>	<b>96</b>
<b>CAPÍTULO V.– RESPUESTA DE BACTERIAS, FITOPLANCTON Y CILIADOS A DISTINTAS RAZONES N:P</b>	<b>97</b>

5.1. Introducción	99
5.2. Material y Métodos	99
5.2.1. <i>Diseño experimental</i>	99
5.2.2. <i>Elaboración de datos</i>	103
5.2.3. <i>Análisis estadístico</i>	104
5.3. Resultados	104
5.3.1. <i>Condiciones iniciales de los experimentos</i>	104
5.3.2. <i>Nutrientes</i>	105
5.3.3. <i>Bacterias heterotróficas</i>	107
5.3.4. <i>Fitoplancton</i>	110
5.3.5. <i>Protozoos</i>	114
5.3.6. <i>Tasas de incorporación de P relativas (Ip) y fósforo     particulado</i>	115
5.3.7. <i>Estequiometría de las fracciones biológicas</i>	117
5.3.8. <i>Relación entre las tasas de crecimiento y la estequiometría</i>	121
5.3.9. <i>Relación entre las tasas de incorporación en P relativas     y la estequiometría</i>	122
5.4. Discusión	124
5.4.1. <i>Respuesta de las poblaciones biológicas</i>	124
5.4.2. <i>Tasas de incorporación de P relativas y fósforo     particulado en las fracciones biológicas</i>	126
5.4.3. <i>La estequiometría de las fracciones biológicas</i>	127
5.4.4. <i>Relación entre los procesos biológicos y la estequiometría</i>	128
<b>CAPÍTULO VI.– INTERFASE DEPREDADOR–PRESA</b>	<b>131</b>
6.1. Introducción	133
6.2. Materiales y Métodos	135
6.2.1. <i>Composición elemental del zooplancton y del seston</i>	135
6.2.2. <i>Estima de las entradas de P al sistema</i>	136
6.2.3. <i>Análisis estequiométrico de la interfase fitoplancton-     zooplancton</i>	137
6.2.3.1. <u>Aproximación cualitativa</u>	137
6.2.3.2. <u>Aproximación cuantitativa</u>	138

6.2.3.3. <u>Calculo de las demandas mínimas de P algales</u>	139
6.2.4. <i>Muestreo y análisis de los “fecal pellets”</i>	139
6.3 <b>Resultados</b>	141
6.3.1. <i>Composición química del zooplancton</i>	141
6.3.2. <i>Evaluación de la entrada de entradas de P alóctonas</i>	145
6.3.3. <i>Consideraciones estequiométricas en la interacción fitoplancton-zooplancton</i>	147
6.3.4. <i>Evaluación del aporte de P interno a través del reciclado del zooplancton</i>	149
6.3.5. <i>Demandas fitoplanctónicas en relación con la disponibilidad de P</i>	150
6.4. <b>Discusión</b>	151
6.4.1. <i>Composición química del zooplancton</i>	151
6.4.2. <i>Interacción estequiométrica consumidor-recurso</i>	153
6.4.2.1. <u>Consideraciones cualitativas</u>	153
6.4.2.2. <u>Consideraciones cuantitativas</u>	155
6.5. <b>Conclusiones finales</b>	157

## CAPÍTULO VII.– RELACIÓN ENTRE LAS ESTRATEGIAS DE VIDA Y LA ONTOGENIA DEL ZOOPLANCTON 159

7.1. <b>Introducción</b>	161
7.2. <b>Materiales y Métodos</b>	162
7.2.1. <i>Muestreo y análisis de la composición de <i>M. laciniatus</i></i>	162
7.2.2. <i>Razón lípidos neutrales : lípidos polares</i>	165
7.2.3. <i>Determinación del crecimiento de la población</i>	166
7.2.4. <i>Análisis estadístico</i>	167
7.3. <b>Resultados</b>	168
7.3.1. <i>Caracterización biótica</i>	168
7.3.2. <i>Variabilidad intraespecífica en la composición química</i>	170
7.3.2.1. <u>Carbono, nitrógeno y fósforo</u>	170
7.3.2.2. <u>Razones C:N:P</u>	174
7.3.2.3. <u>Composición elemental seston-zooplankton</u>	175
7.3.2.4. <u>Razón lípidos neutrales: lípidos polares</u>	176
7.3.1.5. <u>Tasas de crecimiento, tamaño del cuerpo</u>	

	<u>y contenido elemental</u>	176
<b>7.4. Discusión</b>		178
<b>7.4.1. Fuentes de variabilidad intraespecífica</b>		178
<b>7.4.1.1. <u>Ontogenia</u></b>		178
<b>7.4.1.2. <u>Variabilidad estratégica en la composición elemental</u></b>		180
<b>7.4.2. Estequiometría y parámetros ontogénicos</b>		182
<b>7.5. Implicaciones ecológicas</b>		185
<b>CAPÍTULO VIII.– EL ZOOPLANCTON Y SU ALIMENTO</b>		187
<b>8.1. Introducción</b>		189
<b>8.2. La calidad del alimento</b>		189
<b>8.3. Conexiones entre las especies a través de las redes tróficas: Redes Trofoquímicas</b>		192
<b>8.3.1. <i>Construcción de las Redes Trofoquímicas en La Caldera</i></b>		194
<b>SÍNTESIS</b>		203
<b>CONCLUSIONES</b>		213
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>		217



## ABREVIATURAS

<b>AN</b>	Asimilación neta
<b>C I, II, III, IV, V</b>	Estadios copepodíticos I, II, III, IV y V
<b>C:N<sub>b, f, z</sub></b>	Razón C:N de la fracción bacteriana, fitoplanctónica o zooplanctónica
<b>C:P<sub>b, f, z</sub></b>	Razón C:P de la fracción bacteriana, fitoplanctónica o zooplanctónica
<b>CRB</b>	Carbono orgánico requerido por las bacterias heterotróficas
<b>DOC</b>	Carbono orgánico disuelto < 0.2 $\mu\text{m}$
<b>dpm</b>	desintegraciones por minuto
<b>ECB</b>	Eficiencia de crecimiento del bacterioplancton
<b>EN</b>	Excreción neta
<b>FP</b>	“fecal pellet”
<b>Ip</b>	Tasa de incorporación de P
<b>L</b>	Longitud
<b>N I, II, III, IV, V, VI</b>	Estadios naupliares I, II, ..., VI
<b>NDT</b>	Nitrógeno disuelto total
<b>NP</b>	Nitrógeno particulado
<b>N:P<sub>b, f, z</sub></b>	Razón N:P de la fracción bacteriana, fitoplanctónica o zooplanctónica
<b>NT</b>	Nitrógeno total
<b>PAR</b>	Radiación fotosintéticamente activa
<b>PBN</b>	Producción bacteriana neta
<b>PDT</b>	Fósforo disuelto total
<b>PN</b>	Producción neta aparente
<b>POC<sub>1</sub></b>	Carbono orgánico particulado $\geq 1 \mu\text{m}$
<b>POC<sub>2</sub></b>	Carbono orgánico particulado 0.2-1.0 $\mu\text{m}$
<b>PP</b>	Fósforo particulado
<b>PPN</b>	Producción primaria neta
<b>PRS</b>	Fósforo reactivo soluble

<b>PS</b>	Peso seco
<b>PT</b>	Fósforo total
<b>TA</b>	Actividad total
<b>TOC</b>	Carbono orgánico total
<b>Z<sub>25%</sub></b>	Profundidad a la que llega el 25% del PAR incidente en la superficie de la laguna

*CAPÍTULO I*

---

---

**ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

### *1.1.- Desarrollo histórico de la estequiometría en ecología*

La ecología de los ecosistemas se centra en el estudio del flujo de materia y energía a través de los organismos de un sistema (Odum, 1971; Schlesinger, 1991). Algunos investigadores célebres como Lindeman (1942), Hutchinson (1964) u Odum (1957) han contribuido al gran auge del estudio del flujo de materia y energía, hasta el punto de vincular su conocimiento a la comprensión profunda del funcionamiento de los ecosistemas. Tradicionalmente, el marco escogido por la gran mayoría de investigadores ha consistido en el estudio del flujo de energía entre compartimentos del sistema (Hagen, 1992). La importancia de la energía es tan abrumadora que los ecólogos generalmente han enfatizado el papel fundamental que juega en la estructura las redes tróficas.

A pesar de que la perspectiva energética posee grandes aplicaciones y ha sido y es de gran utilidad en el estudio tanto a nivel individual como del ecosistema (Brown, 1995; Wright et al., 1994), han surgido estudios que discrepan de la universalidad de este “paradigma”. Por ejemplo, en un estudio relativamente reciente, White (1993) señala el papel relevante del N sobre el C y en concreto del desajuste entre la composición en N del alimento y de las demandas por parte de los consumidores, en la determinación del éxito reproductivo y dinámicas de las especies. Por otra parte, los intentos para comprender los procesos relacionados con la biología evolutiva de las especies o con las dinámicas de los ecosistemas a partir de una aproximación unidimensional como es la energética han sido a menudo infructuosos (Månsson & McGlade, 1993).

En el contexto anterior, Reiners (1986) propuso una aproximación estequiométrica como una visión alternativa y multidimensional al estudio energético de los ecosistemas. Este autor argumenta que, mientras esta última aproximación se basa en la segunda ley de la termodinámica, la estequiometría considera la proporción relativa de los elementos (razones C:N:P) en el análisis de cómo las características y actividades de los organismos influyen y son a su vez influenciadas, por el ecosistema en donde se desarrollan. Pero, ¿cómo pueden los organismos alterar al ecosistema donde viven? Para la ecología estequiométrica cada organismo actúa como un filtro selectivo en la modificación de los ciclos biogeoquímicos de su ambiente (Hassett et al., 1997).

La estequiometría elemental proporciona una herramienta para indagar en los mecanismos causales que subyacen a los procesos que ocurren a nivel celular, de los organismos y de los ecosistemas. En última instancia, el desarrollo de este nuevo campo

de la ecología permite establecer conexiones no solamente entre los ecosistemas y los procesos evolutivos que en ellos tienen lugar, sino entre campos tan aparentemente dispersos como la biología celular y la ecología.

### *1.2.- La estequiometría en el contexto de la ecología acuática*

Los estudios pioneros de Lotka (1925) pusieron de manifiesto la importancia vital del flujo de nutrientes trazando el camino hacia la convergencia de los ciclos biogeoquímicos de los elementos y la ecología clásica. Sin embargo y a pesar de la originalidad de esta concepción, no ha sido sino recientemente cuando las conexiones entre los procesos de reciclado de nutrientes como componentes estructurales de las comunidades y ecosistemas han sido objeto de creciente interés dentro de la ecología (McNaughton, 1988; DeAngelis, 1992; Sterner et al., 1992).

La aplicación de los modelos “consumidores-controladores” (top-down) y “productor-controlador” (bottom-up) ha sido examinada de forma extensiva en gran número de lagos. La capacidad predictiva de estos modelos se vio cuestionada por la aparición de resultados contradictorios en cuanto a la transferencia de materia y energía entre diferentes niveles tróficos, lo que señaló la necesidad de investigar en detalle las condiciones particulares de estacionalidad, estructura o estado trófico de cada sistema (McQueen & Post, 1988).

Promovidas por la teoría en cascada trófica, la manipulación de la cadena trófica como una herramienta para el control de la eutrofización ha sido probada de forma extensiva en numerosos lagos (Gulati et al, 1990). De esta forma, las cadenas tróficas de los lagos han proporcionado históricamente un marco incomparable en donde desarrollar modelos teóricos y testar hipótesis empíricas, así como para comprobar la importancia relativa de los procesos de reciclado de nutrientes frente a las interacciones directas más convencionales.

Recientes recopilaciones sobre interacciones acuáticas y “biomanipulación” revelan la naturaleza compleja de gran número de interacciones tróficas, y subrayan que el resultado empírico se aleja frecuentemente de las predicciones de los diagramas convencionales de redes tróficas o de las teorías de cascada trófica (Harris, 1994; Reynolds, 1994). El hecho de que la naturaleza de gran número de interacciones planctónicas sea singular con relaciones causales no claras (Threlkeld, 1987) o

predecibles (Sommer, 1988) ha sugerido recientemente (Reiners, 1986; Olsen et al, 1986; Sterner, 1990; Hessen & Andersen, 1992) una aproximación alternativa, denominada estequiométrica, que conjuga fenómenos a diferentes escalas: desde los ciclos elementales en el sistema hasta la estructura de especies en la cadena trófica pasando por los presupuestos fisiológicos de los elementos en el interior de las especies constituyentes.

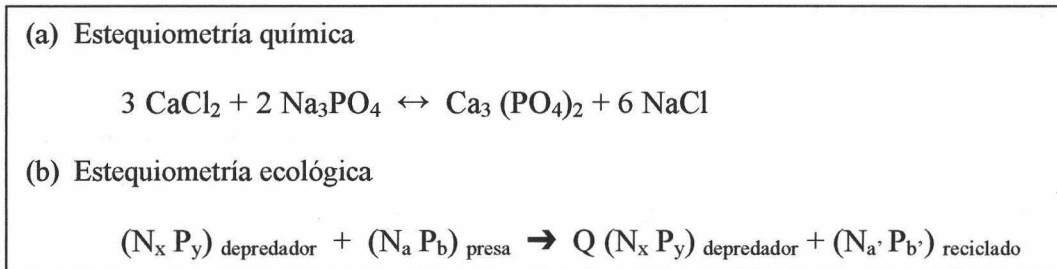
El análisis de las redes tróficas bajo una perspectiva estequiométrica ofrece una alternativa viable y complementaria a las interacciones directas. La convergencia de la aproximación estequiométrica y las derivadas de los modelos de cascada trófica han demostrado como las interacciones indirectas pueden actuar de forma paralela a las directas y probablemente, permita justificar parte de la respuesta no explicada en experimentos de manipulación de redes tróficas. Más aún, los modelos estequiométricos permiten relacionar la transferencia de energía en la cadena trófica con la calidad del alimento y por tanto fusionar principios ecológicos fundamentales como la composición elemental y bioquímica de los organismos con la eficiencia en la transferencia de energía en los ecosistemas.

### 1.3.- *La estequiometría como herramienta en el análisis ecológico*

En la estequiometría química, el número de átomos de cada elemento debe permanecer constante a ambos lados de la reacción. En la estequiometría ecológica, un organismo que consume a otro es comparable a una reacción química compleja donde reactivos (recursos) y productos (consumidores y productos de desecho) estarían sujetos al balance de masas que opera en cualquier reacción (Figura 1.1).

Los principios estequiométricos poseen validez para cualquier sustancia que no se disgrega en una reacción química, lo que incluye a todos los elementos y a algunas biomoléculas. En nuestro estudio, nos centraremos en los elementos y en particular en el C, N y P, tres de los elementos esenciales en la composición de todo ser vivo.

Todas las interacciones en ecología están sujetas al balance de masas de la termodinámica. De esta forma, los procesos como la competencia, la depredación o el reciclado pueden ser estudiados dentro de un mismo "teatro ecológico" para establecer predicciones a partir de las razones elementales de sus "actores" (organismos) en su "escenario" (medio), antes y después de una interacción ecológica (*sensu* Lotka, 1925).



**Figura 1.1.** Balance de masas establecido según la primera Ley de la Termodinámica en una: (a) reacción química inorgánica o (b) interacción ecológica. En la interacción predador-presa, la presa es consumida por el depredador que incorpora elementos de la presa en una proporción fija, incrementando la biomasa del depredador por un factor **Q** y produciendo un producto de reciclado en una proporción elemental alterada. Como consecuencia, **a':b'** podría ser mayor o menor que **a:b** dependiendo de las demandas relativas del consumidor en N y P (Sternler, 1990). Paralelamente, la razón elemental del reciclado **a':b'** contribuye a la estequiometría de una segunda interacción ecológica o competencia de los autótrofos por los nutrientes (Teoría de la competencia por la razón del recurso, desarrollada por Tilman, 1982).

### 1.3.1.- Desde el individuo al ecosistema

Las “huellas” y las limitaciones de la aproximación estequiométrica se evidencian a todos los niveles del sistema: los modelos estequiométricos tienen aplicación a nivel individual, a nivel de la interacción entre dos compartimentos y finalmente, a nivel del ecosistema.

Una simplificación habitual en el estudio de los ecosistemas es la de considerar a los organismos como entes únicos expresados tanto en términos de biomasa como de energía. Sin embargo, la importancia de considerar la composición de los organismos está justificada por el hecho de que ésta afecta de forma directa a su alimentación, crecimiento y uso de los recursos a su alcance (Sternler, 1995).

La composición elemental de los autótrofos es más conocida que la de otros organismos. Los autótrofos exhiben una variación intra- e interespecífica elevada. Por ejemplo, las plantas vasculares muestran una gran divergencia en el contenido elemental de la biomasa localizado por debajo y sobre el suelo, o entre tejidos leñosos y no leñosos. Incluso, los elementos para un misma fracción autótrofa son variables y particularmente el N, P o S, cuyo contenido oscila en mucho mayor grado que el C (Reynolds, 1984, pg.



160). En términos generales, mientras que el C supone entre el 40 y 50 % del peso seco de autótrofos, incluyendo el fitoplancton, el N o el P pueden describir variaciones de hasta por 10.

Las primeras observaciones de la composición elemental en la materia particulada de los océanos arrojaron una razón  $C_{106}:N_{16}:P_1$ , conocida como la razón de Redfield en honor a su descubridor (Redfield et al., 1963). Sin embargo, como ha sido verificado en numerosas ocasiones, no todos los organismos poseen la misma composición elemental, incluyendo N y P, dos de los elementos potencialmente limitantes de la producción en los ecosistemas acuáticos. Además, la variabilidad espacial y temporal descrita en la composición elemental del seston, que a menudo se desvía de las proporciones de Redfield, debe ser extendida a bacterias (Fuhs et al., 1972; Vadstein et al., 1988; Tezuka, 1990). Tanto la composición elemental de las algas como la de las bacterias han sido asociadas con sus tasas de crecimiento (Sommer, 1989; Urabe, 1993; Chrzanowski et al., 1995). Las razones C:N:P del seston junto a una amplia variedad de organismos marinos y terrestres han sido recogidas en diversas revisiones (Downing & McCauley, 1992; Hecky et al., 1993).

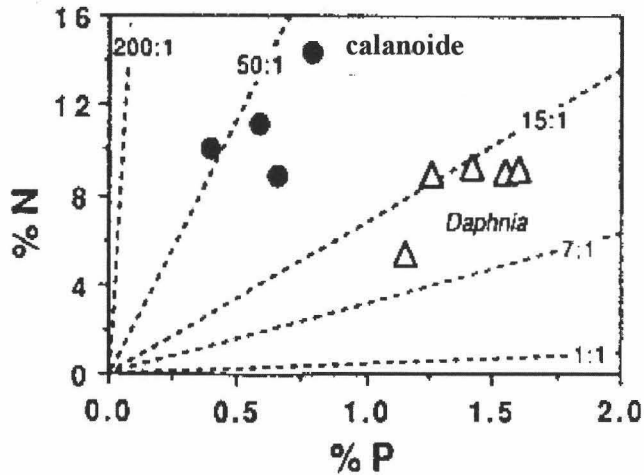
La composición elemental de los metazoos también presenta variaciones importantes. McDowell (1992) describió variaciones intraespecíficas en vertebrados de interés ganadero cuando fueron alimentados bajo distintas dietas. Sin embargo, y a pesar de estas observaciones, el contenido elemental en los animales varía en una magnitud inferior a aquel de los productores primarios. Por ejemplo, cuando los individuos de una cohorte de *Daphnia* fueron alimentados a razones N:P del alimento entre 22 y 194, la razón N:P de este crustáceo tan sólo osciló entre 20 y 22 (Sterner et al., 1993). A pesar de las restringidas variaciones intraespecíficas en la composición elemental del zooplancton, las diferencias interespecíficas parecen más pronunciadas. Así, los crustáceos (copépodos y cladóceros) presentan un rango de variación en la razón N:P que se sitúa entre 13 y 50 (Andersen & Hessen, 1991), cuyo extremo inferior estaría representado por los cladóceros y el superior por copépodos (Figura 1.2).

Por lo tanto, un tema central en la aproximación estequiométrica consistirá en la adquisición, no sólo de un conocimiento profundo del contenido elemental de los consumidores y de su alimento (Sterner & Hessen, 1994), sino también de cómo éstos varían estacionalmente y los efectos indirectos que pudieran establecerse entre ambos.

Las tasas de crecimiento y el tamaño son parámetros que caracterizan la historia de vida de los organismos. Aunque los trabajos que relacionan el tamaño de los organismos con su estequiometría son cada vez más abundantes,

son muy pocos los trabajos que han reunido e interpretados estas observaciones puntuales en un contexto más amplio o macroevolutivo. Entre estos últimos, destaca el estudio de Elser et al. (1996) que se plantea cómo varía la razón N:P de los organismos y por tanto de su %N o %P, desde organismos tan dispares en tamaño como las bacterias (menos de 1 picogramo, pg) hasta los grandes vertebrados (7000 kg o más), en un rango de tamaño que sobrepasa los 15 órdenes de magnitud (Figura 1.3).

Como ya hemos apuntado anteriormente, el %N y %P no son isométricos para un taxón determinado, como lo demuestra el hecho de que la razón N:P oscile, aunque de forma restringida, ontogénicamente (intraespecífica) y por lo tanto, con el tamaño del cuerpo (*Daphnia magna* o *Drosophila melanogaster*, Elser et al., 1996). Sin embargo, una pregunta fundamental en la generalidad de los argumentos estequiométricos pasa por el mantenimiento alométrico de este patrón. En este sentido, existen dos factores que podrían afectar a la razón N:P de los organismos en una escala en tamaño que integrase



**Figura 1.2.** Contenido en N y P (porcentaje del peso seco) de los dos grupos principales de zooplancton: calanoides (círculos) y *Daphnia* (triángulos). Las líneas de puntos indican valores estándar de N:P. Datos obtenidos de Andersen & Hessen (1991) y Hessen & Lyche (1991).

desde bacterias a grandes vertebrados. En primer lugar, la composición bioquímica y elemental del protoplasma puede variar significativamente con el tamaño. Por ejemplo, los organismos adaptados a un crecimiento rápido pueden contener una gran proporción de RNA que por su elevado contenido en P ( $\approx 10\%$ , Elser et al., 1996) podría dar lugar en estos organismos a una razón N:P más baja que aquellos otros organismos de crecimiento más lento. En segundo lugar, el incremento en tamaño tiene lugar de forma paralela a la acumulación relativa de materiales estructurales (Reiners, 1986). Por ejemplo, el exoesqueleto quitinoso de los artrópodos contiene más N que los materiales estructurales de los vertebrados incluyendo el hueso que posee una razón N:P muy baja.

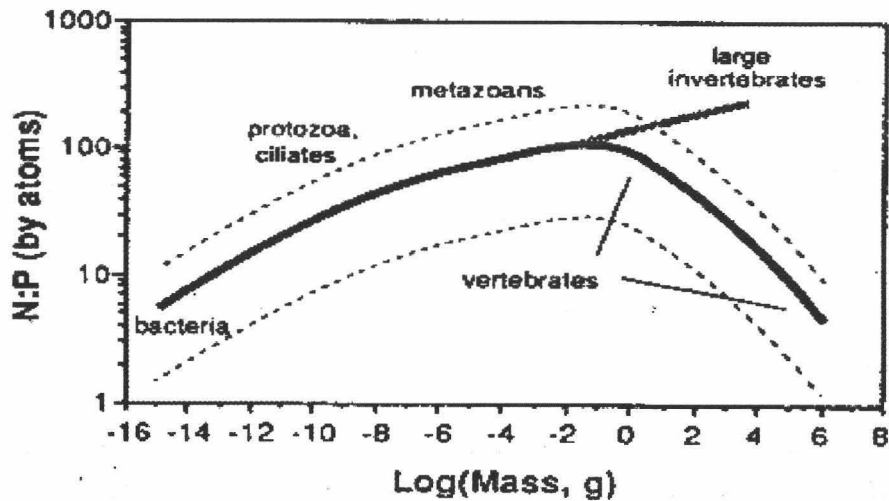


Figura 1.3. Relación entre el tamaño del organismo (g de peso seco) y su razón N:P. Las líneas discontinuas indican que pueden existir variaciones con respecto a un patrón común definido por la línea continua. Figura tomada de Elser et al. (1996).

Una de las relaciones alométricas mejor documentadas es aquella mostrada entre el tamaño y la tasa de crecimiento de los organismos (Peters, 1983). Esta relación alométrica decreciente está caracterizada por una pendiente ( $\sim 0.25$ ) que es similar para organismos tan diversos como los unicelulares, poiquiloterms, homeoterms, mamíferos o peces, con la excepción de invertebrados que presentan una pendiente más pronunciada ( $\sim 0.37$ ). Además, este patrón se mantiene para categorías taxonómicas inferiores como

ciliados en donde se ha demostrado que existe una relación inversa entre las tasas de crecimiento y el volumen celular (Fenchel, 1968).

Por lo tanto, la generalidad observada de que la razón N:P se encuentra asociada a las tasas de crecimiento de los organismos, permite sugerir que el crecimiento en tamaño de los organismos ocurre de forma paralela al de la razón N:P corporal (Figura 1.3). Entre los todavía escasos estudios que en la actualidad apoyan esta visión destacamos aquellos basados en: bacterias, caracterizadas por tasas de crecimiento muy elevadas y razones N:P de hasta 5 (Bratbak, 1985); *Paraphysomonas imperforata*, un pequeño flagelado (5 nanogramos, ng) caracterizado por presentar una razón N:P de 10 (Caron et al., 1985); el zooplancton entre 10 y 100  $\mu\text{g}$  de masa que presenta razones N:P que oscilan entre 12 y 70 (Anderson & Hessen, 1991); o las larvas tardías de *Drosophila* (0.5 mg de masa) que se caracterizan por presentar una razón N:P próxima a 100 (Church & Robertson, 1966). Sin embargo existen variaciones con respecto a este patrón, especialmente llamativas en el caso de los crustáceos, donde copépodos de similar tamaño a *Daphnia* poseen razones N:P muy distintas de entre 12 y 30, respectivamente. Sin duda, las diferencias en sus tasas de crecimiento podrían situarse sobre la base de dicha divergencia, a su vez causada por la adaptación evolutiva de ambos tipos de organismos hacia estrategias de vida particulares.

Sin embargo, la relación positiva entre el tamaño del cuerpo y la razón N:P de los organismos no se mantiene constante de forma alométrica, dado que otros factores y particularmente aquellos relacionados con la inversión estructural, adquieren relevancia a medida que el tamaño de los organismos aumenta. En concreto, se observa que existe un punto de inflexión en aquellos organismos alrededor de 100 mg que permite especular con la importancia del material esquelético en la razón N:P final de los organismos. En este punto, conviene resaltar que tanto los componentes protoplasmáticos como los estructurales determinan de forma conjunta la razón N:P final de los grandes organismos. Tanto para los invertebrados como para los vertebrados de un tamaño determinado, la tasa específica de crecimiento decrece con el tamaño corporal (Peters, 1983). Sin embargo y a pesar de que el contenido específico en RNA decrece con el tamaño del cuerpo en ciertos mamíferos (Peters, 1983), la razón N:P de la biomasa de los grandes invertebrados y vertebrados tiende a decrecer con el tamaño motivada por la contribución dominante de su soporte estructural.

La variación en la composición elemental de los componentes corporales de invertebrados superiores y vertebrados es enorme: mientras que tejidos como la piel o la sangre poseen una gran cantidad de proteínas y por lo tanto un razón N:P elevada ( $> 100$ ), el material esquelético rico en P (tejido conectivo de colágeno con depósitos de apatita; Frausto da Sila & Williams, 1991) posee una razón N:P muy baja ( $\sim 0.8$ ). Además, la contribución relativa de los tejidos es muy variable con respecto al tamaño del organismo, p.ej. la proporción de la masa esquelética sobre la masa total oscila entre el 3.8 % de musarañas y el 13.6% de elefantes (Prange et al., 1979). A partir de la composición en N y en P de los órganos y tejidos (Bowen, 1966) y de la contribución de éstos a la masa corporal de los organismos según Calder (1984), podemos estimar que un vertebrado de 10 g de peso estaría compuesto en un 10.8% por N y en un 0.98% por P (razón N:P = 249), mientras que para un vertebrado de 1000 Kg, el 7% de su masa sería N y el 1.6% P (razón N:P = 9.6).

El hecho de que el zooplancton presente una composición elemental más estricta y generalmente diferenciada de la de su alimento, crea una “discontinuidad bioquímica” entre ambos eslabones que abre un abanico de consecuencias ecológicas importantes, no sólo para los propios organismos sino para el ecosistema en general. En primer lugar y por el hecho de poseer una composición definida, la eficiencia en el reciclado de N y P por los consumidores depende tanto de su razón N:P como de la de sus presas (Sterner, 1990), de forma que la razón N:P final del reciclado dependerá del grado de divergencia entre la composición de ambos. Puesto que los depredadores por regla general poseen un tamaño y razón N:P mayor que aquel de sus presas, el *desequilibrio en el contenido mineral* (N:P alimento – N:P consumidor; Elser & Hassett, 1994) para consumidores que se alimenten de consumidores inferiores será generalmente negativo y por tanto generará una razón N:P del reciclado superior a la del alimento, que en última instancia aliviaría las condiciones de limitación por P del fitoplancton.

Por lo tanto, de confirmarse las predicciones de la Figura 1.3, los metazoos reciclarían P de forma más eficiente al N. Sin duda una excepción a este patrón lo constituye la interacción herbívoro-productor primario (este último con una razón N:P habitualmente muy elevada) que generaría un *desequilibrio en el contenido mineral* positivo y por lo tanto un reciclado con una razón N:P elevada que en última instancia intensificaría las condiciones de limitación por P del fitoplancton (Elser & Hassett, 1994). Sin embargo, el hecho de que los herbívoros presenten diferencias interespecíficas claras así como su composición específica elemental dentro de un estrecho margen de variación,

podría dar origen a situaciones finales opuestas dependiendo del herbívoro. Así, asumiendo la alimentación a partir de un recurso común, las comunidades dominadas por cladóceros (N:P~12) reciclarían a una razón N:P elevada, desplazando las algas de forma gradual hacia condiciones de limitación por P, mientras que las comunidades dominadas por copépodos (N:P~30-50) reciclarían a una razón N:P mucho más baja que en última instancia podría conducir a las algas hacia una limitación por N (Sterner et al., 1992).

El impacto de la razón N:P de los grandes animales en el reciclado de nutrientes ha sido tradicionalmente ignorada (Naiman, 1988) y no ha sido sino recientemente, cuando se ha puesto de manifiesto el papel fundamental de los peces en la dinámica de la comunidad fitoplanctónica, a través del reciclado directo de los nutrientes o por su efecto indirecto al controlar el crecimiento de los consumidores herbívoros (Vanni & Layne, 1997).

La mayor parte de los estudios en peces se han restringido al P en detrimento del N. Atendiendo a las predicciones de Elser et al. (1996; Figura 1.3) los peces poseen una razón N:P menor a la de la mayoría de sus presas (50  $\mu\text{g}$ -1 g), por lo que las predicciones teóricas indicarían que los peces reciclarían N en mayor proporción al P (Sterner, 1990). Por lo tanto si los peces son importantes en los ciclos de P, su importancia sería aún mayor en el ciclo del N. En este sentido, la razón N:P de ~12 en el lucio *Esox lucius* (George, 1994) permite especular con que el reciclado de esta especie enriquecería el agua del lago en N en relación al P. Sin embargo, en base a un estudio más reciente, Schindler & Eby (1997) proponen que los peces (excluyendo los piscívoros) con una razón N:P del reciclado de 13.1 tenderían a aliviar y no a agudizar tal y como proponen Elser et al. (1996), la limitación por P del fitoplancton. Si bien en la actualidad existe un conocimiento considerable sobre el efecto de la interacción herbívoro-planta en el flujo de nutrientes de un sistema, el efecto global de los peces se encuentra aún por elucidar.

En segundo lugar, y por el hecho de poseer una composición definida, los organismos presentarán unos requerimientos específicos para suplir su metabolismo y crecimiento. Cuando estos requerimientos son adquiridos en una proporción óptima o balanceada, las eficiencias de producción se hacen máximas. Por el contrario, las dietas desajustadas resultarán en un uso menos eficiente de los substratos sobreabundantes que serán reciclados en mayor proporción, y en una gran eficiencia para aquellas sustancias o elementos escasos que serán reciclados en una menor proporción. Todo ello provocaría en última instancia, la limitación o deficiencia de ciertos recursos minerales por parte de



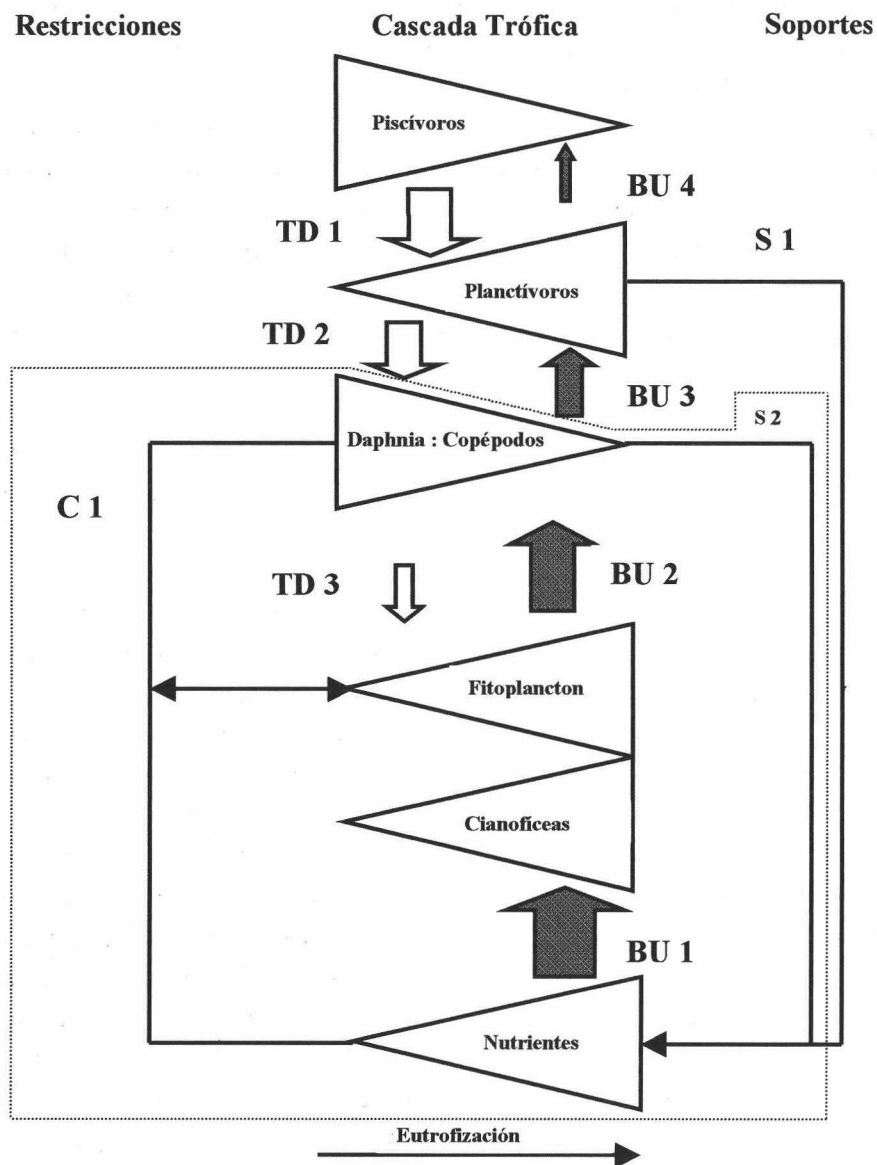
los organismos . En definitiva, las dietas serán tanto más ajustadas cuanto más próximas sean las composiciones entre consumidores y fuentes de alimento.

Por lo tanto, el hecho de que las especies del zooplancton difieran en su contenido elemental sugiere que el éxito de estos herbívoros no sólo depende de la cantidad de alimento, sino también de su calidad en términos de N y P. Por ejemplo, *Daphnia* se encontraría en desventaja frente a los copépodos cuando ambos compitiesen por alimento pobre en P, ya que por unidad de P se produciría una mayor biomasa de copépodo que de *Daphnia* (Sterner & Hessen, 1994). Este tipo de deficiencias nutricionales se han observado en herbívoros terrestres donde el N juega un papel clave (Mattson, 1980; McDowell, 1992), o en los mamíferos donde se encuentra ampliamente extendida (McNaughton, 1988; Renaud et al., 1990). Así mismo otros autores han demostrado la influencia de la nutrición mineral de las plantas en la calidad del alimento de los insectos (Dale, 1988).

En este contexto, la estequiometría permite obtener un conocimiento más integrado de los procesos de alimentación selectiva de los consumidores (“consumer foraging behaviour”) y de la regulación de sus poblaciones en comparación con otros estudios basados de forma exclusiva en parámetros energéticos. La importancia de los efectos estequiométricos indirectos es directamente proporcional a la magnitud de los procesos de regeneración de los organismos en comparación con la disponibilidad de recursos a través de otras fuentes.

De forma global, la validez de la aproximación estequiométrica pasa por permitir la predicción de aspectos generales de la estequiometría de los sistemas pelágicos, que han de actuar de forma paralela a interacciones directas más convencionales (Figura 1.4). Los efectos en cascada directos “top-down” (zooplancton a fitoplancton) y “bottom-up” (nutrientes a zooplancton) ofrecen una visión complementaria a la de los efectos indirectos estequiométricos. Sin embargo, tal y como señalan McQueen & Post (1988) existe un desacople dentro de la interacción en cascada trófica en el eslabón fitoplancton-zooplancton, que indica que la interacción entre ambas comunidades no necesariamente debe suponer una disminución en la biomasa y/o densidad del fitoplancton, sino que el zooplancton en ocasiones llega incluso a tener un efecto potenciador sobre las poblaciones de fitoplancton (Porter, 1973; Gliwicz, 1975; Redfield, 1980). Es decir, el zooplancton regula de forma indirecta su alimento a través de la liberación de nutrientes (R1 en la Figura 1.4), en una concentración que depende a su vez de la composición





**Figura 1.4.** Diagrama general de un modelo general de cadena trófica en cascada adaptado a La Caldera (entre línea discontinua). Los efectos directos "top-down" y "bottom-up" aparecen representados como TD1-TD3 y BU1-BU4. El grosor de las flechas es proporcional al efecto ejercido, mientras que el efecto en cascada a lo largo de un gradiente trófico aparece indicado por la altura de los cuadros (incremento de la carga de nutrientes y descenso de la biomasa de piscívoros de izquierda a derecha). Los procesos indirectos que permiten soportar la cadena trófica incluyen los nutrientes reciclados por peces y zooplancton (S1 y S2), mientras que los efectos contrarios en términos de calidad baja de alimento aparecen representados como C1.

depredador-presa. Todas estas consideraciones, tal y como desarrollaremos posteriormente en el capítulo VI, han sido desarrolladas recientemente en forma de modelos (Hessen & Andersen, 1992; Sterner et al, 1992), llegando a conclusiones tales como que una razón cladoceros:copépodos baja habría de favorecer a las especies de algas verde-azules como consecuencia de la regeneración de nutrientes. El funcionamiento de la comunidad microbiana se podría ajustar a los mismos principios básicos, es decir, completarían sus demandas corporales ajustando sus tasa de incorporación y liberación de nutrientes (Goldman et al., 1987a,b). Así pues, cuando la disponibilidad de P o N fuese suficiente, se constituirían en mineralizadores de nutrientes, mientras que en situaciones de escasez de nutrientes pasarían a ser consumidores netos y de esta forma competidores de primer orden con las algas por los recursos minerales. La importancia ecológica de los procesos descritos requiere que la importancia del flujo de nutrientes interno de origen biológico sea de una magnitud significativa en relación al flujo de nutrientes externo.

Los peces no estarían excluidos de los mecanismos de regulación estequiométrica (Vanni & Layne, 1997; Schindler & Eby, 1997) y sus efectos sobre la cadena trófica podrían funcionar en la misma dirección que las interacciones directas tales como la depredación. Por ejemplo, el Orden de peces de los ciprínidos favorecen la aparición de las algas verde-azules actuando simultáneamente a dos niveles: en primer lugar eliminando las grandes *Daphnia* y por lo tanto reduciendo la presión de depredación sobre estas algas, y en segundo lugar motivando la preponderancia de los copépodos sobre cladóceros con la consiguiente reducción de la razón N:P de los productos reciclados como consecuencia de la razón N:P corporal más alta de los primeros. Sin embargo estos efectos “top-down” indirectos deben de ser analizados de forma conjunta a los mecanismos de retroalimentación “bottom-up”. Así la disponibilidad total de nutrientes determinará el estado fisiológico del fitoplancton, y en condiciones de escasez de P (habituales en etapas de “aguas claras”) el fitoplancton será limitante para el desarrollo del zooplancton y en particular, de *Daphnia*. Debido a la capacidad de los depredadores de modificar la disponibilidad de elementos como el N o el P en su alimento, éstos no solamente alteran sus tasas de crecimiento, sino que también modifican la calidad bioquímica y por consiguiente nutricional de su alimento. El fitoplancton y el bacterioplancton deficiente en alguno de estos elementos son utilizados de forma precaria por sus consumidores. El consumo sobre un alimento de calidad deficiente afectaría de forma preferente a depredadores no selectivos como *Daphnia*, que sufrirían limitación por P. Esto a su vez, sería perjudicial para muchas especies de peces

que se alimentan de este crustáceo. En resumen, una dieta desajustada haría decrecer la eficiencia de crecimiento de los herbívoros, lo que se propagaría a lo largo de la cadena trófica reduciendo la productividad de todos sus niveles tróficos (Sternier & Hessen, 1994).

Por lo tanto, el resultado final de los efectos estequiométricos depende de la calidad de las algas, de la estructura de la cadena trófica, así como de la composición de la comunidad. A su vez estos efectos se han evidenciado como fundamentales para algunos lagos, pero de influencia limitada en otros, mientras que cobran importancia a medida que descendemos en eslabones de la red trófica y se ha sugerido que contribuyen en su conjunto a la estabilidad del sistema (Hessen, 1997). Todas estas relaciones evidencian la existencia de estrechas conexiones entre los efectos de primer orden y los efectos de retroalimentación o "feed-back", de forma que su diferenciación no es fácilmente identificable, lo que debe conducir en nuestra opinión, a la adopción de una visión conjunta de todos estos procesos que permita avanzar hacia la comprensión integrada del funcionamiento ecológico de los ecosistemas.

La aplicación de la estequiometría ha sido posible gracias a que las especies que dominan los sistemas poseen distintas historias de vida que a su vez determinan los requerimientos celulares y bioquímicos que se manifiestan como resultado de las diferencias en su razón N:P corporal. Su utilización como una nueva herramienta en la identificación de los mecanismos causales que unen los procesos que ocurren a nivel celular, del ecosistema y en última instancia evolutivos, ofrece la oportunidad de integrar disciplinas tan tradicionalmente dispersas como la biología evolutiva y de los ecosistemas, y más aún, la ecología o la biología celular, dos campos de la biología que se han desarrollado no sólo de forma independiente, sino incluso, antagónica (Elser et al., 1996).

La exploración del papel de la estequiometría en la regulación de los procesos biológicos se encuentra en su infancia, incluso dentro de la ecología. Aún así, la consideración de la composición elemental y bioquímica los organismos proporciona un punto de partida válido para la obtención de una visión evolutiva integrada de los mecanismos celulares que subyacen a los procesos que ocurren a nivel del ecosistema.

La originalidad de la perspectiva estequiométrica se basa en las inevitables demandas químicas de los organismos así como en la primera ley de la termodinámica, que opera desde que los organismos nacen, crecen, se reproducen y finalmente mueren.

### 1.3.2.- La estequiometría en el análisis comparativo entre ecosistemas

Existe un interés creciente en el análisis comparativo entre ecosistemas (Peters et al., 1991). Sin duda alguna esta tendencia es un signo inequívoco de la madurez que la Ciencia de la Ecología está alcanzando a medida que los científicos van reuniendo estudios intensivos de distintos sistemas y comprueban la generalidad de los principios que generan su estructura y funcionamiento. Entre los beneficios que se traducen del análisis comparativo de los ecosistemas destacan la generalidad de sus conclusiones, el incremento en la escala, la economía, etc. Nixon (1988) ha abogado por la necesidad de integrar el estudio comparativo de los sistemas marinos y dulceacuícolas como un camino inmejorable para alcanzar un conocimiento completo de la naturaleza de estos sistemas. En este sentido, se ha expresado la comunidad científica que contraresta los efectos progresivos de la especialización en campos de la ecología de mares, ríos o lagos, al apostar por revistas multidisciplinarias (ej. *Limnology and Oceanography*) para la divulgación de los avances científicos más significativos en estos campos. Por lo tanto, la pregunta que debemos plantear reside en el cómo, más que en el por qué, comparar los ecosistemas.

A pesar del irrefutable valor de una ecología comparada, la identificación de un marco común adecuado dificulta el análisis conjunto de los ecosistemas (Downing, 1991). Entre las aproximaciones tradicionales destacan los análisis de flujo de Energía (producciones primarias o secundarias), el almacenamiento de Energía (biomasa de autótrofos/heterótrofos, p.ej. IBP O'Neil et al. 1989), o los análisis univariantes en la repuesta biótica a cargas externas de nutrientes (Vitousek, 1977). En la presente Memoria de Tesis, planteamos una aproximación estequiométrica que proporciona una visión no tanto alternativa sino complementaria y que se presenta como prometedora en el estudio comparativo entre sistemas. Una ventaja fundamental de la estequiometría ecológica sobre otras aproximaciones la constituye el hecho de que todos los componentes bióticos y una gran mayoría abióticos pueden ser caracterizados con respecto a las razones elementales de C, N y P (Hassett et al., 1997).

La “estequiometría del ecosistema” es un concepto basado en la observación de que la composición química dentro de un mismo o entre ecosistemas es menos variable que la composición taxonómica del propio ecosistema (Smith, 1991). El estudio del balance estequiométrico se ha mostrado como un método viable no sólo para analizar el metabolismo de los ecosistemas marinos o costeros como estuarios, bahías o atalayas de coral, sino también para profundizar en el funcionamiento de los ciclos globales relacionados con el C, N y P (Smith, 1991).

Sin duda ya se han dado los primeros pasos hacia el tratamiento conjunto de la estequiometría ecológica del C, N y P en ambientes pelágicos de ecosistemas marinos y de agua dulce (Hassett et al., 1997). Estos estudios ha manifestado que existen grandes diferencias en las concentraciones de N, P, de la razón N:P y en la distribución de estos elementos en las fracciones disueltas y particuladas de océanos y lagos. Así mismo, la generalidad observada en los sistemas acuáticos continentales de que los cladóceros (razón N:P baja) dominan las comunidades cuyo seston posee razones N:P y C:P sestónicas igualmente bajas y que los copépodos dominan las comunidades que presentan razones sestónicas elevadas, no se ha observado en los sistemas marinos.

A pesar de su estado incipiente de desarrollo, numerosas observaciones señalan en la dirección de la aplicabilidad de los principios estequiométricos a los sistemas terrestres. Por ejemplo, la mineralización del N contenido en hojas en estado de decomposición es una función del contenido en N de éstas y por tanto de aquel en la planta originaria (Wedin & Tilman, 1990), o que el contenido elemental en los autótrofos terrestres depende de su crecimiento en términos de productividad (Pastor et al., 1984), tal y como se ha demostrado con anterioridad para las algas (Droop, 1974). Algunos autores incluso han descrito una reducción de la herbivoría como respuesta a plantas cuyas razones C:nutrientes fueron elevadas (Mattson & Scriber, 1987). En este sentido, cada vez son más los trabajos que resaltan la influencia que el contenido elemental de los organismos ejerce sobre la eficiencia en la utilización de nutrientes (*nutrient use efficiency*, NUE) tanto en sistemas terrestres (Vitousek, 1982; Birk & Vitousek, 1986) como en marinos (Sterner et al., 1997). Es más, las conexiones que se establecen entre especies son posiblemente una consecuencia de la localización de los materiales en la red trófica (Sterner et al., 1995b).

#### 1.4.- Vías de profundización en la aproximación estequiométrica

Los organismos difieren en las proporciones de los elementos que contienen y como hemos apuntado, la composición relativamente estricta de los herbívoros contrasta con la plasticidad de los autótrofos capaces de almacenar nutrientes limitantes como el P. Las consecuencias de esta “discontinuidad bioquímica y elemental” abarcan desde la limitación mineral del zooplancton hasta el reciclado de nutrientes. Por lo tanto, un tema central en la estequiometría consistirá en la adquisición, no sólo de un conocimiento profundo del contenido elemental de los consumidores y de su alimento (Sterner & Hessen, 1994), sino también de cómo éstos varían estacionalmente. Con este objetivo abordamos la caracterización en la composición elemental C:N:P de los niveles tróficos principales de un sistema acuático de alta montaña a lo largo del período libre de hielo entre 1995 y 1997 (Capítulos IV y VI). La ausencia de solapamientos en el tamaño del bacterioplancton (0.2-1.0  $\mu\text{m}$ ), el fitoplancton (1-10  $\mu\text{m}$ ) y el zooplancton (>40  $\mu\text{m}$ ) hacen a nuestro juicio de la laguna de La Caldera, un sistema especialmente idóneo para los estudios estequiométricos planteados.

Así mismo, las razones elementales se han revelado como excelentes herramientas para la caracterización de las comunidades de fitoplancton en sistemas acuáticos y su utilización en el seguimiento de los efectos de la eutrofización o de la carga de nutrientes en los lagos se encuentra bastante extendida (Kilham, 1990). Las observaciones hechas en La Caldera y otros sistemas adyacentes de Sierra Nevada, nos han permitido constatar la importancia de la entrada alóctona de nutrientes en el mantenimiento y estructura de las comunidades planctónicas. Nos propusimos constatar experimentalmente la respuesta de las comunidades a *inputs* experimentales de nutrientes y de cómo esta perturbación externa se propagaba o amortiguaba en niveles tróficos superiores (Capítulo V).

En la literatura limnológica están ampliamente descritas las diferencias interespecíficas en la composición elemental del zooplancton (Baudouin & Ravera, 1972; Hessen, 1990; Hessen & Lyche, 1991; Andersen & Hessen, 1991) pero, sin embargo, los estudios que se centran en la variabilidad intraespecífica son muy escasos y centrados en cladóceros. Estos estudios han señalado la existencia de una pequeña variabilidad entre juveniles y adultos (Berberovic, 1990), lo que sugiere que la homeostasis no es perfecta (Sterner & Hessen, 1994). La naturaleza puntual de estas observaciones y su restricción al grupo de cladóceros, abogan por la necesidad de estudios que caractericen la composición elemental a lo largo del ciclo de vida de crustáceos y en particular de copépodos. En el Capítulo VII abordamos este objetivo para un copépodo calanoide en La Caldera a lo

largo de un periodo estival completo. En última instancia, estos resultados nos permitirán discutir el paradigma tradicional de la homeostasis del zooplancton.

Finalmente, la representación de las relaciones ecológicas estequiométricas se trataran conjuntamente en forma de diagramas trofoquímicos en el Capítulo VIII. A pesar de su reciente desarrollo, estos diagramas permiten interpretar los modelos de redes tróficas y químicas en un marco común integrador cuya contribución al avance en la comprensión del funcionamiento de los ecosistemas se vislumbra como prometedora.



### 1.5.- OBJETIVOS

Como objetivos genéricos de esta Tesis nos planteamos profundizar en el funcionamiento de la comunidad planctónica de un sistema oligotrófico de alta montaña siguiendo una doble aproximación: a) la que podríamos denominar “convencional”, centrada en el estudio de la estructura de los distintos compartimentos tróficos y b) una aproximación complementaria, basada en el análisis de las composiciones estequiométricas de las fracciones bióticas y abióticas del sistema.

En este marco, desarrollamos como objetivos específicos:

1. El estudio interanual del efecto de un régimen hidrológico y abiótico fluctuante sobre la estructura trófica de un ecosistema de alta montaña (Capítulo III).
2. El análisis de la composición elemental (C:N:P) de los compartimentos tróficos del sistema (bacterioplancton, fitoplancton y zooplancton) y su relación con los principales parámetros bióticos y abióticos (Capítulos IV y VI). Influencia de las entradas alóctonas y de los procesos de reciclado de nutrientes en la estequiometría y abundancia de autótrofos y de los componentes del bucle microbiano (Capítulo VI).
3. El análisis experimental de la respuesta a “corto” (producción) y a “medio” plazo (estructura, composición estequiométrica, procesos crecimiento y de incorporación de nutrientes limitantes) de algas y bacterias a distintas razones N:P (Capítulo IV y V).
4. Testar la hipótesis homeostática del zooplancton: variabilidad intraespecífica vs. estrategias de vida (Capítulo VII).
5. La evaluación de las implicaciones estequiométricas en el funcionamiento de una red trófica pelágica a partir de la construcción de diagramas trofoquímicos (Capítulo VIII).



*CAPÍTULO II*

---

---

**MATERIALES Y MÉTODOS**



Los materiales y métodos generales y comunes a dos o más capítulos en la Memoria de Tesis Doctoral se abordan de forma conjunta en el presente Capítulo.

## **2.1.- DATOS DE CAMPO Y MUESTREOS**

Durante el período estival de 1995, 1996 y 1997 se realizaron un total de 27, 14 y 16 muestreos semanales, para la determinación de los principales parámetros abióticos y bióticos. La toma de muestras se realizó en la zona de mayor profundidad de la laguna, en un ambiente de características esencialmente pelágicas. El número de profundidades de muestreo osciló dependiendo de la profundidad de la laguna entre 2-3 en 1995 (0.5 m bajo la superficie y sobre el fondo y a 1 m) y 4 en los años húmedos de 1996-97 (0.5 m bajo la superficie y sobre el fondo y dos puntos intermedios a 3 y 5 m).

Los muestreos se iniciaron cuando la laguna permanecía entre el 75 y el 90% cubierta por hielo y nieve y se extendió durante casi 7 y 5 meses para el primer y los dos siguientes años de estudio, respectivamente, coincidiendo su finalización con las primeras precipitaciones en forma de nieve. Los muestreos se realizaron entre las 11 y 13 horas locales.

### **2.1.1.- *Precipitaciones atmosféricas***

Los valores de precipitación diaria y de la profundidad de la nieve durante el invierno a lo largo de los 3 años de estudio se obtuvieron a partir de la media de 6 estaciones meteorológicas localizadas en una altitud comprendida entre 2500 y 3000 m. Las muestras de agua precipitada fueron recogidas diariamente en colectores de un tamaño de 0.45 x 0.45 m excepto durante el período invernal cuando se utilizaron colectores especiales para nieve. Todos estos datos junto con las precipitaciones medias de los últimos 40 años fueron cedidos por Sierra Nevada S.A.

### **2.1.2.- *Parámetros físicos***

En cada día de muestreo durante los tres años de estudio se registraron de forma rutinaria los siguientes parámetros: temperatura, pH, oxígeno ( $\text{mg l}^{-1}$ , % saturación) y conductividad. Las medidas se realizaron a intervalos de 30 cm utilizando una sonda multiparamétrica (YSI, Yellow Spring Instruments). Paralelamente se midió el perfil de

atenuación de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) con un contador esférico de fotones (LiCor).

### 2.1.3.- *Parámetros químicos y biológicos*

Las muestras de agua para las determinaciones químicas (realizadas por triplicado) y biológicas en las distintas profundidades se obtuvieron utilizando un muestreador Van Dorn horizontal (6 l capacidad). De cada profundidad se extrajeron:

- i) 2 submuestras de 50 ml, recogidas en botellas de vidrio Pyrex (previamente lavadas con ácido) y fijadas con 7 ml de una mezcla oxidante (persulfato potásico, ácido bórico e hidróxido sódico) para el análisis en laboratorio de nitrógeno y fósforo total (NT y PT).
- ii) 4 submuestras de 50 ml filtradas *in situ* a través de portafiltras desechables de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (Minisart, Sartorius) y recogidas en botellas Pyrex para el análisis de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), fósforo reactivo soluble (SRP; fijado con 1 ml de  $\text{S}_2\text{HO}_4$  0.09 N), nitrógeno y fósforo disuelto total (NDT y PDT; fijados con 7 ml de la mezcla oxidante).
- iii) Un volumen de 3 l para la determinación de la clorofila *a* en el laboratorio tras filtrar dicho volumen sobre filtros Whatman GF/C. El refiltrado se recogió para llevar a cabo los análisis de la alcalinidad, nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ).
- iv) 20 ml de agua en botes esterilizados (tipo penicilina) que contenían 1 ml de formaldehído neutralizado y estéril (concentración final 3%) para la determinación de la abundancia y biomasa del bacterioplancton.
- v) 130 ml de agua fijada con lugol acético (1% de concentración final) para el análisis del fitoplancton.
- vi) 1 litro fijados con lugol acético (1% de concentración final) para la determinación de la abundancia y biomasa de los ciliados.
- vii) un mínimo de 12 litros de agua utilizados para estimar la densidad del zooplancton. Este volumen se filtró sobre una malla de nylon de 40  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro que fue inmediatamente fijada con formaldehído (4% de concentración final).

Las muestras para la determinación de la composición elemental de la fracción inferior a 40  $\mu\text{m}$  se obtuvieron a partir de una muestra integrada de la columna de agua constituida por 1 l de agua de cada una de las profundidades anteriores referidas. Las muestras fueron transportadas en contenedores de 5 l en frío y oscuridad al laboratorio donde se procedió a su fraccionamiento por filtración en serie.

La toma de muestras para la determinación elemental del zooplancton se realizó en el primer año de muestreo mediante un muestreador Schindler-Patalas de 32 l de capacidad provisto de una red de nylal de 40  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro que retiene selectivamente dicho compartimento trófico y a una profundidad de 0.5 m sobre el fondo. Durante los años 1996 y 1997, se tomaron arrastres verticales con una red de plancton de 40  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro desde 0.5 m sobre el fondo hasta la superficie. La muestra concentrada de zooplancton se recogía en una botella de 1 l que se transportaba en frío y oscuridad al laboratorio.

## **2.2.- DETERMINACIONES EN LABORATORIO**

### **2.2.1.- *Análisis de los parámetros químicos***

#### **i) Fósforo Reactivo Soluble (PRS)**

Su determinación se realizó como ión fosfato según el método propuesto por Murphy & Riley (1962). El ión fosfato reacciona con molibdato amónico en medio ácido para dar lugar a ácido fosfomolibdico que se reduce a continuación con ácido ascórbico a azul de molibdeno, cuya coloración azul se mide por espectrofotometría a 885 nm. En el método se incluyó la adición de tartrato de antimonio y potasio para evitar la interferencia potencial de otros aniones y especialmente los silicatos. Las muestras se midieron utilizando cubetas de 10 cm de cuarzo, lo que dota al método de mayor sensibilidad. El límite de detección del método es de 0.9  $\mu\text{g P l}^{-1}$ .

#### **ii) Fósforo Total (PT) y Fósforo Disuelto Total (PDT).**

Las muestras fueron oxidadas y autoclavadas durante 30 minutos a 120°C con una mezcla oxidante. Posteriormente fueron analizadas en el espectrofotómetro como ión fosfato en cubetas de 10 cm y a 882 nm (APHA, 1992). El límite de detección del método es de 1  $\mu\text{g P l}^{-1}$ .

**iii) Amonio ( $\text{NH}_4^+$ )**

El amonio se determinó siguiendo el método de Azul de Indofenol (Rodier, 1981). En un medio alcalino y en presencia de nitroprusiato, los iones amonio reaccionan con una solución de hipoclorito sódico y fenol dando lugar a un compuesto de color azul, de intensidad directamente proporcional a la cantidad de amonio en la muestra. La determinación vía espectrofotométrica se realizó en cubetas de 4 cm y a 640 nm. El límite de detección del método se sitúa en  $2 \mu\text{g N l}^{-1}$ .

**iv) Nitritos ( $\text{NO}_2^-$ )**

Para llevar a cabo la determinación de los iones nitrito se utilizó el método propuesto por Shinn (1941) según el cual éstos iones al reaccionar con la sulfanilamida dan lugar, bajo medio ácido, a un compuesto diazo que se reacciona con N-1-naftilendiamina dihidrocloruro. Como resultado se obtiene un compuesto de coloración rosácea que se midió espectrofotométricamente a 543 nm y con cubetas de 4 cm de recorrido óptico.

**v) Nitratos ( $\text{NO}_3^-$ )**

Las muestras se determinaron por cromatografía iónica (Dionex, DW 300), utilizando un bucle de 100  $\mu\text{l}$ . La sensibilidad mínima del aparato es de 10 ppb de  $\text{NO}_3^- \text{l}^{-1}$ .

**vi) Nitrógeno Total (NT) y Nitrógeno Disuelto Total (NDT)**

Las muestras son digeridas con una mezcla oxidante siguiendo la misma metodología que se ha detallado para el fósforo total, de forma que todo el nitrógeno se oxida a nitratos. Posteriormente, la lectura de este ión se realiza por espectrofotometría a 220 nm (APHA, 1992). El límite inferior del método es de  $40 \mu\text{g N l}^{-1}$ .

El nitrógeno disuelto inorgánico (DIN) se calculó como la suma de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ .

El fósforo particulado (PP) se calculó a partir de los valores de fósforo total (PT) y fósforo disuelto total (PDT) como:

$$\text{PP} = \text{PT} - \text{PDT}$$



De forma similar el nitrógeno particulado (NP) se calculó como:

$$NP = NT - NDT$$

### 2.2.2.- Análisis de los parámetros biológicos

#### i) Bacterioplancton: conteo y biovolumen

La abundancia de bacterias en las muestras correspondientes a los años 1995 y 1996 fue obtenida por conteo directo utilizando un microscopio de epifluorescencia (Leitz, Fluovert FS).

La tinción de las muestras se realizó siguiendo el protocolo propuesto por Porter & Feig (1980) que de forma esquemática consiste en:

- La adición del fluorocromo DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindole) a 5 ml del agua muestra,
- filtración (presión inferior a 100 mm Hg) a través de un filtro oscuro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro (Black NUCLEOPORE) y finalmente,
- montaje del filtro en un portaobjetos, utilizando aceite de inmersión para epifluorescencia.

Se contaron un mínimo de 400 células por muestra, eligiendo campos al azar y la abundancia celular se obtuvo a partir de la siguiente expresión (Jones, 1979):

$$n = \frac{Y * A}{a * V}$$

donde  $n$  = número de células por ml

Y = número medio de células por retícula

A = área de filtración (mm<sup>2</sup>)

a = área de la retícula (mm<sup>2</sup>)

V = volumen filtrado de la muestra (ml)

El biovolumen bacteriano se obtuvo a partir de muestras analizadas en microscopio electrónico de transmisión (TEM). Previamente, las muestras de bacterias fueron concentradas en una rejilla de microscopía electrónica (rejilla 400Cu) con una película de "colloidon", teñidas con uracil acetato al 1% y examinadas a 20,000 X. Las muestras y las rejillas de calibración fueron fotografiadas y escaneadas. Finalmente el biovolumen se calculó midiendo el diámetro celular (formas cocoides) o el ancho y largo (formas de bacilo o filamentosas) de más de 30 células de cada tipo morfológico a lo largo del periodo de estudio (Corel Photo-Paint).

La biomasa bacteriana (fg C cél<sup>-1</sup>) se estimó a partir de cálculos teóricos según la expresión de Norland (1993):

$$C = 120 * V^{0.72}$$

donde V = volumen celular (µm<sup>3</sup> cél<sup>-1</sup>)

El volumen celular de los bacilos y espirilos se calculó aproximando su forma a una elipse ( $W^2 L \pi/6$ ), donde W es la anchura y L la longitud de la célula, mientras que el biovolumen de los cocos se obtuvo aproximando su forma a una esfera ( $D^3 \pi/6$ ), donde D es el diámetro celular.

La cuantificación de la abundancia de bacterias durante el año de 1997 se realizó mediante citometría de flujo siguiendo la metodología propuesta por Bulton & Robertson (1993) modificada por Medina-Sánchez et al. (en preparación). El citómetro utilizado fue un Becton Dickinson FACS Vantage equipado con un laser dual Coherent (395 y 488 nm) y una potencia máxima de 150 mW. Tras ajustar la señal del aparato a una escala logarítmica (Schmid et al., 1988), y fijar los filtros de ancho de banda a  $530 \pm 30$  nm y al rango de tamaño de 0.2–1.2 µm, un volumen de 2 ml de muestra previamente teñida con

naranja de acridina (0.02% concentración final) permitió el conteo de tres réplicas por muestra.

Para calcular la abundancia total de bacterias totales a partir de los valores obtenidos por citometría de flujo se construyó una curva de calibración entre las bacterias contadas en microscopia de epifluorescencia (y) y en citometría de flujo (x) que constituyó la siguiente expresión:

$$y = 73746 + 0.834 * x$$

$$r = 0.95, P < 0.001$$

## ii) Fitoplancton

El cálculo de la abundancia de fitoplancton se realizó siguiendo el método propuesto por Uthermöl (1958). Tras la sedimentación durante 48 h de una alícuota de 50 ml en una cámara de 2 cm de diámetro, se contaron 100 campos elegidos al azar o al menos 400 individuos de las especies más abundantes en un microscopio invertido (Fluovert FS). El cálculo de la abundancia celular se obtuvo a partir de la siguiente expresión:

$$\text{Cél ml}^{-1} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ cél contadas}}{\text{n}^{\circ} \text{ campos}} * \frac{\text{S. cámara}}{\text{S. campo}} * \frac{1}{V}$$

donde S = superficie (mm<sup>2</sup>)  
V = volumen de la muestra sedimentada (ml)

El biovolumen celular se estimó a partir de medidas realizadas con un analizador de imágenes (Leica, Quantimet 500) sobre al menos 20 células por especie y muestra. El cálculo se realizó por aproximación de la forma celular a una estructura geométrica siguiendo las propuestas para las especies de esta laguna por Carrillo (1989). Finalmente,

el biovolumen celular fue convertido a carbono usando los factores de conversión propuestos por Rocha & Duncan (1985) para las clases fitoplanctónicas principales.

**iii) Clorofila *a***

La determinación de la concentración de clorofila *a* se llevó a cabo siguiendo el método propuesto por Jeffrey & Humphrey (1975). Para ello la clorofila retenida sobre los filtros GF/F fue extraída en acetona (90% concentración final) durante 24 hrs a 4°C y medida espectrofotométricamente.

**iv) Protozoos**

Para determinar la abundancia de ciliados se procedió a la sedimentación de 1 l de muestra durante 72 h. A continuación se retiró la mayor parte de este volumen desde su superficie con una bomba de succión a muy baja presión hasta reducir la muestra a 100 ml. Finalmente, este volumen se sedimentó en cámaras Uthermöl para el contaje y medida de los organismos. El biovolumen se estimó a partir de medidas de diámetro celular ajustando su forma a una esfera (ver biovolumen de bacterias).

La determinación taxonómica de los protozoos a nivel de género se realizó mediante la "Tinción del Protargol". Para ello, un volumen de muestra (50-100 ml) se filtró a través de un filtro de nitrocelulosa de 1.2 µm de tamaño de poro. Tras montar el filtro sobre agar, se fijó con formaldehído y finalmente, se tiñó con protargol a 40-60°C, tal y como recomienda Skibbe's (1994) en una modificación del método propuesto por Montages & Lynn (1987).

**v) Zooplancton**

El cálculo de la abundancia del zooplancton se realizó siguiendo el método propuesto por Ulthermöl (1958). Tras la sedimentación durante 24 horas, las muestras fueron identificadas y contadas utilizando un microscopio invertido (Olympus CK2). Al menos 20 individuos fueron medidos para cada especie y para cada uno de los estadios de desarrollo del copépodo calanoide *Mixodiaptomus laciniatus*. La biomasa zooplanctónica fue estimada a partir de relaciones longitud-peso seco propuestas en la literatura (Botrell et al., 1976; Ruttner-Kolisko, 1977), a excepción de la biomasa de *M. laciniatus* que se estimó a partir de relaciones construidas específicamente en este estudio (Capítulo VII).

---

---

## 2.3.- COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LAS FRACCIONES BACTERIANA, FITOPLANCTÓNICA Y DEL ZOOPLANCTON

### 2.3.1.- *Justificación de la Metodología empleada*

A pesar de la creciente consideración que la estequiometría está recibiendo en los estudios limnológicos y del considerable progreso alcanzado hasta el momento, las restricciones metodológicas así como las características particulares de los sistemas estudiados han supuesto un “handicap” importante para el avance en este campo. En concreto son varios los aspectos metodológicos más conflictivos entre los que destacamos:

- El solapamiento de tamaño de los organismos. La separación de los organismos de un sistema no es fácil: el zooplancton y especialmente el microzooplancton se hallan habitualmente solapados en tamaño con especies del fitoplancton y éstas a su vez con especies de bacterias. De esta forma, la filtración en serie a través de mallas de distintos tamaños de poro no proporciona generalmente la segregación deseada. Por esta razón, Behrendt (1990) en un intento de separar el macrozooplancton del microzooplancton utilizó la propiedad de estos organismos de responder a la luz (fototaxia) para aislar o, cuanto menos, enriquecer las muestras en zooplancton. No obstante, el fraccionamiento en clases de tamaño es especialmente conflictivo en la segregación de algas y bacterias (Watanabe, 1990; Elser & George, 1993; Elser et al., 1995b), por lo que de forma tradicional se han descrito dentro de una misma fracción a la que, habitualmente, se refiere como *seston* y que se define como aquel material tanto orgánico como inorgánico que se recoge en un filtro de fibra de vidrio de tamaño de poro próximo a 0.7  $\mu\text{m}$  después de filtrar un volumen determinado de agua.
- La interferencia por detritus. El detritus se caracteriza por presentar un amplio rango de tamaños, lo que le hace especialmente susceptible a interferir con el fraccionamiento de los organismos de un sistema. El uso de las técnicas de filtración se encuentra con la desventaja frente a otras técnicas como el microanálisis de rayos-X (XRMA), de la interferencia por detritus, que de forma especial afecta a la fracción  $< 1.0 \mu\text{m}$  (Elser et al., 1995b). Sin embargo, el inconveniente fundamental de esta última alternativa reside en el

hecho de la gran variabilidad individual asociada a esta técnica, ya que la determinación en la composición elemental se hace célula a célula y no de la comunidad en su conjunto (Faggerbakke et al., 1996).

- La precisa cuantificación del carbono de la fracción bacteriana debido a la ausencia de filtros de un tamaño de poro de 0.2  $\mu\text{m}$  y carentes de carbono. Esta desventaja se puede obviar recientemente gracias a la aparición de filtros con estas características (Anodisc, 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro) que han supuesto un avance importante para la determinación elemental de esta fracción.

Frente a todos estos inconvenientes, el análisis de la estructura de tamaños de los organismos de la Caldera revela que el solapamiento de los espectros de tamaño del zooplancton, ciliados, fitoplancton y bacterias es mínimo. Mientras que el diámetro de las bacterias oscila entre 0.5 y 1.5  $\mu\text{m}$  y el del fitoplancton entre 5 y 15  $\mu\text{m}$ , el rango de tamaños para el microzooplancton (ciliados) y macrozooplancton (fundamentalmente copépodos) varía entre 10-50  $\mu\text{m}$  de diámetro y por encima de 150  $\mu\text{m}$  de longitud, respectivamente (Echevarría et al., 1990). La escasa importancia en la mayoría de ocasiones, de grandes especies de ciliados y rotíferos simplifica de forma considerable la segregación por tamaño de los distintos eslabones tróficos del sistema. Parece por lo tanto razonable suponer, que la fracción entre 1 y 40  $\mu\text{m}$  refleja, sin grandes interferencias por parte de otros organismos, la composición elemental del fitoplancton. Siguiendo un razonamiento similar, la fracción 0.2-1.0  $\mu\text{m}$  estaría compuesta por bacterias y aquella proporción de detritus < 1.0  $\mu\text{m}$ . A partir de este momento emplearemos indistintamente los términos de “fitoplancton” o “fracción fitoplanctónica” para referirnos a la composición elemental medida sobre un filtro de 1.0  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. Igualmente, aludiremos de forma indistinta, en este estudio, a las bacterias o a la fracción bacteriana (0.2-1.0  $\mu\text{m}$ ) y a los ciliados o fracción ciliada (10-40  $\mu\text{m}$ ).

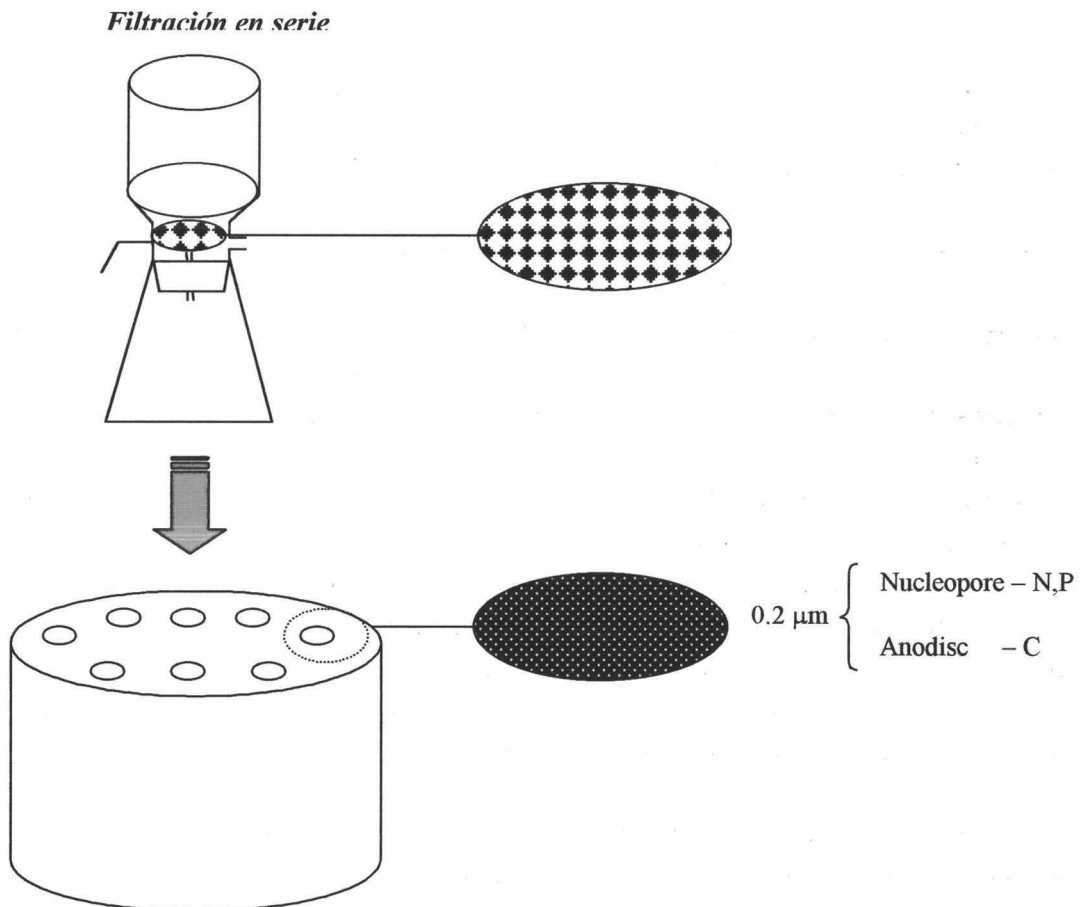
Todo ello, sin duda, convierte a laguna de La Caldera en un medio idóneo no solamente para el estudio de la composición elemental de sus organismos, sino también, para el análisis estequiométrico de sus interacciones tróficas.

### ***2.3.2.- Obtención de la fracción elemental***

#### **(a) Fitoplancton y Bacterias**

Para la cuantificación de la composición elemental de bacterias y fitoplancton se procedió al fraccionamiento por filtración en serie a través de filtros de  $1.0\ \mu\text{m}$  y  $0.2\ \mu\text{m}$  de tamaño de poro, de forma previa a su análisis químico (Figura 2.1).

Para ello, las muestras integradas de la columna de agua obtenidas semanalmente, fueron filtradas en laboratorio a través de filtros Whatman GF/B de  $1.0\ \mu\text{m}$  de diámetro de poro que retienen la totalidad de las especies de algas de La Caldera y permiten el paso de las bacterias inferiores a  $1\ \mu\text{m}$  de diámetro. El agua recogida fue refiltrada en sistemas



**Figura 2.1.** Filtración en serie de las fracciones fitoplanctónica y bacteriana para su determinación elemental en C, N y P.

de filtración múltiples Millipore a través de filtros Whatman Anodisc (carentes de C) o filtros Nucleopore, ambos de 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, con objeto de determinar el contenido elemental en C/N y P, respectivamente, de la fracción comprendida entre 0.2 y 1  $\mu\text{m}$  de diámetro.

#### **(b) Zooplancton**

El tratamiento de las muestras de zooplancton obtenidas *in situ* fue diferente para los años 1995/1996 y 1997. En los dos primeros años el zooplancton concentrado fue resuspendido en 5 litros de agua del lago previamente filtrada a través de filtros Whatman GF/C. Después de agitarse con objeto de asegurar la distribución homogénea del zooplancton, se tomaron alícuotas de 0.5 l que se filtraron sobre filtros GF/C en triplicado para la determinación del C/N y P. Para el análisis del C y N, los filtros fueron previamente quemados (550°C/1h) lavados en ácido clorhídrico diluido (0.2%) y, a continuación, enjuagados con agua bidestilada.

Si bien los resultados observados para estos dos primeros años fueron satisfactorios y acordes con los resultados obtenidos por la mayoría de los autores (Behrendt, 1990; Watanabe, 1990; Sterner et al., 1992), la necesidad de caracterizar de forma más precisa los cambios estequiométricos del zooplancton en relación a su desarrollo ontogénico, motivó que en 1997 centrásemos las determinaciones al contenido elemental de su especie dominante *M. laciniatus* a lo largo de una estación completa de crecimiento (Capítulo VII).

Con objeto de poder expresar los resultados del análisis elemental en porcentaje con respecto a la masa corporal, se determinó el peso seco de los organismos del zooplancton. Para ello, los filtros sobre los que se determinó el contenido en C y N fueron pesados, antes y después del proceso de filtración del zooplancton, utilizando una microbalanza Mettler UMT2 ( $\pm 0.1 \mu\text{g}$ ) y transcurridas 24 h a 60°C. La manipulación y traslado de filtros se realizaba en campanas de desecado para evitar la hidratación de los mismos.

Los análisis de las muestras de P se realizaron inmediatamente después de su fraccionamiento en laboratorio, mientras que las muestras para el análisis de C/N se conservaron en una campana de desecado hasta su determinación.

#### **2.3.3.- Determinación de la composición elemental**



El análisis de carbono y nitrógeno se realizó en un Analizador Elemental CNH (Perkin-Elmer 2400). La calibración del aparato se llevó a cabo con acetanilida (Perkin Elmer) anteriormente a cada serie de combustiones, no superando el coeficiente de variación entre calibraciones el 3%. Cada serie de combustiones estuvo precedida del análisis de tres filtros blancos.

El análisis de fósforo se llevó a cabo sobre los filtros añadidos a 50 ml de agua bidestilada en botellas Pyrex. Las muestras fueron analizadas siguiendo la misma metodología que aquella empleada en el análisis del PT (pg. 27).

Todos los valores de las razones C:N:P que se presentan en la presente Memoria de Tesis se expresan átomo a átomo (molar).

#### 2.4.- PRODUCCIÓN BACTERIANA

La medida de la producción bacteriana neta se llevó a cabo utilizando la técnica de incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina en el DNA (Fuhrman & Azam, 1980). El tiempo de incubación (60 min) y la concentración de  $^3\text{H}$ -timidina a añadir (10nM) fueron seleccionados en base a cinéticas previas para este mismo sistema (Reche, 1995).

Para cada determinación se tomaron 10 submuestras de 15 ml (4 de ellas que constituyeron los blancos fueron fijadas con NaOH a una concentración final de 0.25 N). Todas ellas fueron incubadas *in situ* durante 60 minutos a una concentración final de 10 nM de [metil- $^3\text{H}$ ] timidina (S.A. 80–84 Ci mmol $^{-1}$ , Amersham). Tras la incubación, el proceso de incorporación se detuvo con la adición de NaOH 4N (concentración final de 0.25N) que originó la hidrólisis alcalina del RNA. Posteriormente, en el laboratorio, se realizaron los siguientes tratamientos sobre las muestras:

- i) Tratamiento con TCA-frío. Al conjunto total de muestras se les añadió ácido tricloroacético (TCA) al 100% hasta un pH aproximado de 2 y se dejaron durante 20' en hielo picado. El TCA provoca la precipitación de las proteínas y del DNA, que se recupera mediante la filtración de la muestra a través de un filtro Nucleopore (policarbonato) de 0.22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. La filtración se realizó a baja presión (< 100 mm Hg). Posteriormente, se enjuagaron los filtros 3 veces con 2 ml de TCA (5%)

para retirar posibles restos de radioactividad no incorporada. Finalmente, la mitad de los filtros (3 muestras + 2 blancos) se recogieron en viales y se les añadió líquido de centelleo para su posterior medida en un contador de centelleo (Beckman LS 6000TA).

- ii) Tratamiento enzimático con DNAsa (Robarts et al., 1986). Se realizó para cuantificar la cantidad exacta de  $^3\text{H}$ -timidina que se había incorporado en el DNA. Sobre el resto de filtros (3 muestras + 2 blancos) se realizó una digestión enzimática con DNAsa I (Boehringer). Para ello se neutralizaron los filtros con  $\text{KCO}_3$  10 nM (2 veces con 2 ml), a continuación se les añadió la solución enzimática de DNAsa que se dejó actuar durante 2 horas en agitación a  $37^\circ\text{C}$  y finalmente se enjuagaron 2 veces con la solución tampón (Tris HCl, pH = 7.5) y se recogieron en viales.

La radioactividad exacta incorporada en el DNA se determinó por diferencia entre los resultados obtenidos con ambos tratamientos.

La tasa de incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina se puede calcular a partir de la siguiente expresión:

$$\text{nmoles l}^{-1} \text{ h}^{-1} = \frac{\text{dpm} * K_1 * K_2}{2.22 * 10^6 * \text{S.A.}}$$

donde

**dpm** = dpm muestras – dpm blancos

**k<sub>1</sub>** = factor que ajusta la medida de producción a una hora

**k<sub>2</sub>** = factor que corrige el volumen de la muestra a un litro

**S.A.** = actividad específica del material radioactivo

**2.22 \* 10<sup>6</sup>** = factor empleado para convertir las dpm en  $\mu\text{Ci}$ .

El número de bacterias producidas por nmol de  $^3\text{H}$ -timidina incorporado se puede estimar a partir de un factor de conversión teórico. En nuestro estudio se ha empleado  $2 * 10^{18}$  células por mol de  $^3\text{H}$ -timidina incorporado, considerado como adecuado bajo

condiciones de timidina saturantes (Bell, 1990). Finalmente, la cantidad de carbono producida se estimó utilizando el factor de  $2 * 10^{-14}$  g C cél<sup>-1</sup> (Lee & Fuhrman, 1987).

El carbono orgánico requerido por las bacterias heterotróficas (CRB) se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$\text{CRB} = \frac{\text{PBN}}{\text{ECB}}$$

donde

PBN = Producción Bacteriana Neta

ECB = Eficiencia de Crecimiento del Bacterioplancton

Se seleccionaron dos valores de eficiencia de crecimiento de 0.3 (Kristiansen et al., 1992) y de 0.5 (Cole et al., 1982), de forma que CRB<sub>0.3</sub> o CRB<sub>0.5</sub> representarían los requerimientos de C bacterianos asumiendo una eficiencia de crecimiento de 0.3 o de 0.5, respectivamente.

La Productividad Bacteriana Neta (d<sup>-1</sup>) se obtuvo a partir del cociente entre la PBN (µg C l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) y la biomasa bacteriana (µg C l<sup>-1</sup>).

## 2.5. PRODUCCIÓN PRIMARIA, CARBONO ORGÁNICO EXCRETADO Y REASIMILACIÓN BACTERIANA

La producción primaria se midió utilizando la técnica del <sup>14</sup>C (Steemann-Nielsen, 1952) añadiendo 10 µCi de NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> de una ampolla de 20 µCi ml<sup>-1</sup> (S.A. 8.4, Nen Dupont) a muestras de 130 ml. Para cada muestra de agua, se incubaron tres botellas claras de vidrio Pyrex y una oscura durante 4 horas. Después de la incubación, las muestras se mantuvieron en oscuridad y en frío hasta su posterior tratamiento en laboratorio, aproximadamente 2 horas más tarde. Un análisis comparativo previo entre las muestras tratadas *in situ* y en el laboratorio no mostró diferencias significativas entre ellas (Reche, 1995).

La actividad total (TA),  $^{14}\text{C}$  disponible, se midió tomando un testigo de la muestra de 1 ml a la que se le añadía 1 ml de NaOH 1N para evitar la liberación de  $^{14}\text{C}$  inorgánico al añadir el líquido de centelleo (con un pH más ácido).

La producción primaria neta (Carbono Orgánico Total producido, TOC) se determinó acidificando una submuestra de 4 ml en un vial de centelleo de 20 ml (100  $\mu\text{l}$  de HCl 1N, pH < 2) que se dejaba abierto en una campana extractora durante 24 h (sin burbujear), tal y como Lignell (1990) recomienda.

La producción primaria particulada se determinó filtrando una alícuota de 60 ml a través de un filtro Nucleopore de 1.0  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (Carbono Orgánico Particulado,  $\text{POC}_1$ ) y el filtrado (filtración en serie) a través de un filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  (Carbono Orgánico Particulado,  $\text{POC}_2$ ). Para minimizar la ruptura de células, la filtración se realizó a baja presión (< 100 mm Hg). Los filtros se dispusieron en viales de centelleo (el  $^{14}\text{C}$  inorgánico se retiró añadiendo 100  $\mu\text{l}$  de HCl 1N) y se midieron tras 12 h con un contador de centelleo provisto de autocalibración (Beckman LS 6000TA). Por último el filtrado resultante (Carbono Orgánico Disuelto, DOC) también fue recogido y se trató de igual forma que el TOC.

El carbono producido se calcula siguiendo la expresión:

$$\mu\text{gC l}^{-1} \text{ h}^{-1} = \frac{\text{dpm (a)} * \text{CO}_2 * 1.05 * 1.06 * K_1 * K_2 * K_3}{\text{dpm (b)}}$$

donde

**dpm (a)** = dpm botellas claras – dpm botella oscura

**dpm (b)** =  $^{14}\text{C}$  disponible

**CO<sub>2</sub>** =  $^{12}\text{CO}_2$  total expresado en  $\text{mg l}^{-1}$

**1.05** = factor que corrige la velocidad de asimilación entre el isótopo 12 y 14 del C

**1.06** = factor corrector de pérdidas por respiración

y  $K_1$ ,  $K_2$  y  $K_3$  son tres factores que permiten ajustar el volumen filtrado a un litro, el tiempo de incubación a una hora y las unidades, respectivamente. El  $\text{CO}_2$  total del agua se estimó a partir de las medidas de alcalinidad y pH (APHA, 1976).

El  $^{14}\text{C}$  retenido sobre los filtros de  $0.2\ \mu\text{m}$ , se corresponde básicamente con los exudados de origen fotosintético incorporados por el bacterioplancton (Asimilación Neta, AN) puesto que un análisis mediante autofluorescencia (sobre muestras filtradas por  $1\ \mu\text{m}$ ) mostró la ausencia de picoplancton autótrofo durante el periodo libre de hielo. Finalmente, no se realizó ninguna corrección de los valores de  $\text{POC}_2$  con motivo de aquellas bacterias que pudieran haber quedado retenidas en el filtro de  $1.0\ \mu\text{m}$ , dada la ausencia de diferencias significativas entre el número de bacterias de una muestra de agua antes y después de ser filtrada por  $1\ \mu\text{m}$  ( $P = 0.97$ ).

La Producción Neta aparente (PN) se obtuvo a partir de los valores de TOC ( $\mu\text{g C l}^{-1} \text{d}^{-1}$ ).

La Excreción Neta (EN), según Vadstein et al. (1989) será:

$$\text{EN} = \text{AN} + \text{DOC}$$

Finalmente, la Productividad Primaria Neta ( $\text{d}^{-1}$ ) se obtuvo a partir del cociente entre la PN ( $\mu\text{g C l}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) y la biomasa fitoplanctónica ( $\mu\text{g C l}^{-1}$ ).



*CAPÍTULO III*

---

---

**ESTRUCTURA DE LA LAGUNA**





### 3.1.- INTRODUCCIÓN

La Caldera es un pequeño lago oligotrófico de alta montaña localizado en la vertiente sur de Sierra Nevada, a 3050 m sobre el nivel del mar y próxima al nivel de cumbres.

La laguna ocupa un circo glaciar, carece de peces y de afluentes o efluentes visibles, cuyo fondo es predominantemente rocoso de naturaleza silíceo. Posee las características esenciales de los sistemas oligotróficos de alta montaña: ausencia de vegetación litoral, visibilidad del disco de Secchi que generalmente coincide con la profundidad máxima de la laguna, concentraciones de fósforo  $< 7 \mu\text{g l}^{-1}$  y niveles de clorofila inferiores a  $2 \mu\text{g l}^{-1}$ . Durante el periodo estival, habitualmente comprendido entre 4-5 meses, la laguna no muestra una clara estratificación y la temperatura oscila entre los  $4^\circ\text{C}$  después del deshielo y los  $\sim 15^\circ\text{C}$  en agosto.

Los lagos oligotróficos de alta montaña presentan comunidades planctónicas relativamente simples, lo que las hace idóneas para el estudio de interacciones complejas (Neill, 1988). Mientras que por un lado, la oligotrofia limita el tamaño de las especies de fitoplancton que generalmente poseen altas tasas de crecimiento (Reynolds, 1984; Psenner & Kapf, 1990), por el otro, favorece el desarrollo de especies de zooplancton con bajas tasas metabólicas (Taylor, 1984).

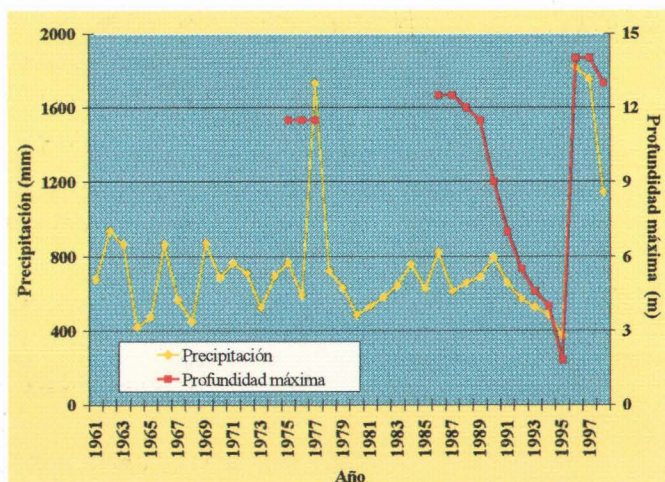
Con objeto de abordar el primer objetivo general, plantearemos como objetivos más específicos del presente capítulo:

- (1) describir las variaciones interanuales y estacionales en la estructura y composición de la comunidad planctónica de la laguna de La Caldera.
- (2) analizar las relaciones entre los componentes bióticos y abióticos del sistema.
- (3) analizar la influencia de las fluctuaciones hidrológicas en los cambios de la comunidad planctónica.

### 3.2.- RESULTADOS

#### 3.2.1.- Caracterización abiótica

A lo largo del periodo de estudio comprendido entre 1995 y 1997, la laguna mostró cambios drásticos en su volumen (profundidad), como consecuencia de la severa sequía que alcanzó su momento más crítico en 1995 cuando se registraron 375 mm, en el año más seco de las últimas 4 décadas (Figura 3.1). En este momento, la profundidad



**Figura 3.1.** Variación interanual en el régimen de precipitaciones (1961-1998) en Sierra Nevada (Albergue Universitario, 2200 m) y en la profundidad máxima de La Caldera a comienzos del deshielo (1975-1998).

hasta primeros de noviembre), frente a los 4-5 meses en 1996 y 1997 (junio/julio-octubre).

Las Figuras 3.2 y 3.3 muestran la influencia que un régimen hídrico tan variable tuvo sobre el aspecto de la Laguna, afectando de forma considerable no sólo a sus características morfométricas sino que también, a sus condiciones fisico-químicas y poblaciones planctónicas.

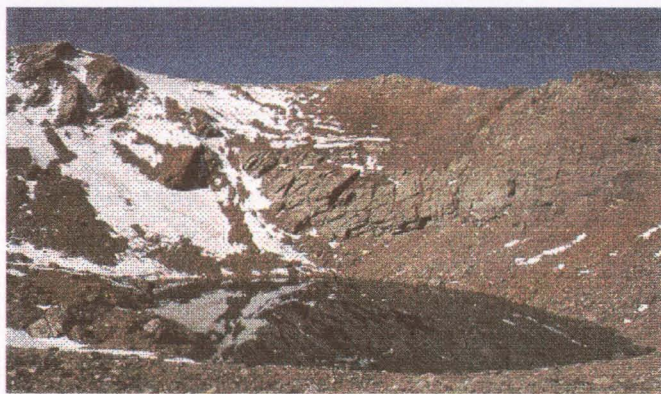
máxima de la laguna descendió por debajo de 2 m. El aumento de la precipitación durante 1996 y 1997, años excepcionalmente lluviosos, fue responsable de la recuperación de la profundidad máxima (14 m) que se mantuvo dentro de estrechos límites de variación a lo largo de este periodo. Las variaciones climatológicas tuvieron reflejo en la extensión del periodo estival hasta 7 meses en 1995 (mediados de mayo



La estratificación térmica de la laguna de La Caldera fue débil y las diferencias máximas en la temperatura del agua entre superficie y fondo no sobrepasaron los 2 °C, si bien puntualmente hacia mediados de verano alcanzaron diferencias de 3.5°C en 1996 y 1997. En líneas generales, mientras que la temperatura del agua osciló ampliamente en 1995 (4-18°C) y presentó los valores máximos descritos para este sistema (18°C), su variación y los valores máximos anuales (12°C) fueron más restringidos en 1996 y 1997.



**Figura 3.2.** Aspecto de Laguna de La Caldera durante el verano de 1995.



**Figura 3.3.** Aspecto de la Laguna de la Caldera a comienzos del deshielo durante los años de 1996 y 1997.

El asentamiento de la laguna sobre rocas de naturaleza silíceas permite explicar los bajos valores de alcalinidad durante 1996-97 (0.25-0.42 meq l<sup>-1</sup>), que fueron similares a los anteriormente obtenidos para éste (Carrillo, 1989; Reche, 1995) y otros sistemas adyacentes (Sánchez-Castillo et al., 1989). Los valores de pH oscilaron entre 7.7 y 9.7 (media 8.5) durante 1995, entre 7.1 y 8.1 (media 7.7) durante 1996 y entre 7.5 y 8.9 (media 8.2) durante 1997. De forma general, los incrementos estacionales máximos en el pH tuvieron lugar en julio de 1995 y a comienzos del mes de septiembre en 1996 y 1997, coincidiendo con porcentajes de saturación en oxígeno superiores al 100%.

Los valores de visibilidad del disco de Secchi coincidieron con la profundidad máxima de la laguna durante todo el período estival en 1995 y durante el deshielo de los años 1996 y 1997. Descensos bruscos en la visibilidad del disco de Secchi ocurrieron con posterioridad a precipitaciones en el área de la laguna. Así, después de registrarse una lluvia de 97 mm durante la primera semana de septiembre de 1996, la visibilidad media del disco de Secchi de 9 m descendió hasta 5.8 m.

Las concentraciones de fósforo total (PT) oscilaron entre 3.3 y 7.3  $\mu\text{g P l}^{-1}$  durante los años húmedos (Tabla 3.1). Sin embargo, se registraron entradas externas puntuales asociadas a eventos atmosféricos de origen, probablemente, africano que llegaron a incrementar los niveles de fósforo disuelto total de la laguna por encima de 10 veces en 1996 (PT > 32  $\mu\text{g P l}^{-1}$ ; PDT > 25  $\mu\text{g P l}^{-1}$ ; Figura 3.4).

El fósforo particulado (PP) constituyó la fracción de P dominante, superando el 55% del PT, excepto durante las cargas esporádicas de P anteriormente referidas. Como consecuencia de éstas últimas, el PP descendió por debajo del 20%, mientras que el PDT aumentó por encima del 80%. En promedio, la concentración de fósforo total fue mayor en 1995 que en los años húmedos, oscilando entre 2.3 y 16.3  $\mu\text{g P l}^{-1}$ , donde el PP constituyó más del 74% de la fracción total de P para dicho año.

Las precipitaciones atmosféricas dieron lugar a entradas de nutrientes en La Caldera, de los cuales el fósforo ejercería un efecto muy importante debido a su papel como nutriente limitante en el sistema. Así, observamos que los niveles máximos de PDT en la Caldera en los días 175 y 265 de 1995 coincidieron con dos lluvias en el área de la laguna de 40 y 26 mm (Figura 3.4). Sin embargo, tal y como se aprecia para 1996, no todas las precipitaciones supusieron una entrada masiva de P al sistema, aunque este mismo año se registró la máxima entrada de P asociada a una precipitación para todo el periodo de estudio (PDT > 25  $\mu\text{g P l}^{-1}$ ; Figura 3.4; Figura 3.5). Finalmente, las entradas de PDT al sistemas asociadas a lluvias fueron menos significativas en 1997.

La entrada extra de P al sistema podría de forma teórica ser incorporada en las fracciones bacteriana y fitoplanctónica o bien perderse hacia el sedimento adsorbidas a partículas inorgánicas (polvo atmosférico de procedencia sahariana). Sin embargo, el hecho de que tras el *input* atmosférico se cuantificara una entrada importante al *pool* de fósforo disuelto (PDT) y que una semana más tarde se encontrara en las fracciones fitoplanctónica y bacteriana (Figura 3.5), apoya la idea de la capacidad de los eslabones



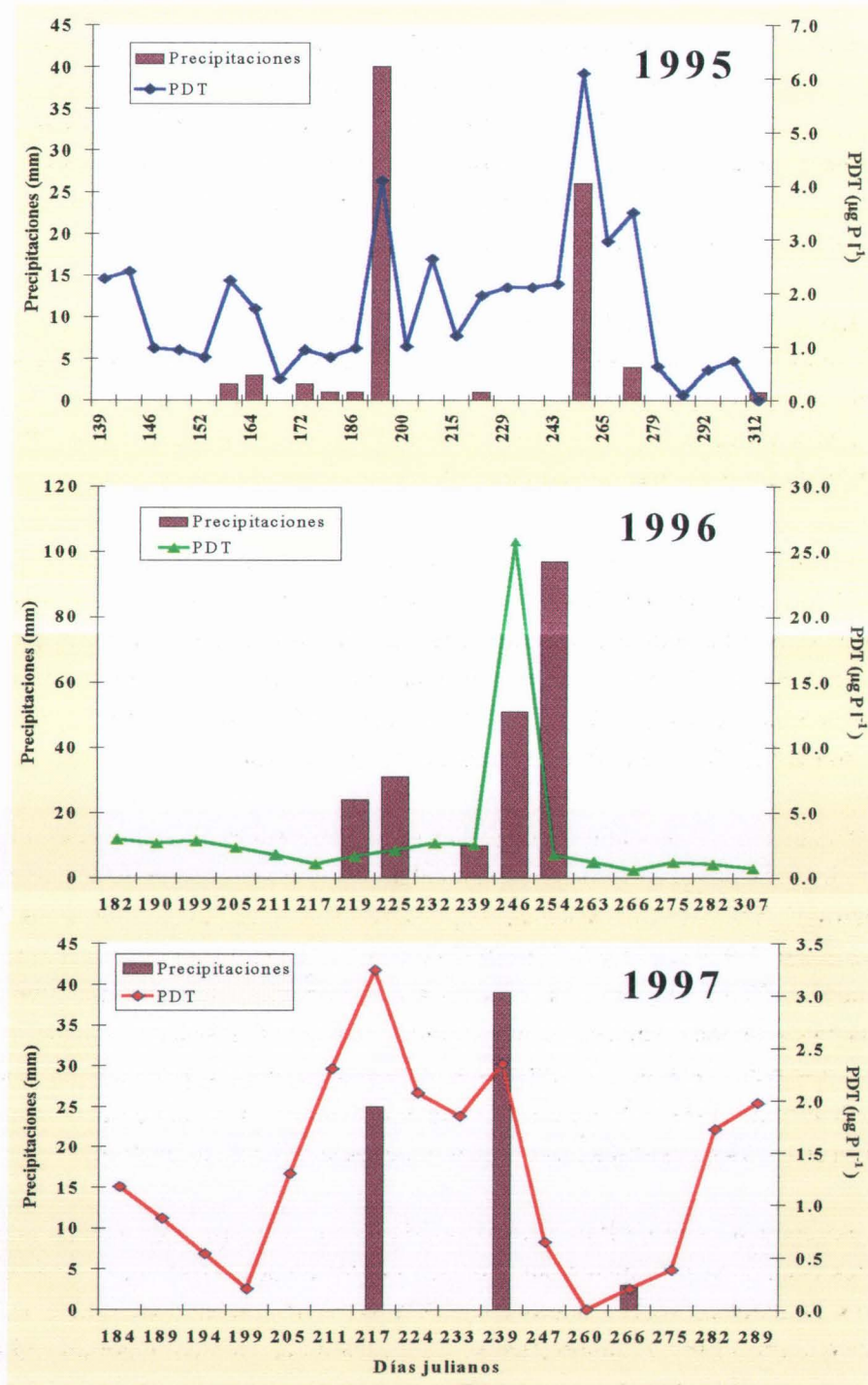
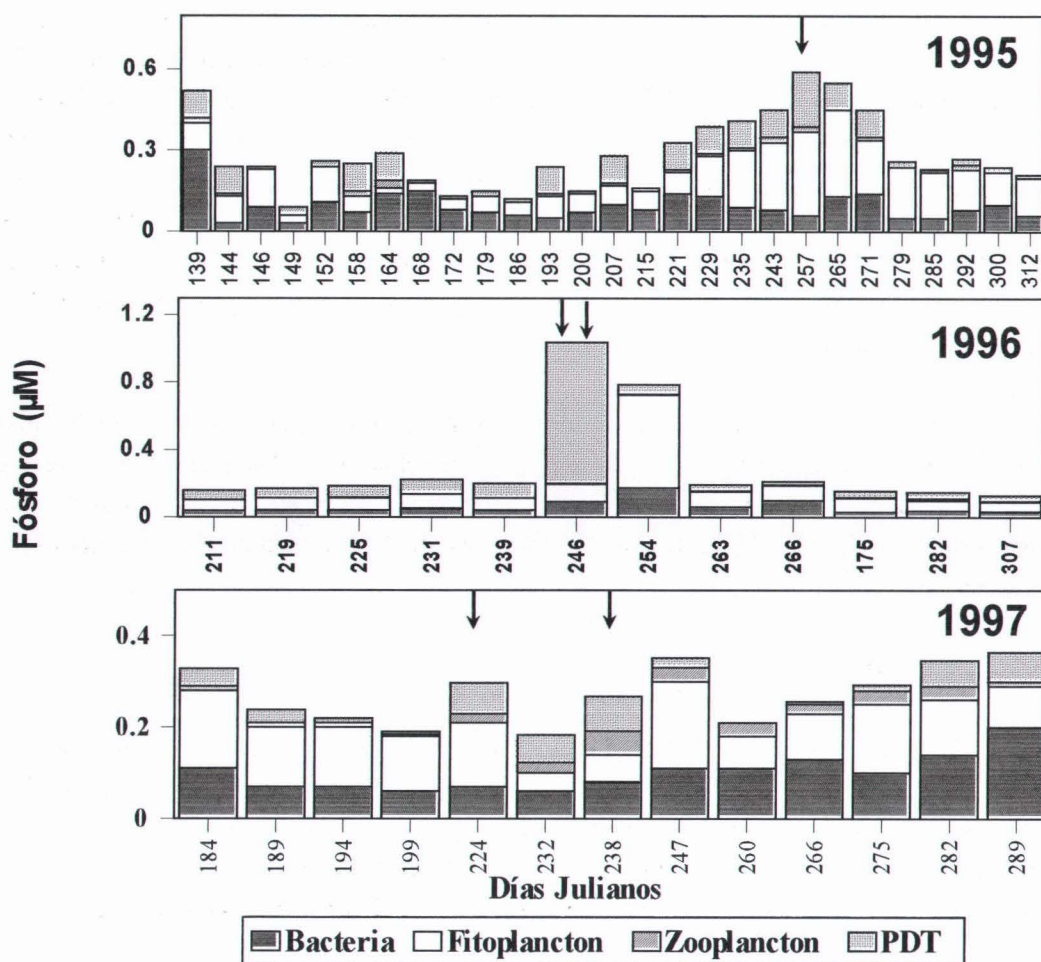


Figura 3.4. Precipitaciones semanales y PDT a lo largo de los 3 años de estudio.

inferiores de incorporar a la red trófica una fracción importante de las entradas atmosféricas de P. La carga de fósforo disuelto total atmosférico de  $32.2 \mu\text{g P l}^{-1}$  en 1996 fue asimilada por los organismos con una eficiencia del 63.3%, de la cual el 53.6% correspondió a las algas y el 9.7% a bacterias. De esta forma, mientras que la fracción algal incrementó desde  $0.105$  a  $0.551 \mu\text{M P}$  en respuesta a la carga atmosférica, lo que supuso un aumento en un 525%, la fracción bacteriana lo hizo en un 186% pasando de  $0.094$  a  $0.175 \mu\text{M P}$ .



**Figura 3.5.** Concentración estacional e interanual en las fracciones de fósforo disuelta, bacteriana, fitoplanctónica y zooplanctónica a lo largo del periodo libre de hielo de 1995 a 1997.



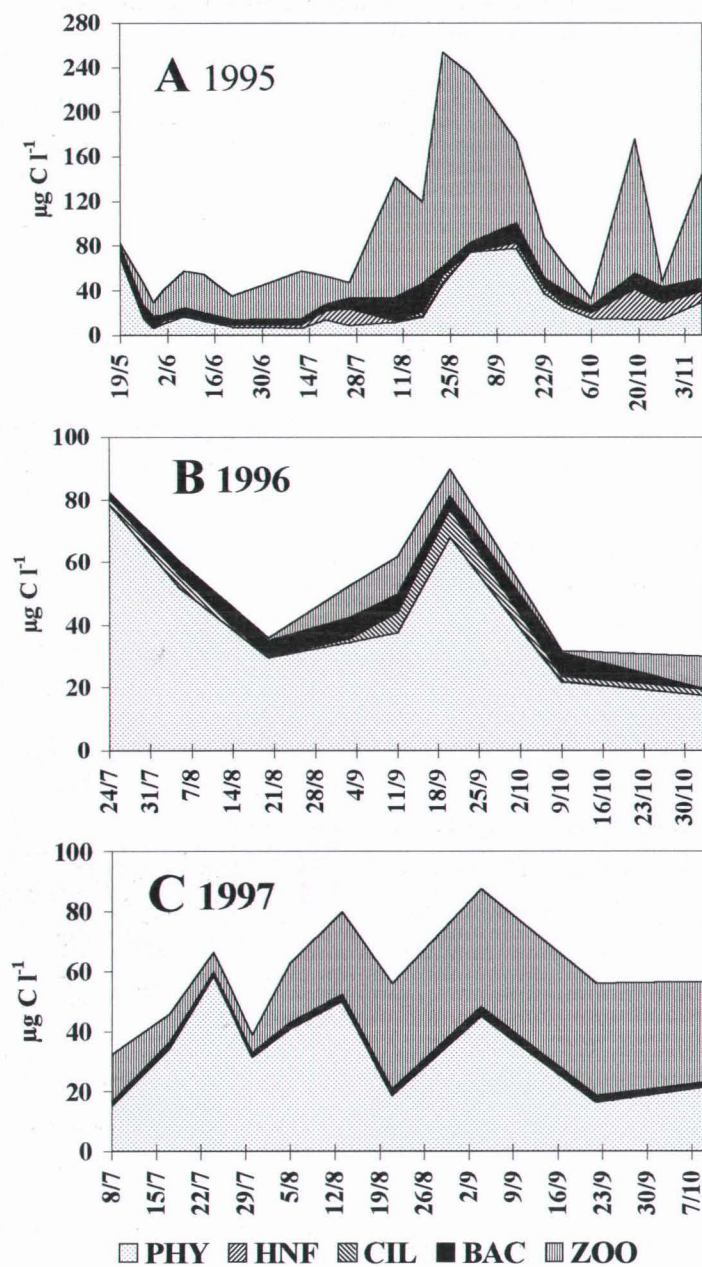
De forma semejante, aunque en menor magnitud, el fitoplancton incrementó de 0.04 a 0.20  $\mu\text{M P}$  (383 %) y las bacterias lo hicieron desde 0.06 a 0.11  $\mu\text{M P}$  (~100%) después de las lluvias registradas en 1997 (ver flechas en la Figura 3.5). Las cargas de PDT fueron incorporadas por los organismos en un 79%, porcentaje que correspondió en un 81.3% a algas y en un 18.7% a bacterias. En resumen, tanto algas como bacterias fueron capaces de incorporar parte de este “nuevo” P, pero a diferencia de las bacterias, las algas lo hicieron en una proporción entre 2 y 4 veces mayor dependiendo de la magnitud del aporte.

El nitrógeno se encontró principalmente en forma inorgánica tanto en 1996 como durante los primeros meses de 1997. Los valores de nitrógeno disuelto inorgánico (DIN) representaron por encima del 50% del nitrógeno total (NT). Sin embargo, el DIN se situó en torno al 50% y <30% del NT en 1995 y durante los últimos meses de 1997, respectivamente. DIN y en particular los nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), mostraron un patrón descendente a lo largo del verano de los años húmedos, si bien esta tendencia no se observó en 1995 (Tabla 3.1). Por su parte, el nitrógeno particulado (NP) constituyó entre el 20 y 30% del NT en 1995 (finales de verano) y 1997 (durante la práctica totalidad del periodo libre de hielo).

De acuerdo con Morris & Lewis (1988), valores superiores a 12 en la razón DIN:TP (masa) son indicativos de una intensa limitación por P. De hecho, La Caldera se situó permanentemente por encima de este valor a excepción de aquellos momentos en los que se produjeron las entradas atmosféricas de P e inmediatamente después del deshielo.

### 3.2.2.- *Fitoplancton*

La comunidad autotrófica fue relativamente simple y estuvo compuesta por especies nanoflageladas, tal y como es característico en los sistemas oligotróficos (Rott, 1984; Carrillo et al., 1995). En su conjunto el fitoplancton representó la mayor parte de la biomasa planctónica total en 1996 y en menor grado en 1997 (Figura 3.6; Tabla 3.2). A lo largo del período de estudio, no se detectó la presencia de picoplancton autótrofo.



**Figura 3.6.** Variaciones estacionales e interanuales en la biomasa de distintos grupos tróficos durante 1995 (A), 1996 (B) y 1997 (C). Los valores son medias para la columna de agua. PHY: Fitoplancton; HNF: Nanoflagelados heterotróficos; CIL: Ciliados; BAC: Bacterias; ZOO: Zooplancton.

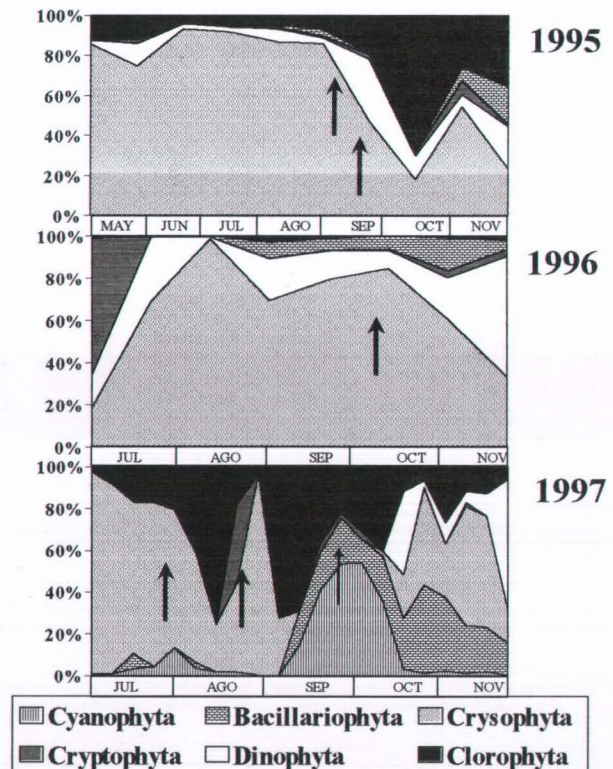


**Tabla 3.2.** Contribución (%) de la biomasa de los principales grupos tróficos a la biomasa total. BAC: Bacteria; CIL: Ciliados; NFH: Nanoflagelados heterotróficos; FIT: Fitoplancton; ZOO: Zooplancton (valores promedio anuales).

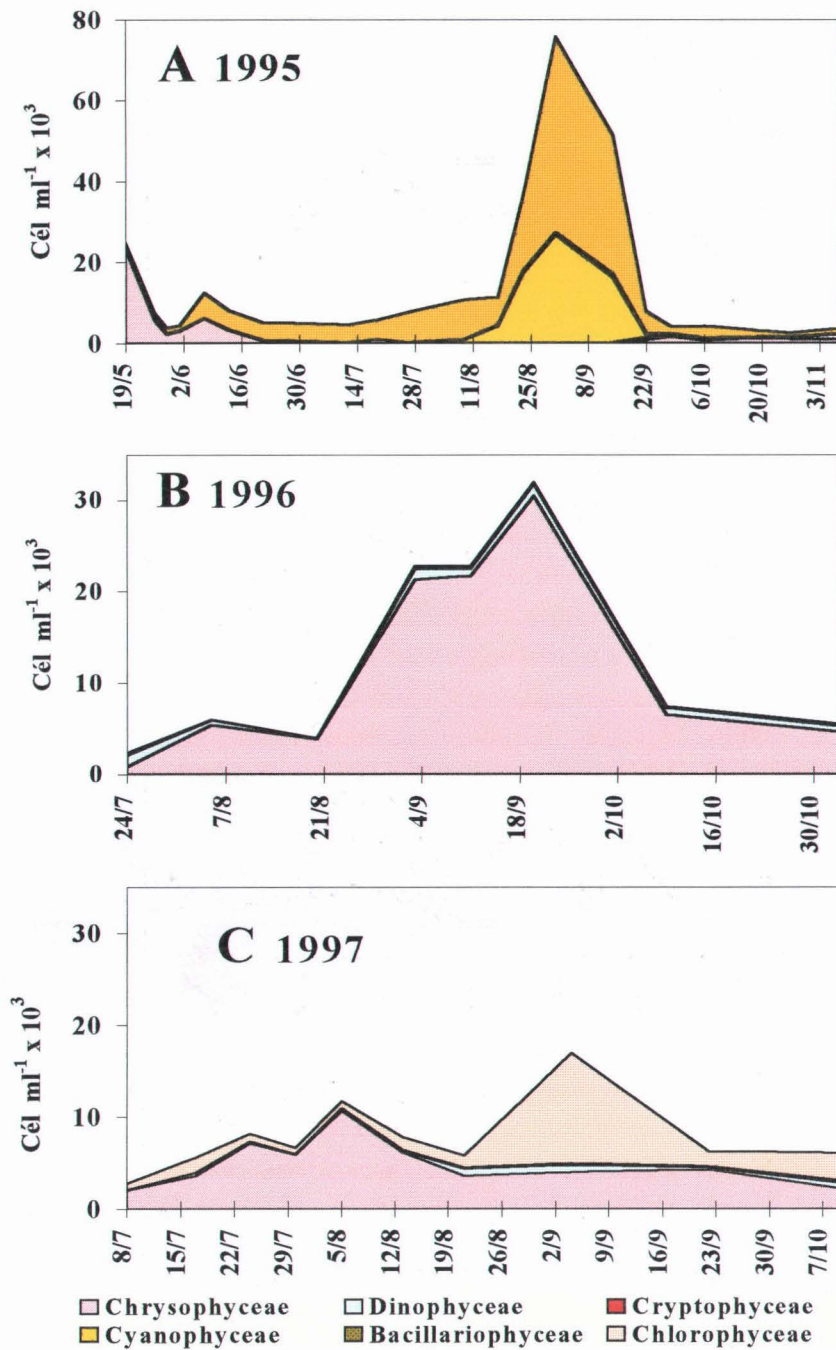
Año	FIT	NFH	CIL	BAC	ZOO
1995	28.2	7.5	0.5	14.4	49.5
1996	73.9	0.2	5.4	9.3	11.2
1997	57.1	0.1	0.0	3.4	39.3

En la Figura 3.7 se muestra la sucesión estacional en el porcentaje de biomasa de los principales grupos taxonómicos fitoplanctónicos a lo largo de los 3 años de estudio. Resulta sorprendente que la diversificación de las poblaciones algales ocurre por regla general inmediatamente después de registrarse precipitaciones importantes en el área de la laguna (indicadas con flechas).

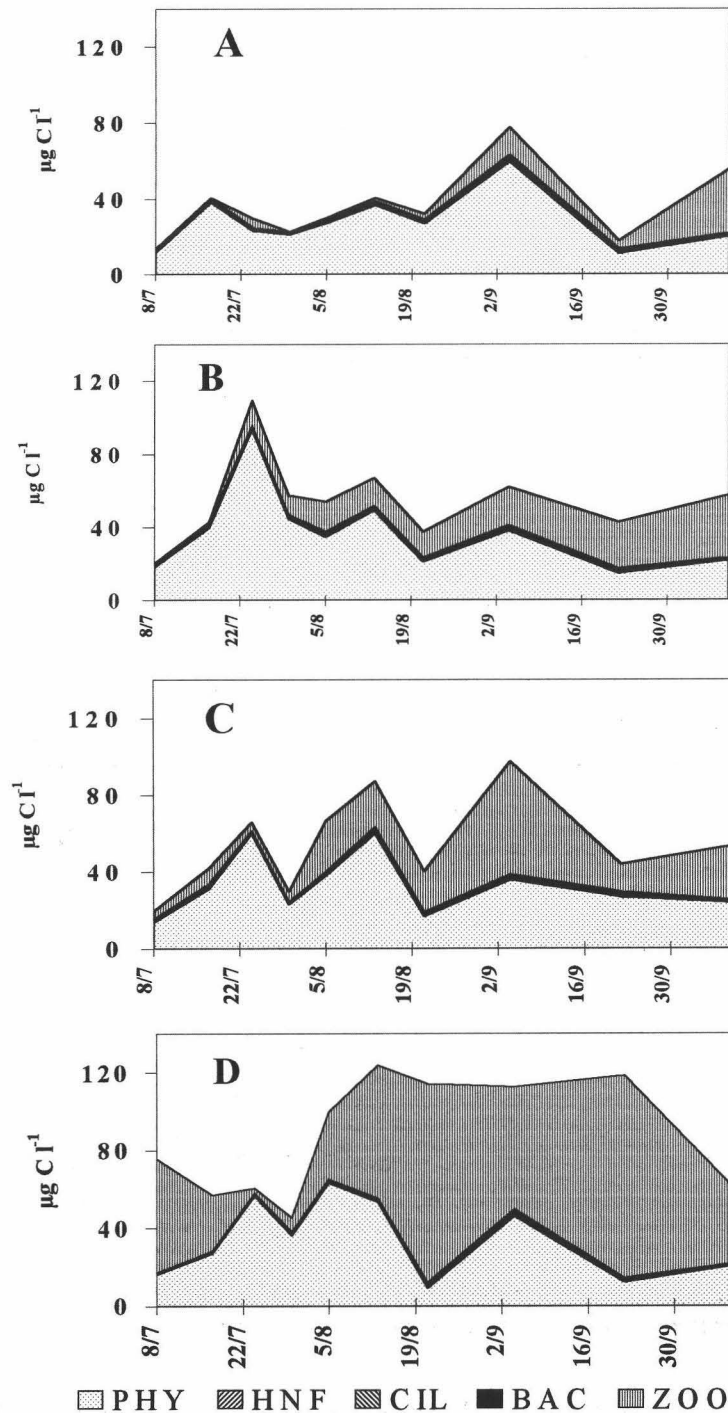
De forma pormenorizada, en 1995 las crisofíceas (*Cromulina nevadensis* y *Ochromomas* sp.) dominaron la comunidad fitoplanctónica (>80% de la abundancia total; Figura 3.8A) inmediatamente después del deshielo hasta comienzos de junio, momento en que las clorofíceas (*Chlorella* sp.) adquieren importancia llegando a alcanzar el máximo de densidad a mediados del verano (>70000 cél ml<sup>-1</sup>; Figura 3.8A). Hacia finales del periodo estival, la abundancia del fitoplancton decreció (< 4000 cél ml<sup>-1</sup>) y tanto



**Figura 3.7.** Importancia relativa de la biomasa de los principales grupos de fitoplancton durante los años de 1995 a 1997.



**Figura 3.8.** Variaciones estacionales en la abundancia de las clases fitoplanctónicas en 1995 (A), 1996 (B) y 1997 (C). Los valores son medias para la columna de agua.



**Figura 3.9.** Variación vertical y estacional en la biomasa de los grupos tróficos durante 1997. (A) 0.5 m; (B) 5 m; (C) 8 m; (D) 11 m. Leyenda como en la Fig.3.6.

*Chlorella* sp. como *Ochromonas* sp. dominaron la comunidad autotrófica (Figura 3.8A). Otras especies también representadas, algunas de origen bentónico, fueron *Amphidinium* sp., *Navicula* sp., o el alga verde filamentosa *Spirogyra* sp.

Básicamente, *Chromulina nevadensis* dominó la comunidad fitoplanctónica durante la mayor parte del periodo libre de hielo en 1996, así como desde el deshielo hasta finales de agosto en 1997 (Figura 3.7). Las crisofíceas alcanzaron sus máximos de densidad (21000-30400 cél ml<sup>-1</sup>; Figura 3.8B) y biomasa (>55 µg C l<sup>-1</sup>) en septiembre de 1996, inmediatamente después de una entrada de P atmosférica. Por el contrario, las densidades de tanto crisofíceas como clorofíceas descendieron en 1997 (~ 12000 cél ml<sup>-1</sup>; Figura 3.8C), si bien contribuyeron puntualmente >80 % y > 60% a la biomasa total algal, respectivamente (Figura 3.7). Durante los años húmedos, otras especies menos importantes fueron *Amphidinium* sp. (dinofícea), *Rhodomonas minuta* (criptofícea), *Ochromonas* sp. (crisofícea) o *Cyanarcus* sp. (cianofícea).

La distribución vertical del fitoplancton mostró un patrón común en 1996 y 1997. Por esta razón representaremos a modo de ejemplo el patrón en 1997 (Figura 3.9). A pesar de existir una considerable homogeneidad, existieron diferencias moderadas en la distribución vertical de la abundancia y biomasa en los principales grupos tróficos. De hecho, las abundancias fitoplanctónicas más elevadas se alcanzaron después de un evento atmosférico (septiembre) y particularmente en la superficie de la laguna durante los años húmedos. Por otro lado, es interesante destacar que el máximo de biomasa (257 µg C l<sup>-1</sup>) en 1996 se alcanzó en la capa más profunda de la laguna durante el deshielo gracias al desarrollo de *Cryptomonas* sp. que, a pesar de su escasa densidad (< 10 % abundancia total), posee un gran volumen celular (1730 ± 300 µm<sup>3</sup> cel<sup>-1</sup>).

*C. nevadensis* presentó una morfología plástica, con grandes diferencias estacionales en tamaño: las células de mayor tamaño (30-40 µm<sup>3</sup> cél<sup>-1</sup>) con cloroplastos y pirenoides bien desarrollados aparecieron durante el deshielo y dieron paso de forma gradual a células menores (5-8 µm<sup>3</sup> cél<sup>-1</sup>) que, en su mayoría (> 70 %), mostraron dendrículas que incrementaron su razón superficie:volumen.

### 3.2.3.- Bacterioplancton

La comunidad heterotrófica bacteriana de La Caldera estuvo constituida fundamentalmente por cocos de vida libre (0.01 ± 0.004 µm<sup>3</sup> cél<sup>-1</sup>) y en menor medida por



bacilos ( $0.05 \pm 0.02 \mu\text{m}^3 \text{cél}^{-1}$ ). Las bacterias filamentosas fueron muy escasas y generalmente, su aparición se restringió al periodo de deshielo.

La abundancia bacteriana mostró una tendencia general descendente durante el periodo de estudio tanto en valores medios como máximos y mínimos (Tabla 3.3). Las mayores biomásas anuales se registraron en agosto de 1995 (Figura 3.6A), mientras que como se aprecia en las Figuras 3.6B y 3.6C, la biomasa bacteriana fue menos variable durante los años húmedos. La distribución en el perfil vertical fue muy homogénea (ej. Figura 3.9) y tan sólo en 1996 se registró un incremento importante en la capa profunda.

**Tabla 3.3.** Cambios interanuales en la abundancia y biomasa bacteriana durante el periodo de estudio de 1995-1997. Los valores son medias para la columna de agua.

Año	Abundancia ( $\text{cél ml}^{-1} \times 10^5$ )			Biomasa ( $\mu\text{g C l}^{-1}$ )		
	Media	Máximo	Mínimo	Media	Máximo	Mínimo
1995	10.75	26.57	4.46	10.33	25.53	4.28
1996	5.17	7.50	1.82	5.08	7.44	1.84
1997	1.96	3.30	1.22	1.92	3.20	1.19

### 3.2.4.- *Nanoflagelados heterotróficos y ciliados*

En 1995 se desarrollan poblaciones de nanoflagelados heterotróficos (NFH) y ciliados, organismos muy escasamente representados en La Caldera con anterioridad a esta fecha. Se describieron dos máximos de NFH: uno en julio ( $2000\text{-}5000 \text{cél ml}^{-1}$ ) y otro hacia finales de la estación libre de hielo ( $> 17000 \text{cél ml}^{-1}$ ). Los ciliados (*Oligotrichidae*), por su parte, alcanzaron sus densidades más altas inmediatamente después del deshielo ( $> 4 \text{cél ml}^{-1}$ ) y en agosto ( $> 3 \text{cél ml}^{-1}$ ) de 1995. Durante 1996, los NFH se hicieron muy escasos ( $< 20 \text{cél ml}^{-1}$ ), mientras que los ciliados experimentaron un considerable auge siguiendo a un pico de abundancia de bacterias y fitoplancton originado tras una entrada atmosférica de nutrientes registrada durante la primera semana de septiembre de 1996 (Figura 3.6B). Finalmente, ambos grupos de organismos estuvieron escasamente representados en 1997 (Figura 3.6C).

### 3.2.5.- Zooplancton

La estructura de la comunidad zooplanctónica de la laguna de La Caldera es relativamente simple y no se observaron diferencias interanuales importantes en su composición. Los copépodos dominaron la comunidad durante los 3 años estudiados y en particular la especie *Mixodiaptomus laciniatus* representó el 60%, 92% y 89% de la abundancia total en 1995, 1996 y 1997, respectivamente (Figura 3.10). Los rotíferos representados fundamentalmente por *Hexarthra bulgarica* llegaron a alcanzar puntualmente hasta el 89% de la abundancia del conjunto del zooplancton que en términos de biomasa, representó ~40% en 1995. Aunque, *M. laciniatus* es la especie de zooplancton dominante en 1995, a diferencia de los siguientes

años de estudio, presentó un ciclo bivoltino con dos momentos de eclosión bien definidos en mayo/junio y agosto/septiembre (Figura 3.10). En líneas generales, la biomasa zooplanctónica durante los años húmedos estuvo compuesta en su totalidad por nauplios hasta mediados de agosto de 1996 y hasta comienzos de este mismo mes de 1997, momento en que fueron reemplazados por juveniles.

En conjunto, la abundancia de zooplancton mostró los valores más elevados en 1995 cuando se llegaron a alcanzar puntualmente  $90 \text{ ind l}^{-1}$  (abundancia media  $29.3 \text{ ind l}^{-1}$ ). Sin embargo, la abundancia presentó una amplia fluctuación interanual que dio lugar a

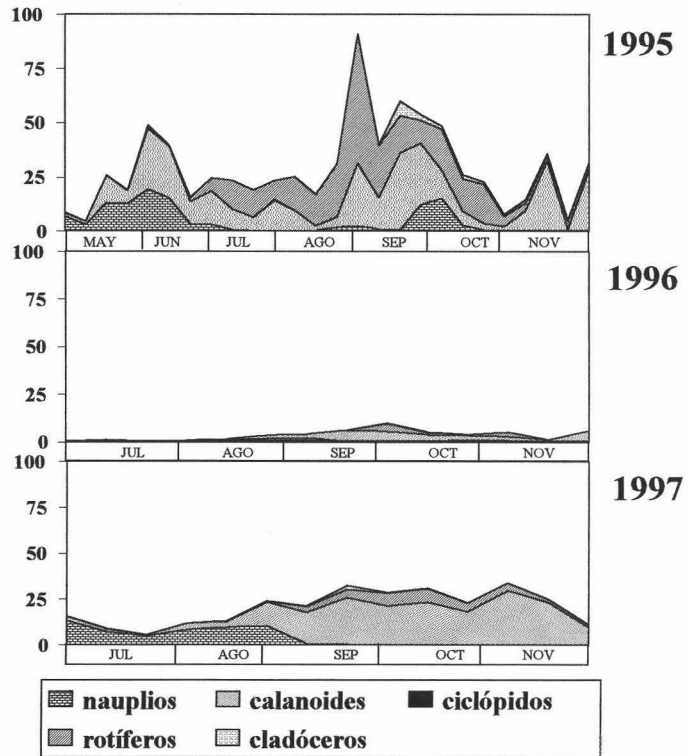


Figura 5.10. Abundancia de los principales grupos de zooplancton a lo largo de los 3 años de estudio.

los valores medios más bajos en 1996 ( $< 1 \text{ ind l}^{-1}$ ), que prácticamente se recuperaron en 1997 (abundancia media  $20.4 \text{ ind l}^{-1}$ ) (Figura 3.10). Los cambios estacionales en la biomasa del zooplancton (medias para la columna de agua) oscilaron entre  $2.5$  y  $192.5 \mu\text{g C l}^{-1}$ , entre  $0.002$  y  $12 \mu\text{g C l}^{-1}$  y entre  $6$  y  $60 \mu\text{g C l}^{-1}$  para los años de 1995, 1996 y 1997, respectivamente (Figura 3.6). Los valores máximos de biomasa se alcanzaron hacia finales del verano (septiembre) en 1996 y hacia mediados de verano (agosto) en 1995 y 1997 (Figura 3.6), coincidiendo con los valores máximos de abundancia (Figura 3.10). Otras especies de zooplancton, cuya aparición fue más esporádica durante los años húmedos, fueron *Daphnia pulex*, *Hexarthra bulgarica*, *Diaptomus cyaneus* o *Acanthocyclops vernalis*.

La distribución vertical del zooplancton fue muy similar y heterogénea a lo largo de los años húmedos (profundidad máxima de 14 m), mientras que se mostró limitada por la profundidad inferior a 2 m en 1995. En la Figura 3.9 representamos esta distribución para 1997. Las especies de zooplancton se concentraron en las capas inferiores de la laguna en las horas del día y especialmente, en los días soleados, cuando la biomasa en el fondo fue 3 veces superior a aquella de superficie.

### 3.2.6.- *Relación entre los componentes abióticos y bióticos*

La razón autótrofo:heterótrofo (A:H) fue significativamente diferente entre el año seco y los húmedos ( $P < 0.001$ ). Mientras que esta razón fue inferior a 1 como promedio en 1995, alcanzó los valores medios de 5.7 y 2.2 en 1996 y 1997, respectivamente. Concretamente, la razón A:H osciló entre 1.5 y 20.3 en 1996, y alcanzó valores  $\sim 0.5$  hacia finales de la estación estival en 1997.

En la Tabla 3.2 se resume la contribución de los grupos tróficos a la biomasa planctónica total. Las bacterias contribuyeron de forma decreciente a la biomasa total a lo largo de los 3 años de estudio. Por el contrario, el fitoplancton constituyó la mayor parte de la biomasa durante estos años, si bien tan sólo representó el 28% de esta biomasa en 1995, tal y como sugiere la razón  $A:H < 1$ . En cuanto al zooplancton, éste constituyó una fracción significativa del porcentaje de biomasa total en 1995 y 1997, mientras que los NFH tan sólo fueron apreciables en 1995. Finalmente, los ciliados contribuyeron significativamente a la biomasa total coincidiendo con la escasez de zooplancton en 1996.

El análisis de los factores físicos, químicos y biológicos que regulan el desarrollo de los distintas poblaciones se estimó a partir de análisis de correlación. Nuestros resultados indican que existió una relación estrecha entre los nutrientes (N y P) y la biomasa o abundancia de fitoplancton en 1995 (Tabla 3.4). Por otra parte, las bacterias heterotróficas se relacionaron negativamente con el fitoplancton en 1996 ( $P < 0.01$ ), mientras que en 1997, las algas mostraron una razón inversa con la razón TN:TP ( $P < 0.001$ ) y los ciliados con el zooplancton ( $P < 0.01$ , Tabla 3.4). Por último, el zooplancton mostró una relación positiva con la temperatura durante los años húmedos (Tabla 3.4).

**Tabla 3.4.** Resultados del análisis de correlación intranual entre los componentes bióticos y abióticos del sistema (valores de r). ns: no significativo. BAC: Bacteria; BIO: Componentes bióticos; CIL: Ciliados; NHF: Nanoflagelados heterotróficos; MVB: Micro-bacterivoros; FIT: Fitoplancton; ZOO: Zooplancton. A: Abundancia; B: Biomasa. PT: Fósforo total; PP: Fósforo particulado; NT: Nitrógeno total; NP: Nitrógeno particulado; T: Temperatura. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

1995				
	FIT B	CIL B	ZOO A	BIO B
HNF A	ns	- 0.61*	- 0.62**	-
PT	0.73***	0.55*	ns	0.58**
PP	0.75***	0.68**	ns	0.61**
NT	0.75***	ns	ns	0.63**
1996				
	BAC B	BAC A	MVB A	ZOO A
FIT B	- 0.94**	- 0.94**	ns	Ns
FIT A	ns	ns	0.79*	ns
PN	0.90*	0.90*	ns	ns
T	ns	ns	ns	0.85*
1997				
	PHY B	MBV A	ZOO A	ZOO B
FIT B	np	0.79**	ns	ns
CIL A	ns	np	- 0.78*	- 0.80**
TN:TP	- 0.92***	- 0.85**	ns	ns
T	ns	ns	0.87**	ns

BIO = BAC + CIL + NHF + FIT + ZOO

MVB = CIL + NHF



Finalmente para cuantificar la importancia relativa de los parámetros físicos, químicos y biológicos en el desarrollo de las clases fundamentales de fitoplancton se llevaron a cabo análisis de regresión por pasos entre la abundancia de los grupos

**Tabla 3.5.** Resultado del análisis de regresión múltiple por pasos entre las variables (PRS, DIN:TP, temperatura, pH, conductividad) que potencialmente afectan a la abundancia de clorofíceas. Las variables no mostradas son aquellas que no fueron admitidas en el análisis.

Variables	R <sup>2</sup> múltiple	R <sup>2</sup> cambio	F(2,15)
PT	0.389	0.389	10.226**
Temperatura	0.556	0.166	5.637*

taxonómicos del fitoplancton y diversas variables independientes atendiendo a los criterios de disponibilidad de nutrientes (PRS, DIN:TP), nutrientes totales (NT y PT) y características físico-químicas (temperatura, pH y conductividad). Las clorofíceas constituyeron el único

grupo taxonómico cuya presencia fue parcialmente explicada por el PT y la temperatura (Tabla 3.5).

### 3.3.- DISCUSIÓN

El régimen hídrico particular de la laguna durante el periodo de estudio, así como la influencia de entradas atmosféricas, sugieren la necesidad de considerar de forma integral el estudio de todos los factores que intervienen en la estructura y dinámicas de las poblaciones planctónicas.

Los sistemas lagunares de Sierra Nevada por su cercanía al continente africano y por su altura estarían sometidos de forma preferente al efecto de los pulsos de nutrientes saharianos que, tal y como pone de manifiesto Morales (en preparación), son especialmente ricos en fósforo disuelto. El transporte de polvo sahariano ocurre en forma de pulsos que se suceden irregularmente en el tiempo y que varían en la importancia del material transportado desde 2 a 25 g m<sup>-2</sup> en la zona del mediterráneo occidental o de 5.3 g m<sup>-2</sup> en el noreste de España (Avila et al., 1997) y cuyo contenido promedio en P es de un 0.35% (Guiou & Thomas, 1996).

Recientemente se ha puesto de manifiesto que las precipitaciones húmedas no sólo no controlan el flujo de polvo sahariano hacia la región Mediterránea, sino que su importancia puede llegar a ser muy inferior a la de las deposiciones secas, mucho más continuadas y por tanto, responsables de la mayor parte de este flujo. Es más, la contribución relativa de las precipitaciones (deposiciones húmedas) al flujo total de P atmosférico se ha calculado en torno al 15% en el noroeste del Mediterráneo o próximo al 33% en el sudeste, asociándose el resto a deposiciones secas (Migon & Sandroni, 1999). La relevancia de las deposiciones atmosféricas secas sobre las húmedas en el estudio anterior permite especular con que el efecto de la entrada externa de P asociado a precipitaciones en La Caldera podría suponer una fracción mínima de la contribución real de los aportes externos de P al funcionamiento del sistema.

Además, los patrones de circulación atmosférica provocan que la incidencia de las "lluvias rojas" (lluvias cargadas de material particulado de origen sahariano) sea mayor en primavera y verano, lo que refuerza el papel relevante que éstas pueden desempeñar en las dinámicas nutricionales de las poblaciones fitoplanctónicas y, particularmente, en condiciones o en periodos oligotróficos (Migon & Sandroni, 1999). De hecho, las incursiones de polvo sahariano no sólo han sido documentadas en Europa (Löye-Pilot et al., 1986; Alebicjuretic, 1994; Yaalon, 1997; Schwikowski et al., 1997), sino que incluso alcanzan la costa este del continente americano (Perry et al., 1997; Chiapello et al., 1997).

La incorporación del P disuelto de procedencia atmosférica por parte de los organismos, que se situó entre el 63% y el 79%, fue superior al 30-40% estimado por Herut et al. (1999) para la comunidad microbiana en el sur del Mediterráneo. Además, el efecto de la carga de P atmosférica sobre la tasa de incorporación de P fue mayor en la fracción fitoplanctónica (54.0-81.3%) que en la bacteriana (9.7-18.7%). Este hecho parece estar de acuerdo con los trabajos que proponen la mayor capacidad de las algas para aprovechar concentraciones de nutrientes en exceso a sus demandas internas (Parslow et al., 1984; Cotner & Wetzel, 1992). Aunque, reconocemos que los razonamientos anteriores están limitados por la periodicidad semanal de los muestreos, el presente estudio, permitiría a nuestro juicio, analizar el resultado final de un pulso de nutrientes en el crecimiento de las comunidades de fitoplancton y bacterias en términos de P.

A la luz de los resultados expresados en la Figura 3.5, parece evidente que los sistemas sometidos a pulsos de nutrientes no sólo no crean nueva biomasa bacteriana y fundamentalmente fitoplanctónica, sino que el efecto de esta perturbación se transmite a lo largo de la red trófica promoviendo el desarrollo de ciliados (Figura 3.6), habitualmente muy escasos en el sistema. Sin embargo, la acumulación de biomasa planctónica en términos de P ocurre de forma transitoria, ya que no se refleja en un aumento permanente del *pool* de P total en la cadena trófica (Figura 3.5). Esta pérdida de fósforo sería atribuible, bien a un proceso de sedimentación, o bien a un proceso biológico en el que el P incorporado en algas y bacterias llegaría directamente, o a través de un compartimento intermedio de ciliados, al zooplancton. En este sentido, la depredación de ciliados por parte del zooplancton podría provocar la desaparición de estos organismos, en lo que finalmente constituiría una inexorable integración entre los componentes microbianos y clásicos en las redes tróficas pelágicas (Porter, 1996). Finalmente, la excreción del exceso de P por parte del zooplancton vía “fecal pellets” retiraría una fracción de este P de su uso inmediato para la comunidad trófica pelágica (ver Capítulo VI).

La abundancia total de algas se multiplicó por 7.5 en 1995 con respecto a aquella de años anteriores (Carrillo, 1989; Reche, 1995). De hecho, la transición desde las crisofíceas, grupo tradicional en este sistema, hasta especies de clorofíceas no flageladas podría estar relacionada con los niveles superiores de P en 1995, donde los procesos de resuspensión podrían haber aumentado de forma considerable dada la escasa profundidad del sistema. Tal y como sugiere Currie (1990), la correlación positiva entre el PT o el PP y la biomasa algal (Tabla 3.4) sería indicativa del incremento en la disponibilidad de P para las algas. Este incremento permitiría igualmente favorecer competitivamente a clorofíceas sobre crisofíceas, éstas últimas, más características de hábitats pobres en P (Reynolds, 1984, 1998). En este sentido, durante este año, y a pesar de la elevada razón N:P, la disponibilidad de P podría haber superado el nivel crítico no limitante para que se alcanzasen las tasas máximas de crecimiento (Reynolds, 1992, 1998).

En nuestro estudio encontramos que la temperatura constituyó un factor clave en el desarrollo de las clorofíceas. Los resultados del análisis de regresión por pasos indicaron que la temperatura explicaba ~16% de la varianza en la abundancia de clorofíceas en 1995, mientras que entre el PT y la temperatura se explicó el 56% de la misma ( $P < 0.01$ ). De acuerdo con la interpretación anterior, el desarrollo de *Chlorella* sp.

no ocurrió cuando la temperatura del agua excedió los 10°C de media (1995 y segunda mitad de 1997).

La recuperación del volumen de la laguna coincidió con el desarrollo de *C. nevadensis* que volvió a dominar la comunidad de fitoplancton en 1996 y en los primeros meses de 1997 (Figura 3.7). Además, la escasez de zooplancton en esos periodos, favoreció el crecimiento de esta especie, ya que el zooplancton ejerce un efectivo control sobre ella vía depredación (Carrillo et al., 1990; 1991b, 1995).

La bacterivoría puede jugar un papel relevante como fuente de P para las algas. Esta posibilidad que fue sugerida por Carrillo et al. (1991a) para *C. nevadensis* en La Caldera, ha sido observada para otras especies de crisofíceas (Porter, 1988; Salomen & Jokinen, 1988; Nygaard & Tobiesen, 1993). La relación negativa entre la biomasa algal y bacteriana en 1996 (Tabla 3.4), así como la irregular morfología de *C. nevadensis* permiten apoyar dicha hipótesis. Además, la relación positiva entre la abundancia algal y la abundancia de los organismos potencialmente depredadores de bacterias (ciliados y NFH; Tabla 3.4) sugiere que ambas comunidades de bacterívoros covarían con respecto a un factor común, posiblemente, la abundancia de bacterias.

En nuestra opinión, el descenso de las densidades de fitoplancton durante 1997 (~10000-15000 cél ml<sup>-1</sup>) no resulta sorprendente a juzgar por la recuperación de las poblaciones de zooplancton durante este año. Al mismo tiempo, la biomasa algal mostró un relación negativa con la razón NT:PT (Tabla 3.4) que pone de manifiesto la importancia de la disponibilidad de P para el crecimiento de las algas. Durante el último periodo de este año, la aparición de las clorofíceas coincidió con el descenso de la razón DIN:PT hasta valores cercanos a los registrados en 1995, o lo que es lo mismo, con un descenso de las severas condiciones de limitación por P.

Con respecto al zooplancton, el desarrollo máximo de los rotíferos y en particular de *Hexarthra bulgarica*, tuvo lugar en 1995 coincidiendo con las concentraciones más elevadas de P y la máxima disponibilidad de bacterias (potenciales presas).

La recuperación de los niveles habituales en la densidad del zooplancton no se alcanzó hasta 1997, debido sin duda, a las bajas tasas de crecimiento de *M. laciniatus* en este sistema (Cruz-Pizarro, 1981). En este sentido, el efecto de covariación entre la temperatura y el zooplancton indicaría que las bajas temperaturas podrían haber causado

un descenso en las tasas de crecimiento del zooplancton y, particularmente, en 1996 cuando la temperatura media mensual no excedió los 7°C.

La pronunciada distribución vertical mostrada por el zooplancton, localizado en su gran mayoría en las capas profundas de la laguna durante el día, es consistente con el comportamiento migratorio que caracteriza al zooplancton en la Caldera (Carrillo, 1991b; Figura 3.9).

Por su parte, las poblaciones de NFH estuvieron significativamente presentes tan sólo en 1995, año en el que el aumento de P permitió la diversificación de la comunidad planctónica (Figura 3.6a). La relación negativa entre los NFH y los ciliados (Tabla 3.4), podría sugerir la existencia de un efecto de exclusión competitiva de dos grupos de organismos que comparten a las bacterias como recurso alimenticio. A su vez, la relación negativa entre el zooplancton y los NFH o los ciliados (Tabla 3.4), permite especular con la posibilidad de que estos grupos se hallen sometidos a un severo control “top-down” por parte del zooplancton. De hecho, son numerosos los estudios que han evidenciado el gran valor nutricional que los protozoos constituyen para el metazooplancton (Porter et al., 1979; Stoecker & Capuzzo, 1990; DeBiase et al., 1990; Gifford, 1991). A la luz de estos argumentos, quedaría justificado el notable desarrollo de los ciliados, coincidiendo con las densidades mínimas del zooplancton en 1996.

Debido a su pequeño tamaño, la contribución de las bacterias a la biomasa total fue muy reducida y, especialmente, durante los años húmedos (< 10%). La densidad bacteriana mostró una evolución descendente en el transcurso del periodo de estudio hasta alcanzar valores próximos al límite inferior del rango observado para otros sistemas oligotróficos (Thomas et al., 1991a, 1991b; Reche et al., 1994; Ochs et al., 1995).

Parece actualmente aceptado entre los investigadores que el control del bacterioplancton es el resultado final del balance entre los procesos de “bottom-up”, en los que la disponibilidad de P posee un papel fundamental y los procesos “top-down” de depredación (Pace & Cole, 1994). Aunque en nuestro estudio no se halló relación alguna que apoyara la importancia de estas fuerzas en 1995, existen evidencias que nos llevan a considerar la hipótesis de que las bacterias estuvieron controladas desde los eslabones tróficos superiores en los años húmedos (Medina-Sánchez, en preparación). Además, encontramos una fuerte relación negativa entre la biomasa algal (en su mayoría crisofíceas) y bacterias en 1996 (Tabla 3.4). En segundo lugar, las densidades más bajas

de bacterias en 1997 coincidieron en el tiempo con una población de fitoplancton ampliamente dominada por *C. nevadensis* y con altas densidades de zooplancton. En este contexto, Reche (1995) observó que *M. laciniatus* constituyó un depredador importante de bacterias. El pequeño tamaño de las bacterias ( $\sim 0.03 \mu\text{m}^3 \text{cél}^{-1}$ ), comprendido entre los valores más bajos descritos para bacterias en un medio natural (Ammerman et al., 1984; Lee & Fuhrman, 1987; Ochs et al., 1995) podrían ser el resultado de una intensa presión de depredación por parte de ciliados y nanoflagelados heterotróficos entre otros (Anderson et al., 1986; González et al., 1990; González, 1996; Pernthaler et al., 1996).

A pesar de que La Caldera constituye un sistema autotrófico (entradas de C orgánico alóctono insignificantes; Reche et al., 1996), la razón A:H presentó valores por debajo de 1 durante la sequía de 1995 que sugieren que el fitoplancton posee una elevada tasa de renovación, lo que en última instancia, le llevaría a soportar a una compleja comunidad heterotrófica (Reynolds, 1984; Stegmenn & Peinert, 1984). Por el contrario, en 1996 y hasta mediados de 1997, encontramos una situación anómala en este sistema con una razón A:H > 1 que, sin duda, se relaciona con el tiempo de recuperación de la comunidad de herbívoros tras el incremento de volumen de la laguna.

*CAPÍTULO IV*

---

---

**DINÁMICAS EN LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL  
(C:N:P) DE BACTERIAS Y FITOPLANCTON**





#### 4.1.- INTRODUCCIÓN

El conocimiento a partir de un trabajo ya clásico (Redfield et al., 1963) de que la materia orgánica particulada marina posee una composición elemental relativamente constante, ha propiciado la aparición de un gran número de trabajos que han investigado la composición química elemental de las algas tanto en sistemas marinos (ej. Parsons et al., 1961; Copin-Montegut & Copin-Montegut, 1983; Hecky et al., 1993) como de agua dulce (ej. Healey & Hendzel, 1980; Tezuka, 1985; Sommer, 1989). De forma tradicional, la composición química ha sido empleada como indicador del estado nutricional de los organismos (Hecky et al., 1993; Elser et al., 1995a), pero también en los modelos del ciclo global del carbono (Toggweiler et al., 1987), o en el estudio de los procesos de flujo de materia en la interacción herbívoro-alga (Sterner, 1990; Urabe, 1993).

El modelo de Droop (1974) describió el funcionamiento general de los productores primarios según el cual las tasas más bajas de crecimiento se encuentran relacionadas con concentraciones bajas de un nutriente que limita el crecimiento. Como consecuencia, el estudio de una gran diversidad de autótrofos en condiciones controladas ha revelado que existe una correlación importante entre el grado de limitación nutricional y el contenido elemental. A pesar de esta evidencia, las investigaciones que han corroborado la generalidad de estos modelos en condiciones naturales son muy restringidas. Sin duda, la enorme variabilidad interespecífica en la limitación nutricional, así como otros factores, podrían hacer inviable la identificación de dichos patrones generales en un medio natural.

Si bien es cierto que nuestro conocimiento acerca de la composición química del fitoplancton se ha incrementado sustancialmente en las últimas dos décadas (Gulati et al., 1991; Elser & George, 1993; Elser et al., 1995b), la cuantificación de la composición elemental bacteriana ha sido más reciente y fundamentalmente como consecuencia de técnicas de análisis de rayos X (XRMA; Norland et al., 1995; Faggebakke et al., 1996). Conocida la composición química elemental del fitoplancton y bacterias se podrían identificar las demandas elementales para su crecimiento. Entre los estudios que han abordado este aspecto, una gran mayoría se han llevado a cabo en condiciones de cultivos (ej. Coveney & Wetzel, 1992; Chrzanowski et al., 1996), mientras que son más escasos aquellos otros llevados a cabo *in situ* (ej. Elser et al., 1995b). Entre las técnicas utilizadas en el estudio histórico de los nutrientes que limitan a un sistema, los bioensayos ocupan un papel relevante (Goldman et al., 1993), sin embargo, su uso exclusivo para este

propósito sin considerar otros parámetros ha sido ampliamente cuestionada (Elser et al., 1990). Un paso más en la evaluación completa de la limitación por nutrientes *in situ* habría de incluir otros parámetros como la concentración de nutrientes, tasas de actividades enzimáticas o, tal y como pretendemos ensayar, las razones C:N:P de los organismos (Healey & Hendzel, 1980; Petterson, 1980; Hecky & Kilham, 1988; Istvánovics et al., 1990).

Tradicionalmente se ha considerado al carbono orgánico excretado por el fitoplancton como el factor regulador del crecimiento de las bacterias heterotróficas (Cole et al., 1982; Vadstein et al., 1989; Reche et al., 1996) que actuarían a su vez reciclando nutrientes inorgánicos para los productores primarios (Axler et al., 1981). De esta forma, las bacterias constituirían organismos comensalistas dependientes de la materia orgánica del medio y por lo tanto, con un papel opuesto a los productores primarios con respecto al carbono.

Más recientemente se ha puesto de manifiesto que las bacterias pueden estar limitadas por nutrientes minerales (P o N) (Currie, 1990; Coveney & Wetzel, 1992), lo que les haría competir directamente con el fitoplancton por los recursos minerales en una interacción que se hace especialmente relevante para aquellos sistemas pobres en nutrientes (Thingstad et al., 1993). Es más, existen trabajos que evidencian que las tasas de absorción del P son mucho mayores en bacterias que en algas a concentraciones bajas de este elemento (Currie & Kalf, 1984; Cortner & Wetzel, 1992).

Estas generalizaciones conducen hacia una aparente paradoja: el fitoplancton estresado por la falta de nutrientes estimula a sus competidores, las bacterias, a través de la exudación de C orgánico (Bratbak & Thingstad, 1985). Para un buen número de investigadores la explicación a este aparente conflicto pasa por la inclusión de los organismos del microzooplancton (Sherr & Sherr, 1984; Rothhaupt, 1992; Thingstad & Rassoulzadegan, 1995) y del metazooplancton (Sterner, 1990; Reche et al., 1997) como factores que controlan la biomasa de bacterias y fitoplancton.

Mientras que un gran número de investigadores han puesto de manifiesto el papel del zooplancton, a través de la depredación (Elser & Goldman, 1991) o de la excreción (Lehman, J.T., 1980; Sterner, 1990), en la regulación de la interacción fitoplancton-bacterias, otros investigadores, han señalado la importancia que en esta relación ocupan los nutrientes de origen externo (Vollenweider, 1976; Goldman, 1981).

Tal y como se puso de manifiesto en el Capítulo III (Figura 3.4), Sierra Nevada por su cercanía estaría expuesta a tormentas masivas de polvo de procedencia sahariana que podrían temporalmente paliar las necesidades nutricionales de algas y bacterias y particularmente de P .

A pesar del interés que suscita el bacterioplancton y el fitoplancton como componentes importantes de las redes tróficas planctónicas, son poco frecuentes los estudios que han abordado de forma conjunta las dinámicas en la abundancia y composición química de bacterias y fitoplancton en condiciones oligotróficas a lo largo de periodos estacionales completos. A través de la determinación en la composición elemental y abundancia de algas y bacterias en la laguna de La Caldera, pretendemos comprobar a modo de experiencia natural que reproduciremos experimentalmente, la capacidad de algas y bacterias de aprovechar los aportes de materiales alóctonos en su crecimiento.

Los objetivos específicos del presente Capítulo se centran en:

- (1) analizar la composición elemental del fitoplancton y bacterias en La Caldera y su variabilidad estacional a lo largo del periodo libre de hielo durante 3 años de características bióticas y abióticas fuertemente contrastadas.
- (2) determinar los factores que afectan a la estequiometría de las comunidades de algas y bacterias.
- (3) evaluar la utilidad de las razones C:N:P como indicadores del estado nutricional y del crecimiento de algas y bacterias.
- (4) analizar experimentalmente la respuesta a corto plazo de autótrofos y bacterias heterotróficas en términos de producción y productividad bajo diferentes razones N:P.

## 4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

La composición elemental del bacterioplancton y del fitoplancton así como la producción primaria y bacteriana se determinaron siguiendo la metodología general desarrollada en el Capítulo II.

A continuación detallamos el diseño experimental empleado con el propósito de abordar el 4º objetivo específico propuesto. Para ello se llevaron a cabo 2 experimentos coincidiendo con dos periodos distintos del desarrollo en 1997 de las comunidades planctónicas de La Caldera. En cada caso, se tomó una muestra integrada de la columna de agua (0.5, 5, 8 y 10.5) que se dispuso en un contenedor de plástico de 25 l tras su filtración a través de 40  $\mu\text{m}$  con objeto de retirar el macrozooplancton. La eficiencia de separación del zooplancton fue prácticamente del 100% debido a la escasa presencia de protozoos en el sistema durante los experimentos (Figura 3.6C). A partir de este homogenado, el volumen de agua se dispuso en tres contenedores menores de 5 l que expresaron inicialmente los siguientes tratamientos experimentales:

- N:P<sub>c</sub>, tratamiento control
- N:P<sub>16</sub>, tratamiento con una razón teórica N:P inicial ~16
- N:P<sub>5</sub>, tratamiento con una razón teórica N:P inicial ~5

Las razones N:P iniciales del agua para los 3 experimentos fueron siempre superiores a 16, por lo que la cantidad de P ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) que hubo que adicionar para reducir dichas razones en los tratamientos enriquecidos se calculó en función de la concentración de nutrientes disueltos (DIN, y SRP) en el lago dos días antes de llevarse a cabo el experimento. Todos los tratamientos se incubaron a una profundidad correspondiente al 50 % de extinción de la luz. Los tiempos de incubación y el resto del procedimiento analítico seguido están descritos en el capítulo de metodología general.

## 4.3.- RESULTADOS

### 4.3.1.- *Evaluación del material contenido en las fracciones bacteriana y fitoplanctónica*

La opción de una metodología basada en una filtración en serie se justifica por el objetivo fundamental de nuestro estudio de evaluar, no tanto el valor absoluto en C, N y P, sino la magnitud y dirección en los cambios estacionales experimentados por las

distintas fracciones biológicas, así como por la posibilidad de comparar los resultados obtenidos con aquellos de otros autores (ej. Hecky & George, 1993; Kreeger et al., 1997).

### Bacterioplancton

Como señalamos en el Capítulo II (pg. 34), asociamos la fracción  $< 1.0 \mu\text{m}$  a las bacterias heterotróficas de vida libre. La ausencia de picoplancton autótrofo en La Caldera, así como el predominio de cocos con una rango de tamaño que oscila entre  $0.4$  y  $0.8 \mu\text{m}$  de diámetro, indica que la contribución de otros organismos diferentes de las bacterias a esta fracción podría considerarse despreciable. Sin embargo la contribución del detritus a esta fracción es, sin duda, más problemática (Healey & Hendzel, 1980). Adoptando un criterio similar al de Elser et al. (1995b), podríamos estimar la contribución potencial del C detrítico a esta fracción comparando nuestras medidas experimentales con las estimas de C bacterianas realizadas a partir de conversiones teóricas en las que se consideran la abundancia y biovolumen bacteriano ( $\text{pgC c\acute{e}l}$ ,  $\text{pgC } \mu\text{m}^{-3}$ ), o bien a través de las razones C:N:P establecidas en la literatura y asumiendo que el detritus carece de N o P (Tabla 4.1).

Aunque las metodologías difieren entre estudios, lo que dificulta la comparación directa de resultados, el desarrollo reciente de los microanálisis de rayos-X (Faggebakke et al, 1996; Norland et al., 1995) permite obtener, en nuestra opinión, una estima real del contenido elemental de las bacterias sin interferencias por parte de los detritus. De hecho, las conversiones teóricas a partir de las razones C:P sugeridas en el estudio de Faggebakke et al. (1996) y considerando que todo el P medido experimentalmente en la fracción  $< 1.0 \mu\text{m}$  estaría contenido en las bacterias (Olsen et al., 1986), permiten explicar una mayor proporción del C medido directamente en este estudio sobre un filtro de  $0.2 \mu\text{m}$  de tamaño de poro (Tabla 4.1). Concretamente, la estima del C contenido en las bacterias siguiendo este procedimiento, indicaría que, como media para los 3 años de estudio,  $\sim 16 \%$  del carbono medido directamente sobre el filtro se localizaría en las bacterias. El carbono detrítico, por tanto, se calcularía como la diferencia entre los porcentajes de carbono experimental y aquel teóricamente estimado para bacterias, que en el ejemplo anterior supondría  $\sim 84\%$  del C experimental (Tabla 4.1).

De forma similar, asumiendo que todo el P medido en la fracción de  $0.2\text{-}1.0 \mu\text{m}$  está íntegramente contenido en las bacterias y utilizando la razón N:P de 10.11 (obtenida por Faggebakke et al. 1996), podemos estimar que entre el 26 y el 133% (media de

103% en 1996 y de 86% en 1997) del N medido experimentalmente en esta fracción durante los años húmedos estaría contenido en bacterias (Tabla 4.2).

**Tabla 4.1.** Contribución teórica de las bacterias y el material detrítico al carbono experimental de la fracción 0.2-1.0  $\mu\text{m}$  (ver texto para mayores explicaciones).

Referencia	Factores de Conversión	Año	C-Experimental $\mu\text{g C/l}$	% C bacteriano	% C detrítico
Simon & Azam (1989)	fg Prot. $\text{Cel}^{-1} = 88.6 \times^{0.59}$ fgC=fg Prot.*0.86	1995	0.03	0.01	99.00
		1996	0.02	0.01	99.00
		1997	0.02	0.01	99.00
		<b>Promedio</b>	<b>0.02</b>	<b>0.01</b>	<b>99.00</b>
Bjornsen (1986)	350 fg C $\mu\text{m}^{-3}$	1995	10.00	1.80	98.00
		1996	5.00	2.20	98.00
		1997	2.90	1.06	98.94
		<b>Promedio</b>	<b>5.97</b>	<b>1.69</b>	<b>98.31</b>
Scavia & Laird (1987)	154 fg C $\mu\text{m}^{-3}$	1995	5.00	0.80	99.00
		1996	2.20	1.00	99.00
		1997	1.30	0.47	99.53
		<b>Promedio</b>	<b>2.83</b>	<b>0.76</b>	<b>99.18</b>
Lee & Fuhrman (1987)	20 fg C $\text{cél}^{-1}$	1995	20.00	3.40	97.00
		1996	9.50	4.30	96.00
		1997	5.50	2.03	97.97
		<b>Promedio</b>	<b>11.67</b>	<b>3.24</b>	<b>96.99</b>
Nagata (1986)	106 fg C $\mu\text{m}^{-3}$	1995	3.00	0.50	99.00
		1996	1.50	0.70	99.00
		1997	0.90	0.32	99.68
		<b>Promedio</b>	<b>1.80</b>	<b>0.51</b>	<b>99.23</b>
Bratbak (1985)	560 fg C $\mu\text{m}^{-3}$	1995	17.00	2.80	97.00
		1996	8.00	3.60	96.00
		1997	4.60	1.70	98.30
		<b>Promedio</b>	<b>9.87</b>	<b>2.70</b>	<b>97.10</b>
Vadstein & Olsen (1989)	C:P 9.52	1995	27.00	4.80	95.00
		1996	20.60	8.20	92.00
		1997	28.70	9.00	90.99
		<b>Promedio</b>	<b>25.43</b>	<b>7.33</b>	<b>92.66</b>
Faggerbakke et al. (1996)	N:P 10.11	1995	60.00	10.60	89.00
		1996	45.80	18.00	82.00
		1997	63.10	19.00	80.95
		<b>Promedio</b>	<b>56.30</b>	<b>15.87</b>	<b>83.98</b>

**Tabla 4.2.** Contribución teórica de las bacterias y el material detrítico al nitrógeno experimental sobre una fracción 0.2-1.0  $\mu\text{m}$ . Los valores entre paréntesis representan el rango de variación.

Año	N-Experimental $\mu\text{g N l}^{-1}$	% N bacteriano	% N detrítico
1995	30.8	59 (6-99)	41 (1-94)
1996	33.1	103 (62-133)	0 (0-38)
1997	29.6	86 (26-109)	14 (0-74)

### Fitoplancton

La fracción comprendida entre 1 y 40  $\mu\text{m}$  se puede asumir como representativa del fitoplancton autótrofo (Capítulo II, pg. 34). A priori, tan sólo el detritus superior en tamaño a 1  $\mu\text{m}$ , algunas bacterias (por oclusión de los filtros) o los protozoos, podrían sesgar nuestras estimas para esta fracción. Los ciliados fueron escasos en el periodo de estudio y tan sólo puntualmente en 1996, el error asociado a esta generalización podría ser mayor. Para evaluar la posible interferencia de los ciliados en esta fracción, estimamos la biomasa de los ciliados en términos de C a partir del factor de conversión ampliamente establecido de 0.22  $\text{pg C } \mu\text{m}^{-3}$  (Wetzel & Likens, 1991). La contribución del C asociado a ciliados a la fracción  $> 1 \mu\text{m}$  se situó siempre por debajo del 4% para el periodo de estudio (media 1.35%). Por otra parte, la contribución de bacterias a la fracción fitoplanctónica puede ser considerada despreciable, como pone de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre la abundancia de bacterias antes y después de filtrar un volumen de agua del lago a través de un filtro GF/B de 1.0  $\mu\text{m}$  ( $P = 0.97$ ; eficiencia de filtración  $\approx 100\%$ ).

Por otro lado, hemos calculado la contribución del carbono detrítico en esta fracción siguiendo una aproximación basada en la relación C:clorofila  $a$ . Utilizando una razón de 100, característica de sistemas pobres en nutrientes (Welschmeyer & Lorenzen, 1984), el carbono teórico explicaría  $\sim 95\%$  del C experimental para los años de estudio, mientras que la utilización de una razón C:clorofila  $a$  de 200, característica de un fitoplancton intensamente limitado por P (Healey & Hendzel, 1980), supondría que el C



teórico contenido en las algas excedería ampliamente a aquel medido experimentalmente (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3.** Contribución teórica del fitoplancton al carbono experimental medido sobre un filtro de 1.0  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.

Año	C-Experimental $\mu\text{g C l}^{-1}$	% C Fitoplanctónico teórico (C:chl <i>a</i> = 100:1)	% C Fitoplanctónico teórico (C:chl <i>a</i> = 200:1)
1995	542.4	9.0	18.9
1996	185.7	95.1	190.2
1997	38.3	132.2	264.3

#### 4.3.2.- Estequiometría de bacterias y fitoplancton

Tanto la fracción bacteriana como la fitoplanctónica mostraron una gran variabilidad interanual en su composición en C (Figura 4.1). En líneas generales, los valores más altos de C entre 15 y 118  $\mu\text{M}$  para ambas fracciones se registraron en 1995 y los valores más bajos entre 4 y 29  $\mu\text{M}$  C durante los dos años siguientes. Mientras que el C de la fracción bacteriana fue alternativamente mayor o menor que aquel de la fracción algal, el carbono teóricamente estimado en el interior de las bacterias, tal y como describimos anteriormente (Tabla 4.1), fue siempre menor que aquel de ambas fracciones (Figura 4.1). Por su parte, tanto el N como el P fueron mucho más constantes interanualmente con un rango de variación que no excedió 10  $\mu\text{M}$  en el caso del N ó 0.6  $\mu\text{M}$  para el P.

Sin embargo, encontramos importantes diferencias estacionales en el contenido en C, N y P de ambas fracciones. Así, mientras que el N incrementó en la fracción bacteriana hacia finales del periodo libre de hielo de 1995 y 1997, este elemento se almacenó diferencialmente en la fracción fitoplanctónica en 1996. El P en la fracción bacteriana y fitoplanctónica decreció drásticamente después del deshielo en 1995 y a continuación fluctuó dentro de un rango relativamente estrecho hasta el final del periodo



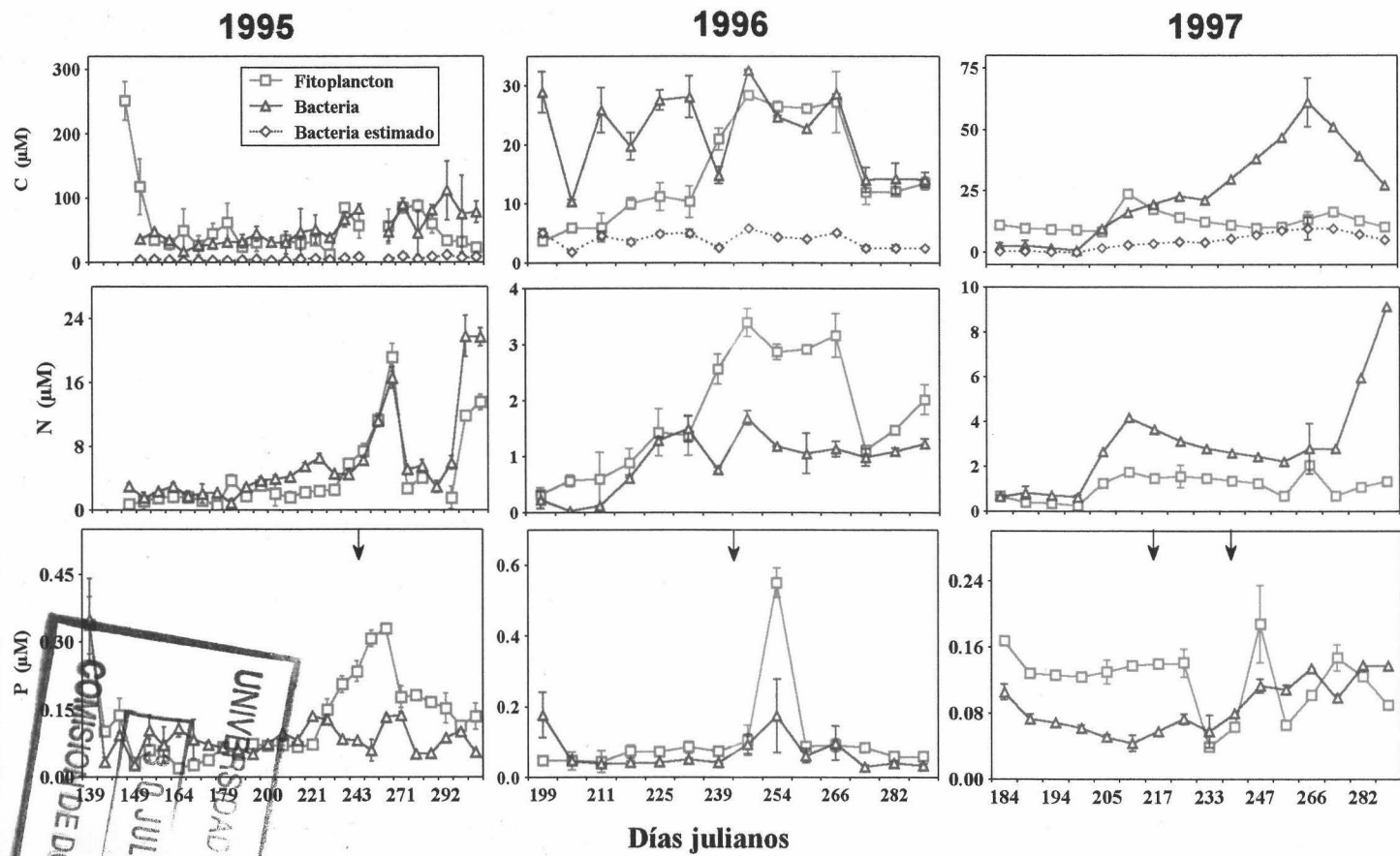
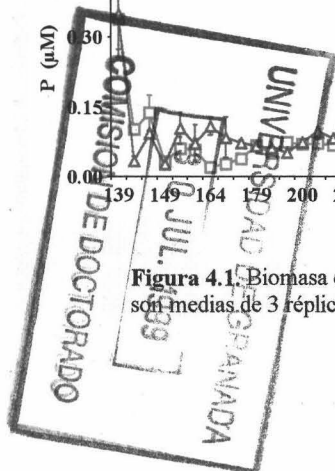
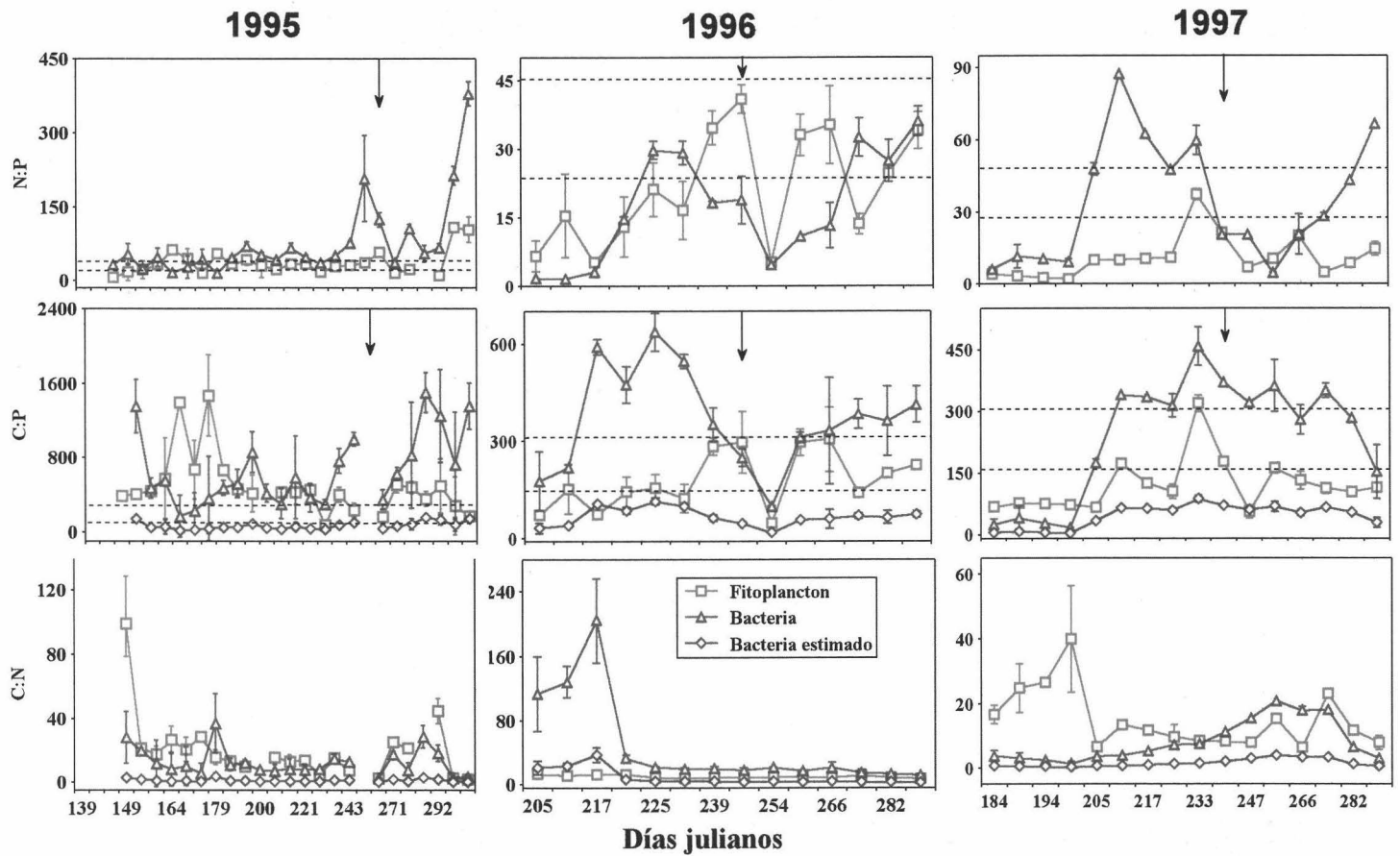


Figura 4.1. Biomasa de C, N y P del fitoplancton (cuadrados) y bacterioplancton (triángulos) durante el periodo de estudio (1995-97). Los valores son medias de 3 réplicas. Las flechas del panel inferior indican los días en los que ocurrieron precipitaciones.





**Figura 4.2.** Razones N:P, C:P y C:N del fitoplancton y bacterioplancton (experimental y estimadas) durante el periodo de estudio (1995-97). Las líneas discontinuas señalan los umbrales de limitación por P sugeridos por Healey & Hendzel (1980). Los valores son medias de tres réplicas.

estival (Figura 4.1). Las dinámicas del P en la fracción del fitoplancton se asemejaron a las de bacterias, a excepción de dos máximos bien definidos durante 1996 (día 254) y 1997 (día 247) inmediatamente posteriores a dos precipitaciones importantes de  $51 \text{ l m}^{-2}$  (día 246) y  $39 \text{ l m}^{-2}$  (día 239), respectivamente (Figura 4.1 y Figura 3.4). El incremento en P de la fracción fitoplanctónica tras un evento de este tipo alcanzó los  $0.55 \mu\text{M}$  de P en 1996, excediendo en más de 3 veces al experimentado por la fracción bacteriana (ver flechas en la Figura 4.1).

Las variaciones estacionales en las razones N:P y C:P a lo largo de 1995 no se ajustaron a ningún patrón bien definido (Figura 4.2) y en su conjunto, presentaron valores significativamente mayores a los de la razón de Redfield ( $C_{106}:N_{16}:P_1$ ), especialmente a partir de mediados de la estación libre de hielo. En concreto, la razón C:P del fitoplancton fue superior al valor de 257 sugerido por Healey & Hendzel (1980) para indicar condiciones de severa deficiencia por P durante todo el año de 1995 y tan sólo de forma puntual hacia la mitad del periodo estival de 1996 y 1997 (Figura 4.2). Atendiendo al criterio propuesto por estos autores, el fitoplancton durante la mayor parte de los años húmedos presentó una deficiencia moderada por este nutriente, con valores de la razón C:P que oscilaron entre 129 y 257. Durante dichos años, las razones N:P y C:P incrementaron en los primeros meses del periodo libre de hielo (julio-agosto) mostrando a continuación una tendencia decreciente que ocurre con posterioridad a precipitaciones en el área de La Caldera. Resulta llamativo el hecho de que esta fracción tan sólo se situó por debajo de estos umbrales en las primeras semanas después del deshielo o inmediatamente después de una precipitación, tal y como cabría esperar del incremento en la disponibilidad de P de origen alóctono (ver flechas en las Figura 4.1 y 4.2).

En contraste, la razón C:N exhibió un patrón relativamente constante en ambas fracciones, a excepción del período inmediatamente posterior al deshielo, cuando partículas en suspensión relativamente enriquecidas en C podrían haber sesgado nuestros resultados (Figura 4.2).

Con objeto de identificar las posibles causas de la variabilidad intranual en la composición elemental de algas y bacterias, se llevaron a cabo análisis de regresión por pasos para cada uno de los años de estudio. La selección de las variables potencialmente predictoras de la composición elemental del fitoplancton se realizó teniendo en cuenta los criterios de: (1) el efecto neto del zooplancton sobre el fitoplancton y bacterias (biomasa

del zooplancton), (2) la biomasa de las comunidades de bacterias y fitoplancton y (3) la disponibilidad de recursos para éstas últimas (PDT, DIN:TP).

Mientras que la razón N:P del fitoplancton se relacionó con la razón DIN:TP en 1995, ésta lo hizo con el zooplancton en 1996 y con la temperatura y biomasa de fitoplancton/zooplancton en 1997 (Tabla 4.4).

**Tabla 4.4.** Resultados de las regresiones por pasos entre la razón N:P del fitoplancton y algunos potenciales predictores (temperatura, PDT, DIN:TP y densidades de bacterias, fitoplancton y zooplancton) para (A) 1995, (B) 1996 y (C) 1997. Las variables no representadas son aquellas que no fueron admitidas en el análisis.

<b>A</b>	<b>B</b>	<b>SE (B)</b>	<b>t (16)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> multiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	12.214	11.462	1.066	—	—	.302
<b>DIN : TP</b>	.693	.268	2.579	0.542	0.294	.020*
	n = 18; r <sup>2</sup> = 0.294					
<b>B</b>	<b>B</b>	<b>SE (B)</b>	<b>t(3)</b>	<b>Correlación Parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> multiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	17.901	2.334	7.668	—	—	.005**
<b>Zooplancton (µg PS l<sup>-1</sup>)</b>	.851	.191	4.467	0.932	0.869	.021*
	n = 5; r <sup>2</sup> = 0.869					
<b>C</b>	<b>B</b>	<b>SE (B)</b>	<b>t(4)</b>	<b>Correlación Parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> multiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	5.379	2.591	2.076	—	—	.106
<b>Temperatura</b>	2.523	.348	7.243	.964	.435	.002**
<b>Fitoplancton (µg C l<sup>-1</sup>)</b>	-.469	.087	-5.375	-.937	.735	.006**
<b>Zooplancton (µg PS l<sup>-1</sup>)</b>	-.093	.0274	-3.409	-.863	.932	.027*
	n = 8; r <sup>2</sup> = 0.932					

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$

Para el examen de las causas potencialmente responsables de la razón N:P bacteriana, se utilizaron las mismas variables predictoras además de la biomasa de

ciliados por su reconocida capacidad de depredar sobre las bacterias. La razón N:P de las bacterias tan sólo se relacionó con la disponibilidad de nutrientes tal y como se evidencia de la relación positiva entre este parámetro y la razón DIN:TP en 1995 y con el PDT en 1997 (Tabla 4.5).

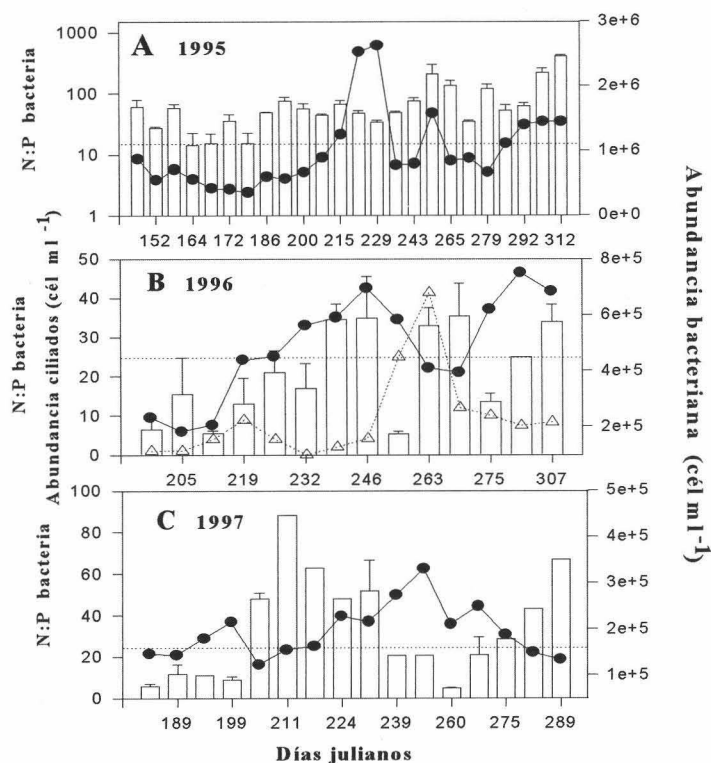
**Tabla 4.5.** Resultado de la regresión por pasos entre la razón N:P del bacterioplancton y algunos potenciales predictores (temperatura, PDT, DIN:TP y densidades de bacterias, fitoplancton, ciliados y zooplancton) para (A) 1995, (B) 1996 y (C) 1997. Las variables no representadas son aquellas que no fueron admitidas en el análisis.

<b>A</b>	<b>β</b>	<b>SE (β)</b>	<b>t(12)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> múltiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	57.852	45.040	1.284	—	—	.220
<b>DIN:TP</b>	2.608	.470	5.544	.829	.803	.00007***
<b>Temperatura</b>	-5.496	2.737	-2.009	-.473	.847	.064
n = 14; r <sup>2</sup> = 0.847						
<b>B</b>	<b>β</b>	<b>SE (β)</b>	<b>T(3)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> múltiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	-1.218	8.821	-.138	—	—	.898
<b>Bacterias (μg C l<sup>-1</sup>)</b>	1.363	.532	2.564	.829	.687	.083
n = 5; r <sup>2</sup> = 0.687						
<b>C</b>	<b>β</b>	<b>SE (β)</b>	<b>t(7)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>R<sup>2</sup> múltiple</b>	<b>P</b>
<b>Intercepción</b>	11.126	8.022	1.387	—	—	.208
<b>PDT</b>	20.650	4.949	4.172	.845	.713	.004**
n = 9; r <sup>2</sup> = 0.713						

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$

#### 4.3.3. Evaluación de la relación entre la estequiometría y las poblaciones de fitoplancton y bacterias

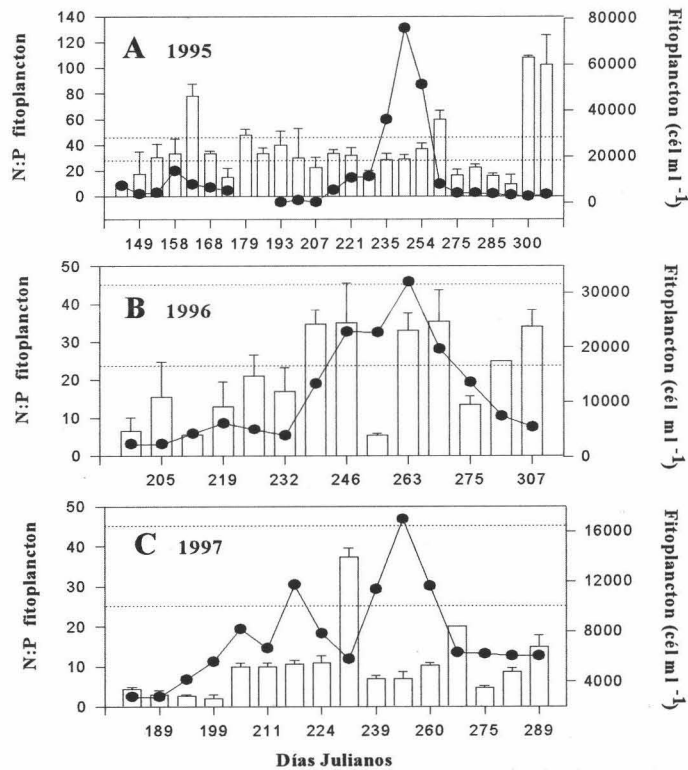
La Figura 4.3 muestra de forma simultánea la abundancia y la razón N:P en la fracción bacteriana a lo largo de los 3 años del estudio. No se observó ningún patrón consistente entre la abundancia y la razón N:P bacteriana en 1995.



**Figura 4.3.** Cambios estacionales e interanuales en la razón N:P bacteriana (barras) y la abundancia de bacterias (círculos) y ciliados (triángulos). Las líneas discontinuas señalan los umbrales de limitación por N o P sugeridos por Chrzanowski *et al.* (1996).

Sin embargo, la abundancia de bacterias mostró un incremento acoplado a valores de la razón N:P por debajo de 24 (indicativa de limitación por N; Chrzanowski *et al.*, 1996; Elser *et al.*, 1995b) durante el deshielo de los años de 1996 y 1997. En el día 254 de 1996 y, a pesar de registrarse los valores más bajos para esta razón, la abundancia celular decreció coincidiendo con un pico de abundancia de protozoos (Figura 4.3B).

La representación de la abundancia de fitoplancton frente a su razón N:P desde 1995 a 1997, igual que en el caso de las bacterias, no muestra un patrón definido en 1995 (Figura 4.4). Sin embargo, de forma coincidente con las anteriores, se observa que las razones N:P más bajas corresponden con una población de fitoplancton que se encuentra en crecimiento hasta comienzos de septiembre de los años húmedos y que muestra una tendencia decreciente a partir de este momento.



**Figura 4.4.** Cambios estacionales e interanuales en la razón N:P (barras) y la abundancia del fitoplancton (círculos). Las líneas discontinuas señalan los umbrales de limitación moderada y severa por P (Healey & Hendzel, 1980).

#### 4.2.4.- Producción y composición C:N:P de los organismos

Los valores de la producción primaria neta (TOC) más altos se obtuvieron a principios de agosto ( $1.33 \pm 0.53 \mu\text{g C l}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) en 1996 y en julio inmediatamente después

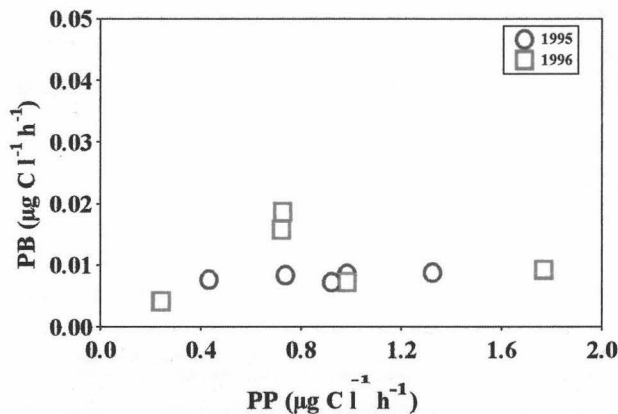


Tabla 4.6. Valores de TOC, POC<sub>1</sub> y PB a lo largo de los periodos libre de hielo de 1996 y 1997.

Fecha	Profundidad	TOC ( $\mu\text{gC l}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	POC <sub>1</sub> ( $\mu\text{gC l}^{-1} \text{h}^{-1}$ )	PB ( $\mu\text{gC l}^{-1} \text{h}^{-1}$ )
18/07/96	mezcla 2,4,6 m	0.44 ± 0.06	0.11 ± 0.02	0.0077 ± 0.0012
	<b>promedio</b>	<b>0.44 ± 0.06</b>	<b>0.11 ± 0.02</b>	<b>0.0077 ± 0.0012</b>
5/08/96	0.5	0.62 ± 0.07	0.18 ± 0.01	0.0078 ± 0.0031
	3	1.15 ± 0.17	0.53 ± 0.08	0.0087 ± 0.0011
	5	1.57 ± 0.19	0.60 ± 0.06	—
	8	1.96 ± 0.12	0.94 ± 0.06	0.0081 ± 0.0005
	<b>promedio</b>	<b>1.33</b>	<b>0.562</b>	<b>0.0082</b>
7/08/96	0.5	0.57 ± 0.03	0.27 ± 0.06	0.0066 ± 0.0036
	5	1.29 ± 0.33	0.49 ± 0.04	0.0083 ± 0.0016
	11	1.09 ± 0.03	0.64 ± 0.04	0.0108 ± 0.0011
	<b>promedio</b>	<b>0.98</b>	<b>0.47</b>	<b>0.0086</b>
20/09/96	0.5	0.91 ± 0.19	0.60 ± 0.14	—
	10	0.92 ± 0.06	0.27 ± 0.09	0.0072 ± 0.0008
	<b>promedio</b>	<b>0.92</b>	<b>0.43</b>	<b>0.0072 ± 0.0008</b>
23/09/96	0.5	0.44 ± 0.07	0.10 ± 0.02	—
	10	1.03 ± 0.10	0.57 ± 0.04	0.0069 ± 0.0029
	<b>promedio</b>	<b>0.74</b>	<b>0.33</b>	<b>0.0069 ± 0.0029</b>
17/7/97	0.5	0.74 ± 0.13	0.25 ± 0.05	0.0076 ± 0.0017
	5	3.28 ± 1.26	0.86 ± 0.18	—
	11	1.28 ± 0.13	0.64 ± 0.20	0.0108 ± 0.0019
	<b>promedio</b>	<b>1.77</b>	<b>0.59</b>	<b>0.0092</b>
5/8/97	0.5	0.63 ± 0.06	0.30 ± 0.05	0.0120 ± 0.0001
	5	0.82 ± 0.32	0.43 ± 0.11	—
	11	0.74 ± 0.03	0.49 ± 0.08	0.0255 ± 0.0055
	<b>promedio</b>	<b>0.73</b>	<b>0.41</b>	<b>0.0187</b>
13/8/97	0.5	0.40 ± 0.10	0.16 ± 0.02	0.0102 ± 0.0020
	5	0.56 ± 0.07	0.37 ± 0.01	0.0131 ± 0.0048
	8	1.21 ± 0.41	0.87 ± 0.22	0.0238 ± 0.0077
	<b>promedio</b>	<b>0.72</b>	<b>0.46</b>	<b>0.0157</b>
27/8/97	superficie	1.05 ± 0.05	0.79 ± 0.11	0.0084 ± 0.0029
	fondo	1.23 ± 0.12	0.80 ± 0.05	0.0061 ± 0.0002
	<b>promedio</b>	<b>1.14</b>	<b>0.79</b>	<b>0.0073</b>
10/10/97	superficie	0.13 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.0039 ± 0.0005
	fondo	0.40 ± 0.05	0.22 ± 0.04	—
	<b>promedio</b>	<b>0.26</b>	<b>0.14</b>	<b>0.0039 ± 0.0005</b>

del deshielo ( $1.77 \pm 1.36 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) en 1997 (Tabla 4.6). A pesar de las diferencias estacionales observadas, tanto el TOC como el  $\text{POC}_1$  oscilaron dentro de rangos similares interanualmente a excepción del valor del TOC que superó los  $3 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$  registrado a la profundidad intermedia de 5 m en julio de 1997. La producción primaria en la superficie (0.5 m) fue generalmente entre 2 y 3 veces menor que aquella de profundidades inferiores (Tabla 4.6). Las diferencias entre las medias diarias del TOC y  $\text{POC}_1$  se mantuvieron relativamente constantes a lo largo de 1996 y 1997, excepto en el deshielo donde las diferencias fueron máximas. Como promedio, el  $\text{POC}_1$  representó el 42% (rango 25–47%) y el 55% (rango 33–67%) del TOC en 1996 y 1997, respectivamente.

Los valores de producción bacteriana estuvieron dos órdenes de magnitud por debajo de aquellos obtenidos para la producción primaria, a excepción de la primera mitad de agosto de 1997 en que lo fueron en un único orden de magnitud (Tabla 4.6). La variación estacional en los valores de PB fue escasa en 1996 oscilando entre 0.0069 y  $0.011 \mu\text{g C l}^{-1}\text{h}^{-1}$ , mientras que estos valores mostraron un mayor grado de variación en 1997 al oscilar desde el mínimo de 0.0038 en el mes de octubre hasta los máximos de 0.024 ó 0.026 en las profundidades inferiores de la laguna en la primera quincena de agosto.



**Figura 4.5.** Relación entre la producción bacteriana (PB) y la producción primaria (PP) en 1996 y 1997.

No se observó relación alguna, entre la producción autotrófica (TOC) y la producción bacteriana para los años estudiados. Así, la producción bacteriana sólo varió 3 veces entre el máximo y el mínimo, mientras que la diferencia entre estos valores en la producción primaria fue de 7 veces (Figura 4.5).

La Figura 4.6 muestra la relación entre las razones C:P y N:P con la productividad del fitoplancton (Figura 4.6). A pesar de la escasez de datos, se observan dos tendencias decrecientes bien definidas para 1996 y 1997 que indican que los valores más bajos de las razones C:P o N:P, o lo que es lo mismo que el

fitoplancton rico en P en relación al C o N, coinciden con las productividades más elevadas.

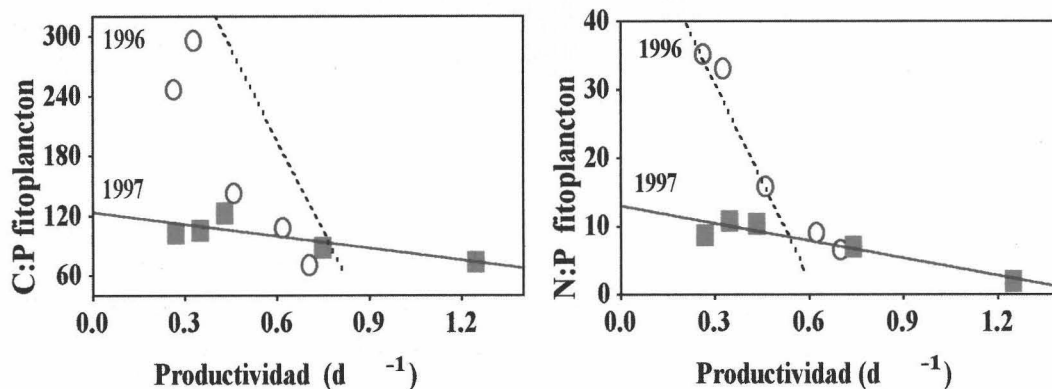


Figura 4.6. Relación entre la productividad y la razón C:P (A) y N:P (B) del fitoplancton.

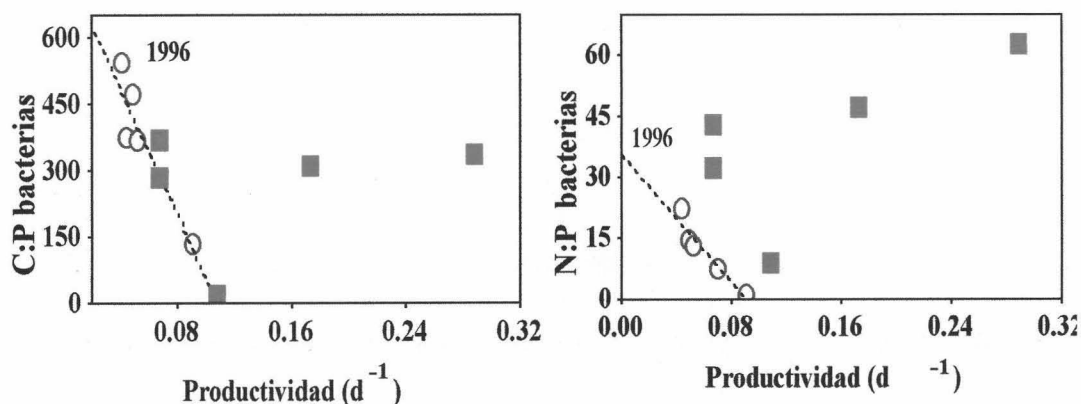


Figura 4.7. Relación entre la productividad y la razón C:P (A) y N:P (B) del bacterioplancton en 1996 y 1997.

Por otra parte, las razones C:P y N:P bacterianas tan sólo se relacionaron con la productividad bacteriana en el año de 1996 (Figura 4.7). Es importante destacar los puntos de corte de ambas regresiones con el eje Y que indican los valores umbrales de las razones N:P (35.5) y C:P (770) por encima de los cuales la productividad bacteriana se sería cero.

#### 4.2.5.- Respuesta a corto plazo de fitoplancton y bacterias a la modificación de la razón N:P del sustrato

La magnitud de la respuesta de la producción primaria y bacteriana a la adición de P para cada tratamiento se expresó en términos absolutos (Tabla 4.7) y en términos de productividad relativa (Figura 4.8) tras dividir los valores obtenidos para cada uno de los 3 tratamientos por la media de los controles, de forma que, una respuesta mayor de 1 sería interpretada como un efecto de estimulación de la productividad.

Dos experimentos se llevaron a cabo en diferentes periodos de la laguna en 1997 (máximo desarrollo de las poblaciones y finales del periodo de deshielo), con objeto de determinar la respuesta a corto plazo del fitoplancton y las bacterias a la adición de P a diferentes razones iniciales N:P del sustrato y examinar las diferencias estacionales en dicha respuesta.

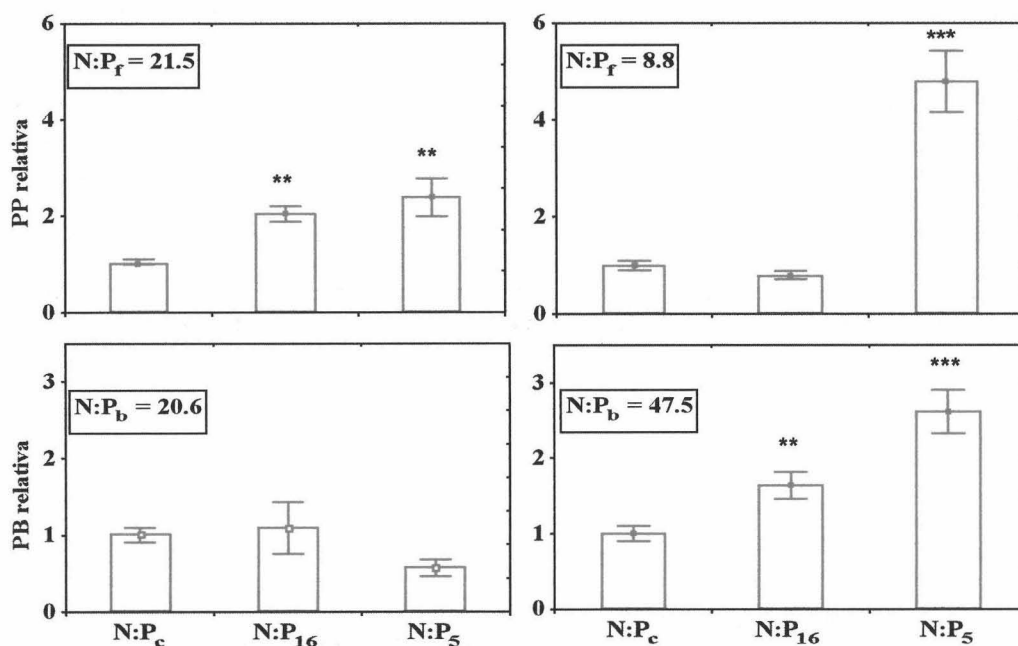
**Tabla 4.7.** Valores de TOC y PB a diferentes razones N:P del sustrato (N:Pc, control; N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>).

Fecha	TOC ( $\mu\text{gC l}^{-1} \text{h}^{-1}$ )			PB ( $\text{ngC l}^{-1} \text{h}^{-1}$ )		
	N:Pc	N:P <sub>16</sub>	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	N:P <sub>16</sub>	N:P <sub>5</sub>
<b>AGOSTO</b>	0.27 ± 0.11	0.55 ± 0.04	0.64 ± 0.11	8.42 ± 2.91	7.20 ± 2.86	4.80 ± 0.93
<b>OCTUBRE</b>	0.40 ± 0.05	0.32 ± 0.03	1.90 ± 0.25	3.94 ± 0.49	6.46 ± 0.70	10.32 ± 1.15

En el caso de las algas, la producción primaria neta (Tabla 4.7) y la productividad (Figura 4.8) se duplicaron con respecto al control cuando se añadieron nutrientes (tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>) en el experimento de agosto. Sin embargo, en octubre la estimulación ocurrió sólo para el tratamiento N:P<sub>5</sub>. La razón N:P de las algas al inicio del experimento fue de 21.5 y 8.8 para agosto y octubre, respectivamente (Figura 4.8).

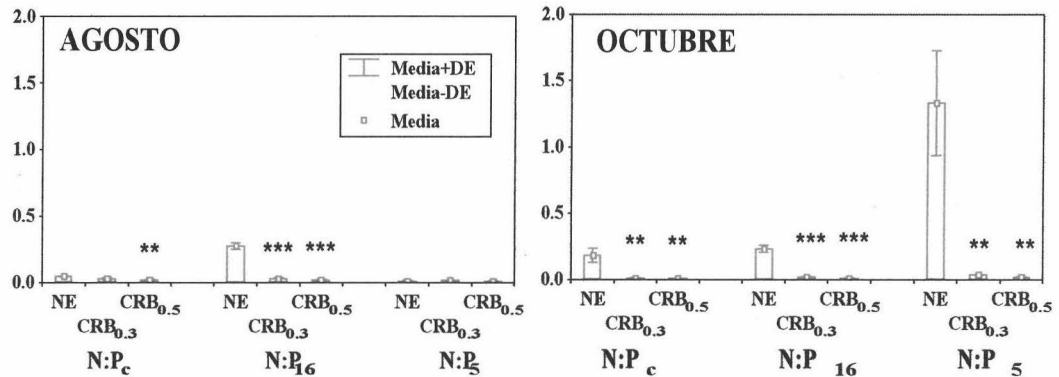
En el caso de las bacterias, la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos control y enriquecidos en el experimento de agosto contrastó con el efecto

estimulador que concentraciones crecientes de P tuvieron en la producción bacteriana de octubre (Figura 4.8). La razón N:P<sub>b</sub> inicial para el experimento de octubre fue dos veces superior a aquella medida en el experimento de agosto.



**Figura 4.8.** Productividad bacteriana y fitoplanctónica relativas (tratamientos divididos por el control) a distintas razones N:P del sustrato durante los experimentos llevados a cabo en agosto y octubre de 1997. En el interior de cada gráfica se expresan las razones N:P iniciales para bacterias y fitoplancton (N:P<sub>b</sub> y N:P<sub>f</sub>).

La tasa de excreción neta de C por parte de las algas (NE) sólo aumentó para el tratamiento N:P<sub>16</sub> con respecto al tratamiento control en el experimento de agosto (Figura 4.9). No ocurrió así en el experimento de octubre, cuando estas tasas fueron del mismo orden para los tratamientos N:P<sub>c</sub> y N:P<sub>16</sub>, pero se multiplicaron por encima de 6 para el tratamiento N:P<sub>5</sub>. Además, la tasa de excreción neta de C fue claramente superior a los requerimientos de C por parte de las bacterias en el tratamiento N:P<sub>16</sub> ( $CRB_{0.3} < NE > CRB_{0.5}$ ) y sólo de forma parcial en el tratamiento control ( $CRB_{0.3}$  ns.  $NE > CRB_{0.5}$ ) de agosto (Figura 4.9). Por el contrario, las tasas de excreción neta superaron a los requerimientos bacterianos de C muy significativamente para todos los tratamientos en octubre ( $NE > CRB_{0.3, 0.5}$ ; Figura 4.9).



**Figura 4.9.** Comparación entre la excreción neta (NE) y el carbono orgánico requerido por el bacterioplancton (CRB) para las eficiencias de crecimiento de 0.3 (CRB0.3) y 0.5 (CRB0.5). Comparaciones Post Hoc (test LSD) entre NE y CRB<sub>0.3</sub>/CRB<sub>0.5</sub> y significaciones ajustadas al test de Bonferroni. \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\*P < 0.001.

### 4.3.- DISCUSIÓN

#### 4.3.1.- Estequiometría de las fracciones bacteriana y fitoplanctónica

La estima del carbono detrítico, a pesar de constituir la mayor parte de la fracción bacteriana, se situó dentro de las descritas por Elser et al. (1995b) para un lago oligotrófico. Es más, nuestros resultados parecen indicar, coincidiendo con este estudio, que el  $C > N > P$  contribuyen por orden de importancia a la fracción detrítica de los ambientes dulceacuícolas, lo que justificaría la utilización preferente de los dos últimos elementos y particularmente de la razón N:P a la hora de caracterizar químicamente a la fracción  $< 1.0 \mu\text{m}$ . Por otro lado, la similitud en los datos experimentales con aquellos obtenidos a través de conversiones teóricas ( $C:\text{chl } a = 100$ ) indican que el C medido sobre un filtro de  $1 \mu\text{m}$  de diámetro de poro constituye una gran proporción de aquel contenido en las algas, o en otras palabras, que la interferencia del detritus en la fracción fitoplanctónica no es significativamente importante.

Tanto el contenido elemental como las razones C:N:P de las fracciones bacterianas y fitoplanctónicas se encuentran dentro del mismo rango establecido en

**Tabla 4.8.** Valores de la razón C:P en bacterias, fitoplancton y seston en diferentes estudios.

Bacteria	Fitoplancton	Seston	Sistema/Especies	Referencia
	250 – 1000		Oligo-Meso-Eutrófico	Elser et al., 1995b
192 – 434	405 – 574		Mesotrófico	Sterner et al., 1995b
31 – 515			Bacterias cultivadas	Tezuka, 1990
7.7 – 56.0			"	Bratkak, 1985
32 – 130			"	Nakano, 1994
	89 – 359		Sistemas marinos	Goldman et al., 1978
39 – 131	72 – 521		"	Goldman et al., 1987
7.2 -- 76				Vadstein et al., 1988
22 -- 152				Vadstein & Olsen, 1989
141 (77 – 216)			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Chrzanowski & Kyle, 1996
132.5 (63.4 – 215.6)			Oligotrófico	Chrzanowski et al., 1996
53.7 (37.39 – 64.5)			Oligo-Meso-Eutrófico	Fagerbakke et al., 1996
	64.6 – 988.5			Olsen, 1988; Sommer, 1990
	130 (97 – 185)		Eutrófico	Behrendt, 1990
		6.9 – 988.7		Hessen & Lyche, 1991
		84 (56 – 127) y 45.5 (35.1 – 58.9)	Meso-Hipereutrófico	Watanabe, Y, 1990
		120 – 1500	Mesotrófico	Elser & George, 1993
		52.2 (31.7 – 89.6)	"	Urabe, 1993
		34.5 – 200	"	Tezuka, 1985; Nakanishi et al., 1990
		727 (353 – 1271)	"	Kreeger et al., 1997
		615 (188 – 1374)	Eutrófico	
		13 – 125	Eutrófico	Aizaki & Otsuki, 87
		62.5 – 200	Hipereutrófico	Andersen & Hessen, 91
		35.7 – 166.7	Oligo-Eutrófico	Healey & Henzel, 1980
752 (195 – 1586)	752 (195 – 1586)		Oligotrófico, La Caldera 1995	<b>Este estudio</b>
401 (99 – 640)	177 (48 – 298)		La Caldera 1996	
207 (18 – 394)	122 (56 – 320)		La Caldera 1997	



**Tabla 4.9.** Valores de la razón N:P en bacterias, fitoplancton y seston en diferentes estudios.

Bacteria	Fitoplancton	Seston	Sistema/Especie	Referencia
17 – 45			Oligo-Meso-Eutrófico	Elser et al., 1995b
24.1 – 32.0	38.9 – 55.9		Mesotrófico	Sterner et al., 1995b
10.0			Sistemas marinos	Goldman et al., 1987
19.8 (10 – 27)			<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Chrzanowski & Kyle, 1996
13.0 (6.7 – 21.7)			Oligotrófico	Chrzanowski et al., 1996
	16.3		Eutrófico	Gerloff and Skoog, 1957
		5 – 30	Oligotrófico	Carrillo et al., 1996a
		5 – 60	Oligo-Meso-Eutrófico	Hecky & George, 1993
		10 – 100	Mesotrófico	Elser & George, 1993
		14.7	Hipereutrófico	Takamura & Iwakuma, 1991
		6.4		Fukushima et al., 1991
		6.6 (4.2 – 10.0)		Urabe, 1993
		31 (18 – 56)	Mesotrófico	Kreeger et al., 1997
		5 (0.5 – 15)	Eutrófico	
56.2 (15.2 – 133.5)	36.8 (6.0 – 108.0)		Oligotrófico, La Caldera 95	<b>Este estudio</b>
0.3 (17.7 – 36.2)	21.0 (5.2 – 35.3)		La Caldera 96	
28.2 (4.8 – 66.6)	12.3 (21.1 – 37.3)		La Caldera 97	

estudios que utilizan similares metodologías (Tablas 4.8 y 4.9) y mostraron una gran variabilidad estacional e interanual, lo que parece ser una característica general de estas fracciones, independientemente del estado trófico del lago (Elser et al., 1995b; Kreeger et al., 1988).

No obstante, los procesos derivados del deshielo afectaron de forma considerable a los contenidos elementales de estas fracciones, posiblemente como consecuencia de una mayor cantidad de partículas en suspensión, y en especial para aquellas razones que incluyen el C. En este sentido, la media de la razón C:N bacteriana, cuando deliberadamente se excluyeron los valores iniciales inmediatamente posteriores al deshielo, fue de 17, que junto al valor medio de 15 en 1997, se encontraría en el límite superior del rango descrito (2.8–17.2) para una gran variedad de bacterias (marinas, de agua dulce, quimioautótrofas, heterótrofas) desarrolladas bajo condiciones muy diversas (cultivos puros o mixtos, condiciones aerobias o anaerobias, etc.) (Bratbak, 1985; Nagata, 1986; Lee & Fuhrman, 1987; Goldman et al., 1987c; Brinch-Iversen & King, 1990; Tezuka, 1990; Kroer, 1994; Chrzanowski & Kyle, 1996) .

Chrzanowski et al. (1996) han sugerido la existencia de un umbral en el crecimiento de las bacterias a una razón N:P de 20-24, por encima del cual el P sería deficitario para las bacterias que experimentarían bajas tasas de crecimiento. Nuestros resultados para las dinámicas elementales bacterianas soportan dicha predicción en 1996, cuando el mayor incremento en las abundancias de las bacterias ocurre a razones N:P bacterianas inferiores a este umbral (Figura 4.3). Sin embargo, la aparición de un pico de ciliados a finales de septiembre de 1996 resalta la importancia del papel que los depredadores de bacterias pueden ejercer en las desviaciones con respecto al patrón anterior, en donde a pesar de existir una razón N:P baja (inferior a 20 en el día 254), las bacterias decrecieron (Figura 4.3B). Un efecto de depredación similar, aunque ejercido por otros organismos, podría ser igualmente responsable de la divergencia con respecto a este patrón desde mediados hasta el finales del periodo libre de hielo de 1996 y 1997, pero en este caso ejercido por el zooplancton.

De acuerdo con el criterio de deficiencia en nutrientes propuestos por Healey & Hendzel (1980), según el cual el fitoplancton se encontraría sometido a una moderada o intensa limitación por P por encima de un valor de la razón C:P de 129 o de 257, podemos especular con que el fitoplancton en La Caldera estuvo expuesto a periodos de

severa limitación por P tan sólo en 1995. A lo largo del periodo libre de hielo de 1996 y 1997, las algas pasaron de una fase no limitada en teoría por P, a encontrarse moderadamente limitadas por este elemento hacia mitad de agosto. No obstante, las descensos drásticos en las razones C:P y N:P fitoplanctónicas asociadas a entradas alóctonas atmosféricas, indican el papel relevante que éstas poseen en el aporte de nutrientes deficitarios, fundamentalmente P, para el crecimiento de las algas.

#### 4.3.2.- Factores que afectan a la estequiometría de algas y bacterias

La predicción de que la composición celular varía en función las tasas de crecimiento y de la productividad está ampliamente aceptada en el campo de la fisiología básica (Chrzanowski et al., 1996). El primer estudio en relacionar las tasas de crecimiento con el contenido elemental fue realizado por Droop (1974) para cultivos donde las algas crecían limitadas por un nutriente. En el estudio estequiométrico de la limitación nutricional de las algas, Sterner (1995) retomó estos mismos conceptos expresando el contenido nutricional celular del modelo de Droop (*cell quota*) como la razón nutriente:C. Los resultados de Sterner (1995) demostraron que existía una relación negativa entre las tasas de crecimiento y las razones C:P y C:N algales. Es más, de forma consistente con nuestros resultados, este autor encontró que estas relaciones fueron variables y se estaban definidas por pendientes muy distintas que atribuyó a diferencias taxonómicas en las especies de fitoplancton empleadas.

Nuestros resultados apoyan las observaciones de Sterner (1994) en el sentido de que las razones C:P sestónicas varían en un amplio margen y se encuentran inversamente relacionadas con la productividad y por tanto con la tasa de crecimiento del fitoplancton (Figura 4.6), en un patrón que es igualmente válido para las razones N:P sestónicas y que ampliamos parcialmente para las bacterias en 1996 (Figura 4.7). Además, el hecho de que las tendencias mostradas en las relaciones entre las razones C:P y N:P y la productividad del fitoplancton posean pendientes distintas para 1996 y 1997 (Figura 4.6), indica las características peculiares de estas relaciones entre años. Es posible que el origen de este fenómeno se encuentre no tanto en la composición taxonómica del fitoplancton semejante entre años, sino en la relación positiva que a su vez existe entre el zooplancton y las razones N:P y C:P del fitoplancton en 1996 y 1997 (Tabla 4.4). En este sentido, la escasa abundancia de zooplancton en 1996 aliviaría el control "top-down" ejercido sobre el fitoplancton que, como consecuencia, podría crecer hasta encontrarse limitado por P mostrando razones C:P y N:P mayores en 1996 que en 1997.

Estos resultados, permiten sugerir que la presión de depredación modifica la capacidad del fitoplancton de almacenar P en relación al C o N y por tanto, actúa indirectamente modificando la relación fitoplancton-bacteria. Además, estas relaciones supondrían que la productividad del fitoplancton se haría cero por encima de una razón N:P ~13 en 1997 pero superior a 55 en 1996. De forma similar, la productividad bacteriana en 1996 registraría valores positivos cuando la razón bacteriana no superase el valor de 35.5.

Finalmente, la ausencia de relación entre la producción bacteriana y fitoplanctónica, en nuestro estudio (Figura 4.5), coincide con resultados de estudios anteriores (Pace & Cole, 1994b; Reche, 1995). Para Le et al. (1994) el grado de desacoplamiento de algas y bacterias con la razón N:P inorgánica se debe a la limitación por nutrientes.

#### ***4.3.3.- Respuesta del fitoplancton y las bacterias a un pulso experimental a distintas razones iniciales N:P del substrato***

El efecto contradictorio de la adición de P en la producción bacteriana durante los experimentos de agosto y octubre podría ser interpretado a la luz de los diferentes requerimientos nutricionales de las bacterias. De hecho, este argumento aparecería apoyado por la razón N:P bacteriana que fue de 20.6 en el primer experimento y de 47.5 en el segundo (Figura 4.8). Como sugieren el umbral de limitación establecido por Elser et al. (1995b) y Chrzanowski et al. (1996), las bacterias podrían estar limitadas por algún nutriente diferente al P en agosto, lo que justificaría en nuestra opinión la ausencia de una respuesta positiva de la PB al aporte de P. En este sentido, un elemento potencialmente limitante para la PB podría ser el C. Esta hipótesis se encontraría respaldada por el hecho de que las demandas de C orgánico por las bacterias fueron del mismo orden que la excreción neta de C orgánico por parte de las algas en 2 de los 3 tratamientos practicados en el experimento de agosto (Figura 4.9). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Reche et al. (1996) para este mismo sistema que indican que las tasas de excreción neta de C por parte de las algas son mucho más próximas e incluso inferiores a los requerimientos de C bacterianos durante julio y agosto que a lo largo del mes de septiembre en que el C excretado excede ampliamente a las demandas bacterianas por este elemento.

Por otro lado, la estimulación en el crecimiento de bacterias ante un aporte de P en el experimento de octubre señalaría que éstas se encontrarían limitadas por este nutriente, tal y como se ha observado anteriormente en muchos sistemas dulceacuícolas (ej. Currie & Kalff, 1984; Coveney & Wetzel, 1992) y de como sugiere su razón N:P inicial de 47.5 muy superior al umbral de 20-24. A pesar de la incertidumbre en el origen de la limitación de la PB en agosto, los resultados nos permiten afirmar que las bacterias se encuentran en estados fisiológicos muy diferentes estacionalmente y que posiblemente, transiten desde una limitación por C de origen fotosintético a una limitación por P en octubre.

Las algas por el contrario, mostraron una respuesta positiva a la adición de nutrientes en un esquema que se repitió en los dos experimentos llevados a cabo, a excepción del tratamiento N:P<sub>16</sub> en octubre. Las razones N:P iniciales en las algas de 21.5 en agosto y 8.8 en octubre, indican que el fitoplancton se encontraría por debajo del umbral de limitación por P (Healey & Hendzel, 1980), aunque muy cercano a éste, en el primer caso. A pesar de ello, la productividad de las algas se duplicó en los tratamientos enriquecidos de agosto (Figura 4.8). Sin embargo, cuando las algas no estuvieron teóricamente limitadas por P en octubre ( $N:P_f = 8.8$ ), la productividad fue considerablemente mayor en aquel tratamiento que recibió un substrato cuya razón N:P más asemejó a la razón N:P<sub>f</sub> inicial, lo que sugiere la existencia de una relación positiva entre el grado de similitud de la razón N:P del substrato /algas y la productividad de las algas en octubre.

Valorando de forma conjunta la respuesta de algas y bacterias al aporte experimental de P, coincidimos con Reche (1995) que argumenta que el suministro de C orgánico desde el fitoplancton puede ser el principal factor en el control de la producción bacteriana, al menos durante la mayor parte del periodo libre de hielo. Sin embargo, la interacción algas-bacterias transitaría estacionalmente desde una relación comensalista provocada por la dependencia bacteriana del C fotosintético a una relación de competencia por el P disponible.

Aunque reconocemos el peligro de extender nuestros resultados a partir de tan sólo dos experimentos, podemos sin embargo, señalar que la importancia que el P tiene para bacterias y algas difiere en intensidad, en el tiempo y que depende de los requerimientos elementales de algas y bacterias dictados a su vez por su composición estequiométrica interna.

Los efectos derivados de la escasez de P y de su papel clave en la limitación de la producción autotrófica y en ocasiones bacteriana (Reche, 1995), podrían explicar cambios en la naturaleza de la interacción algas-bacterias promovidos por el aporte de este elemento, bien a través del reciclado originado por intensidades de depredación fluctuantes o, como consecuencia de entradas externas.

#### 4.4.- CONCLUSIONES FINALES

Del análisis de nuestros resultados se deriva que tanto el zooplancton como las entradas externas de nutrientes son críticas para el crecimiento y composición elemental de las algas, mientras que tan sólo las segundas se revelan como fundamentales en la composición elemental de bacterias.

Por una parte, el efecto dual del reciclado y de la depredación por parte del zooplancton sobre los niveles tróficos inferiores, se evidenciaría en la relación positiva que existe entre las razones N:P y C:P del fitoplancton y la biomasa del zooplancton. Por la otra, existen descensos puntuales pronunciados en las razones C:P y N:P de bacterias y fitoplancton inmediatamente posteriores a cargas atmosféricas en la laguna (ver flechas en Figura 4.1 y 4.2) y coincidiendo con incrementos en sus poblaciones (Figuras 4.3 y 4.4). Estos argumentos apuntan en la dirección de atribuir un estricto control “top-down” por parte del zooplancton sobre la composición elemental del fitoplancton, aunque modulado por un control “bottom-up” más esporádico y asociado al aporte de nutrientes a través de eventos atmosféricos o procesos derivados del deshielo.

Finalmente, la relación entre la composición bacteriana y la disponibilidad del P (Tabla 4.4) indica que las bacterias dependen en gran medida de este elemento para su desarrollo. No obstante, los experimentos de producción bacteriana después de adicionar P indicaron que este elemento junto al C podrían actuar alternativamente regulando la estequiometría de las poblaciones bacterianas.

*CAPÍTULO V*

---

---

**RESPUESTA DE BACTERIAS, FITOPLANCTON Y  
CILIADOS A UN APORTE EXPERIMENTAL DE P  
A DIFERENTES RAZONES N:P INICIALES**





## 5.1.- INTRODUCCIÓN

En el Capítulo anterior hemos aportado evidencias del efecto que un enriquecimiento natural (aporte de materiales de procedencia atmosférica) del ecosistema tiene sobre la composición estequiométrica de algas y bacterias. Sin embargo, la complejidad del ecosistema, que incluye interacciones de depredación-presa mediatizadas fundamentalmente por el zooplancton, no permitía evaluar la intensidad y extensión de este efecto en relación con las diferencias en la composición específica y estado nutricional de algas y bacterias a lo largo del periodo libre de hielo.

Existen numerosos estudios limnológicos que señalan la importancia de las razones del suministro de nutrientes en la composición elemental de bacterias y algas (ej. Barica et al., 1980; Suttle & Harrison, 1988; Sommer, 1989; Elser et al., 1995b; Chrzanowski et al., 1995), sin embargo, son escasos los estudios que abordan *in situ* el grado en que las bacterias y algas reflejan la razón de sus recursos y de cómo éstos, en última instancia, afectan a la competencia entre estos dos grupos de organismos.

Por ello, en este Capítulo nos centramos en evaluar el efecto que sobre la interacción alga-bacteria ejerce un aporte experimental de P en el que además controlamos, al menos inicialmente, la relación N:P del substrato inorgánico que es suministrado. Concretamente, nos proponemos:

- (1) analizar experimentalmente la respuesta a “medio plazo” ante un aporte experimental de P a distintas razones N:P iniciales en la abundancia, biomasa y composición química de los compartimentos  $< 40 \mu\text{m}$  (bacterias, fitoplancton y protozoos).
- (2) estudiar los cambios estacionales en la respuesta de las comunidades planctónicas a las condiciones experimentales anteriores. Para ello, los experimentos planteados se llevaron a cabo en 3 momentos coincidiendo con el deshielo, mitad y finales del periodo libre de hielo.

## 5.2.- MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.2.1.- *Diseño experimental*

Para la consecución de los objetivos anteriores, se siguió el diseño experimental que se detalla, de forma esquemática, en la Figura 5.1.

Los experimentos se iniciaron a partir de un integrado de agua del lago (0.5, 5, 8 y 10.5 m) que se dispuso en un contenedor de 65 l, previa filtración a través de una red de 40  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro con objeto de retirar el macrozooplancton (Figura 5.1). Después de homogenizada y agitada, el agua se repartió en 3 contenedores de menor tamaño de 20 l sobre los que se establecieron cada uno de los tratamientos ensayados:

- Tratamiento control, N:P<sub>c</sub>: no recibió ningún compuesto
- Tratamiento próximo a Redfield, N:P<sub>16</sub>: adición de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- Tratamiento enriquecido en fósforo, N:P<sub>5</sub>: adición de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

Puesto que la razón inorgánica N:P del medio siempre superó el valor de 16, la cantidad de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> a añadir en los tratamientos enriquecidos se calculó en base a las concentraciones de nutrientes inorgánicos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y SRP) en el lago dos días antes de cada experimento. A partir de cada contenedor de 20 l se llenaron 3 botellas de 5 l de capacidad en un diseño factorial final de 9 botellas (Figura 5.1). El volumen de agua restante de cada contenedor de 20 l se utilizó para la determinación de las concentraciones iniciales de nutrientes inorgánicos (NT, NDT, DIN, PT, PDT y PRS), la abundancia y composición estequiométrica de bacterias (0.2-1.0  $\mu\text{m}$ ), algas (1-10  $\mu\text{m}$ ) y ciliados (10-40  $\mu\text{m}$ ), la concentración de clorofila *a* y finalmente, la proporción entre bacterias activas y latentes (Figura 5.1). La determinación de la clorofila *a* y bacterias activas no se realizó para el primer experimento.

Todas las botellas fueron incubadas a la profundidad correspondiente al 50 % de extinción de la luz y se dispusieron de forma aleatoria suspendidas desde un emparrillado mantenido en superficie por dos flotadores (Figura 5.1).

El tiempo de incubación final fue de 8 días para el primer experimento y de 15 días para los experimentos 2 y 3. Los experimentos fueron muestreados a intervalos más cortos de tiempo con objeto de describir los cambios en la composición química del agua (N y P) y en la abundancia y composición de las fracciones < 40  $\mu\text{m}$  (intervalos específicos de incubación en la Figura 5.1).

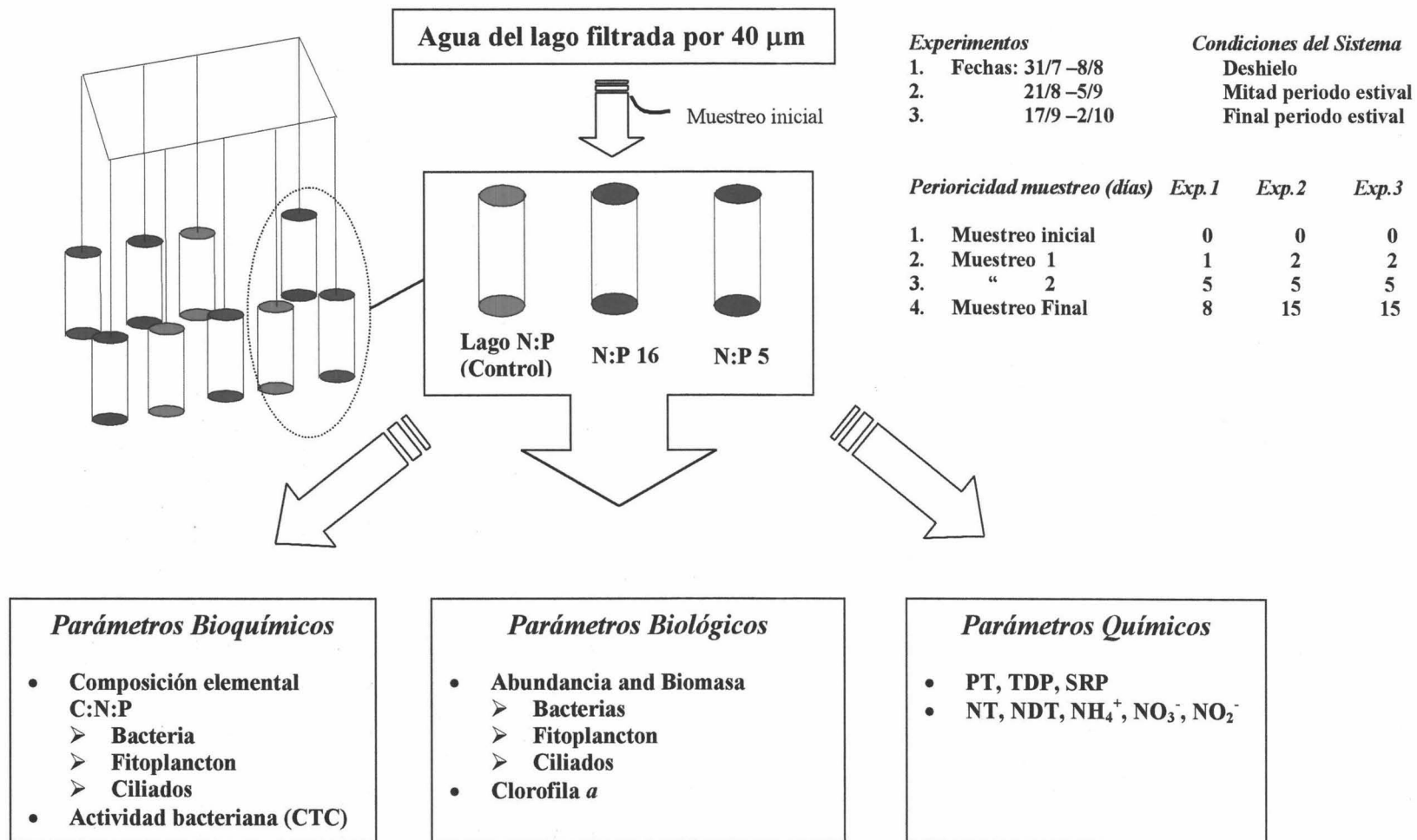


Figura 5.1. Diseño de los experimentos llevados a cabo en 1997.

A lo largo del periodo de incubación, en cada ocasión, se extrajo un volumen de 1 l de cada botella experimental en el que se determinaron la concentración de clorofila *a*, la abundancia de los organismos < 40  $\mu\text{m}$  (bacterias, fitoplancton y ciliados) y los parámetros químicos del agua. La concentración de clorofila *a* se midió fluorimétricamente (Turner Model 450) a partir de un extracto de acetona (90%) obtenido de un volumen máximo de 100 ml previamente filtrado a través de un filtro GF/F (Wetzel & Likens, 1991). El valor de la concentración de clorofila *a* se obtuvo a partir de una curva estándar realizado utilizando un extracto de clorofila *a* pura (Sigma). La cuantificación de la abundancia de ciliados se realizó a partir de muestras de 300 ml que se fijaron tal y como se describe en el Capítulo II. El volumen de agua restante fue utilizado para la determinación de todos los parámetros químicos anteriormente especificados.

El análisis de las bacterias metabólicamente activas se realizó a partir de muestras tomadas de la misma forma que las muestras de bacterias totales y mediante la técnica del CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) puesta a punto por Rodriguez et al. (1992) y modificada por Del Giorgio & Scarborough (1995) y Medina-Sánchez et al. (en preparación). Las muestras de agua de la laguna fueron transportadas en frío y oscuridad hasta el laboratorio, donde un volumen de 4 ml por muestra se dispuso en tubos estériles de 6 ml de capacidad a los que se añadió una solución CTC 50 mM (concentración final 5 mM). A continuación las muestras, en triplicado, fueron incubadas durante 6 h en oscuridad y a temperatura constante (igual a la de la laguna) en una cámara de cultivo. Transcurrido este tiempo, fueron fijadas con formaldehído (neutralizado y filtrado por 0.2  $\mu\text{m}$ ) hasta alcanzar una concentración final del 3%. Los controles de CTC recibieron el mismo tratamiento anterior aunque las muestras fueron fijadas al comienzo de la incubación. El contaje de las muestras se realizó mediante citometría de flujo cuyos canales habían sido previamente ajustados para detectar un rango de tamaño de partículas comprendido entre 0.2 y 1.0  $\mu\text{m}$  y una fluorescencia de 600 nm característica de la molécula de CTC.

Para calcular la abundancia total de bacterias activas a partir de los valores obtenidos por citometría de flujo se elaboró la correspondiente curva de calibración entre bacterias contadas en microscopía de epifluorescencia (*y*) y bacterias contadas en citometría de flujo (*x*) obteniéndose la siguiente expresión:

$$y = 92.949 + 1.029 * x$$

$$r = 0.98; P = 0.001$$

### 5.2.2.- *Elaboración de datos*

En la literatura limnológica, la determinación de las tasas de consumo de un nutriente se ha basado tradicionalmente en la medida de la velocidad en la desaparición de las formas inorgánicas de dicho nutriente tras un pulso del mismo (Currie et al., 1986; Jürgens & Güde, 1990; Vadstein et al., 1993; Thingstad et al., 1996; 1998). En nuestra opinión, una de las mayores objeciones asociadas a este método pasa por el establecimiento del tiempo adecuado de incubación y medida; por ejemplo, Taft et al. (1975) demostró que el consumo de P declinó transcurridos entre 15 y 60 min. La puesta a punto de métodos radioactivos ( $^{32}\text{PO}_4^{-3}$ ) ha significado su avance considerable al permitir medidas muy precisas de las tasas de consumo de P (Cortner & Wetzel, 1992). Sin embargo, su uso está limitado a intervalos de tiempo corto. Estas razones, unidas al hecho de poder evitar los problemas asociados a los radioisótopos de P y fundamentalmente, por la posibilidad de obtener una segregación adecuada de las fracciones  $< 40 \mu\text{m}$  (bacterias, fitoplancton y ciliados; ver Capítulo IV), motivó que optáramos por enriquecer las aguas naturales y la determinación, no del PRS eliminado, sino del P incorporado en biomasa en cada una de estas fracciones. Es decir, se trataría de una tasa de incorporación en términos de P, por tanto, una medida neta del “éxito” de los organismos en la acumulación de un nutriente que es, por regla general, deficitario en La Caldera.

Así pues, las **tasas de incorporación de P** en los principales compartimentos tróficos estudiados ( $I_p$ ,  $d^{-1}$ ) se obtuvieron a partir de la siguiente expresión:

$$I_p = \frac{[P_{t+1}] - [P_t]}{T}$$

donde  $P_t$  y  $P_{t+1}$  son las concentraciones de P para el compartimento trófico estudiado (bacterias, fitoplancton o ciliados) en dos muestreos consecutivos y T es el tiempo total en días transcurrido entre dichos muestreos.

Las *tasas netas de crecimiento* de las comunidades de fitoplancton y bacterias ( $g, d^{-1}$ ) se calcularon como:

$$r = \text{Ln} ( C_{t+1} / C_t ) / T$$

donde  $C_t$  y  $C_{t+1}$  son las abundancias de los organismos de la fracción considerada en dos muestreos consecutivos y T es el tiempo en días transcurrido entre dichos muestreos.

### 5.2.3.- *Análisis estadístico*

El efecto de la adición de nutrientes sobre la abundancia y composición de los organismos, así como sobre la concentración de clorofila *a*, se evaluó mediante un análisis de ANOVA de una vía y medidas repetidas para cada uno de los días de muestreo (Gurevitch & Clester, 1986). Las diferencias entre tratamientos se examinaron en base a un análisis de contrastes (LSD), mientras que la probabilidad de este análisis se determinó de acuerdo al test de Bonferroni.

## 5.3.- RESULTADOS

### 5.3.1. *Condiciones iniciales de los experimentos*

En la Tabla 5.1 se muestran algunas de las características biológicas y fisico-químicas que definen los periodos en los que se desarrollaron los experimentos en 1997. La producción primaria reflejó un patrón común a aquel descrito por la concentración de clorofila *a* con valores máximos tras el deshielo coincidiendo con las temperaturas más frías del sistema, intermedios hacia mediados del periodo libre de hielo y los más bajos hacia el final de este periodo. Por el contrario, la producción bacteriana se mantuvo dentro de un estrecho margen de variación, presentando los valores más altos hacia mediados del periodo libre de hielo.



**Tabla 5.1.** Resumen de los valores medios de distintos parámetros físicos, biológicos y químicos para los periodos en los que se llevaron a cabo los experimentos de adición de P en 1997.

Variables		Deshielo	Mitad periodo estival	Final periodo estival
Temperatura del agua	(°C)	2.7	11.2	8.9
PH		7.69	8.43	8.91
Profundidad del 50% PAR	(m)	3.50	3.88	3.63
PRS	( $\mu\text{gP l}^{-1}$ )	0.125	0.275	0.031
NDT:PDT	(molar)	754	280	781
Biomasa bacteriana	( $\mu\text{gC l}^{-1}$ )	2.29	2.18	2.39
Biomasa fitoplanctónica	( $\mu\text{gC l}^{-1}$ )	35.88	37.18	19.00
Biomasa ciliados	( $\mu\text{gC l}^{-1}$ )	0.003	0.001	0.000
Chl <i>a</i>	( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	0.71	0.55	0.22
Producción bacteriana-TdR	( $\mu\text{g C l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	0.009	0.014	0.004
Producción primaria	( $\mu\text{gC l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	1.77	0.81	0.24

### 5.3.2.- Nutrientes

El incremento inicial en la concentración de P inorgánico (PRS) para los tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub> (Tabla 5.2A) estuvo seguido por un descenso paulatino a lo largo del periodo de incubación. El agotamiento del PRS en los tratamientos enriquecidos hasta alcanzar niveles similares a los control ocurrió tan sólo en el tratamiento N:P<sub>16</sub> después de 15 días de incubación en los experimentos 2 y 3. La reducción de este nutriente en el tratamiento N:P<sub>5</sub> fue de ~46% y ~66% para los experimentos 1 y 3 y de ~95% para el experimento de mitad del periodo estival (Tabla 5.2A). En contraste, en la mayoría de las ocasiones, este nutriente no fue detectable en el tratamiento control de los 3 experimentos. Así mismo y como representativo de la calidad del recurso disponible, la razón DIN:PRS presentó valores muy próximos aquellos pretendidos teóricamente en los

**Tabla 5.2.** Valores de fósforo reactivo soluble (PRS) (A), de las razones  $\text{NO}_3+\text{NO}_2+\text{NH}_4^+$ /PRS (B) y del consumo de PRS (C) a lo largo de diferentes muestreos ( $t_0$ ,  $t_1$ ,  $t_2$  y  $t_f$ ) para cada tratamiento (N:Pc, N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>).

<b>A</b>		<b>PRS (<math>\mu\text{g P l}^{-1}</math>)</b>			
<b>Exp. #</b>	<b>Tratamiento</b>	<b><math>t_0</math></b>	<b><math>t_1</math></b>	<b><math>t_2</math></b>	<b><math>t_f</math></b>
1	N:Pc	n.d.	n.d.	$0.75 \pm 0.50$	n.d.
	N:P <sub>16</sub>	$11.84 \pm 6.85$	$9.72 \pm 0.10$	$3.57 \pm 0.34$	$1.61 \pm 0.43$
	N:P <sub>5</sub>	$74 \pm 2.77$	$76 \pm 0.00$	$53 \pm 5.30$	$40 \pm 0.10$
2	N:Pc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	N:P <sub>16</sub>	$17.02 \pm 0.34$	$11.27 \pm 0.81$	$3.22 \pm 1.22$	n.d.
	N:P <sub>5</sub>	$62.94 \pm 0.72$	$58.86 \pm 1.49$	$44.03 \pm 3.92$	$3.05 \pm 0.12$
3	N:Pc	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	N:P <sub>16</sub>	$13.22 \pm 0.30$	$8.68 \pm 1.04$	$3.28 \pm 1.74$	n.d.
	N:P <sub>5</sub>	$52.65 \pm 0.55$	$50.29 \pm 1.05$	$36.76 \pm 0.43$	$17.88 \pm 0.17$

<b>B</b>		<b>(<math>\text{NO}_3+\text{NO}_2+\text{NH}_4^+</math>) / PRS (molar)</b>			
<b>Exp. #</b>	<b>Tratamiento</b>	<b><math>t_0</math></b>	<b><math>t_1</math></b>	<b><math>t_2</math></b>	<b><math>t_f</math></b>
1	N:Pc	$407.03 \pm 36.15$	$454.62 \pm 21.30$	$439.83 \pm 31.95$	$403.00 \pm 5.97$
	N:P <sub>16</sub>	$33.00 \pm 1.10$	$80.55 \pm 2.67$	$117.52 \pm 13.18$	$262.89 \pm 32.00$
	N:P <sub>5</sub>	$5.24 \pm 0.39$	$5.36 \pm 0.06$	$8.44 \pm 1.17$	$9.92 \pm 0.17$
2	N:Pc	$331.48 \pm 11.30$	$333.36 \pm 12.21$	$332.83 \pm 38.48$	$380.15 \pm 4.49$
	N:P <sub>16</sub>	$20.80 \pm 1.14$	$29.65 \pm 3.77$	$74.49 \pm 20.37$	$253.24 \pm 30.37$
	N:P <sub>5</sub>	$6.27 \pm 0.66$	$6.08 \pm 0.86$	$7.60 \pm 1.45$	$162.88 \pm 24.43$
3	N:Pc	$228.78 \pm 1.68$	$251.09 \pm 2.42$	$227.97 \pm 2.83$	$227.30 \pm 3.99$
	N:P <sub>16</sub>	$16.82 \pm 1.92$	$31.51 \pm 11.30$	$85.78 \pm 6.41$	$256.02 \pm 21.10$
	N:P <sub>5</sub>	$3.94 \pm 0.03$	$5.00 \pm 0.49$	$6.99 \pm 0.33$	$11.24 \pm 1.72$

<b>C</b>		<b>Consumo PRS (<math>\mu\text{g P l}^{-1} \text{d}^{-1}</math>)</b>			
<b>Exp. #</b>	<b>Tratamiento</b>	<b><math>t_1-t_0</math></b>	<b><math>t_2-t_1</math></b>	<b><math>t_f-t_2</math></b>	
1	N:Pc	nd	nd	$0.25 \pm 0.17$	—
	N:P <sub>16</sub>	$2.07 \pm 1.24$	$1.54 \pm 0.11$	$0.65 \pm 0.23$	—
	N:P <sub>5</sub>	1.03	$5.79 \pm 1.32$	$4.43 \pm 1.77$	—
2	N:Pc	nd	nd	nd	—
	N:P <sub>16</sub>	$2.87 \pm 0.25$	$2.68 \pm 0.52$	$0.32 \pm 0.23$	—
	N:P <sub>5</sub>	$2.04 \pm 0.80$	$4.94 \pm 1.58$	$4.10 \pm 0.79$	—
3	N:Pc	nd	nd	nd	—
	N:P <sub>16</sub>	$2.27 \pm 0.53$	$1.35 \pm 0.22$	$0.34 \pm 0.15$	—
	N:P <sub>5</sub>	$1.18 \pm 0.26$	$3.38 \pm 0.29$	$2.10 \pm 0.03$	—

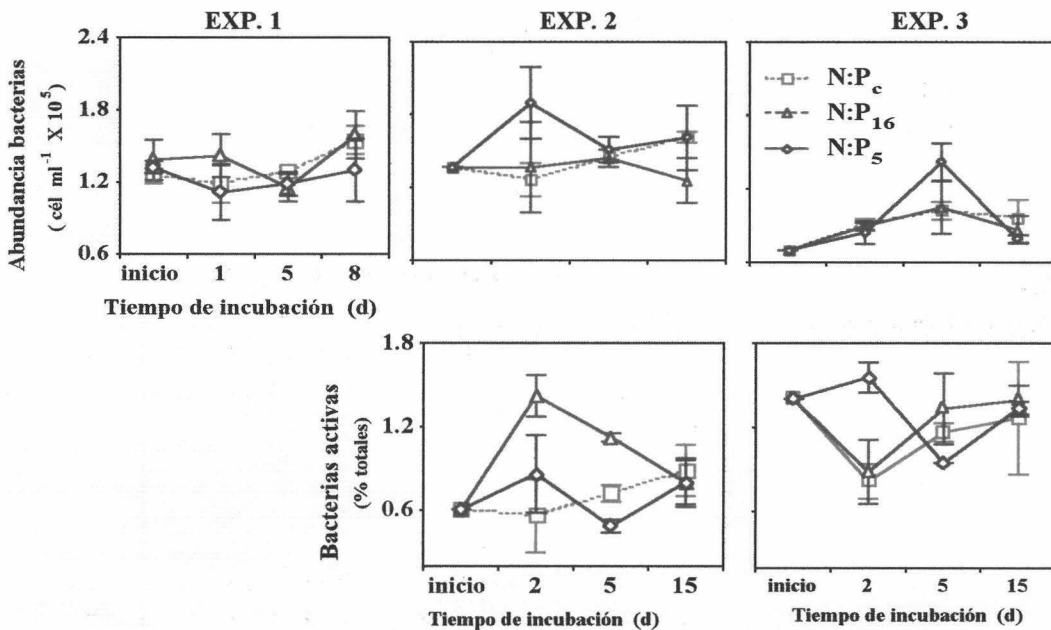
nd, no detectable

tratamientos enriquecidos. Posteriormente y como regla general, esta razón se incrementó en el transcurso de cada experimento (Tabla 5.2B) y especialmente para los tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub> que aumentaron progresivamente hasta alcanzar los valores más altos, aunque inferiores al control, para el último día de muestreo.

Los valores más altos en las tasas de consumo de PRS para el periodo de incubación más corto (24/48 h) se dieron en el tratamiento N:P<sub>16</sub> que, prácticamente, duplicaron a aquellas registradas en los tratamientos N:P<sub>5</sub> en 2 de los 3 experimentos (Tabla 5.2C). Sin embargo, estas tasas fueron mayores para los tratamientos N:P<sub>5</sub> a lo largo del resto del periodo de incubación.

### 5.3.3.- Bacterias heterotróficas

Las bacterias en los experimentos, al igual que en la laguna, estuvieron dominadas por pequeños cocos (> 95%). La abundancia de bacterias se mantuvo por debajo de 200,000 cél ml<sup>-1</sup>, próxima al límite inferior descrito para los sistemas oligotróficos y no mostró un patrón común de variación entre tratamientos (Figura 5.2).



**Figura 5.2.** Abundancia de bacterias totales (panel superior) y activas (panel inferior) en los experimentos de adición de P de 1997. Leyenda en Gráfica superior derecha.

**Tabla 5.3.** Resultados de los ANOVA de una vía de medidas repetidas en el tiempo para determinar el efecto del tratamiento (N:P control, 16 y 5) sobre la clorofila *a*, abundancia y biomasa (carbono) de bacterias y fitoplancton. Los valores representados corresponden al valor de F. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.001$ , \*\*\* $P < 0.001$ .

Experimento #	Efectos	Abundancia			Biomasa		
		Bacterias (cél ml <sup>-1</sup> )	Algas (cél ml <sup>-1</sup> )	Ciliados (ind l <sup>-1</sup> )	Algas (µgC l <sup>-1</sup> )	Ciliados (µgC l <sup>-1</sup> )	Chl <i>a</i> (µg l <sup>-1</sup> )
EXP. 1	Tratamiento	2.89	50.65***	147.13**	32.28***	243.78***	—
	Tiempo	3.34	11.94**	920.14***	95.64***	1012.46***	—
	Trat. x Tiempo	1.33	5.04*	286.69***	26.43***	245.22***	—
EXP. 2	Tratamiento	4.73	23.34**	25.73*	9.42*	49.07***	736.61***
	Tiempo	0.02	40.38***	21.72**	46.52***	56.87***	421.01***
	Trat. x Tiempo	1.17	21.71***	25.93***	11.59**	48.78***	212.83***
EXP. 3	Tratamiento	1.36	75.46***	2.03	38.91***	1.42	17.99
	Tiempo	12.33**	50.01***	6.56*	50.63***	4.46*	94.23***
	Trat. x Tiempo	3.13	28.19***	2.03	11.62***	1.42	11.57*

Efecto del tratamiento: Análisis de contrastes (LSD) y significaciones ajustadas al test de Bonferroni:

	EXP. 1				EXP. 2				EXP. 3						
<b>Abund. Bacteriana</b>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>
<b>Abund. Algas</b>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	<<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	<	N:P <sub>5</sub>
<b>Abund. Ciliados</b>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>
<b>Biomasa Algal</b>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>
<b>Biomasa Ciliados</b>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	>	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	<<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>
<b>Clorofila <i>a</i></b>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	<<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	<<	N:P <sub>16</sub>	<<	N:P <sub>5</sub>	N:Pc	ns	N:P <sub>16</sub>	ns	N:P <sub>5</sub>

Comparaciones: < o >, significativamente menor o mayor a  $P < 0.01$ , respectivamente; << o >>, significativamente menor o mayor a  $P < 0.001$ , respectivamente; ns, no significativamente diferente

Aunque la ausencia de relación entre la abundancia bacteriana y el tratamiento, considerando el conjunto de los tres experimentos fue corroborada por los resultados obtenidos a partir de los ANOVA (Tabla 5.3), se observaron incrementos significativos en la abundancia bacteriana del tratamiento N:P<sub>5</sub> con respecto al control en el primer día de “muestreo” del experimento 2 (Tabla 5.4A).

**Tabla 5.4.** Variaciones en la biomasa total ( $\mu\text{g C l}^{-1}$ ) de bacterias, fitoplancton y ciliados en los tratamientos control (N:P<sub>c</sub>) y enriquecidos (N:P<sub>16</sub> and N:P<sub>5</sub>) para el **primer (A)** y **último (B)** muestreo de los 3 experimentos llevados a cabo *in situ* en La Caldera. Los valores son medias de 3 réplicas. Los valores marcados son aquellos significativamente distintos al control (LSD).

<b>A</b>				
Experimento	Tratamiento	Bacteria	Fitoplancton	Ciliados
1	N:P <sub>c</sub>	5.42	4.41	0.073
	N:P <sub>16</sub>	4.18	5.17	0.066*
	N:P <sub>5</sub>	3.29	5.83*	0.059***
2	N:P <sub>c</sub>	3.72	1.90	0.00
	N:P <sub>16</sub>	4.03	3.21	0.00
	N:P <sub>5</sub>	5.60*	3.32	0.00
3	N:P <sub>c</sub>	2.67	3.25	0.00
	N:P <sub>16</sub>	2.64	4.19	0.00
	N:P <sub>5</sub>	2.49	3.39	0.00
<b>B</b>				
Experimento	Tratamiento	Bacteria	Fitoplancton	Ciliados
1	N:P <sub>c</sub>	4.57	5.38	7.13
	N:P <sub>16</sub>	4.69	17.69**	80.74**
	N:P <sub>5</sub>	3.38*	27.02***	54.08**
2	N:P <sub>c</sub>	4.76	4.65	0.00
	N:P <sub>16</sub>	3.71*	86.26**	0.05*
	N:P <sub>5</sub>	4.75	111.82***	0.36*
3	N:P <sub>c</sub>	2.85	6.47	0.004
	N:P <sub>16</sub>	2.56	29.95**	0.066
	N:P <sub>5</sub>	2.34	42.75***	0.029

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$

Nos resulta llamativo destacar el hecho de que el descenso significativo de la biomasa bacteriana con respecto al control al final del periodo de incubación de los 2 primeros experimentos (N:P<sub>5</sub> del experimento 1 y N:P<sub>16</sub> del experimento 2), coincide temporalmente con un aumento significativo en la biomasa de los ciliados (Tabla 5.4B).

De forma similar, la proporción bacterias activas:bacterias latentes no respondió al tratamiento con nutrientes de forma global. Sin embargo, en el primer periodo de incubación, se registró una mayor proporción de bacterias activas en los tratamientos N:P<sub>16</sub> del experimento 2 ( $P < 0.05$ ) y N:P<sub>5</sub> del experimento 3 ( $P < 0.01$ ) en relación al control (Figura 5.2).

#### 5.3.4.- Fitoplancton

La adición de P inorgánico estimuló el crecimiento del fitoplancton (abundancia)

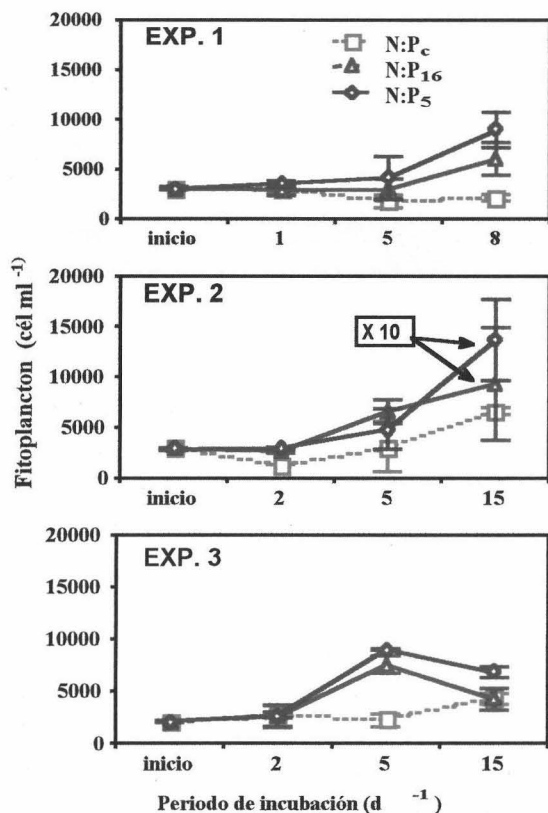


Figura 5.3. Abundancia de fitoplancton en los 3 experimentos de adición de P llevados a cabo en

aunque la magnitud de la respuesta varió entre tratamientos y experimentos (Tabla 5.3). En general la abundancia algal mostró una tendencia a aumentar con el tiempo en los tratamientos enriquecidos (Figura 5.3), si bien estos incrementos no fueron evidentes en el primer día de muestreo como pone de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos enriquecidos (Tabla 5.4A). Una excepción la constituyó el tratamiento N:P<sub>5</sub> del experimento 1. Finalmente, las diferencias observadas fueron máximas hacia el final del periodo de incubación y especialmente para el experimento 2 en donde la abundancia se multiplicó por 10 con respecto a las condiciones iniciales y fue ~14 veces superior a la

del control. Además, como regla general al final del periodo de incubación, la biomasa total de fitoplancton en el tratamiento N:P<sub>5</sub> superó significativamente a aquella del tratamiento N:P<sub>16</sub> (diferencias significativas con respecto al control de  $P < 0.001$  vs.  $P < 0.01$ , respectivamente; Tabla 5.4B).

La composición específica de la comunidad fitoplanctónica no experimentó cambios significativos a lo largo del experimento 1 tras el deshielo (Figura 5.4). No ocurrió así en el experimento 2 donde las clorofíceas incrementaron en biomasa a lo largo del periodo de incubación de forma similar en todos los tratamientos, pasando de representar desde el 10% de la biomasa inicial al 60%, 42% y 53% en los tratamientos control, N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>, respectivamente. Un efecto similar se observó, en este caso en las especies de diatomeas, en el experimento 3 en donde pasaron de representar del 7% de la biomasa algal inicial al 30-41% en los tratamientos enriquecidos al final del periodo de incubación (Figura 5.4). El efecto del tratamiento fue más evidente en este último experimento al registrarse las diferencias más pronunciadas entre la biomasa algal de los tratamientos control y los enriquecidos.

El volumen celular del fitoplancton se incrementó en los tratamientos enriquecidos en P y en particular a partir del día 5º de incubación en los experimentos 1 y 3 (Figura 5.5). El aumento en volumen celular más acentuado ocurrió al final del periodo de incubación del experimento 3 cuando las células de los tratamientos enriquecidos triplicaron en volumen a aquellas del tratamiento control.

Como se aprecia en la Figura 5.5, el contenido en P de las células del fitoplancton (*P cell quota*) no varió entre tratamientos en el experimento 1, aunque sí lo hizo en los experimentos 2 y 3 después de 48 h de incubación. En este momento, la concentración de P en las algas de los tratamientos enriquecidos duplicó a aquella de los tratamientos controles. A partir del segundo día de incubación, se observa que los niveles celulares en P de las algas de los tratamientos enriquecidos decrecen, incluso por debajo de la concentración de P en las algas de los tratamientos controles.

El efecto del tratamiento sobre la concentración de clorofila *a* tan sólo fue significativo en el experimento 2 ( $P < 0.05$ ; Tabla 5.3). En este experimento, la respuesta más significativa de la clorofila *a* se registró para el tratamiento N:P<sub>5</sub> al final del periodo de incubación cuando la concentración superó los 5 µg Chl *a* l<sup>-1</sup>, ~19 veces superior a aquella del control (Figura 5.5). En el experimento 3, la concentración de clorofila *a* en

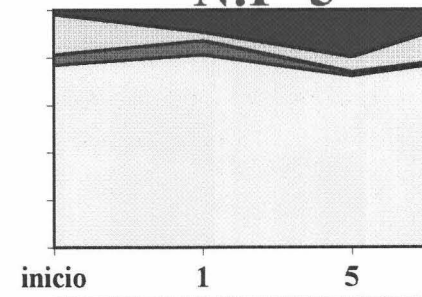
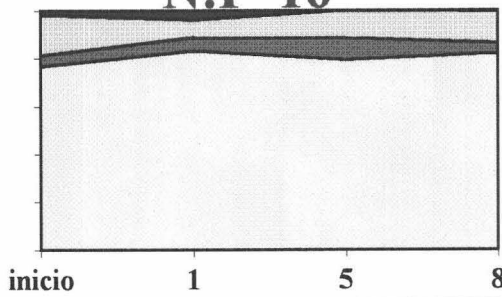
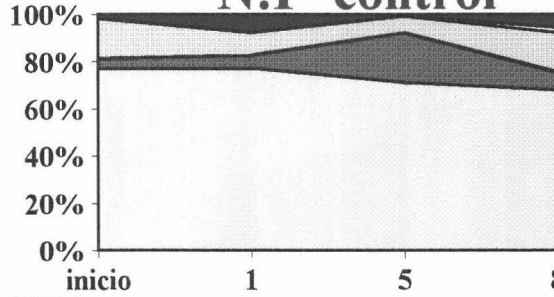


EXP. 1

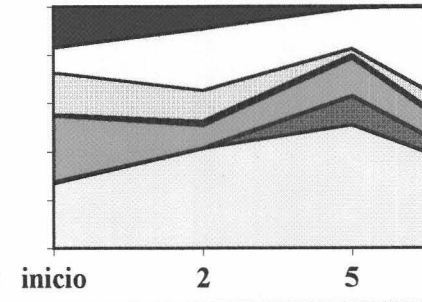
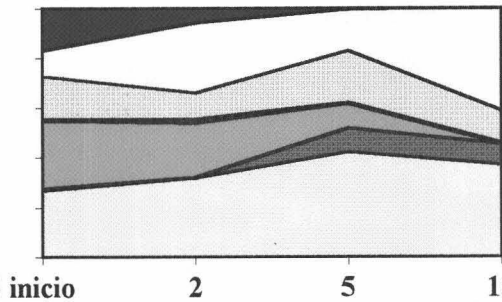
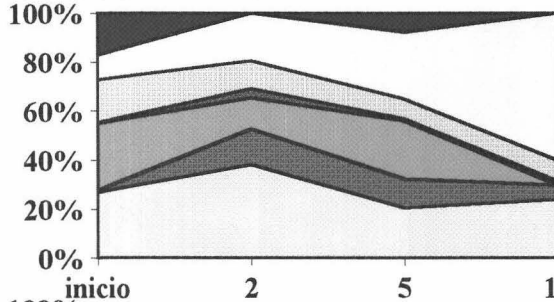
N:P control

N:P 16

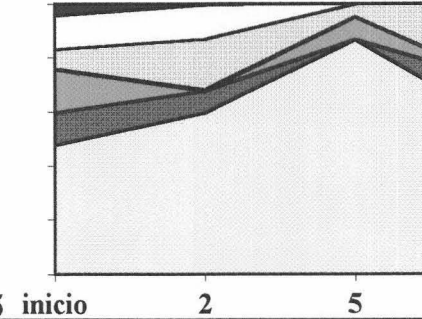
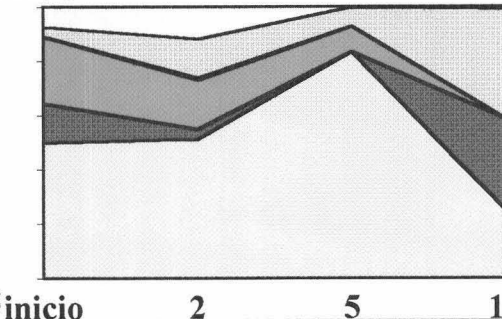
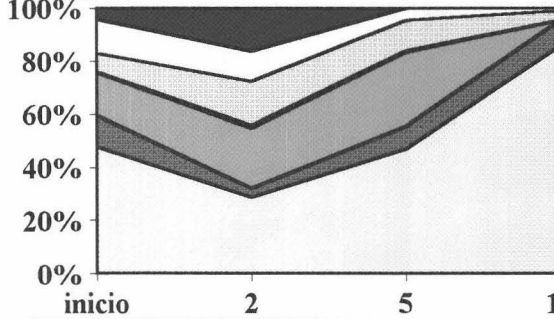
N:P 5



EXP. 2



EXP. 3



□ Crisofíceas   ■ Dinofíceas   ■ Criptofíceas   ■ Cianofíceas   □ Diatomeas   □ Clorofíceas   ■ Otros autótrofos

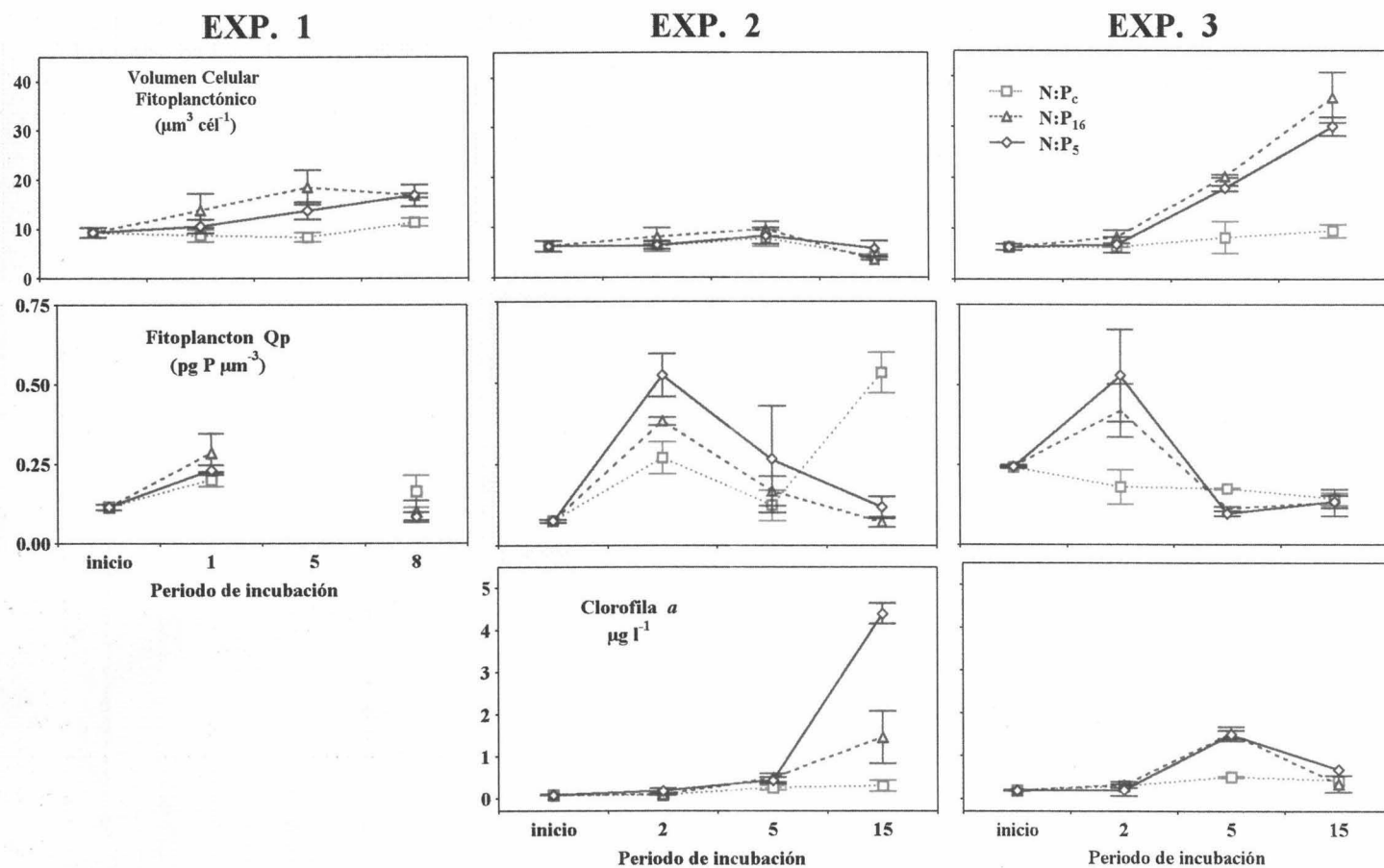


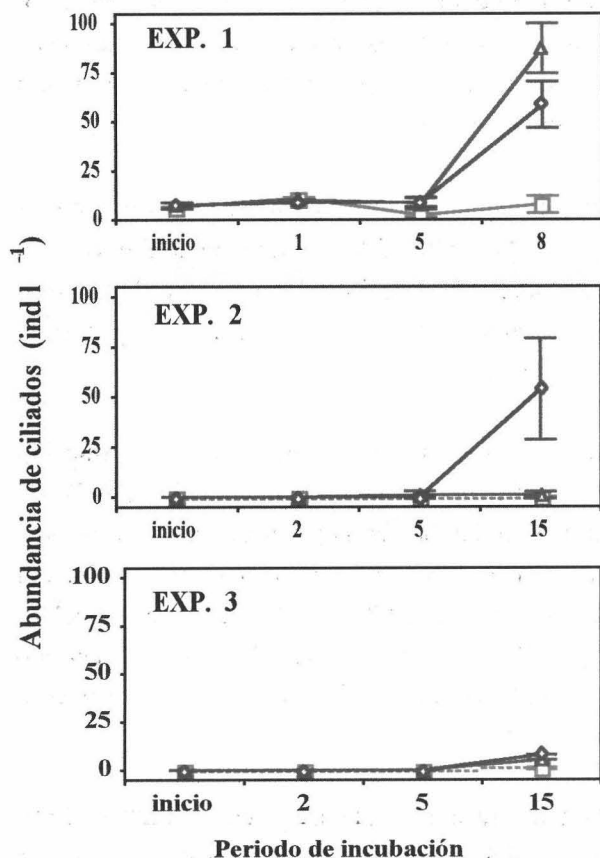
Figura 5.5. Volumen celular (panel superior) del fitoplancton, *P cell quota* (panel intermedio) y concentración de clorofila *a* (panel inferior).

los tratamientos enriquecidos se incrementó significativamente con respecto al control tan sólo en el segundo día de muestreo, decreciendo hasta prácticamente igualarse hacia el final del experimento (Figura 5.5).

Finalmente, además del efecto del tratamiento, tanto el tiempo (experimentos 2 y 3) como la interacción tiempo y tratamiento (experimento 2) arrojaron una relación muy significativa en la clorofila *a* ( $P < 0.001$ ; Tabla 5.3).

### 5.3.5.- Protozoos

Debido a su tamaño (10-30  $\mu\text{m}$ ), los ciliados aparecieron inicialmente en los experimentos (fracción retirada  $> 40 \mu\text{m}$ ), aunque en



concentraciones inferiores a  $10 \text{ ind l}^{-1}$ . El efecto del tratamiento sobre la biomasa de los ciliados fue significativo para los 2 primeros experimentos (Tabla 5.3). El crecimiento de los ciliados ocurrió tardíamente y tan sólo se puso de manifiesto de forma importante al final del periodo de incubación y en especial para el experimento 1 donde la biomasa en los tratamientos  $\text{N:P}_{16}$  y  $\text{N:P}_5$  se multiplicó por 11.3 y 7.6, respectivamente, con respecto al tratamiento  $\text{N:P}_c$  (Tabla 5.4B y Figura 5.6).

Figura 5.6. Abundancia de ciliados en los 3 experimentos de adición de P llevados a cabo en 1997.

### 5.3.6.- *Tasas de incorporación de P relativas (Ip) y fósforo particulado*

La fracción bacteriana exhibió una tasa de incorporación de P relativa (**Ip**) inferior a la de la fracción fitoplanctónica. De hecho, la mayor parte de la incorporación de P, entre el 53% y el 94% (77% de media para los 3 experimentos) tuvo lugar en esta última fracción, mientras que entre el 7 y el 38% de la incorporación (19% de media para los 3 experimentos) correspondió a bacterias (Tabla 5.5).

El **Ip** de la fracción bacteriana fue mayor en los tratamientos control que en los enriquecidos en las primeras 24/48 h en 2 de los 3 experimentos y posteriormente mostró un descenso generalizado en todos los tratamientos (Tabla 5.5). En contraste, el P consumido por el fitoplancton durante este mismo periodo de incubación fue mayor en los tratamientos enriquecidos que en el control y de forma particular para el experimento realizado inmediatamente después del deshielo (Tabla 5.5).

La fracción ciliada (10-40  $\mu\text{m}$ ) incorporó P de forma significativa en el tratamiento N:P<sub>5</sub> del segundo muestreo (~41%; Tabla 5.5), lo que coincidió con un incremento muy significativo en la abundancia de ciliados (Figura 5.6). Un patrón semejante, aunque menos pronunciado, se puede observar para el primer y último “muestreos” del experimento 3 (3.2–8.4%, Tabla 5.5).

El 27%, 52% y 60% del fósforo particulado (PP) perteneció a la fracción bacteriana al inicio de cada uno de los 3 experimentos, respectivamente (Figura 5.7). En los experimentos 2 y 3 y a pesar del tratamiento, las bacterias pasaron del 52 al 24 % y del 60 al 27 % del PP, respectivamente, mientras que el fitoplancton ganó en contribución al PP. Por ejemplo, el fitoplancton pasó de constituir el 37 % del PP inicial a cerca del 74 % y del 71 % en los tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>, respectivamente, a lo largo del segundo experimento. Además, la contribución del fitoplancton al PP fue superior como promedio en los tratamientos enriquecidos que en los controles.

Finalmente, la acumulación de P en la fracción ciliada osciló entre el 2% y el 6% del PP, y su importancia relativa fue mayor para el tratamiento control que para los enriquecidos (Figura 5.7).

**Tabla 5.5.** Tasa de crecimiento relativa en P (%) de las fracciones bacteriana (0.2-1.0  $\mu\text{m}$ ), fitoplanctónica (1-10  $\mu\text{m}$ ) y ciliada (>10 $\mu\text{m}$ ) a lo largo de los 3 experimentos en 1997.

Exp. #	T (d)	Fracción ( $\mu\text{m}$ )	Tasa de incorporación de P (%)		
			N:Pc	N:P <sub>16</sub>	N:P <sub>5</sub>
1	1	0.2-1.0	26.79 $\pm$ 0.97	10.30 $\pm$ 0.63	9.12 $\pm$ 7.72
		> 1.0	73.21 $\pm$ 2.39	89.70 $\pm$ 8.14	90.88 $\pm$ 9.60
	5	0.2-1.0	n.m.	n.m.	n.m.
		> 1.0	n.m.	n.m.	n.m.
	9	0.2-1.0	n.up.	6.51 $\pm$ 3.63	9.26 $\pm$ 6.27
		> 1.0	n.up.	93.49 $\pm$ 5.14	90.74 $\pm$ 8.40
<b>Promedio</b>	<b>0.2-1.0</b>	<b>26.79</b>	<b>8.40</b>	<b>11.03</b>	
	<b>&gt; 1.0</b>	<b>73.21</b>	<b>91.60</b>	<b>88.97</b>	
2	1	0.2-1.0	37.60 $\pm$ 1.30	23.84 $\pm$ 0.43	34.68 $\pm$ 0.21
		1.0-10	62.40 $\pm$ 8.83	76.16 $\pm$ 2.60	65.32 $\pm$ 2.32
		> 10	n.up.	n.up.	n.up.
	5	0.2-1.0	n.up.	n.up.	n.up.
		1.0-10	n.up.	100	59.05 $\pm$ 34.16
		> 10	n.up.	n.up.	40.95 $\pm$ 23.75
	14	0.2-1.0	22.30 $\pm$ 6.82	19.09 $\pm$ 10.27	13.68 $\pm$ 4.85
		1.0-10	73.21 $\pm$ 6.88	77.48 $\pm$ 9.00	85.49 $\pm$ 4.71
		> 10	4.49 $\pm$ 0.38	3.43 $\pm$ 3.53	0.83 $\pm$ 0.26
<b>Promedio</b>	<b>0.2-1.0</b>	<b>29.95</b>	<b>21.46</b>	<b>24.18</b>	
	<b>1.0-10</b>	<b>67.81</b>	<b>84.55</b>	<b>71.31</b>	
	<b>&gt; 10</b>	<b>4.49</b>	<b>3.43</b>	<b>16.88</b>	
3	1	0.2-1.0	30.74 $\pm$ 14.39	27.58 $\pm$ 14.86	24.10 $\pm$ 9.08
		1.0-10	53.09 $\pm$ 20.84	68.42 $\pm$ 15.26	70.66 $\pm$ 8.89
		> 10	16.16 $\pm$ 6.46	4.00 $\pm$ 0.75	5.24 $\pm$ 0.39
	5	0.2-1.0	n.up.	7.89 $\pm$ 7.31	6.30 $\pm$ 7.28
		1.0-10	n.up.	92.11 $\pm$ 6.54	93.70 $\pm$ 8.91
		> 10	n.up.	n.up.	n.up.
	14	0.2-1.0	n.up.	n.up.	13.29 $\pm$ 16.69
		1.0-10	n.up.	n.up.	77.57 $\pm$ 17.28
		> 10	n.up.	100.00	9.14 $\pm$ 0.60
<b>Promedio</b>	<b>0.2-1.0</b>	<b>30.74</b>	<b>21.28</b>	<b>18.58</b>	
	<b>1.0-10</b>	<b>65.12</b>	<b>80.27</b>	<b>79.22</b>	
	<b>&gt; 10</b>	<b>12.44</b>	<b>4.00</b>	<b>6.80</b>	

n.m., no medido; n.up., incorporación negativa

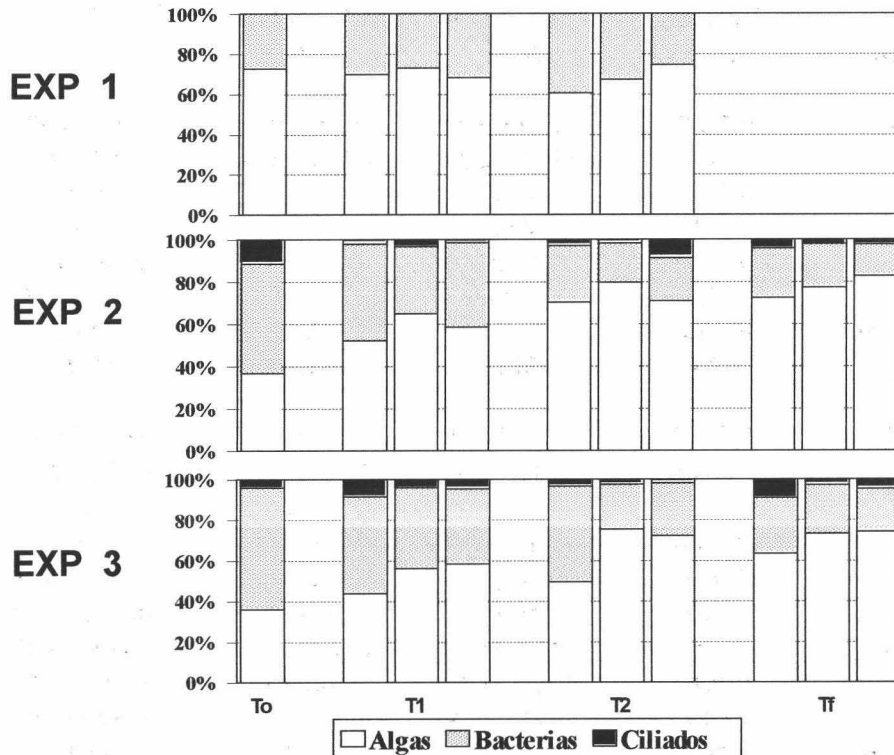


Figura 5.7. Distribución de P en la fracción algal, bacteriana y ciliada en el transcurso de los experimentos llevados a cabo en 1997. T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>f</sub> representan los sucesivos periodo de incubación.

### 5.3.7.- Estequiometría de las fracciones biológicas

A pesar de que las razones C:N:P de la fracción fitoplanctónica presentaron dinámicas similares entre tratamientos (Figura 5.8), se observaron ciertas diferencias como aquellas relacionadas con las variaciones entre experimentos de las razones N:P y C:P iniciales. Por ejemplo, la razón N:P varió inicialmente entre ~15 (exp. 1), 32 (exp. 2) y 7 (exp. 3) y el experimento 2 mostró la tendencia decreciente más acentuada para esta razón.

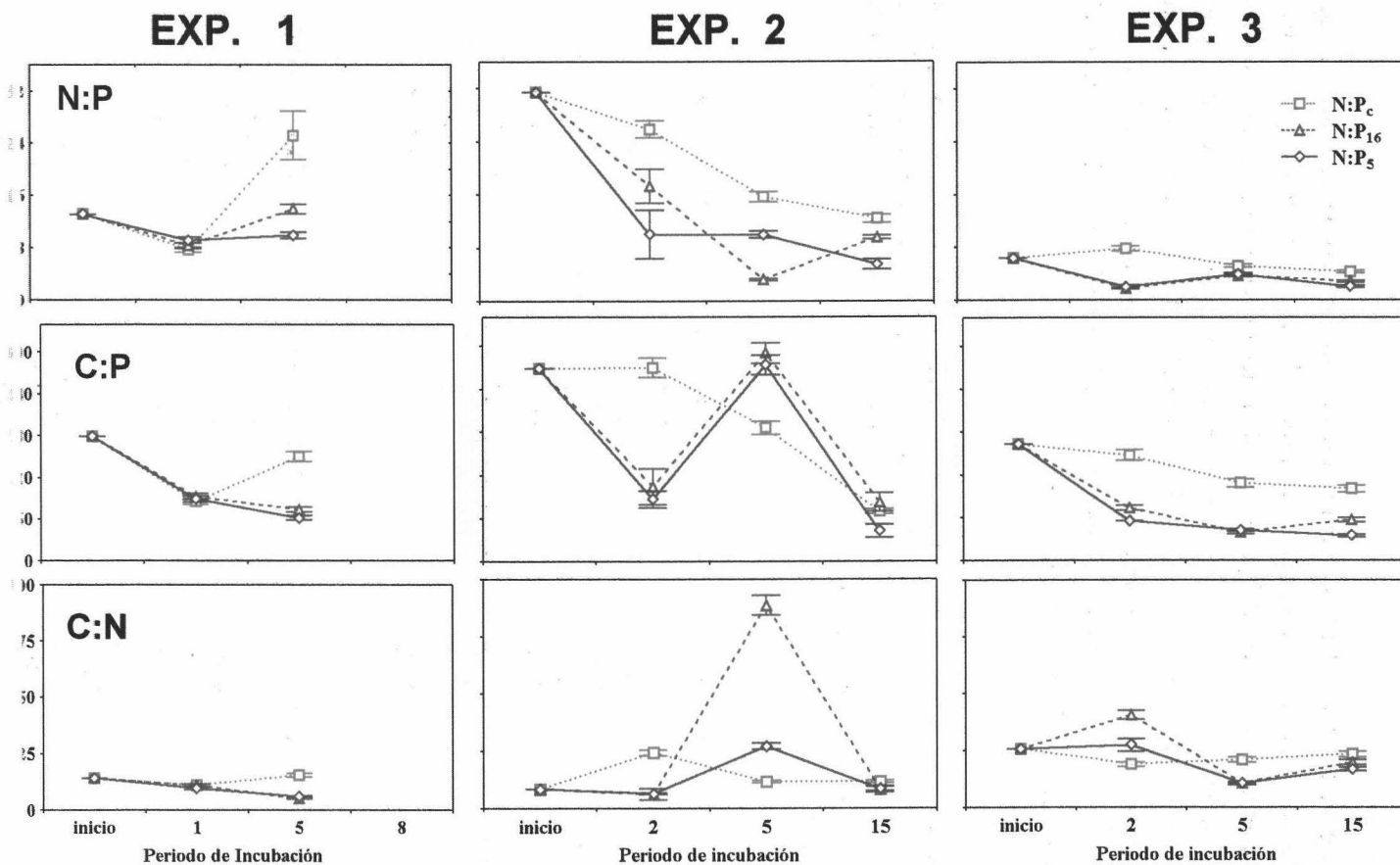


Figura 5.8. Razones  $N:P_f$  (panel superior),  $C:P_f$  (panel intermedio) y  $C:N_f$  (panel inferior) algales de los experimentos llevados a cabo en 1997.



La adición de P (efecto del tratamiento) provocó un descenso significativo de las razones N:P y C:P con respecto al tratamiento control en los 3 experimentos ( $P < 0.001$ ; Tabla 5.6) que se evidenció a partir del primer día de muestreo (Figura 5.8), aunque sólo de forma significativa en los dos últimos experimentos (Tabla 5.7A). Además, este descenso se manifestó en el tiempo, como lo demuestra el hecho de que tanto el tiempo como la interacción tratamiento-tiempo fueran factores significativos (Tabla 5.6). Una excepción a este patrón la constituyó un único valor aislado de la razón C:P durante el segundo muestreo del experimento 2 (Figura 5.8).

**Tabla 5.7.** Variaciones en la razón N:P de bacterias y fitoplancton en los tratamientos control (N:P<sub>c</sub>) y enriquecidos (N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub>) para el **primer (A)** y **último (B)** muestreo de los 3 experimentos llevados a cabo *in situ* en La Caldera. Los valores son medias de 3 réplicas. Los valores marcados son aquellos significativamente distintos al control (LSD).

<b>A</b>			
Experimento	Tratamiento	N:P Bacteria	N:P Fitoplancton
1	N:P <sub>c</sub>	22.74	7.75
	N:P <sub>16</sub>	15.07*	8.40
	N:P <sub>5</sub>	11.93**	9.33*
2	N:P <sub>c</sub>	37.26	25.92
	N:P <sub>16</sub>	31.47	17.36**
	N:P <sub>5</sub>	38.61	10.11***
3	N:P <sub>c</sub>	35.24	7.82
	N:P <sub>16</sub>	16.35*	1.83***
	N:P <sub>5</sub>	23.86	2.05***

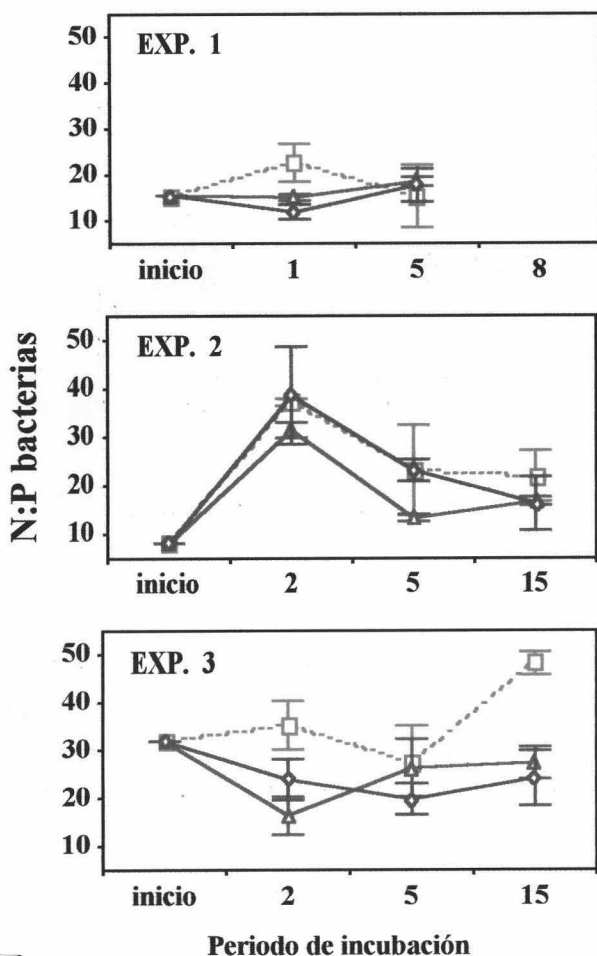
  

<b>B</b>			
Experimento	Tratamiento	N:P Bacteria	N:P Fitoplancton
1	N:P <sub>c</sub>	15.34	25.23
	N:P <sub>16</sub>	18.56	13.96**
	N:P <sub>5</sub>	17.73	9.93***
2	N:P <sub>c</sub>	22.00	12.45
	N:P <sub>16</sub>	16.76	9.70**
	N:P <sub>5</sub>	16.33	5.64***
3	N:P <sub>c</sub>	48.18	4.34
	N:P <sub>16</sub>	27.37**	2.87***
	N:P <sub>5</sub>	24.17**	2.07***

Aunque las razones N:P y C:P del fitoplancton no se diferenciaron apreciablemente entre los tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub> cuando se consideró el conjunto del experimento (Tabla 5.6), éstas fueron significativamente inferiores para el último muestreo de los experimentos 1 y 3 (Tabla 5.7B y Figura 5.8).

Por su parte, la razón C:N, a diferencia de las razones anteriores, permaneció relativamente constante para todos los muestreos y experimentos mostrando un valor próximo a 25 (Figura 5.8).

Una comparación entre los tratamientos enriquecidos y el control para la razón N:P bacteriana permite sugerir que las bacterias no estuvieron globalmente influenciadas



por el tratamiento (Tabla 5.6; Figura 5.9). Sin embargo, cuando se consideraron periodos cortos de incubación (24/48 h), la razón N:P bacteriana de los tratamientos N:P<sub>16</sub> y N:P<sub>5</sub> fue significativamente menor que aquella del control en 2 de los 3 experimentos (Tabla 5.7A), lo que pudo ser responsable de que el factor temporal y la interacción tratamiento x tiempo tuviera un efecto significativo para el conjunto de los experimentos (Tabla 5.6). Finalmente, tan sólo en el experimento 3, la razón N:P bacteriana del tratamiento control se mantuvo significativamente por encima de aquella de los tratamientos enriquecidos al final del periodo de incubación (Tabla 5.7B).

### 5.3.8.- Relación entre las tasas de crecimiento y la estequiometría de los organismos

Las *tasas netas de crecimiento* del fitoplancton ( $r$ ) se relacionaron negativamente con la razón N:P<sub>f</sub> en los experimentos 2 y 3 y positivamente en el experimento 1 (Figura 5.10). Además, resulta llamativo el hecho de que la recta obtenida cruza el valor de la tasa de crecimiento cero en un valor de la razón N:P<sub>f</sub> de  $6.4 \pm 1.2$  en el experimento 3, pero de  $26.9 \pm 7.8$  en el experimento 2, indicando los valores umbrales por debajo de los cuales el fitoplancton muestra un crecimiento positivo.

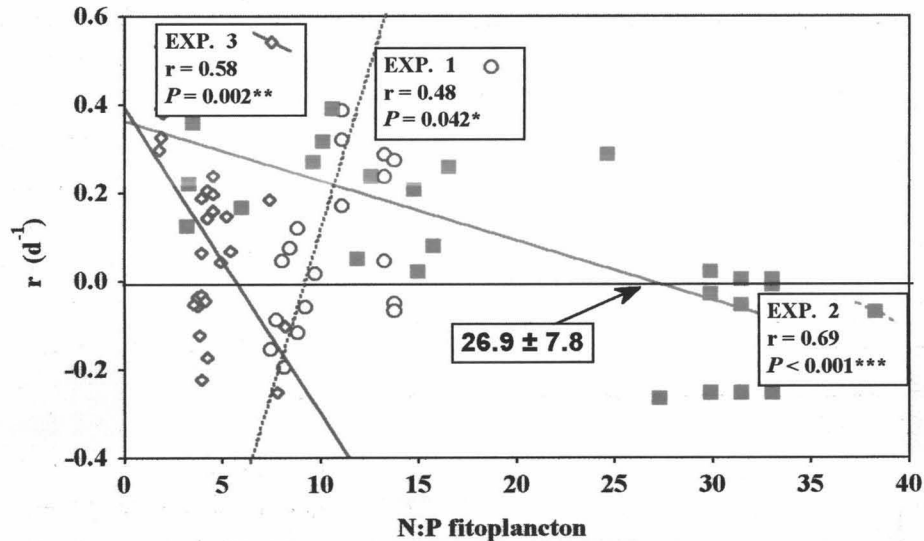


Figura 5.10. Relación entre la razón N:P<sub>f</sub> y la tasa de crecimiento del fitoplancton ( $r$ ) para el experimento 2.

No se establecieron relaciones significativas entre tasas de incorporación de P ( $I_p$ ) y la tasa neta de crecimiento del fitoplancton ( $r$ ) ( $P > 0.62$ ). Sin embargo, ésta última se relacionó inversamente con la concentración de P por unidad de volumen fitoplanctónico en el experimento 2 realizado a mediados del periodo libre de hielo ( $P < 0.001$ ; Figura 5.11).

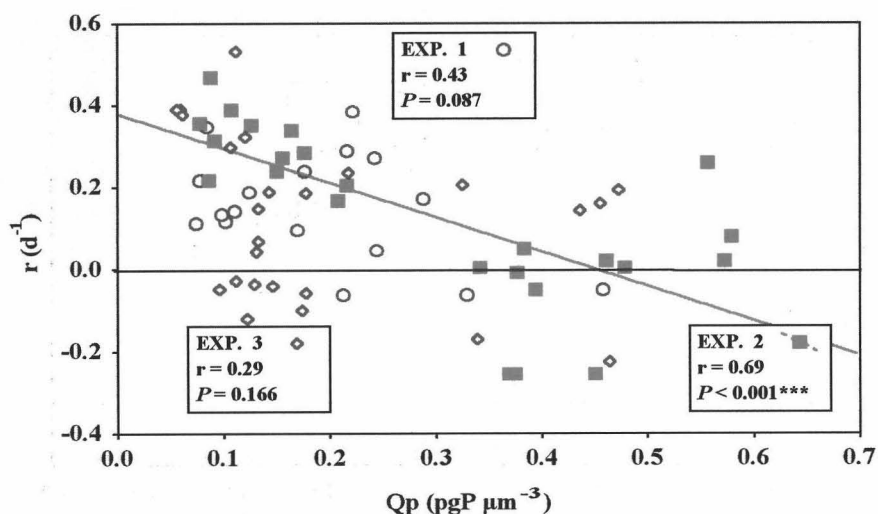


Figura 5.11. Relación entre la *P cell quota* y la tasa de crecimiento del fitoplancton para los 3 experimentos de 1997.

Finalmente, el crecimiento neto de las bacterias no mostró ninguna relación con la razón  $N:P_b$  ( $P > 0.72$ ).

### 5.3.9.- Relación entre las tasas de incorporación de P y la estequiometría de los organismos

Los análisis de regresión mostraron una relación positiva entre las tasas de incorporación de P y la razón  $N:P_f$  para todos los experimentos (Figura 5.12) y negativa tan sólo para la razón  $N:P_b$  en el experimento 2 (Figura 5.13).

Estos resultados indican que cuando el fitoplancton es rico en N (en relación al P) su capacidad para incorporar P de forma neta aumenta. De la misma Figura 5.12 se deduce que existe un umbral en torno a la razón  $N:P_f$  de 3 y 7 dependiendo del experimento, por debajo del cual la capacidad del fitoplancton para incorporar P cesa.

Finalmente la razón  $N:P_b$  mostró una relación inversa con la  $I_p$  de las bacterias y destaca la razón  $N:P_b$  de  $27.00 \pm 0.42$  (valor de  $N:P_b$  cuando la incorporación de P por parte de las bacterias es nula) por debajo de la cual las bacterias serían capaces de incorporar P en nueva biomasa (Figura 5.13).

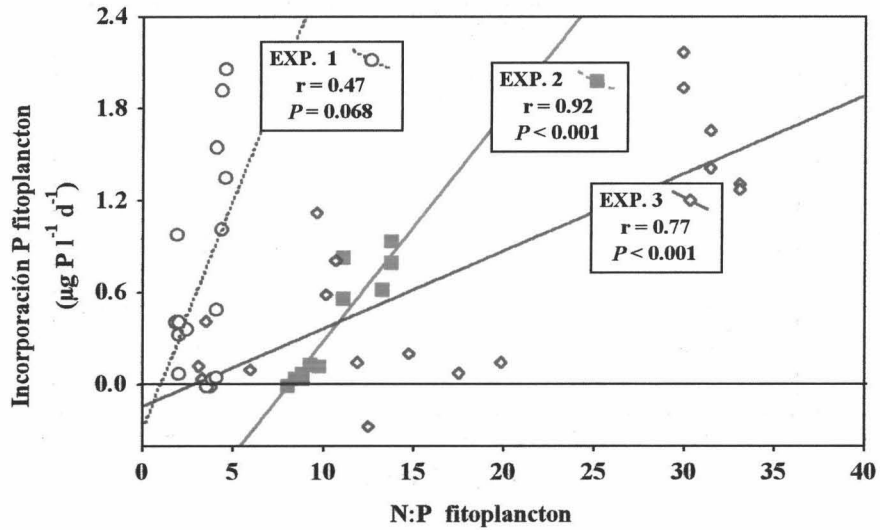


Figura 5.12. Relación entre la razón N:P<sub>f</sub> y la tasa de incorporación de P en el fitoplancton.

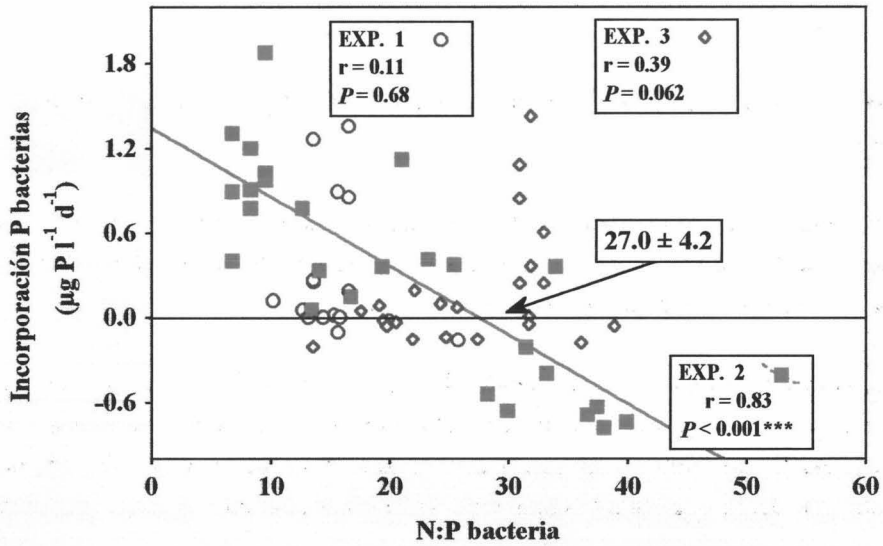


Figura 5.13. Relación entre la razón N:P<sub>b</sub> y la tasa de incorporación de P en las bacterias para el experimento 2.

## 5.4.- DISCUSIÓN

Cuando nos propusimos abordar el estudio de la respuesta del fitoplancton y del compartimento microbiano a un aporte experimental de nutrientes, nuestro objetivo se centró en analizar la respuesta específica de cada compartimento trófico en términos de abundancia y composición y en las condiciones más próximas a las naturales. En última instancia, pretendíamos constatar el “éxito competitivo” de dichos compartimentos, la calidad del sustrato inicial y la transmisión de la perturbación a niveles tróficos superiores.

Nuestros resultados poseen implicaciones metodológicas importantes para otros estudios encaminados a determinar las condiciones nutricionales del plancton a partir de la composición elemental y las tasas de incorporación de nutrientes en los organismos. Una gran mayoría de los estudios realizados hasta la fecha (Healey & Hendzel, 1980; Caperon & Meyer, 1972; Rhee, 1978, etc.) se han basado, de forma tradicional, en cultivos donde la algas originaban la práctica totalidad de la biomasa, o en condiciones donde tanto bacterias como algas eran analizadas de forma conjunta en un único compartimento al que tradicionalmente se conoce como *seston*. En este sentido, la naturaleza relativamente simple de la estructura de tamaños de La Caldera permitió segregar algas y bacterias a través de un fraccionamiento por filtración en serie (Capítulo IV). En los encerramientos practicados la composición del medio se mantuvo lo más inalterada posible (bacterias, fitoplancton, protozoos, detritus), de forma que la aplicación de sus resultados pudiera hacerse extensible a las condiciones naturales de éste u otros sistemas de características similares.

### 5.4.1.- Respuesta de las poblaciones biológicas

La cuantificación de un gran número de parámetros en los experimentos llevados a cabo nos coloca en una posición inmejorable para tratar de evaluar el grado en el que los parámetros estudiados divergen como consecuencia de la estacionalidad en las condiciones biológicas y abióticas del sistema. De hecho, la fenología que caracteriza a la Laguna parece jugar un papel primordial en la respuesta de los microorganismos al enriquecimiento en nutrientes.

En líneas generales, nuestros resultados indican que la consistencia de las respuestas a la adición de P. fueron importantes para la abundancia y composición

elemental del fitoplancton pero, prácticamente insignificantes para la abundancia y composición elemental de las bacterias. La respuesta de los ciliados no fue inmediata, aunque se manifestó a medio plazo alcanzando abundancias muy llamativas en el último muestreo de cada experimento y especialmente para el primer experimento después del deshielo cuando éstos organismos fueron inicialmente más abundantes. En concreto, el patrón general sugiere que el efecto de una perturbación externa como es una entrada de nutrientes, posee un efecto inicial sobre la abundancia del fitoplancton visible a partir del día 5 de incubación (2º muestreo), sobre los protozoos después de un tiempo de desfase (8-15 días), mientras que difícilmente distinguible en el caso de las bacterias.

A lo largo de los muestreos, la abundancia bacteriana no respondió a cambios en la abundancia del fitoplancton. Este desacople sugiere la existencia de una relación compleja en la que ambas fracciones responden de forma diferente a las condiciones experimentales. Los protozoos podrían ser potencialmente responsables de la modesta respuesta de las bacterias al enriquecimiento en P, sin embargo, este control se habría ejercido de forma relevante tan sólo en los últimos muestreos de cada experimento cuando los ciliados fueron más abundantes. De acuerdo con nuestros resultados, Cottingham et al. (1997) indicó que la ausencia de respuesta de las bacterias al enriquecimiento en P refuerza la idea de que las bacterias no constituyeron un sumidero importante para este nutriente.

Por el contrario, el fitoplancton respondió al enriquecimiento siguiendo un comportamiento similar entre experimentos. Las abundancias máximas se obtuvieron para el tratamiento más rico en P (N:P<sub>5</sub>), seguido del tratamiento N:P<sub>16</sub> y del N:P<sub>c</sub>, en un patrón que aunque comienza a intuirse a partir del primer día de muestreo (Tabla 5.4A), no se pone claramente de manifiesto el final del periodo de incubación (Tabla 5.4B). En general, estos resultados son consistentes con las expectativas limnológicas que describen incrementos en la biomasa y productividad del fitoplancton tras un enriquecimiento con nutrientes (Thompson & Rhee, 1994). La observación de que el fitoplancton respondió a la adición de P incrementando no sólo su volumen celular, sino su contenido en P por unidad de volumen celular para el primer muestreo en todos los experimentos (Figura 5.4), argumenta en favor de la reconocida capacidad de las algas de almacenar nutrientes en exceso a sus requerimientos (consumo de lujo), lo que les proporcionaría una ventaja competitiva a la hora de aprovechar el carácter pulsado de las cargas esporádicas de nutrientes (Suttle et al., 1987), tanto naturales (Capítulo IV) como experimentales (en el presente Capítulo). para su crecimiento posterior.



#### **5.4.2.- Tasas de incorporación de P y fósforo particulado en las fracciones biológicas**

El fósforo adicionado se acumuló en los organismos, tal y como se deduce de las tasas de asimilación de PRS (Tabla 5.2) y de las tasas de incorporación de P de los organismos. Por un lado, el P se incorporó en algas y bacterias inmediatamente después del deshielo (experimento 1), pero fundamentalmente en las algas a partir de la mitad del periodo estival (experimentos 2 y 3; Tabla 5.5).

El fitoplancton se reveló como un excelente competidor frente a las bacterias tras una adición de P, como lo demuestra el hecho de que acabaron constituyendo la mayor parte de la biomasa y del PP (Tabla 5.5). Por su parte, las bacterias contribuyeron en mayor proporción al PP de forma inicial para cada experimento y por tanto bajo condiciones que reflejarían aquellas del medio natural en ese particular instante. Recientes análisis de regresión abarcando un gran número de sistemas (Simon et al., 1992) han puesto de manifiesto que el estado trófico del medio influye en el metabolismo algal y bacteriano. En este sentido, Coveney & Wetzel (1995) subrayan que la biomasa bacteriana se encuentra favorecida sobre la algal en condiciones oligotróficas y viceversa. Estas observaciones coinciden con nuestros resultados en donde el fitoplancton obtendría mayor beneficio que las bacterias ante un enriquecimiento y que éstas últimas, por el contrario, se beneficiarían de condiciones donde los nutrientes esenciales fuesen escasos.

En el análisis anterior quedaría eliminado por exclusión la influencia del metazooplancton, que por su efecto "top-down" sobre el fitoplancton podría modular la relación fitoplancton-bacteria. Para algunos investigadores, es en estas condiciones, donde el dominio alternativo de algas o bacterias y su propia coexistencia, estaría sometido a un control regulador inmediato por parte de los predadores (Bratbak & Thingstad, 1985).

Basándose en la razón superficie:volumen característicamente superior en bacterias que en algas, un elevado número de trabajos tanto de ambientes marinos (ej. Faust & Correl, 1976; Jürgens and Güde, 1990) como de agua dulce (ej. Currie et al., 1986; Vadstein et al., 1993), han proclamado la importancia de la fracción más pequeña constituida por bacterias en la asimilación de fósforo, incluso a pesar de constituir habitualmente una fracción menor de la biomasa total. A primera vista, estos estudios parecen contradecir nuestros resultados. en los que el fitoplancton y no las bacterias

explica la mayor incorporación de P en biomasa después del primer muestreo de cada experimento y por tanto competirían favorablemente con las bacterias por este nutriente. No obstante, la metodología empleada por estos estudios difiere de la empleada por nosotros en que realizan medidas a corto plazo, generalmente utilizando trazadores radioactivos y en condiciones naturales sin pulsos de nutrientes. Por lo tanto, es posible que en los momentos iniciales de cada experimento las bacterias mostrasen una capacidad de asimilación de P superior. Sin embargo y teniendo en cuenta que los sistemas de asimilación de P en las bacterias se saturan a concentraciones de este elemento muy inferiores a las de las algas (Currie & Kalf, 1984), éstas últimas serían responsables de la incorporación de la práctica totalidad del P disponible. Como ya han señalado Lehman & Scavia (1982) las algas pueden explotar "manchas" de P. La conclusión en este estudio de que concentraciones elevadas de P favorecen el que las algas incorporen más P que las bacterias ha sido descrita con anterioridad para cultivos mixtos algas-bacterias (Rhee, 1972) y para algas de gran tamaño de sistemas marinos y de agua dulce (Lean & White, 1983; Suttle et al., 1990).

En resumen, nuestros resultados sugieren que de forma global el fitoplancton secuestra una mayor fracción del P disponible con respecto a las bacterias cuando este elemento se sitúa por encima de sus concentraciones ambientales, tras una adición experimental de P o como consecuencia de un aporte de nutrientes natural atmosférico (ver Capítulo IV).

#### **5.4.3.- La estequiometría de las fracciones biológicas**

El efecto del tratamiento (adición de P) y del tiempo fue mucho más pronunciado sobre la composición elemental del fitoplancton que sobre la de bacterias. El descenso en la razón  $N:P_f$  ocurrió con especial intensidad en el experimento 2 cuando las algas se encontraban inicialmente más limitadas por P ( $N:P_f$  inicial  $\sim 32$ ) y las condiciones de la laguna fueron las características de un sistema dominado por procesos biológicos (Carrillo, 1989). Las bacterias por su parte no mostraron diferencias en la razón N:P entre tratamientos a lo largo de la totalidad de los experimentos (Tabla 5.6). No obstante, el descenso de la razón  $N:P_b$  en el primer muestreo (24/48 h) de los experimentos 1 y 3 subraya la capacidad de las bacterias de modificar su estequiometría interna ante un aporte de P. Sin embargo, el hecho de que no exista un incremento paralelo en la población bacteriana, sugiere que estos organismos se encontrarían limitados por algún nutriente distinto al P, o bien que su población se encuentra sometida a un intenso control

vía depredación. La falta de respuesta de la razón N:P bacteriana en el experimento 2 coincide con la ausencia de respuesta de la producción bacteriana ante el mismo tratamiento (experimento de agosto; Figura 4.8), lo que parece apoyar la hipótesis de que el crecimiento de las bacterias no se encontraría limitado por este nutriente hacia mediados del periodo libre de hielo. Por lo tanto, si el fitoplancton respondió a la adición de P disminuyendo su razón N:P<sub>f</sub>, en las bacterias este patrón se manifestó tan sólo durante las primeras 24/48 h (primer muestreo) de los experimentos 1 y 3 periodo estival.

Si bien es cierto que la relación entre el N y el P no ha sido ampliamente considerada en las bacterias (van Veen & Paul, 1979; Tezuka, 1990), la razón N:P<sub>b</sub> descrita en nuestro estudio se sitúa dentro del rango descrito por Chrzanowski & Kyle (1996) que la sitúa entre 8 cuando el N es escaso en relación al P hasta 25 en el caso contrario.

Mientras que en las condiciones naturales de la laguna la razón N:P<sub>f</sub> fue alternativamente superior e inferior a la razón N:P<sub>b</sub> (Figura 4.3), corroborando así los resultados de estudios anteriores (Elser et al., 1995b), la modificación experimental de las condiciones nutricionales provocó que el fitoplancton modificase esta relación hasta hacer predominar que  $N:P_f < N:P_b$ , sin duda motivada por la capacidad de las algas de secuestrar con ventaja un aporte adicional de P. Este hecho constituye una prueba de la plasticidad fisiológica de las algas cuya composición interna es muy susceptible a variaciones en las condiciones nutricionales de su medio.

Los valores en las razones iniciales N:P<sub>f</sub> fueron muy diferente entre experimentos y mientras que se encontraron por debajo de la razón de Redfield en los experimentos 1 y 3, excedió este valor durante el experimento 2 hacia mediados del periodo libre de hielo. Sin duda, esta circunstancia indicaría que, de acuerdo con el criterio de deficiencia en P sugerido por Healey & Hendzel (1980), las algas estarían sometidas a una condiciones de limitación por P más severas en el experimento 2 que en el resto de experimentos. Muy probablemente este hecho se sitúe en el origen de la mayor respuesta de la composición C:N:P del fitoplancton ante el aporte de P en dicho experimento.

#### ***5.4.4.- Relación entre los procesos biológicos y la estequiometría de las fracciones***

Las tasas de incorporación de P en bacterias se relacionaron muy débilmente con la razón N:P<sub>b</sub>, sin embargo, esta asociación fue mucho más fuerte para el experimento 2 cuando fue analizado de forma aislada (Figura 5.11). La causa de la falta de relación cuando se consideraron la totalidad de los datos, podría deberse a la forma en la que las bacterias procesan el P con respecto al N (Elser et al., 1995b), al tiempo de ejecución de los experimentos llevados a cabo en condiciones abióticas y bióticas particulares, o a la interferencia del fitoplancton. Sin embargo, cualquiera que fuere la causa, es interesante resaltar que fue el experimento ejecutado bajo las condiciones en las que los procesos biológicos dominan la estructura del lago (periodo característico en los sistemas acuáticos de latitudes templadas), aquel que arrojó una mayor significación.

La Figura 5.11 indica un umbral en la razón N:P~27 por encima del cual las bacterias no mostrarían crecimiento en términos de P y viceversa. En este punto, el papel funcional de las bacterias se modificaría desde actuar como sumidero de P cuando estuvieran por debajo de este valor y por tanto compitiendo con las algas por este elemento, a estar intensamente limitadas por este elemento.

Por su parte la tasa neta de crecimiento de las bacterias no se relacionó con la razón N:P<sub>b</sub>. Vadstein et al. (1995) sugirió la capacidad de las bacterias, similar al fitoplancton, de almacenar cantidades importantes de P, lo que implicaría que la inferencia del estado fisiológico de las células, su actividad o las tasas a las que están creciendo a partir del contenido elemental de las mismas, podría conducir a deducciones erróneas (Faggebakke et al., 1996). Para estos últimos autores quizás resulte imprescindible abarcar un espectro más amplio de elementos además del C, N y P para poder establecer relaciones más claras entre la composición elemental de las bacterias y su actividad. Además, mientras que el papel de los ciliados en el control de bacterias es ampliamente aceptado y está de sobra documentada la influencia de la temperatura en el metabolismo bacteriano, más recientemente, se ha demostrado la importancia de los virus en el control de las poblaciones bacterianas (Fuhrman & Noble, 1995; Middelboe et al., 1996). Por lo tanto, consideramos que un estudio integrado requeriría de la inclusión de todas las variables que podrían actuar de forma alternativa o en conjunción modificando el metabolismo de las bacterias.

Las tasas de incorporación en P en algas se correlacionaron bien con la razón N:P<sub>f</sub> especialmente cuando los experimentos se analizaron por separado, lo que sugiere que existe un componente de estacionalidad importante en esta relación y que las

condiciones fisiológicas iniciales de las algas pueden ser cruciales en la evolución de estos procesos. Por ejemplo, tal y como se deduce de la elevada razón  $N:P_f$  para las condiciones iniciales del experimento 2 (Figura 5.6), las algas se encontrarían fuertemente limitadas por P.

Si proporcionamos más peso al experimento de mediados del periodo estival, podríamos afirmar que aquellas células que presentan tasas de crecimiento más elevadas poseen razones  $N:P$  más bajas (Figura 5.8), lo que apoyaría las conclusiones de anteriores investigaciones (Goldman, 1980; Gächter & Bloesch, 1985). Por lo tanto y aunque reconocemos que las razones  $C:N:P$  pueden no reflejan de forma estricta la razón química elemental del fitoplancton (Goldman, 1980; Tezuka, 1985; Elser et al., 1995b; Capítulo IV), su utilización como herramienta para el diagnóstico del estado nutricional en la Caldera así como para muchos otros sistemas dulceacuícolas (Nakanishi, 1990), parece justificada.

Las algas que presentan razones  $N:P$  elevadas, se encontrarían teóricamente limitadas por P y su crecimiento sería escaso o nulo (Figura 5.8). Estas algas estarían ávidas por incorporar P tal y como se aprecia en la Figura 5.10. Sin embargo, el hecho de que el P incorporado no revierta, al menos de forma inicial, en un incremento en sus tasas de crecimiento netas (Figura 5.8) podría ser interpretado como que dicho P se dispone en acúmulos de reserva (consumo de lujo). De hecho, esta visión estaría apoyada por la relación negativa entre las tasas de crecimiento y concentración de P por unidad de volumen celular (Figura 5.9), según la cual, las células con tasas elevadas de crecimiento dispondrían de una menor cantidad de P por unidad de volumen, mientras que aquellas otras con tasas inferiores de crecimiento podrían almacenar más P en un proceso de consumo de lujo, posiblemente destinado a suplir deficiencias posteriores en su mantenimiento o crecimiento. La capacidad del fitoplancton de almacenar P en forma de polifosfatos, a diferencia de las bacterias cuya capacidad es más limitada, les permite independizarse en mayor medida de una fuente continua de P (Wehr et al., 1994).

Sin duda, la mayor significación de las relaciones descritas para el experimento desarrollado a mitad del período estival sugiere que la importancia ecológica de los procesos descritos requiere que el flujo de nutrientes internos de origen biológico sea de una magnitud significativa en relación al flujo de nutrientes externo de origen abiótico.

*CAPÍTULO VI*

---

---

**LAS DINÁMICAS DE LOS NUTRIENTES EN LA  
INTERFASE DEPREDADOR-PRESA: LA  
INFLUENCIA DE ENTRADAS ALÓCTONAS VS.  
AUTÓCTONAS**





## 6.1.- INTRODUCCIÓN

Gran parte de los nuevos conceptos estequiométricos se basan en las observación de que de que los consumidores no reflejan de forma pasiva la composición elemental de sus fuentes de alimento. De forma pionera Harris & Riley (1956) indicaron que la estequiometría del zooplancton y en particular de la razón N:P, es menos variable que aquella de su alimento y sus observaciones han sido constatadas por un gran número de estudios posteriores (Mullin & Brooks, 1970; Corner & Davis, 1971; Le Borgne, 1982; Lehman & Naumoski, 1985; Båmstedt, 1986). Por lo tanto, un primer requerimiento para poder avanzar en la comprensión y formulación de estos modelos estequiométricos debe necesariamente pasar por la caracterización elemental de los organismos en su medio natural (Sterner, 1995).

Los primeros estudios estequiométricos del zooplancton se centraron en la caracterización de la variabilidad química total (Behrendt, 1990). Estudios posteriores revelaron distintos patrones en la caracterización química de los principales grupos del zooplancton (cladóceros y copépodos), con la existencia de diferencias restringidas para un mismo taxón o intraespecíficas, pero mayores entre taxones o interespecíficas (Hessen, 1990; Andersen & Hessen, 1991). A pesar de ello, tradicionalmente, los estudios sobre la composición del zooplankton se han restringido al análisis de las diferencias interespecíficas entre los principales grupos crustáceos y generalmente en estadios adultos. Por ejemplo, los cladóceros como *Daphnia* sp. se caracterizan por presentar crecimientos y tasas de reproducción elevadas, y muestran una razón N:P entre 12 y 18. Por el contrario, los copépodos calanoides caracterizados por un crecimiento más lento y un tiempo de generación mayor con tan sólo uno o dos ciclos reproductores por año, poseen un razón N:P por encima de 30 (Andersen & Hessen 1991; Hessen & Lyche 1991) y siempre mayor que aquella de cladóceros.

La restringida variabilidad en la composición elemental del zooplancton con respecto a su alimento posee implicaciones ecológicas importantes. En primer lugar, ha permitido formular y probar hipótesis relacionadas con la limitación mineral del zooplancton (Hessen & Andersen, 1992; Urabe, 1993; Urabe et al., 1997). En este sentido, cuando el contenido elemental del alimento es inferior a los requerimientos somáticos del zooplancton, éste puede experimentar una reducción en su tasa de crecimiento (Sommer, 1992) tal y como se demostró con *Daphnia* cuando fue alimentada con algas deficientes en P en relación al C (razón C:P alta) (Sterner, 1993; Sterner et al.,

1993). En esta misma línea, algunos investigadores (Olsen et al., 1986; Urabe & Watanabe, 1992) han propuesto umbrales en la razón C:P del alimento por encima de los cuales el crecimiento neto de cladóceros se encuentra limitado por P.

En segundo lugar, los cambios en la composición del zooplancton han permitido predecir alteraciones en la razón N:P del reciclado (Olsen et al., 1986; Sterner et al., 1992). El zooplancton como agente cuantitativamente importante en la regeneración de nutrientes, puede afectar a la “arena competitiva” (*sensu* Sterner, 1990) de las especies algales modificando la razón N:P del substrato reciclado y provocar, en última instancia, una desigual disponibilidad de elementos minerales para las algas. Esta divergencia en la razón del reciclado con respecto a la del alimento del zooplancton, fue inicialmente sugerida por Elser et al. (1988) al encontrar que los cambios en las poblaciones del zooplancton se encontraban asociados a cambios drásticos en la limitación por N o P del fitoplancton.

En definitiva, el funcionamiento del zooplancton como sumidero o fuente de nutrientes a través del proceso simultáneo de depredación y reciclado implica que la influencia del zooplancton en sus presas puede ocurrir directamente a través de procesos “top-down” o indirectamente a través de procesos “bottom-up” modificando las relaciones de su recurso (Lehman, 1980; Lampert et al., 1986) y así, en última instancia, redistribuyendo los elementos N y P entre los “pools” químicos y biológicos (Sterner et al., 1992). De hecho, las proporciones relativas de los nutrientes suministrados al fitoplancton pueden originar una fuerza selectiva y estructuradora de la comunidad fitoplanctónica (Hecky and Kilham, 1988; Elser et al., 1988).

A pesar del progreso adquirido en el conocimiento de la estequiometría y particularmente de los efectos de los herbívoros y peces en los procesos de reciclado de la cadena trófica (Olsen et al., 1986; Sterner et al., 1992; Urabe, 1993; Elser et al., 1995a; Vanni et al., 1997; Schindler and Eby, 1997), existe en la actualidad un conocimiento escaso de cómo los efectos de depredación sobre el fitoplancton varían en función de la carga de nutrientes del sistema o de las perturbaciones climáticas.

Sin duda, la evaluación de la interacción fitoplancton-zooplancton bajo diferentes perturbaciones físicas (regímenes hidrológicos variables) y químicas (deposiciones atmosféricas) supondría un paso importante en la evaluación de la aplicabilidad de los escenarios estequiométricos y en la profundización del entendimiento de cómo los

procesos de depredación generan la estructura de la red trófica. Mediante el análisis del ajuste de las predicciones estequiométricas y de los efectos de estas perturbaciones nos proponemos reconocer la eficacia de esta aproximación, para en última instancia adquirir una comprensión más profunda de los mecanismos que subyacen a la propagación de los procesos internos y externos desde los productores primarios hacia niveles tróficos superiores.

En este contexto, como objetivos del presente Capítulo planteamos:

- (1) determinar la composición elemental del zooplancton ( $>40\mu\text{m}$ ) y de la fracción sestónica ( $1-40\mu\text{m}$ ) a lo largo de tres años de condiciones bióticas y abióticas particulares en La Caldera.
- (2) examinar las causas que originan las variaciones en el contenido elemental del zooplancton.
- (3) analizar el efecto de las predicciones estequiométricas sobre la sucesión del fitoplancton.
- (4) explorar cuantitativamente la importancia relativa de los nutrientes limitantes para el crecimiento del fitoplancton, evaluando para ello las contribuciones al *pool* de P internamente a través del reciclado de nutrientes por parte del zooplancton o externamente a través de los procesos de deshielo y deposiciones atmosféricas.

## 6.2.- MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.2.1.- *Composición elemental del zooplancton y del seston*

El muestreo, fraccionamiento y análisis de la composición química del seston (evaluada de igual forma que la del fitoplancton) y del zooplancton se realizó tal y como se describe en la metodología general para los tres años de estudio (Capítulo II), a excepción de la fracción zoopláctónica en 1997. La razón N:P de la fracción zoopláctónica durante este último año fue estimada a partir de la media ponderada de la abundancia de los estadios de *M. laciniatus*, de su contenido individual en N y P

(metodología descrita en el Capítulo VII) y asumiendo que toda la biomasa zooplanctónica estuvo compuesta por *M. laciniatus* ( 84% de la biomasa del zooplancton; Figura 7.2).

#### 6.2.2.- *Estima de las entradas de P al sistema*

Los cambios en el área del lago se registraron a partir de fotografías aéreas. Estos datos, en combinación con un mapa batimétrico de la laguna fueron utilizados para calcular el volumen mediante una integración vertical trapezoidal al comienzo de cada periodo estacional durante los 3 años de estudio (Surfer, Microsoft, 1995). La contribución potencial de los nutrientes contenidos en la nieve/hielo al balance de fósforo de la Laguna se estimó a partir del área de captación y del espesor medio de nieve (*entrada de P deshielo*). La naturaleza silicea de la roca madre junto a la escasez de suelo orgánico permite desestimar la influencia de la entrada de aguas subterráneas en el balance químico de la laguna. Aun así, el hecho de que no todos los nutrientes contenidos en la nieve del área de captación necesariamente alcanzasen la laguna, implica que el cálculo de la entrada de P mediante esta aproximación podría suponer una sobreestima.

El contenido medio en fósforo de la nieve se obtuvo a partir de 5, 11 y 8 muestreos para cada uno de los años de estudio respectivamente, realizados en la capa de nieve/hielo situada sobre el lago con anterioridad al deshielo total de la laguna y a partir de nieve situada en el área de captación la laguna con posterioridad a éste. El contenido en P de la nieve se obtuvo como promedio de muestras tomadas en una capa superficial y otra situada a 15 cm de profundidad (3 réplicas de cada capa). Por último, la contribución del deshielo al balance de P de la laguna se calculó a partir de la concentración total de P en la nieve localizada en el área de captación, el volumen total de la laguna y asumiendo que todo el P contenido en la nieve del área de captación entra en el agua de la laguna en un único episodio.

La entrada de nutrientes y particularmente de P a través de deposiciones atmosféricas (*entrada de P atmosférica*) se calculó a partir de las concentraciones máximas del fósforo disuelto total registradas en el lago en el muestreo siguiente a la precipitación.

Los datos de precipitación diaria y el espesor medio de la nieve durante el invierno se obtuvieron tal y como se detalla en la metodología general (Capítulo II, pg. 25).

### 6.2.3.- *Análisis estequiométrico de la interfase fitoplancton-zooplancton*

#### 6.2.3.1.- *Aproximación cualitativa*

La aplicación de la teoría elemental estequiométrica (*sensu* Sterner et al., 1990) permite predecir la razón N:P del sustrato (*s*) a partir de la razón N:P del animal (*b*) y la de su alimento (*f*) de tal forma que:

$$\begin{aligned} s &= f - bL / (1 - L), & \text{si } f > b \\ s &= f(1 - L) / (1 - (L f / b)), & \text{si } f < b \end{aligned}$$

siendo *L* la máxima eficiencia de acumulación (0.9) para el N y el P. La eficiencia de acumulación se define como la fracción de nutrientes del fitoplancton que se emplea en la construcción de biomasa del depredador después de ingerir a su presa y corresponde a la eficiencia de crecimiento bruta (Corner & Davis, 1971), siempre y cuando las pérdidas debidas al “sloopy feeding” (nutrientes liberados tras la rotura de las células como resultado de la depredación) sean despreciables. La máxima eficiencia de acumulación para un determinado elemento, *L*, tendría lugar bajo condiciones de deficiencia por este elemento. Según Sterner et al. (1992), es muy probable que, la mayoría de las estimas hechas hasta el presente hayan subestimado el valor de esta eficiencia en los sistemas naturales, al haber trabajado bajo condiciones de ausencia de limitación severas. En este sentido, el estudio de Olsen et al. (1986) mostró que las tasas de liberación de P por *Daphnia* fueron nulas cuando la razón C:P del alimento excedió el rango de 320–430 (baja calidad del alimento), indicando un valor de *L* muy próximo a uno. En base a estos argumentos, hemos considerado adecuado asumir el valor de 0.9 muy cercano a 1 como la eficiencia de acumulación de P y N por el zooplancton.

En este estudio, la razón N:P del sustrato (*s*), habitualmente calculada a partir de la fracción retenida después de filtrar un determinado volumen del lago sin zooplancton a través de un filtro GF/F (0.7 µm de diámetro de poro), fue calculada utilizando filtros Nucleopore (1.0 µm de diámetro de poro). El espectro de tamaños de los organismos en

La Caldera permite a nuestro juicio obtener valores muy próximos a través de ambas aproximaciones como estimas del recurso disponible para el zooplancton.

El *desequilibrio de nutrientes minerales*, tal y como lo definió Sterner (1990), se calcula como la razón N:P del seston menos la del zooplancton, de forma que un valor positivo indicaría que la razón N:P sestónica es mayor que la razón N:P zooplanctónica. Cuando este valor es cero, el crecimiento ocurre de forma equilibrada y óptima. Por el contrario, un desequilibrio grande indicaría una deficiencia importante en la calidad del alimento para el crecimiento del consumidor (Sterner et al., 1995b).

#### 6.2.3.2.- Aproximación cuantitativa

El cálculo de las tasas de liberación de fósforo por parte del zooplancton fueron estimadas ajustando dos modelos diferentes. El primero propuesto por Hessen & Andersen (1992) que relaciona la composición elemental del seston y del zooplancton mediante las siguientes expresiones:

$$\begin{aligned} \text{SER} &= [(1 - K^*) Q_s] I_c, & \text{si } Q_s < Q_z \\ \text{SER} &= [(Q_s - K^* Q_z] I_c, & \text{si } Q_s > Q_z \end{aligned}$$

donde  $Q_s$  = razón P:C del seston < 40  $\mu\text{m}$  ( $\mu\text{g P mg C}^{-1}$ ); (este estudio)  
 $Q_z$  = razón P:C del zooplancton ( $\mu\text{g P mg C}^{-1}$ ); (este estudio)  
 $I_c$  = tasa de ingestión específica de C ( $\text{d}^{-1}$ ); valores obtenidos por Carrillo et al. (1996b) para este sistema  
 $K^*$  = eficiencia de crecimiento del zooplancton; calculada a partir de los valores de la razón Producción/Biomasa ( $\text{d}^{-1}$ ) de la población de *Mixodiptomus laciniatus* (Cruz-Pizarro, 1983) y de los valores de  $I_c$  ( $\text{d}^{-1}$ ) como:

$$K^* = \frac{\text{Producción/biomasa}}{I_c}$$

El segundo modelo propuesto por Carrillo et al. (1996b) es de tipo alométrico y fue experimentalmente obtenido para La Caldera. Este modelo permite estimar la tasa específica de excreción (SER) de P por parte del zooplancton y por tanto del P inmediatamente disponible para los organismos del fitoplancton o bacterioplancton según la expresión:

$$\text{SER P } (\mu\text{g P mg}^{-1} \text{ h}^{-1}) = 4.91 - 6.16 * X$$

donde  $X$  = tamaño medio individual del zooplancton (mm)

Mediante la medida del P contenido en los “fecal pellets” a lo largo del año de 1997, hemos evaluado la tasa de pérdida de P para su aprovechamiento inmediato por parte de algas y bacterias, tras asumir una tasa de producción conservativa de 1 “fecal pellet” ind<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> (Corner et al., 1972; Paffenhöfer & Knowles, 1979; Butler & Dam, 1994). Puesto que no se analizaron experimentalmente los “fecal pellets” para el año de 1996, los resultados medios mensuales en el contenido de P de los “fecal pellets” se hicieron extensivos para los meses de 1996 con objeto de calcular la pérdida de P por defecación.

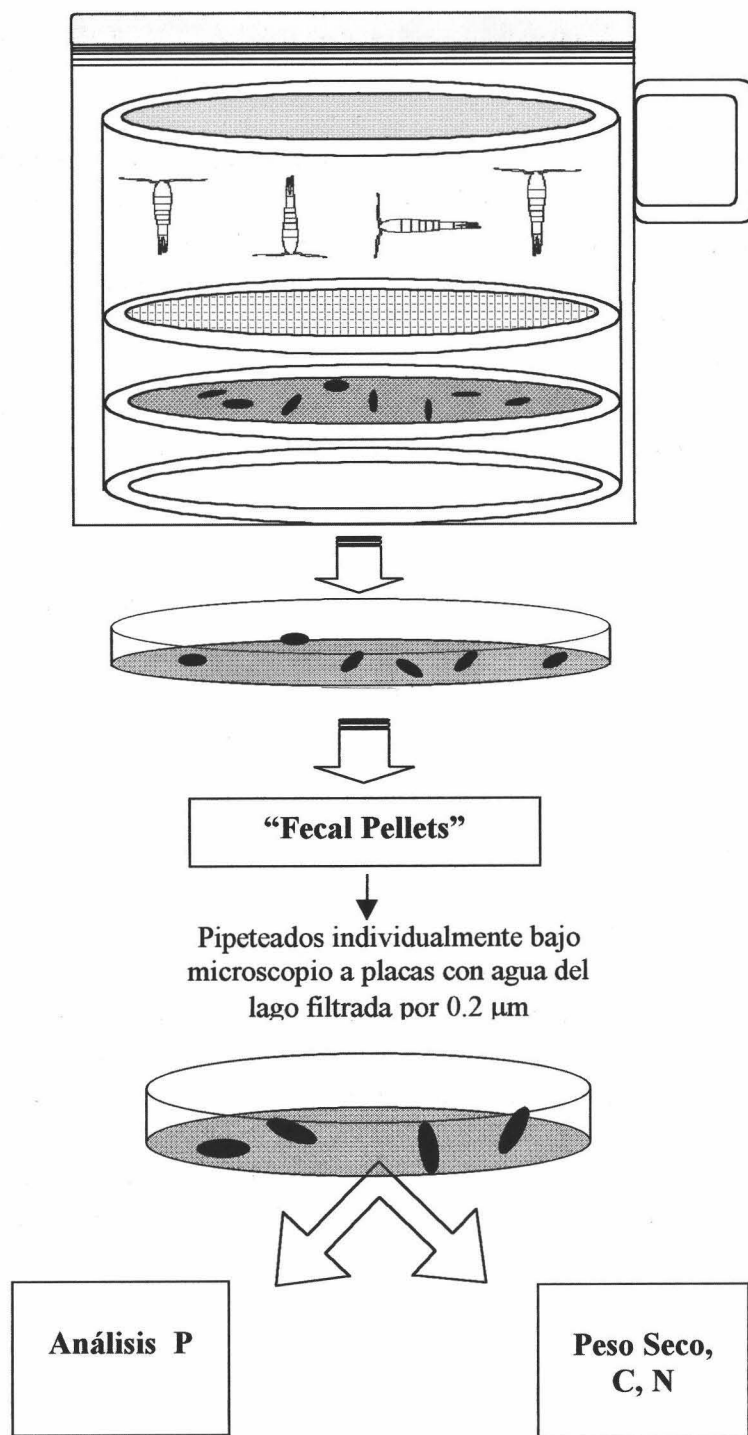
#### 6.2.3.3.- Calculo de las demandas mínimas de P algales

Los requerimientos mínimos de P por parte del fitoplancton se obtuvieron a partir de los datos de producción primaria (Capítulo IV, Tabla 4.5) y a partir de las razones C:P sestónicas para los años 1996 y 1997 (Capítulo IV, Figura 4.2). Para el cálculo del porcentaje de las demandas de P satisfechas por el zooplancton, por los procesos de deshielo y por las entradas atmosféricas, la disponibilidad de P a través de estas vías fue dividida por los requerimientos mínimos de P por parte de las algas.

#### 6.2.4.- *Muestreo y análisis de los “fecal pellets”*

El muestreo de los “fecal pellets” se realizó mediante la construcción de un dispositivo que permitía la defecación y separación de los “fecal pellets” a partir de copépodos alimentados *in situ* (Figura 6.1).





Para ello, un cilindro de metacritalo con una red de nyal de 200  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro se dispuso separando a los animales de la zona inferior del cilindro donde una red 10  $\mu\text{m}$  retenía los “pellets” que iban siendo liberados y que sedimentaban por efecto de la gravedad. Este dispositivo se dispuso dentro de un termo hermético que se rellenaba de agua del lago en su totalidad. La adición de un inóculo concentrado de zooplancton se realizaba a partir de arrastres verticales (red de arrastre de 40  $\mu\text{m}$ ). El contenedor fue transportado al laboratorio en posición vertical y a una temperatura próxima a la de la laguna. El tiempo de defecación fue de 3 h.

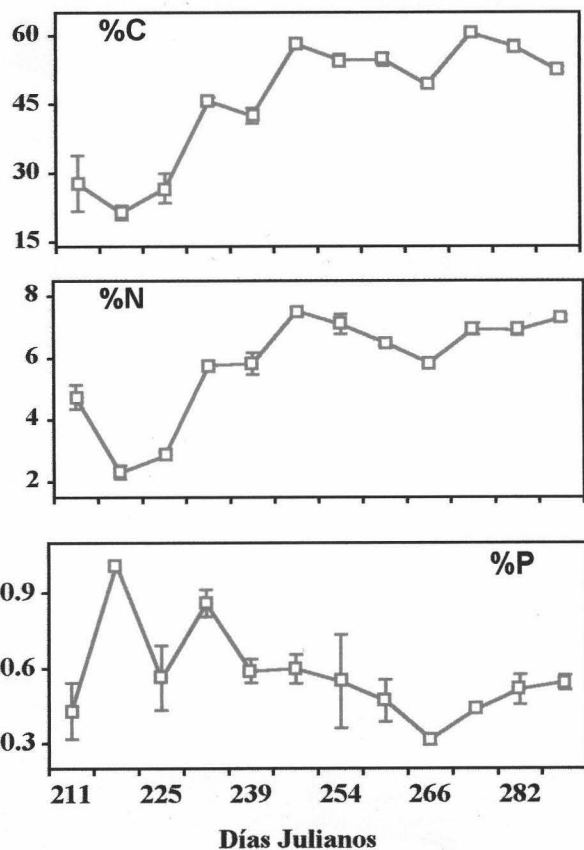
El aislamiento de los “fecal pellets” en laboratorio se llevó a cabo lavando el filtro de nyal de 10  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro en placas de Petri con agua bidestilada. Su separación se realizó de forma individual bajo un microscopio Leitz (10X) con micropipetas Pasteur. El volumen de cada “fecal pellet” se estimó midiendo las dimensiones de longitud y anchura para aproximarlos a la forma geométrica de un cilindro (longitud / diámetro > 2). Entre 35 y 75 “fecal pellets” (dependiendo del tamaño) se dispusieron directamente en botes Pyrex o en cápsulas de aluminio para la determinación de su contenido elemental en P o C/N, siguiendo una metodología común a la empleada para el análisis químico del zooplancton y fitoplancton (Capítulo II).

### 6.3.- RESULTADOS

#### 6.3.1.- *Composición química del zooplancton*

La evaluación de la composición química del zooplancton a partir de una metodología común durante 1995 y 1996, permite contrastar de forma conjunta los valores obtenidos durante este periodo. Sin embargo, mientras que la expresión del contenido en C, N y P del zooplancton como porcentaje del peso seco fue viable en 1996, no lo fue en 1995, año en el que como consecuencia del aumento de partículas minerales en suspensión en una laguna de menos de 2 m de profundidad máxima, el peso real del zooplancton fue sobreestimado.

Así en 1996, el C osciló entre el valor medio del 25.3% de los 3 primeros muestreos (deshielo) hasta valores comprendidos entre el 50% y 60% a partir de

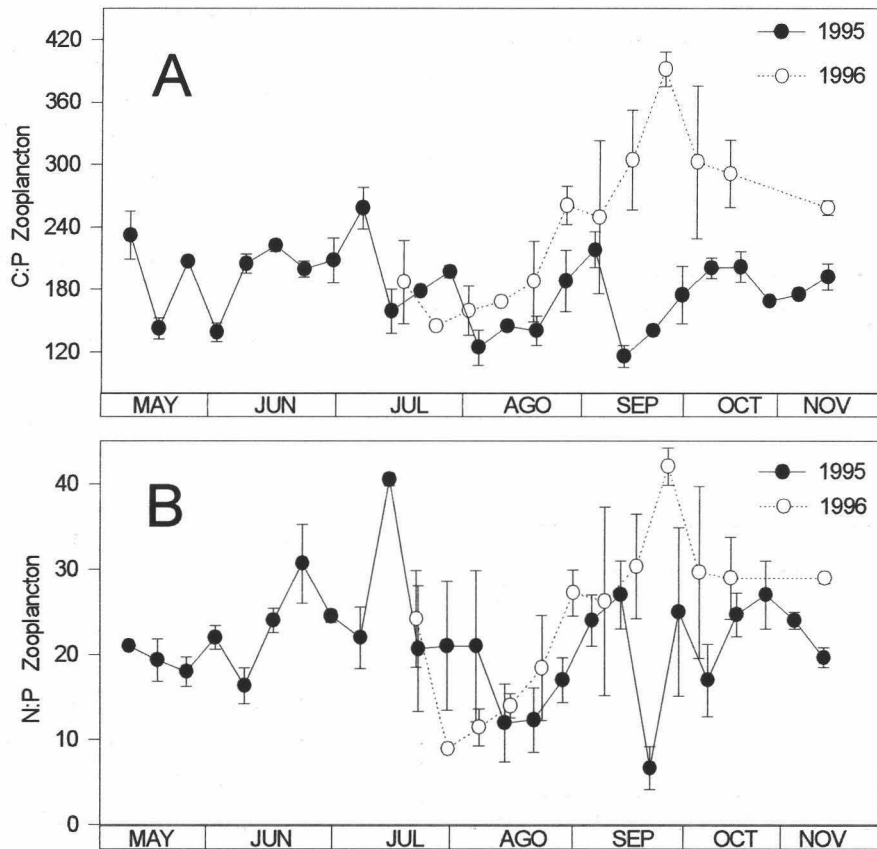


**Figura 6.2.** Composición en C, N y P de la fracción de zooplancton en 1996.

de septiembre (Figura 6.2). De forma similar al C, el N exhibió un patrón ascendente a lo largo de la estación libre de hielo desde valores cercanos al 2% hasta superiores al 7% a partir de septiembre. Por el contrario, el P exhibió un patrón inverso y los valores máximos a principios del deshielo (~1%) se redujeron a la mitad a lo largo del periodo libre de hielo (~0.5%; Figura 6.2).

Las razones C:N:P variaron dentro de límites restringidos a lo largo de los años 1995 y 1996 y sus medias no difirieron significativamente entre años. Concretamente, la razón C:P osciló entre 100 y 302 (media 193) en 1995 y entre 107 y 416 (media 229) en 1996

(Figura 6.3A). Esta razón osciló sin ningún patrón definido durante el primer año, mientras que mostró una tendencia creciente a lo largo del periodo libre de hielo durante 1996. De esta forma, la razón media C:P del zooplancton en 1996 osciló entre  $131.8 \pm 22.0$  cuando los nauplios dominaron tras el deshielo y hasta mediados de agosto y  $276 \pm 73$  durante el periodo de dominio de juveniles/ adultos (Figura 6.3A).



**Figura 6.3.** Razones C:P y N:P del zooplancton a lo largo del periodo libre de hielo de 1995 y 1996.

De forma similar, la razón N:P fluctuó entre 6.9 y 40.1 (media 22.6) en 1995 y entre 10.4 y 42.2 (media 24.9) en 1996 (Figura 6.3B). Los valores más bajos durante 1995 coincidieron en el tiempo con los máximos de abundancia de rotíferos y nauplios, mientras que esta razón describió un comportamiento creciente similar a la del C:P a lo largo de 1996, con valores que fluctuaron entre  $12.5 \pm 2.2$  cuando los nauplios dominaron y  $29.6 \pm 6.4$  cuando éstos fueron sustituidos por copepoditos y adultos (Figure 6.3B).

Con objeto de evaluar la variabilidad interanual de las razones C:N:P zooplanctónicas, se calculó un coeficiente de variación estacional (desviación estándar de

**Tabla 6.1.** Coeficientes de variación estacional en las razones elementales del zooplancton en 1995 y 1996.

Ratio	1995	1996	1995-96
C:N	20.89	12.37	20.35
C:P	18.99	40.55	40.02
N:P	31.48	36.91	41.55

Coefficientes calculados según Elser et al. (1995b).

las medias semanales / media total \*100) tal y como sugiere Elser et al. (1995b). Este coeficiente (CSD) se determinó individualmente para los años 1995 y 1996, así como para el conjunto de los valores obtenidos en ambos años. El coeficiente de variación presentó el valor más alto para la razón N:P en 1995 y para la razón CP en 1996 (Tabla 6.1).

El valor de CSD no se modificó sustancialmente con respecto a los valores más elevados de los años anteriores tras la inclusión de los datos completos para el periodo de 1995-96, lo que indica que la variabilidad interanual en las razones C:N:P del zooplancton es al menos del mismo orden que aquella registrada para un mismo año.

Para examinar las causas potencialmente responsables de la variabilidad intranual en la composición elemental del zooplancton y en particular, de la razón más variable (N:P) para el periodo conjunto de 1995-96 (Tabla 6.1), se llevaron a cabo sendos análisis de regresión por pasos para los datos correspondientes a los años 1995 y 1996 (Tabla 6.2). Los potenciales predictores de la razón N:P del zooplancton considerados fueron la abundancia relativa de los distintos grupos taxonómicos del zooplancton (rotíferos, calanoides, ciclópodos y cladóceros), el estadio ontogénico de desarrollo de la especie dominante *M. laciniatus* (calculado como media ponderada de su abundancia) y la razón N:P sestónica (calidad del alimento). Los resultados indican que mientras que la abundancia de rotíferos ( $P = 0.003$ ) y nauplios ( $P = 0.014$ ) se asocian con los valores más bajos de la razón N:P del zooplancton ( $N:P_z$ ) en 1995, la ontogenia de *M. laciniatus* contribuye de forma significativa a explicar la varianza observada en la razón  $N:P_z$  durante 1996 ( $P = 0.028$ ; Tabla 6.2).

**Tabla 6.2.** Resultado de la regresión por partes entre la razón N:P del zooplancton y algunos potenciales predictores (abundancia de los grupos de zooplancton, estadio ontogénico de *M. laciniatus* y la razón N:P del fitoplancton para (A) 1995 y (B) 1996.

<b>A</b>	<b>β</b>	<b>SE (β)</b>	<b>t(18)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>P</b>
Intercepción	26.10	2.32	11.24	—	.000
Rotíferos (ind/l)	-.37	.11	-3.42	-.63	.003**
Nauplios (ind/l)	-.57	.21	-2.72	-.54	.014*
Ciclópodos (ind/l)	-13.86	7.00	-1.98	-.42	.063
Calanoides (ind/l)	.22	.13	1.66	.36	.114
Cladóceros (ind/l)	—	—	—	—	—
N:P fitoplancton	—	—	—	—	—
Estadio Ontogénico <i>M.laciniatus</i>	—	—	—	—	—
n = 23; r <sup>2</sup> = .45					
<b>B</b>	<b>β</b>	<b>SE (β)</b>	<b>t(18)</b>	<b>Correlación parcial</b>	<b>P</b>
Intercepción	5.16	7.97	.65	—	.538
Estadio <i>M. laciniatus</i>	3.04	1.10	2.76	.72	.028*
Cladóceros (ind/l)	-44.26	27.29	-1.62	-.52	.149
Rotíferos (ind/l)	—	—	—	—	—
Nauplios (ind/l)	—	—	—	—	—
Ciclópodos (ind/l)	—	—	—	—	—
Calanoides (ind/l)	—	—	—	—	—
N:P fitoplancton	—	—	—	—	—
n = 10; r <sup>2</sup> = .52					

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.001$

Con el propósito de probar la causalidad del desarrollo ontogénico en la estequiometría de los copépodos y a partir de las diferencias intraespecíficas apuntadas en la literatura (Elser et al., 1996; Carrillo et al., 1996a), el contenido elemental de *M. laciniatus* fue explorado a nivel del estadio de desarrollo en 1997 (Capítulo VII).

### 6.3.2.- Evaluación de las entradas de *P* alóctonas

La nieve puede jugar un papel crucial en las dinámicas planctónicas de la Caldera. En primer lugar, la nieve acumulada no solamente afecta a la cantidad de

nutrientes que potencialmente penetran en la laguna, sino también a la carga hídrica de ésta. En segundo lugar, el grosor de la capa de nieve/hielo determina al menos de forma parcial, el tiempo de desaparición de la cobertura de hielo (Goldman et al., 1989). De hecho, el tiempo de desaparición completo de la cobertura de hielo osciló entre años y mientras que ocurrió tempranamente en 1995 (12 de mayo), en los dos años siguientes, de precipitaciones excepcionalmente altas, este momento se retrasó durante más de un mes (1 de julio y 19 de junio, respectivamente).

**Tabla 6.3.** Valores medios anuales de algunos parámetros climatológicos-limnológicos de la Caldera y valores estimados de las entradas de P asociadas a los procesos de deshielo y precipitaciones (rango).

Parámetros	1995	1996	1997
Profundidad de la nieve (cm)	10.67	122.67	164.00
Precipitación anual (mm)	370.8	1816.2	1755.20
Volumen inicial del lago ( $m^3 \times 10^3$ )	6.95	355.3	355.3
Área captación / área lago	47.0	7.3	7.3
Temperatura del agua (°C)	11.40	5.21	7.68
Profundidad máxima (m)	1.75	14.00	13.88
Z <sub>25%</sub> luz incidente (m)	1.3	6.7	7.6
Entradas de P deshielo ( $\mu g P l^{-1}$ )	0.15	0.017	0.014
Entradas de P atmosféricas ( $\mu g P l^{-1}$ )	3.1–3.4	1.1–23.2	1.0–1.4

Debido a los cambios de volumen y superficie experimentados por la laguna, la razón entre la superficie de la cuenca de captación y la superficie de la laguna varió entre 47.0 en 1995 y 7.3 en 1996 y 1997 (Tabla 6.3). Las *entradas de P deshielo* a la laguna fueron estimadas en  $0.15 \mu g P l^{-1}$  en 1995,  $0.017 \mu g P l^{-1}$  en 1996 y  $0.014 \mu g P l^{-1}$  en 1997 (Tabla 6.3).

La impredecibilidad temporal de las precipitaciones atmosféricas de origen sahariano o “lluvias rojas” (Moulin et al., 1997b) tuvo un efecto manifiesto durante los tres años de este estudio. Así pues, mientras que las *entradas de P atmosféricas* asociadas a precipitaciones húmedas fueron de intensidad moderada, 3.1–3.4 y 1.0–1.4  $\mu g P l^{-1}$  en



1995 y 1997, respectivamente, durante la primera semana de septiembre de 1996 (día 246) se registró una carga masiva de P que alcanzó hasta  $23.2 \mu\text{g P l}^{-1}$  (Figura 3.4; Tabla 6.3).

### 6.3.3.- Consideraciones estequiométricas en la interacción fitoplancton-zooplancton

El análisis comparativo de las razones  $\text{N:P}_f$  y  $\text{N:P}_z$  se realizó con el propósito de explorar si los procesos de consumo herbívoro pueden contribuir a la limitación nutricional y a la sucesión de las algas en La Caldera.

La razón  $\text{N:P}_f$  fluctuó ampliamente y excedió a la razón  $\text{N:P}_z$  (*desequilibrio de nutrientes minerales positivo*) en 16 de 25 muestreos en 1995, en 7 de 12 muestreos en 1996 y en 6 de 11 ocasiones en 1997 (Figura 6.4). Según Sterner (1990), el desequilibrio entre ambas razones provocaría, al menos de forma teórica, una desviación de la razón  $\text{N:P}$  del reciclado (*s*), bien amplificando o mitigando la limitación por P.

Mientras que *s* varió sin presentar un patrón definido en 1995 (Figura 6.4A), mostró un comportamiento más regular durante los años húmedos con valores por debajo de la razón  $\text{N:P}$  del zooplancton (*b*) y fitoplancton (*f*) en el deshielo, hacia finales del período libre de hielo y después de una entrada externa atmosférica. Por el contrario, se situó por encima de *b* y *f* durante los periodos inmediatamente después del deshielo y cuando los estadios copepodíticos iniciales dominaron (Figuras 6.4B y 6.4C). Las precipitaciones atmosféricas estuvieron asociadas a descensos notables en la razón  $\text{N:P}_f$  observados en el muestreo inmediatamente posterior a un episodio de precipitación (ver flechas en la Figura 6.4).

Como ya mencionamos el Capítulo III, las precipitaciones coincidieron en los años de estudio con cambios fundamentales en la composición de la comunidad fitoplanctónica (Figura 3.7). Concretamente, tras tres lluvias bien definidas en 1995 (días 164, 179 y 243), las poblaciones de crisofíceas descendieron siendo reemplazadas por clorofíceas (ver flechas en Figura 3.7 y Figura 6.4A). Así mismo, las precipitaciones de 24 y 31  $\text{l m}^{-2}$  registradas los días 219 y 225 de 1996 fueron, similarmente, consistentes en el tiempo con la aparición de otras clases de fitoplancton diferentes a las crisofíceas (Figura 3.7). Durante este mismo año, un segundo grupo de precipitaciones los días 246 y 254 en septiembre tuvo un efecto semejante si bien más pronunciado que resultó en el dominio en biomasa de los dinoflagelados representados por la especie *Amphidinium*

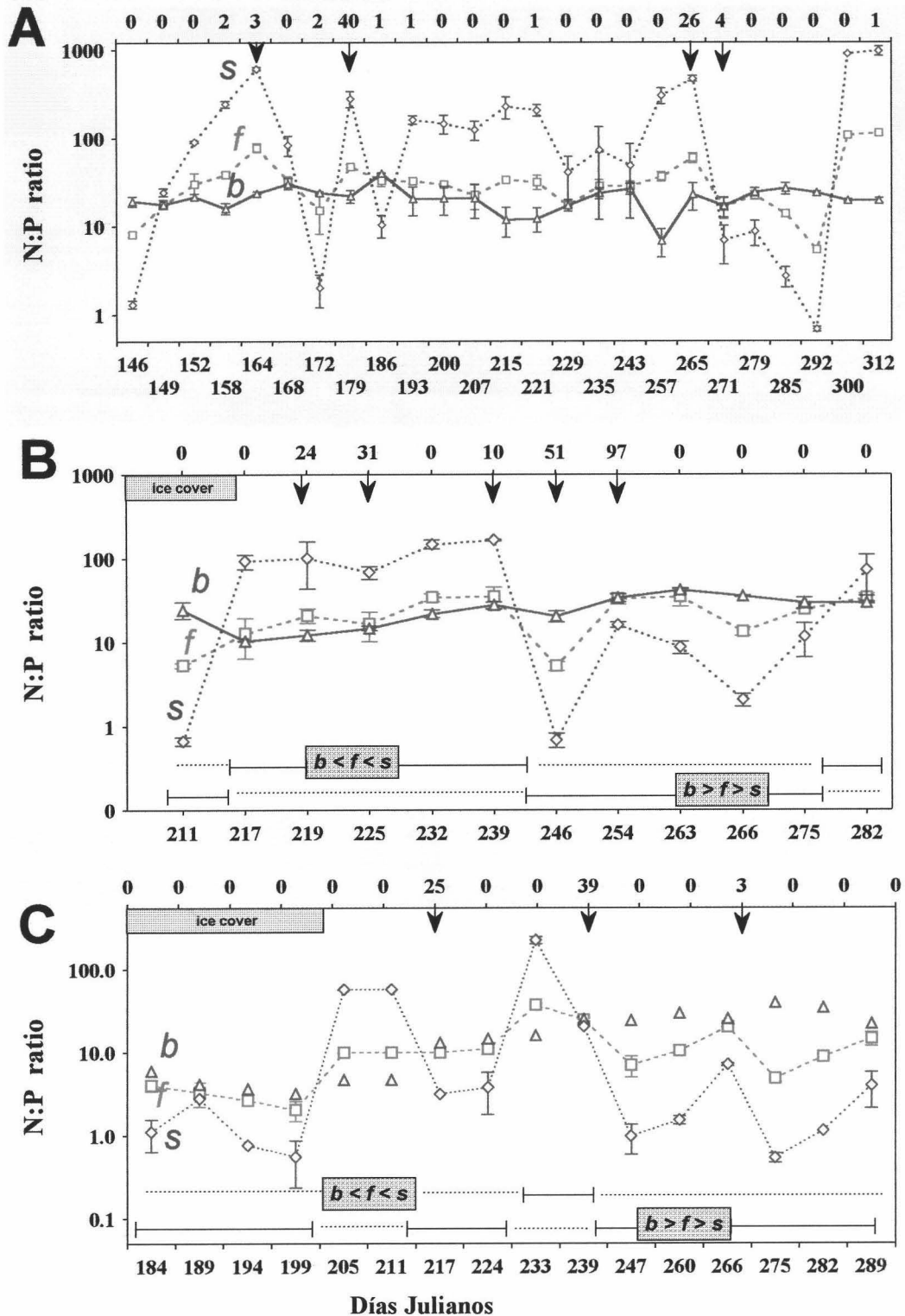


Figura 6.4. Representación de la razón N:P del reciclado ( $S$ ) a partir de la razón N:P del seston ( $f$ ) y del zooplancton ( $b$ ) según el modelo de Sterner (1990) (ver pg. 137) para 1995 (A), 1996 (B) y 1997 (C). La precipitación semanal ( $l\ m^{-2}$ ) se muestra en el eje superior.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes the need for transparency and accountability in financial reporting.

2. The second part of the document outlines the various methods and techniques used to collect and analyze data. It includes a detailed description of the experimental procedures and the tools used for data collection.

3. The third part of the document presents the results of the study. It includes a series of tables and graphs that illustrate the findings of the research. The data shows a clear trend in the relationship between the variables being studied.

4. The fourth part of the document discusses the implications of the findings. It highlights the potential applications of the research in various fields and the need for further investigation in this area.

5. The fifth part of the document concludes the study. It summarizes the key findings and provides a final statement on the overall significance of the research. The authors express their gratitude to the funding agencies and the participants who made the study possible.

6. The sixth part of the document includes a list of references and a list of figures. The references cite the works of other researchers in the field, and the figures provide a visual representation of the data presented in the text.

7. The seventh part of the document contains a list of appendices. These appendices provide additional information and data that are not included in the main body of the document. They are intended to provide a more complete picture of the study.

8. The eighth part of the document includes a list of tables. These tables present the data in a structured and organized manner, making it easier to compare and contrast different results. They are an essential part of the research report.

9. The ninth part of the document contains a list of figures. These figures are used to illustrate the data and to highlight key trends and patterns. They are an important tool for communicating the results of the study.

10. The tenth part of the document includes a list of appendices. These appendices provide additional information and data that are not included in the main body of the document. They are intended to provide a more complete picture of the study.

11. The eleventh part of the document contains a list of tables. These tables present the data in a structured and organized manner, making it easier to compare and contrast different results. They are an essential part of the research report.



## *CAPÍTULO VIII*

---

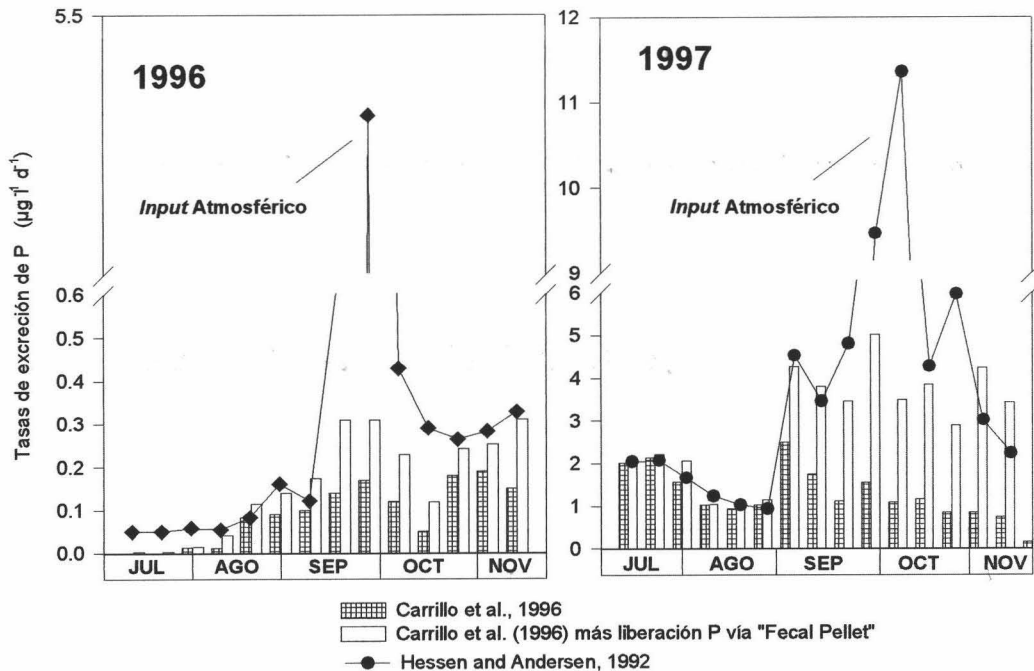
---

### **REDES TROFOQUÍMICAS**

sp. (ver flechas en Figura 3.7 y Figura 6.4B). En 1997, un único evento externo a principios de agosto (día217) coincidió con un cambio en la estructura del fitoplancton hacia el dominio de las clorofíceas y en particular de *Chlorella* sp. (ver flechas en Figura 3.7 y Figura 6.4C).

**6.3.4.- Evaluación del aporte de P interno a través del reciclado**

De acuerdo con el modelo de excreción de P de Carrillo et al. (1996b), las tasas brutas de liberación de este elemento por unidad de volumen variaron de forma significativa intra e interanualmente, oscilando entre 0.0004 y 0.18  $\mu\text{g P l}^{-1} \text{d}^{-1}$  (media 0.08) en 1996 y entre 0.16 y 2.49  $\mu\text{g P l}^{-1} \text{d}^{-1}$  (media 1.28) en 1997 (Figura 6.5).



**Figura 6.5.** Tasas de liberación de P de acuerdo con los modelos de excreción de Hessen & Andersen (1992), de Carrillo *et al.* (1996) y de Carrillo *et al.* (1996) al que se adicionan las pérdidas de P vía "fecal pellets".

Cuando se aplicó el modelo de Hessen & Andersen (1992) los valores de excreción más bajos de 0.001 ó 0.86 se dieron durante el mes de julio en 1996 y 1997, respectivamente, mientras que los valores más altos ocurrieron de forma puntual y coincidiendo con dos precipitaciones importantes en 1996 y 1997.

Fue llamativo el hecho de que la aplicación del modelo de Hessen & Andersen ( $P$  total liberado = excreción + defecación) se ajustase de forma sorprendente a la predicción del modelo de Carrillo et al. (1996b) durante el mes de julio, coincidiendo con el dominio de los estadios naupliares. A partir de esta fecha, las predicciones de ambos modelos divergieron, si bien la adición del  $P$  liberado vía “fecal pellet” a las predicciones del modelo de Carrillo et al. permitió corregir en gran parte dicho desacople y especialmente para los meses de agosto a noviembre cuando los organismos liberadores de “fecal pellets” constituyeron la mayor parte del zooplancton (Figura 6.5). Es así mismo, interesante reseñar que la mayor desviación con respecto a este argumento ocurrió coincidiendo con las entradas atmosféricas asociadas a precipitaciones (Figura 6.5).

Dado que el interés fundamental de nuestro estudio consistía en determinar la disponibilidad inmediata de  $P$  para el fitoplancton, elegimos la aplicación del modelo de Carrillo et al. para el cálculo de las demandas mínimas de  $P$  satisfechas por el reciclado del zooplancton.

### 6.3.5.- Demandas fitoplanctónicas en relación con la disponibilidad de $P$

El porcentaje de las demandas mínimas de  $P$  satisfechas por los procesos derivados del deshielo superó el 100% en 1995, aunque tan sólo satisfizo ~5% y menos del 2% de estas demandas durante 1996 y 1997, respectivamente (Tabla 6.4). Aunque la cantidad de nieve que potencialmente contribuyó a la entrada de nutrientes fue mucho mayor en los años húmedos de 1996 y 1997 que en el año seco de 1995, el volumen de agua en el cual estos nutrientes habrían de ser diluidos fue más de 50 veces superior en los años húmedos que en 1995 (Tabla 6.3).

A pesar de la naturaleza impredecible y puntual de las cargas atmosféricas, la contribución de  $P$  a la comunidad algal por esta vía se situó invariablemente por encima de los requerimientos mínimos de  $P$  por parte de las algas, lo que alivió al menos de forma temporal la escasez de  $P$  en el sistema. Así, tanto las entradas de  $P$  moderadas de 1995 y 1997, como el gran *input* registrado en 1996 suplieron estas demandas en un

652%, 562% y por encima del 1000%, respectivamente (Tabla 6.4). De hecho, se observó que el P procedente vía atmosférica fue responsable del acusado descenso de la razón N:P sestónica ( $f$ ; ver flechas en la Figura 6.4).

La comparación entre el P disponible para las algas vía excreción del zooplancton y las demandas mínimas de P por parte de las algas, mostró que el zooplancton cumplimentó entre 789 y 4004% en 1995, entre 1.24 y 41% en 1996 y finalmente una media de 335% en 1997 de las demandas mínimas de las algas (Tabla 6.4). El patrón general mostró que los valores más bajos se registraron en julio coincidiendo con el dominio de los estadios de nauplios y los más altos entre agosto y noviembre, cuando la biomasa del zooplancton estuvo dominada por estadios juveniles y adultos de *M. laciniatus*. Además, los valores más bajos de la demanda de P satisfecha tuvieron lugar en 1996 coincidiendo con biomazas de zooplancton extremadamente bajas (Figura 3.10).

En resumen, excepto el año atípico de 1996, el zooplancton suplió ampliamente las demandas mínimas de P por parte de las algas, si bien en menor proporción que las entradas externas asociadas a precipitaciones, pero en mucha mayor proporción que las entradas procedentes del deshielo (Tabla 6.4).

## 6.4.- DISCUSIÓN

### 6.4.1.- *Composición química del zooplancton*

Las razones C:N:P del zooplancton durante los años 1995 y 1996 son consistentes con los valores citados en la literatura para otros copépodos calanoides, tanto de ambientes de agua dulce (Hessen et al., 1992; Andersen & Hessen, 1991; Hessen & Lyche, 1991) como marinos (Vidal, 1980; Båmdsted, 1986; Gorsky et al., 1988; Gismervik, 1997). Así mismo, las diferencias intranuales observadas para la fracción zoopláctónica en 1996 están de acuerdo con las sugeridas por Elser et al. (1996) para copépodos a partir de evidencias de razones proteína:RNA (Dagg & Littlepage, 1972).

Mientras que la razón N:P se relacionó con el desarrollo de rotíferos y nauplios en 1995, esta razón estuvo exclusivamente asociada al desarrollo ontogénico de *M. laciniatus* en 1996. De hecho, los valores más bajos en las razones N:P y C:P en 1995 correspondieron con las máximas de abundancia de rotíferos y nauplios. Estos resultados



sugieren que estos fenómenos podrían encontrarse recíprocamente relacionados, de forma que, dichas razones fueran reflejo de la composición elemental de rotíferos y nauplios. Esta hipótesis se encontraría apoyada por las observaciones en este estudio de que los valores más bajos en la razón N:P se describen para el periodo de dominio de los nauplios inmediatamente después del deshielo de 1996 (Figura 6.3B), por los resultados para esta razón en estadios naupliares en 1997 (Figura 7.10), o por los valores de 17.5 que Hessen et al. (1992) proponen para la razón N:P de rotíferos.

La relación significativa entre la razón N:P<sub>z</sub> y el desarrollo ontogénico de *M. laciniatus* en 1996, proporciona un argumento a favor de la causalidad de parámetros ontogénicos en la composición química de los copépodos. Por ejemplo, el valor medio de  $33.08 \pm 10.36$  obtenido para los primeros muestreos donde los nauplios dominaron la biomasa zooplanctónica en 1996 es muy similar al valor de  $\sim 30\%C$  aportado por Christoffersen et al. (1990) para nauplios en general. La falta de relación, en nuestro estudio, entre la razón N:P del zooplancton y el desarrollo ontogénico de *M. laciniatus* en 1995 está originada por el gran solapamiento temporal de los diversos estadios en un año como 1995, donde *M. laciniatus* desarrolló un ciclo bivoltino.

Nuestro estudio, como sugiere el CSV (Tabla 6.1), proporciona evidencias de que, la variabilidad intranual en las razones C:N:P del zooplancton excede a aquella entre años. Es más, la inclusión de 2 años de grandes diferencias bióticas y abióticas como fueron 1995 y 1996, acentúa la robustez de estos resultados.

De todo lo anterior, se deduce que aunque las diferentes especies de zooplancton y sus estadios están caracterizados por una composición elemental particular, la fluctuación global de las razones C:N:P del zooplancton es restringida. Como consecuencia, existirían regímenes relativamente uniformes en el reciclado de la comunidad del zooplancton entre años, aunque presentarían una amplia variación estacional.

Según la hipótesis propuesta por Sterner (1995), las diferencias interespecíficas en la razón N:P del zooplancton podrían estar relacionadas con diferencias en las tasas de crecimiento específicas. Parecería lógico según dicha hipótesis, atribuir al estrecho rango de fluctuación en la razón N:P del zooplancton, la limitación de las especies que podrían habitar La Caldera, favoreciendo en última instancia a aquellas especies con tasas de crecimiento más bajas. En este sentido la especie dominante en La Caldera es *M.*

*laciniatus*, un copépodo calanoide caracterizado por presentar tasas de crecimiento bajas de  $0.23 \text{ d}^{-1}$  (Cruz-Pizarro, 1981). Los cladóceros fueron inusuales y tan sólo *Chydorus sphaericus* caracterizado por su baja tasa de crecimiento en relación a otros cladóceros ( $0.28 \text{ d}^{-1}$ ; Goulden et al., 1978) fue importante en 1995. En ocasiones, aunque de forma esporádica, *Daphnia pulex* apareció en la zona pelágica de la laguna y constituye la especie dentro de su género a la que se atribuyen las tasas de crecimiento más bajas de  $0.35 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$  (Frank, 1952; Arnold, 1971; Goulden et al., 1982; Taylor, 1985). Por tanto, la limitación por P y los estrechos márgenes de variación de las razones que incluyen a dicho elemento se podrían encontrar en la base de la escasa representación de *Daphnia* en este sistema, haciéndose extensible a otros sistemas de similares características. En otras palabras, las limitaciones por P en los ecosistemas tendrían reflejo en las razones C:P<sub>z</sub> y N:P<sub>z</sub> que serían elevadas y podrían reducir el éxito de especies con altos requerimiento en P (Sternier et al., 1992; Carrillo et al., 1995; Hessen & Bjerkeng, 1998).

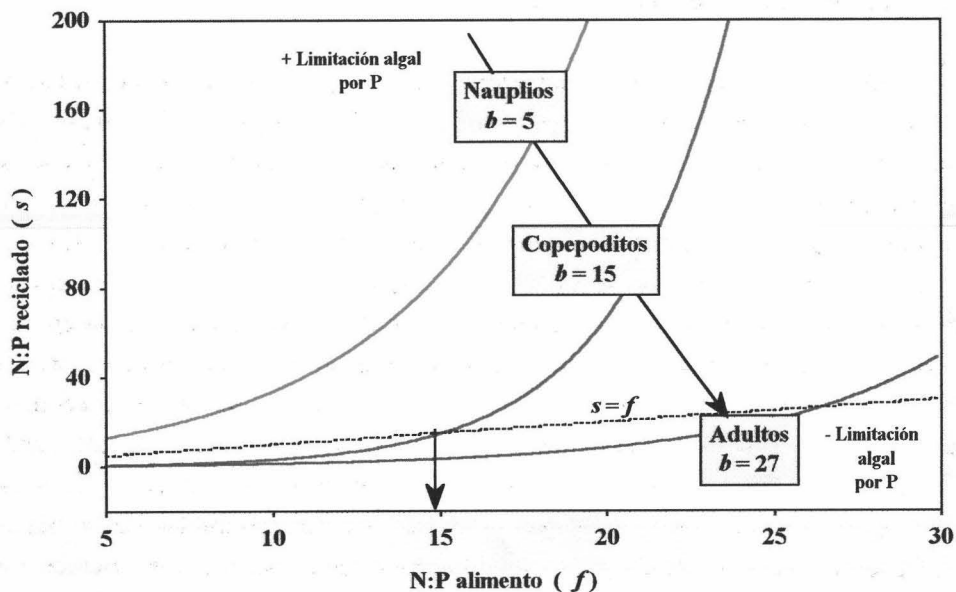
#### 6.4.2.- Interacción estequiométrica consumidor-recurso

##### 6.4.2.1.- Consideraciones cualitativas

La razón N:P del fitoplancton fue más variable que la del zooplancton en La Caldera (Figura 6.4). Nuestros resultados para las razones C:N:P fitoplanctónicas se encontraron dentro del rango descrito por otros estudios con similares metodologías (Behrendt, 1990; Watanabe, 1990; Hecky et al., 1993; Elser et al., 1995b).

La nomenclatura propuesta por Sternier et al. (1992) nos permite construir un escenario en el que interpretar los efectos cualitativos del zooplancton y de las entradas externas en la disponibilidad de N y P para las algas. En el deshielo, el seston presenta una razón N:P baja como consecuencia del aporte de nutrientes derivado de la fusión de la nieve. En este momento, la razón N:P sestónica (*f*) inferior a la del zooplancton (*b*) provocaría el reciclado de una razón N:P (*s*) aún más baja, con lo cual  $b > f > s$  (Figura 6.4). Esta circunstancia, unida a una presión de depredación reducida por parte de un zooplancton en sus estadios iniciales de desarrollo, permitiría el rápido establecimiento de una comunidad de fitoplancton (Sánchez-Castillo et al., 1989; Carrillo et al., 1995) dominada por crisofíceas en 1996 y por una *Ochromonas* sp. en 1997 (Figura 3.7). Es en estas etapas iniciales de la estación de crecimiento, cuando el almacenamiento de P puede ser clave en el desarrollo de las poblaciones algales (Sternier et al., 1995a).

A medida que la influencia del deshielo cesa, los nutrientes pronto se agotan, la relación entre la razón N:P del seston y del zooplancton se invierte ( $s > f > b$ ) y los procesos de reciclado originados por la depredación del zooplancton adquieren importancia (Figura 6.4), en lo que constituiría la evolución natural hacia la estratificación de numerosos lagos de latitudes templadas (Elser et al., 1995a). Bajo estas circunstancias, el zooplancton puede acrecentar las condiciones de limitación de las algas por el P y favorecer así el dominio de las crisofíceas (Figura 3.7), grupo conspicuo de un gran número de lagos ultraoligotróficos (Hutchinson, 1967; Reynolds, 1989).



**Figura 6.6.** Predicciones de la razón N:P del reciclado partir de las razones N:P del seston y del zooplancton a lo largo de su desarrollo ontogénico según el modelo de Sterner (1990). Los valores de las razones N:P del zooplancton se han obtenido directamente en este estudio (ver Capítulo VII).

El desarrollo ontogénico de la especie de zooplancton dominante *M. laciniatus* conllevaría una tendencia estacional a aumentar la razón N:P del zooplancton (ver Tabla 6.2B y Figura 6.4), lo que acarrearía consecuencias para el reciclado de nutrientes y por lo tanto, introduciría un grado de complejidad extra en la relación herbívoro-planta. En concreto, la disminución progresiva de las demandas de P con el desarrollo ontogénico, supondría un descenso gradual de la razón N:P del reciclado con un efecto mitigador de

las condiciones de limitación de P para las algas (Figura 6.6). Es más, una vez alcanzado el estadio de adulto, el reciclado de estos organismos tan sólo favorecería las condiciones de limitación por P de las algas para una razón N:P del alimento superior a la del zooplancton ( $f > b$ ; Figura 6.6). Como resultado de esta mejora en las condiciones de deficiencia en P del fitoplancton podrían desarrollarse otras clases de fitoplancton que finalmente se reflejaría en un eventual descenso en la relación N:P sestónica. En nuestra opinión, este hecho podría ayudar a explicar, al menos en parte, la diversificación experimentada por las poblaciones fitoplanctónicas, no sólo durante los meses de septiembre a octubre de 1996 y 1997, sino también en años anteriores a este estudio (Carrillo et al., 1990; Carrillo et al., 1995).

Sin embargo, si el dominio de ciertas especies algales así como de su sucesión depende de la razón de ciertos elementos (Tilman, 1982; Kilham & Kilham, 1984; Lehman, 1980), no solamente la regeneración de nutrientes por parte del zooplancton sino las entradas atmosféricas de nutrientes, ejercerían un papel fundamental en la estructura de las comunidades del fitoplancton (Kilham & Tilman, 1975; Caraco et al., 1992). Desde un punto de vista estequiométrico, estas entradas externas actuarían en la misma dirección que el desarrollo ontogénico del zooplancton, aunque de forma más directa: la entrada y el exceso de P como nutrientes disueltos en el lago, aumentarían las tasas de absorción de P y disminuirían las razones de las algas. Nosotros sugerimos que los enriquecimientos esporádicos observados a lo largo del periodo de estudio aceleran los cambios estacionales en la composición de especies y por tanto juegan un papel decisivo en la sucesión. En este sentido, los cambios que describimos en la comunidad de fitoplancton están de acuerdo con otros estudios desarrollados en sistemas pobres en nutrientes donde el enriquecimiento con nitrógeno y fósforo provocó cambios en la composición de las algas desde crisofíceas a clorofíceas o cianofíceas (Schindler et al., 1971; Denoyelles & O'Brien, 1978; Findlay, 1978; Carrillo et al., 1995), desde especies con bajas tasas de crecimiento a altas (Moss, 1973), desde células de pequeño a gran volumen (Suttle et al., 1987), o desde una mosaico de especies relativamente uniforme a otro más complejo (Olson, 1958; Matthews, 1979). A pesar del reconocimiento expreso de la importancia de las perturbaciones naturales en la configuración de la estructura de las comunidades (Turner et al., 1998), creemos que la inclusión de estas perturbaciones a los conceptos y modelos de sucesión permitiría un avance hacia la comprensión del funcionamiento general de un gran número de sistemas.

#### 6.4.2.2.- Consideraciones cuantitativas

Nuestros resultados cuantitativos sugieren que los eventos atmosféricos, el reciclado por parte del zooplancton y el deshielo satisfacen, en orden de importancia, las demandas mínimas de P por parte de las algas durante los años húmedos.

Las cargas de nutrientes en el deshielo no fueron muy significativas excepto para el año seco de 1995. A pesar de la incertidumbre en la estima de la entrada de nutrientes asociada al deshielo, nuestros datos habrían, en todo caso, sobreestimado estas cargas al asumir que todo el P contenido en la nieve/hielo del área de captación entró en la laguna.

La limitación en el crecimiento del fitoplancton puede ocurrir entre 1 y 4 días después del deshielo en un lago oligo-mesotrófico (Elser et al., 1995a). Es en este momento, cuando el efecto de la comunidad de zooplancton en pleno desarrollo, se revelaría como una fuente importante en el suministro de nutrientes para el fitoplancton. Los valores obtenidos para las tasas de excreción en este estudio se ajustan bien a aquellas establecidas para comunidades de zooplancton dominadas por calanoides y sistemas oligotróficos (Larow et al., 1975; Korstad, 1983) y con aquellas experimentalmente obtenidas por Carrillo et al. (1996b) para este sistema. En definitiva, no se observaron entradas de nutrientes externas asociadas a precipitaciones hasta mediados de verano y por tanto el zooplancton constituyó sin duda la fuente mayor de suministro de P para el fitoplancton. La divergencia entre la relativamente baja contribución del zooplancton a las demandas de P algales durante 1996 con respecto a 1997, es el resultado de la escasez de zooplancton en 1996. No obstante y otorgando mayor peso y generalidad a los resultados de 1997, podemos especular con que el zooplancton contribuye al balance de P excediendo las demandas mínimas algales por este nutriente, lo que refuerza el papel clave de los herbívoros en la regulación del crecimiento (Lehman, 1980; Reche, 1995) y de la composición fitoplanctónica (Capítulo IV).

A primera vista, los *inputs* atmosféricos podrían ejercer un papel similar al del zooplancton excediendo ambos el 100% de las demandas mínimas de P algales (Tabla 6.4). La alternancia de ambos procesos sugiere que, mientras el reciclado podría mantener la biomasa de fitoplancton a lo largo de la mayor parte de la estación, la importancia de las entradas externas quedaría circunscrita a unos pocos episodios conspicuos. Aún así, sistemas tan susceptibles a entradas atmosféricas como La Caldera, podrían encontrar en este tipo de fenómenos explicación a la variabilidad interanual y a la sucesión estacional de sus poblaciones algales.

En este contexto, existe en la actualidad una considerable controversia sobre el origen y fuentes de nutrientes para el crecimiento del fitoplancton. Mientras que algunos estudios han evidenciado que las variaciones intranuales y entre lagos, y los *blooms* de algas son el resultado fundamental de la acción de procesos externos (Reynolds, 1984; Elser et al., 1995a) y particularmente de las precipitaciones totales en forma de nieve y/o agua (Talling, 1971; Harris, 1986; Goldman et al., 1989), otros estudios defienden que el efecto esporádico de las fuerzas climáticas es insignificante para el crecimiento y/o sucesión del fitoplancton (Sarnelle, 1983). La influencia de las “tormentas de polvo africanas” han sido bien documentadas en otros ambientes acuáticos de Europa (Loyé-Pilot et al., 1986; Alebicjuretic, 1994), extendiéndose hasta el este de los Estados Unidos o Sur América (Perry et al., 1997; Chiapello et al., 1997). A la luz de estos resultados, sugerimos que gran parte de la variabilidad en los valores de producción primaria obtenidos en estudios comparativos que recogen un gran número de lagos, o de la divergencia en la importancia relativa de las fuentes de P externas vs. internas entre lagos (Elser & Frees, 1995c), podría ser explicada a medida que un mayor número de variables climáticas vayan siendo integradas en nuestros análisis. Al mismo tiempo, coincidimos con Goldman et al. (1989) en que tanto los factores físicos como meteorológicos por un lado y las dinámicas de los consumidores por otra, pueden simultáneamente, ser responsables y actuar complementariamente en la causalidad de la variabilidad interanual de las poblaciones del fitoplancton.

De forma resumida, en un esquema que podrían hacerse extensible a sistemas de similares características, mientras que los procesos asociados al deshielo dominan el flujo de nutrientes al principio del verano, los procesos de reciclado y excreción del zooplancton adquieren relevancia a medida que la estación y el desarrollo ontogénico del zooplancton progresan. La naturaleza estocástica de los *inputs* de P asociados a eventos atmosféricos puede promover transiciones rápidas entre una comunidad dominada por procesos biológicos (recursos autóctonos) y otra dominada por fuerzas externas (recursos alóctonos).

## 6.5.- CONCLUSIONES FINALES

Carpenter et al. (1992) en una visión reciente ha vinculado la importancia de los efectos indirectos en el incremento de estabilidad de un sistema. De acuerdo con esta

predicción, nuestros resultados proporcionan evidencias de un efecto amortiguador de las perturbaciones asociadas a entradas externas de P a nivel de los consumidores herbívoros. Mientras que el efecto de la severa sequía de 1995 y de las entradas atmosféricas causaron drásticas oscilaciones en la composición elemental y razones estequiométricas de la fracción fitoplanctónica, este efecto fue prácticamente amortiguado a nivel de los consumidores que registraron variaciones restringidas en su composición.

La estructura del zooplancton y en concreto, la aparición de unas u otras especies, está controlada y limitada bioquímicamente por la disponibilidad de recursos, de forma que, solamente aquellas especies cuyas demandas de crecimiento y reproducción puedan ser sostenidas tendrán "éxito". Todo ello, sin duda, creemos que son argumentos a favor de la utilización de la estequiometría como un marco conceptual en donde interpretar los mecanismos que subyacen al funcionamiento de los ecosistemas, de su estabilidad y de los principios básicos que integran desde la estructura química de los organismos hasta la eficiencia en la transferencia de energía.

---



*CAPÍTULO VII*

---

---

**RELACIÓN ENTRE LAS ESTRATEGIAS DE  
VIDA Y LA ONTOGENIA:  
APROXIMACIÓN ESTEQUIOMÉTRICA**



1. The first part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

2. The second part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

3. The third part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

4. The fourth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

5. The fifth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

6. The sixth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

7. The seventh part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

8. The eighth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

9. The ninth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

10. The tenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

11. The eleventh part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

12. The twelfth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

13. The thirteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

14. The fourteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

15. The fifteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

16. The sixteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

17. The seventeenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

18. The eighteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

19. The nineteenth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

20. The twentieth part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

21. The twenty-first part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

22. The twenty-second part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

23. The twenty-third part of the document is a list of names and their corresponding addresses.

## 7.1.- INTRODUCCIÓN

En el Capítulo anterior se ha abordado el estudio de la interacción herbívoro-alga y apuntamos la importancia de la ontogenia en la caracterización elemental del zooplancton herbívoro, por ello, en el presente Capítulo, nos proponemos profundizar en este último aspecto analizando la variación en la composición elemental de un copépodo calanoide a lo largo de su historia de vida desde sus estadío larvarios o naupliares hasta su estadío adulto. De forma paralela, se estudiará la relación que existe entre la composición elemental y parámetros ontogénicos como el tamaño corporal o las tasas de crecimiento y se analizará la variación del contenido elemental desde la perspectiva de las estrategias de vida que los organismos del zooplancton adoptan en sistemas extremos como La Caldera.

A lo largo de esta Tesis hemos recogido en diversas ocasiones (Capítulo I, pg. 7; Capítulo VI) cómo la composición elemental del zooplancton presenta una estequiometría relativamente estricta con variaciones intraespecíficas reducidas pero variaciones interespecíficas más pronunciadas (Hessen, 1990; Andersen & Hessen, 1991). Sin embargo, las diferencias intraespecíficas en el %N del peso seco y sobretodo en el %P, han sido ampliamente descritas para cladóceros (Baudouin & Scoppa 1975; McKee & Knowles 1987; Main & et al., 1997). Los resultados sobre la variación intraespecífica en copépodos son aún escasos, por lo que su estudio constituirá uno de los objetivos principales de este Capítulo. Los primeros autores (Hessen & Lyche, 1991) en documentar esta variabilidad en copépodos calanoides sólo estudiaron individuos adultos, de forma que las causas de dicha variabilidad habrían de ser atribuidas a factores internos o ambientales más que a una causa ontogénica. Posteriormente, Andersen & Hessen (1991) trataron de explicar la variación temporal en la composición de los copépodos como una consecuencia de la historia de vida de estos animales. Sin embargo, las variaciones estacionales en su estudio estuvieron restringidas a distintas especies de zooplancton, sin alusión a los distintos estadíos o fases de desarrollo de estas especies. Por su parte, Elser et al. (1996) sugirieron, en base a medidas de la razón proteína:RNA (Dagg & Littlepage, 1972), la existencia de importantes diferencias en la composición elemental y bioquímica de copépodos a lo largo del ciclo de vida. En concreto, estos autores describen que los estadíos naupliares se caracterizaron por poseer una razón proteína:RNA baja y por tanto de su razón N:P, en comparación con las fases copepodíticas y adultas. A pesar de estos estudios, no existen en la actualidad suficientes evidencias directas y en particular para copépodos, que documenten cambios en la

composición elemental a lo largo de la historia de vida completa de especies de crustáceos.

A la luz de los resultados que han descrito las diferencias que existen en la composición química entre especies, los investigadores se han preguntado por la causa de dicha variabilidad. Tan sólo, recientemente, se ha propuesto que la historia de vida de los organismos y en especial el tamaño del cuerpo o las tasas de crecimiento podrían estar relacionadas con las diferencias inter e intraespecíficas en la razón N:P corporal (Sterner & Hessen, 1994; Elser et al., 1996; Main et al., 1997). En concreto, estos autores consideran que el desarrollo de los organismos ocurriría de forma paralela a cambios sustanciales en la naturaleza de los componentes celulares requeridos y como consecuencia de su composición elemental.

De forma más específica los objetivos del presente Capítulo fueron los siguientes:

- (1) caracterizar la composición elemental y las razones C:N:P de *Mixodiaptomus laciniatus* a nivel de estadio.
- (2) explicar la variabilidad intraespecífica, en el caso de que existir, con respecto a parámetros ontogénicos como el tamaño corporal o las tasas de crecimiento.
- (3) analizar la constancia en la composición elemental y las estrategias de vida de los copépodos a lo largo del periodo estival.

En última instancia estos objetivos nos permitirán abordar y revisar un concepto básico en la estequiometría como es la naturaleza de la homeostasis en el zooplancton.

---

## 7.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.2.1.- Muestreo y análisis de la composición elemental de *M. laciniatus*

Para determinar la composición elemental de los distintos estadios de *M. laciniatus* se tomaron arrastres verticales semanales con una red de 40 µm de tamaño de

poro. Las muestras se trasladaron en frío y oscuridad al laboratorio donde se procedió a la identificación y separación de la especie *M. laciniatus* a nivel de estadio con pipetas Pasteur y con la ayuda de un microscopio invertido (Olympus CK2) para su análisis elemental posterior (Figura 7.1). Los individuos seleccionados se lavaron con agua del lago previamente filtrada por GF/C y esterilizada y se dispusieron en cápsulas carentes de C y N, donde se secaron a 60°C durante 24 h. Un mínimo de 15 y 40 individuos por muestra se seleccionaron para las fases de copépodos-adultos y nauplii, respectivamente. Así mismo, para cada muestreo se cumplieron 3 réplicas de aquellos estadios más abundantes y se analizaron sin réplicas aquellos otros representados de forma más restringida.

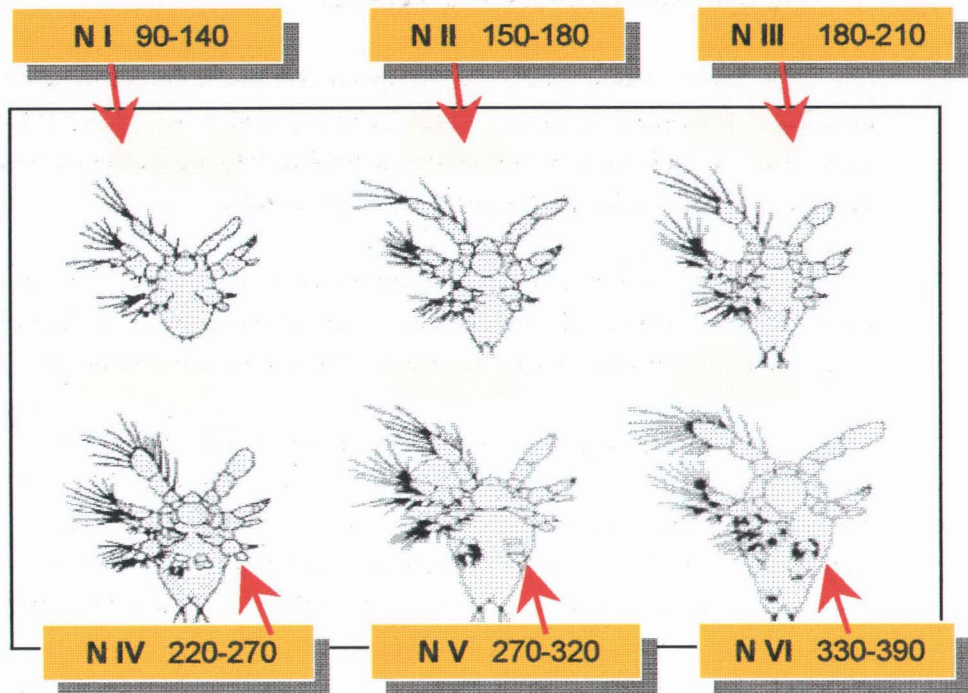
La estima del peso seco de los organismos del zooplancton se llevó a cabo de forma paralela al análisis elemental de C y N. Para ello, las cápsulas en 1997 fueron pesadas antes y después de introducir los animales, utilizando una microbalanza Mettler UMT2 ( $\pm 0.1 \mu\text{g}$ ) y transcurridas 24 h a 60°C. La utilización de las cápsulas de aluminio no hidratables unido a la precisión de la microbalanza permitió a nuestro juicio obtener pesadas muy fiables de los organismos al reducir considerablemente el error asociado a la hidratación de filtros. Las muestras fueron conservadas en una campana de desecado hasta su tratamiento en el Analizador Elemental (CNH-Perkin Elmer 2400). El peso seco de las muestras permitió la construcción de rectas de regresión longitud (L)-peso seco (PS) para nauplios (PS =  $-0.26 + 0.0033 * L$  ( $\mu\text{m}$ );  $r^2 = 0.97$ ,  $P < 0.001$ ) y copepoditos (PS =  $-4.59 + 0.01 * L$  ( $\mu\text{m}$ );  $r^2 = 0.90$ ,  $P < 0.001$ ).

De forma previa a cada serie de combustiones se analizaron 3 blancos de cápsulas vacías. A partir de la puesta a punto del aparato para las determinaciones del contenido elemental en el zooplancton estimamos en 7  $\mu\text{g}$  el peso seco de muestra indispensable para obtener resultados reproducibles.

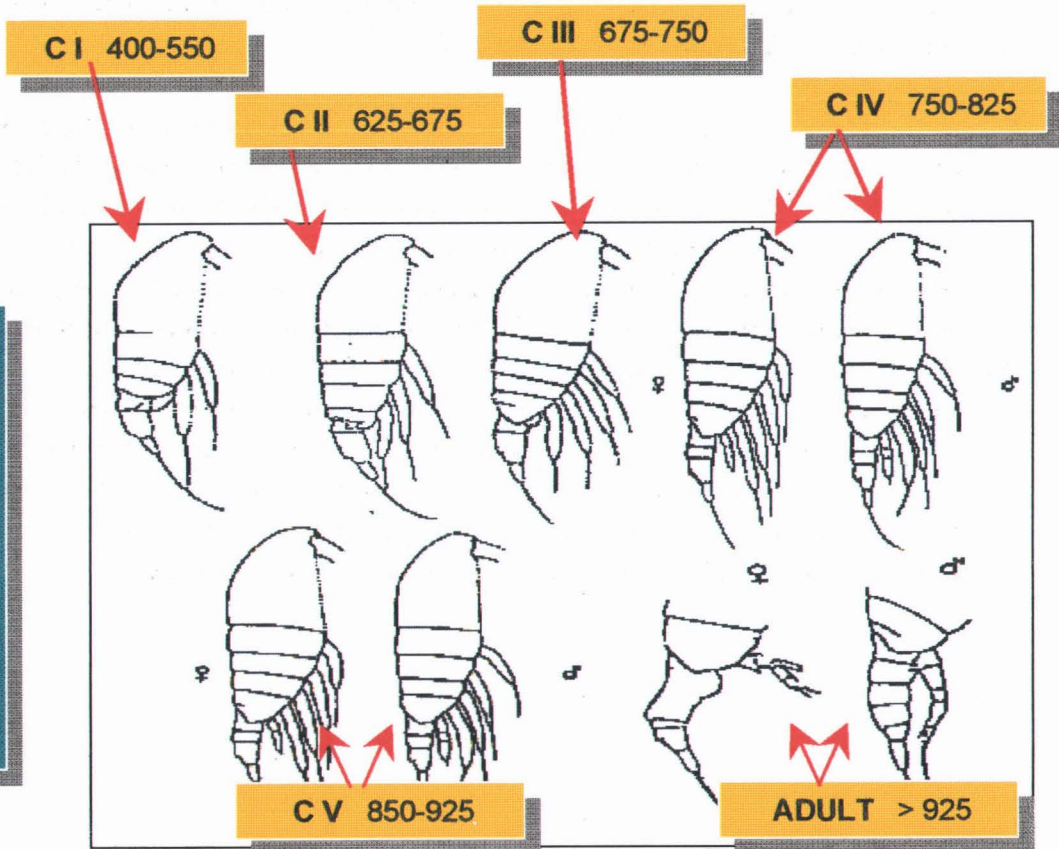
Para el análisis de fósforo los individuos de *M. laciniatus* se segregaron a nivel de estadio con ayuda del microscopio directamente en botes Pyrex, siendo analizados como se describe en la metodología general (Capítulo II). La estima del peso seco del zooplancton empleado en la determinación del P se realizó sobre la base de las rectas de regresión longitud-peso seco construidas para nauplios y copepoditos, y directamente para adultos de *M. laciniatus*.



NAUPLII



COPPU / ADU



### 7.2.2.- Razón lípidos neutrales:lípidos polares

A partir de agosto de 1998, se aplicó este mismo procedimiento de segregación descrito anteriormente para determinar la razón lípidos neutrales:lípidos polares de los estadios de *M. laciniatus*. Se analizaron un total de 94 muestras que abarcaron el espectro completo de los estadios de desarrollo para esta especie.

En esta ocasión, cada muestra estuvo compuesta entre 15 y 25 individuos de un mismo estadio que una vez seleccionados, fueron homogenizados mecánicamente en 3 ml de agua bidestilada y las muestras almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis lipídico.

Los lípidos neutrales constituyen reservas energéticas para gran número de animales (Lawrence, 1976; Hakanson, 1984), de forma que su cuantificación permite estimar las reservas energéticas del organismo en función de sus demandas. Por el contrario, los lípidos polares dominan las membranas celulares y no varían de forma ostensible con las condiciones nutricionales (Holland & Walker, 1975). En el trabajo propuesto se cuantificaron los lípidos neutrales (reserva energética) y los lípidos polares (membranas celulares y tamaño del cuerpo), utilizándose la razón lípidos neutros/polares como un índice del almacenamiento de energía y de las condiciones nutricionales que es independiente del tamaño del cuerpo de los crustáceos.

Debido a que las técnicas gravimétricas y los análisis cromatográficos para clases de lípidos específicas resultan muy tediosas y por lo general, requieren de un considerable volumen de muestra, se optó por aplicar el método basado en el uso del fluorocromo hidrofóbico Rojo de Nilo (Carman et al., 1991; Thistle et al. 1985) para estimar las reservas lipídicas de las fracciones planctónicas. Cuando el Rojo de Nilo se une a lípidos neutros el resultado es la emisión de una fluorescencia amarilla-anaranjada bajo excitación de luz azul. Por el contrario, el Rojo de Nilo fluoresce de color rojo-anaranjado cuando la unión tiene lugar con lípidos polares (Fowler & Greenspan, 1985; Cole et al. 1990). De esta forma, tanto los lípidos neutros como los polares, pueden ser simultáneamente cuantificados vía espectrofluorimétrica para una misma muestra teñida. Según Cole et al. (1990), los métodos espectrofluorimétricos y gravimétricos proporcionan resultados similares para los lípidos neutrales y polares.

Las muestras previamente homogenizadas y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se descongelaron y se agitaron (Vortex Heidolph) para ser empleadas en el análisis de la razón lípidos neutrales:lípidos polares.

Los lípidos se midieron espectrofluorométricamente con un espectrómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS-5B. La elección de las longitudes de onda de emisión y excitación se realizó teniendo en cuenta los estudios anteriores y en base a las diferencias máximas obtenidas para los blancos y las muestras teñidas: los lípidos neutrales a 488 nm de excitación y 560 de emisión, mientras que los lípidos polares se cuantificaron a 549 nm de excitación y 628 nm de emisión.

La intensidad en la fluorescencia de la muestra homogenada y teñida fue corregida con el blanco de la misma muestra antes de la tinción (blanco 1) y con la fluorescencia debida al Rojo de Nilo en agua bidestilada (blanco 2). A continuación, la muestra fue leída en cubetas de 4 ml de cuarzo antes y después de añadir 100  $\mu\text{l}$  de una solución preparada de Rojo de Nilo. Para la preparación de la solución de trabajo, 1.25 mg de esta sustancia se añadieron a 50 ml de acetona y todo ello se diluyó al 50 % con agua bidestilada (Carman et al. 1991). La medida de intensidad de fluorescencia a las longitudes de onda de excitación y emisión se realizó después de 30 minutos de reacción en oscuridad con objeto de evitar la fotodegradación de las muestras. Es importante resaltar el hecho de que nuestras medidas espectrofluorométricas proporcionaron una lectura estrictamente cualitativa, en tanto en cuanto las intensidades de fluorescencia no fueron contrastadas con concentraciones estándar de lípidos (ej. Priscu et al. 1990).

### 7.2.3.- Determinación del crecimiento de la población

Las tasas de crecimiento de *M. laciniatus* se calcularon teniendo en cuenta los valores medios de biomasa para cada estadio de desarrollo a partir de la siguiente expresión:

$$r = \ln (\text{Peso seco } (i+1) - \text{Peso seco } (i) / T_d$$

donde  $\text{Peso seco}_{(i+1)}$  y  $\text{Peso seco}_{(i)}$  son las biomásas específicas para dos estadios consecutivos de *M. laciniatus*, mientras que  $T_d$  es la duración del estadio en días. El tiempo transcurrido entre dos estadios (duración del estadio) se obtuvo a partir de Cruz-Pizarro (1981) para el mismo sistema y especie.

Con objeto de contrastar los valores obtenidos, las tasas de crecimiento fueron estimadas de forma paralela aplicando el modelo propuesto por Hirst & Sheader (1997) a partir de la biomasa de los copépodos y de la temperatura del sistema:

$$\log_{10}(g) = 0.0246 T - 0.2962 \log_{10}(W_c) - 1.1355$$

donde  $g$  es la tasa de crecimiento específica,  $T$  es la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y  $W_c$  es la media del peso seco para cada estadio (mg).

Sin duda, basamos la validez de dicha aproximación en el hecho de que *M. laciniatus* se desarrolla mostrando una cohorte bien definida en La Caldera, con picos de biomasa para cada estadio distribuidos sucesivamente en forma de escalera. Si bien existe la necesidad apremiante de una metodología adecuada para caracterizar el crecimiento de los copépodos en condiciones naturales (McKinnon, 1996), se consideró que los valores de las tasas de crecimiento proporcionaban estimas del crecimiento somático neto instantáneo de la población. El ciclo univoltino de *M. laciniatus* en 1997, con un único episodio reproductivo, representa una oportunidad idónea para caracterizar el crecimiento y desarrollo de la cohorte de un copépodo a través de la estación libre de hielo en condiciones naturales y sin la incorporación significativa de nuevos individuos.

#### 7.2.4.- Análisis estadístico

La relación entre la composición elemental de los copépodos y los parámetros ontogénicos (tamaño corporal y tasas de crecimiento) se analizó ajustando tres modelos de regresión: una función lineal, una función exponencial positiva y modelo de regresión por partes (Statistica 5.1, StatSoft 1997).

Para describir la incorporación de C y N a lo largo de la ontogenia de *M. laciniatus*, se llevaron a cabo sendos modelos de regresión por partes caracterizados por identificar un punto de inflexión que segrega dos tendencias definidas por las regresiones lineales correspondientes.



## 7.3.- RESULTADOS

### 7.3.1. Caracterización biótica

La concentración de clorofila *a* en el lago osciló entre 0.14 y 1.15  $\mu\text{g l}^{-1}$  (media de  $0.53 \pm 0.31 \mu\text{g l}^{-1}$ ) y exhibió los valores máximos tras el deshielo que descendieron progresivamente hasta valores por debajo de  $0.2 \mu\text{g l}^{-1}$  hacia finales de la época libre de hielo (Figura 7.2).

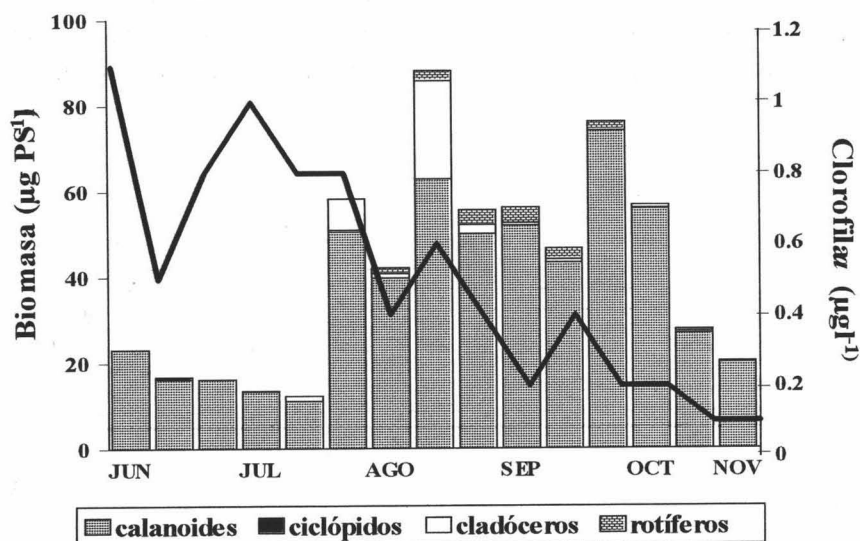


Figura 7.2. Biomasa de los principales grupos del zooplancton y concentración de clorofila *a* a lo largo del periodo libre de hielo de 1997.

Los bajos valores en la razón C:P del fitoplancton inmediatamente después del deshielo (71.7 media) estuvieron seguidos de un patrón muy variable en esta razón que registró su valor máximo de 320 y decreció drásticamente durante la semana siguiente hasta alcanzar el valor mínimo anual de 55.6 (Figura 7.3).

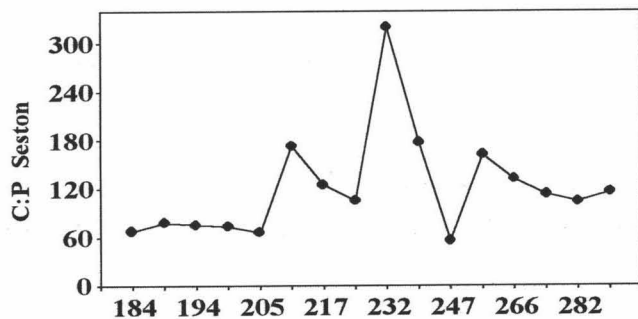
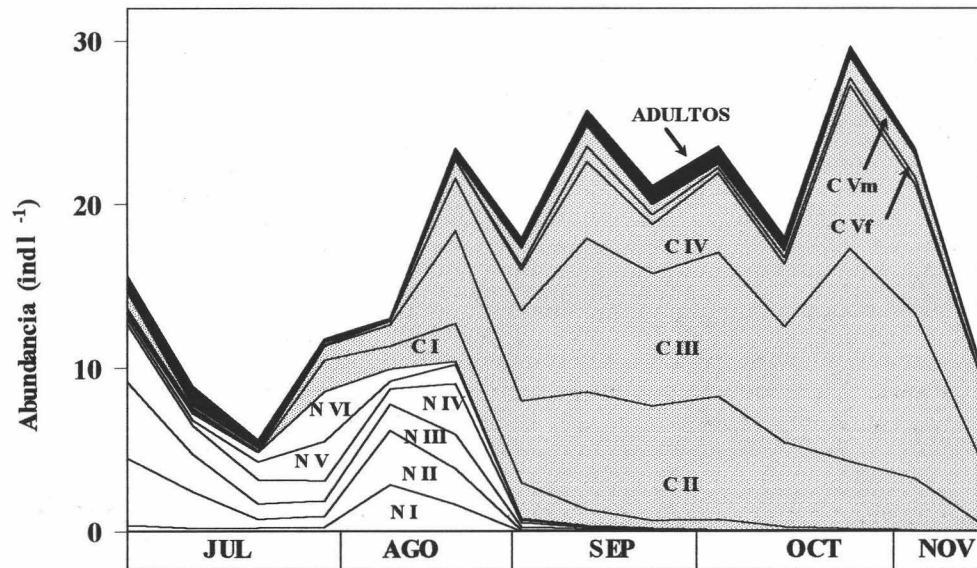


Figura 7.3. Razón C:P sestónica a lo largo del periodo de deshielo de 1997.

La comunidad de zooplankton presente en la laguna en 1997 es muy simple: el 89% de la abundancia está constituida por *M. laciniatus*, que representa el 84% de la biomasa total del zooplankton (Figura 7.2). Los cambios de biomasa estacionales (valores medios de la columna de agua) oscilaron en un rango de 12 y 88  $\mu\text{g l}^{-1}$  (peso seco) alcanzándose el valor máximo hacia mediados de verano. El desarrollo de los nauplios de *M. laciniatus* ocurrió tras el deshielo hasta principios de agosto, momento en el que se registró el promedio de individuos más pequeños ( $\sim 0.32$  mm) y posteriormente fueron reemplazados por estadios juveniles que en su mayoría alcanzan los estadios copepodíticos III (0.68 mm) y IV (0.80 mm). Aunque, una pequeña proporción de estos copepoditos completan su desarrollo hasta adultos, el resto podría alcanzar su madurez a



**Figura 7.4.** Abundancia de los estadios de desarrollo de *M. laciniatus* a lo largo del periodo estacional de 1997.

comienzos de la siguiente estación libre de hielo (Figura 7.4). Además estos adultos, como se pone de manifiesto a principios de 1997, podrían superar en 200-300  $\mu\text{m}$  a aquellos de la estación anterior.

Otras especies del macrozooplankton que se identificaron en el lago y que en su conjunto no superaron el 16% de la biomasa total de zooplancton fueron *Daphnia pulicaria*, *Acanthocyclops vernalis*, *Diatomus cyaneus*, *Chydorus sphaericus*, y *Hexarthra bulgarica* (Figura 7.2).

### 7.3.2.- Variabilidad intraespecífica en la composición química

#### 7.3.2.1.- Carbono, nitrógeno y fósforo

El análisis del contenido medio en carbono (C) de *M. laciniatus* mostró una gran variación intraespecífica desde el  $36.3 \pm 5.6$  %C del PS para nauplios hasta el  $51.5 \pm 5.2$ % y el  $55.8 \pm 2.6$ % del PS para copepoditos y adultos, respectivamente (Figura 7.5).

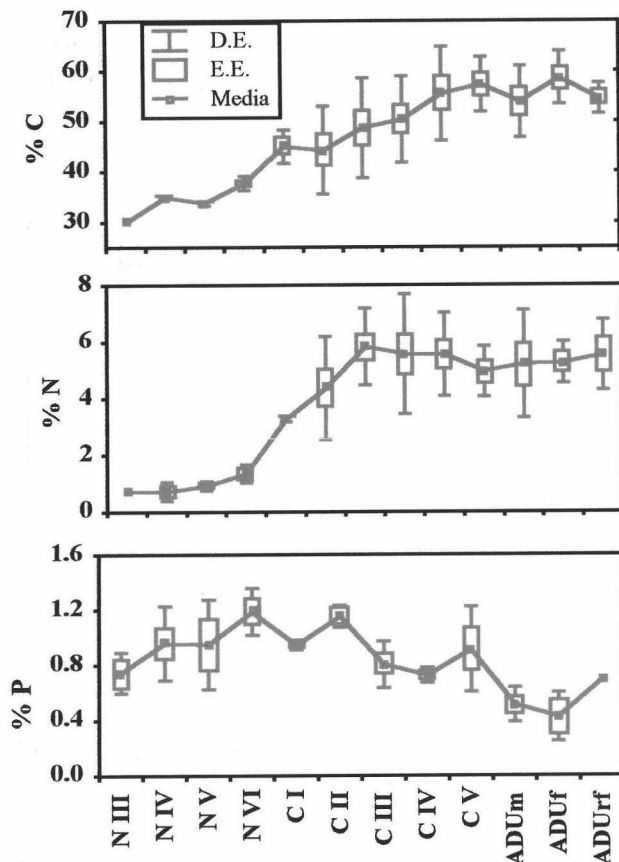


Figura 7.5. Composición en C, N y P de los diferentes estadios de *M.laciniatus*. D.E, desviación estándar; E.E., error estándar.

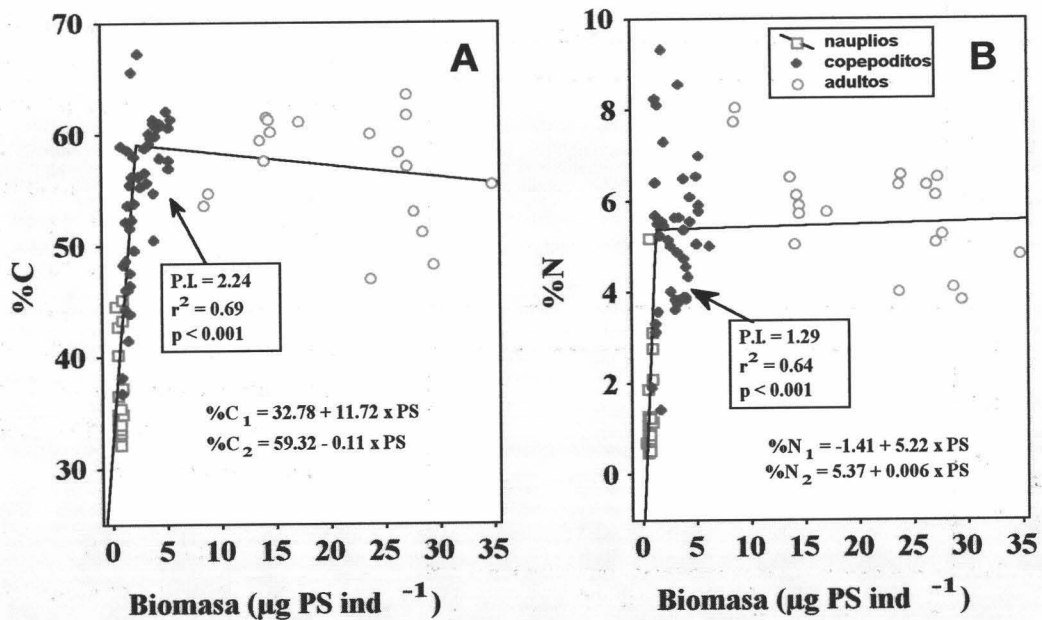
El hecho de que para una misma significación, el grado de varianza explicada por el modelo de regresión por partes fuese superior a aquellos de los modelos lineal y exponencial para el C y el N, indica la superioridad del primer modelo para describir el contenido elemental en C y N del copépodo *M. laciniatus* (Tabla 7.1).

Gráficamente, el ajuste de un modelo de regresión por partes, para explicar el contenido en C de *M. laciniatus*, indica que los estadios iniciales mostraron

las mayores tasas de incremento de C descritas por la pendiente de la recta de 11.72, hasta alcanzar el punto de inflexión de 2.24  $\mu\text{g ind}^{-1}$  correspondiente al estadio copepodítico III, a partir del cual el C se mantiene constante e incluso muestra una ligera tendencia a decrecer, como lo indica el valor negativo de la pendiente de la segunda recta (-0.11), significativamente distinta a la primera ( $P < 0.005$ ) (Tabla 7.1 y Figura 7.6A).

**Tabla 7.1.** Resultados de los análisis de regresión por partes, lineal y exponencial entre la biomasa ( $\mu\text{g PS ind}^{-1}$ ) y la composición elemental de *M. laciniatus*.

Regresión	% C		% N		% P	
	$r^2$	$P$	$r^2$	$P$	$r^2$	$P$
Lineal por partes	0.69	< 0.001***	0.64	< 0.001***	0.32	0.369
Lineal (log)	0.31	< 0.001***	0.38	< 0.001***	0.32	< 0.001***
Exponencial	0.13	< 0.001***	0.10	0.0011**	0.31	0.436



**Figura 7.6.** Regresiones por partes para explicar el contenido en C (A) y N (B) de *M. laciniatus* durante 1997. Cada regresión se encuentra definida por un punto de inflexión (P.I.) que separa dos tendencias o rectas (ecuaciones en el interior de las gráficas).

El contenido en nitrógeno fue muy bajo para los estadios naupliares y aumentó hasta valores medios de  $6.0 \pm 2.1\%$  y  $5.2 \pm 0.1\%$  del PS para copepoditos y adultos, respectivamente (Figura 7.5). El ajuste de un modelo de regresión por partes para describir el contenido en N de los distintos estadios copepodíticos tuvo un punto de inflexión en  $1.29 \mu\text{g PS ind}^{-1}$  y dos ecuaciones lineales a ambos lados cuyas pendientes de 5.22 y 0.006 fueron significativamente distintas entre ellas ( $P < 0.005$ ).

De forma similar al C, el modelo de regresión por partes se reveló como el mejor para explicar el contenido en N a lo largo del desarrollo ontogénico de *M. laciniatus* (Tabla 7.1 y Figura 7.6B). Según este modelo, las tasas máximas de acumulación en N tuvieron lugar para los estadios naupliares y copepodíticos iniciales, decreciendo a continuación de forma progresiva con el desarrollo ontogénico.

El contenido en fósforo por individuo aumentó exponencialmente con el desarrollo ontogénico (Figura 7.7). Sin embargo, el %P del peso seco mostró una imagen distinta, ya que al incremento en %P durante el desarrollo ontogénico de los nauplios, siguió un descenso drástico en el copepodito I y más progresivo hasta los estadios adultos (Figura 7.5). En concreto, el contenido en P se redujo prácticamente a la mitad en el desarrollo desde nauplios a adultos (de  $0.98 \pm 0.26\%$  a  $0.51 \pm 0.16\%$ ), mientras que el contenido medio general en P para esta especie fue de  $0.84 \pm 0.29\%$ .

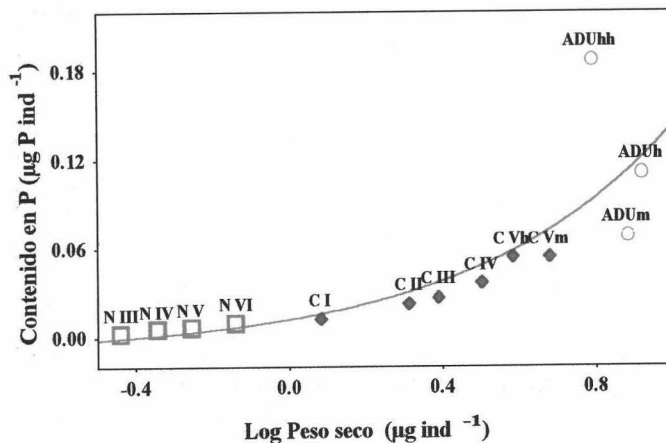


Figura 7.7. Relación entre el peso seco de *M. laciniatus* y el contenido en P durante 1997.

Las elevadas desviaciones estándar en la composición elemental en C o N para un mismo estadio copepodítico de *M. laciniatus* (Figura 7.5) sugieren que su composición

es variable a lo largo de la estación libre de hielo, especialmente para los copepoditos II-IV. Así, la mayor variabilidad en el contenido elemental se observó para los estadios copepodíticos iniciales, cuyo contenido en C osciló entre 37.9-58.6% y 34.3-58.1%, para los estadios CI y CII, respectivamente (Figura 7.8A), o entre 0.11 y 0.24  $\mu\text{g N ind}^{-1}$  para el estadio CII. Esta variación, unida a la pérdida gradual de peso seco (Figura 7.8C), permiten explicar el excepcionalmente alto %N de los copepoditos II (Figure 7.8B) hacia el final de la estación estival (valores no incluidos en el cálculo del N medio para este estadio).

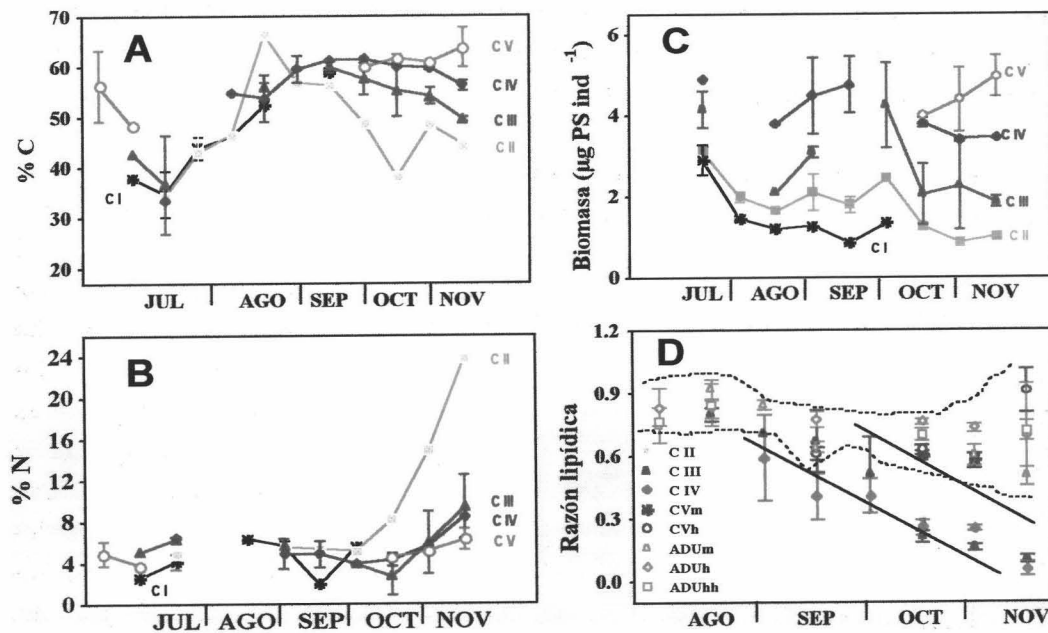


Figura 7.8. Variabilidad estacional en el %C (A), %N (B), en la razón lipídica (polares:neutrales) (C) y en la biomasa por individuo (D) de *M. laciniatus* en 1997.

De forma general, la evolución en el contenido de C dentro de un estadio estuvo marcada por pendientes muy pronunciadas hasta finales de agosto, que se nivelaron durante septiembre para todos los estadios de *M. laciniatus*. A partir de este momento y hasta el final del periodo libre de hielo, el %C decreció y el %N aumentó drásticamente en los estadios copepodíticos II-IV, mientras que el %C del copepodito V permaneció prácticamente invariable (Figuras 7.8A y 7.8B, respectivamente). El estadio copepodítico

V (Figura 7.8C) experimentó un incremento en peso seco considerable hacia finales periodo libre de hielo.

No se observó ningún efecto estacional en la variación de P para un mismo estadio copepodítico. No obstante, un estudio detallado de la dispersión en el %P a nivel de estadio sugiere interesantes vínculos entre el contenido en P y el proceso de crecimiento y muda en copépodos. Así, en la representación del %P frente al peso seco por individuo se aprecia una tendencia generalizada dentro de cada estadio hacia un incremento en P a medida que los individuos se hacen más pesados y por lo tanto hipotéticamente más próximos a un proceso de muda o écdisis (Figura 7.9).

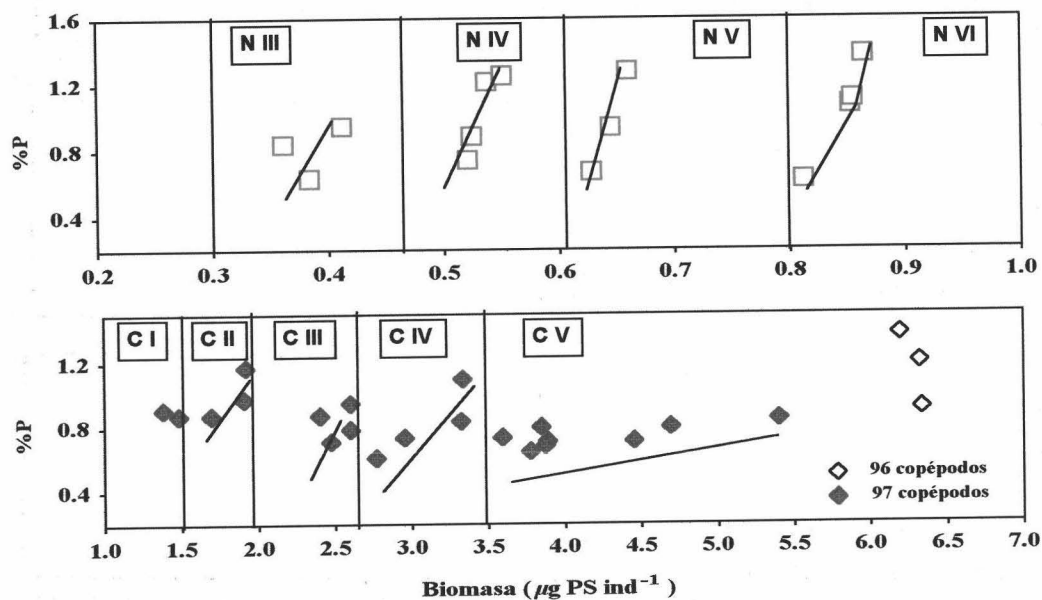


Figura 7.9. Variación intraestadio en el contenido en P de *M. laciniatus*. Nauplios (NIII-NVI) y copepoditos (CI-CV).

### 7.3.2.2.- Razones C:N:P

La razón C:N mostró una amplia variabilidad que osciló entre valores medios de  $48.5 \pm 17.4$  para los estadios naupliarés II-V,  $15.8 \pm 1.6$  para el N VI, y  $12.43 \pm 6.2$  para



los estadios de juveniles y adultos (Figura 7.10). La gran variabilidad estacional en el C y N para un mismo estadio en copepoditos iniciales, tuvo reflejo en la razón C:N. Por ejemplo, el copepodito II presentó valores para esta razón que oscilaron desde valores superiores a 16 en agosto hasta por debajo de 3 en octubre.

La variación intraespecífica en la razón C:P se relacionó con la ontogenia del *M. laciniatus*, de forma que valores medios para esta razón de  $98.7 \pm 30.3$  en nauplios aumentaron hasta  $164.7 \pm 45.7$  y  $234.3 \pm 18.7$  en copepoditos y adultos, respectivamente (Figura 7.10).

Un patrón similar describió la razón N:P con respecto al desarrollo ontogénico del zooplancton (Figura 7.10). Los valores para esta razón oscilaron entre 2.2 y 4.6 para el primero y último estadio de nauplios, respectivamente, con una media para los nauplios de  $3.0 \pm 1.3$ , mientras que las variaciones en esta razón estuvieron asociadas fundamentalmente a cambios en el %N. Por el contrario, los copepoditos y adultos mostraron valores medios para dicha razón superiores a  $13.3 \pm 5.6$  y  $24.6 \pm 5.7$ , respectivamente.

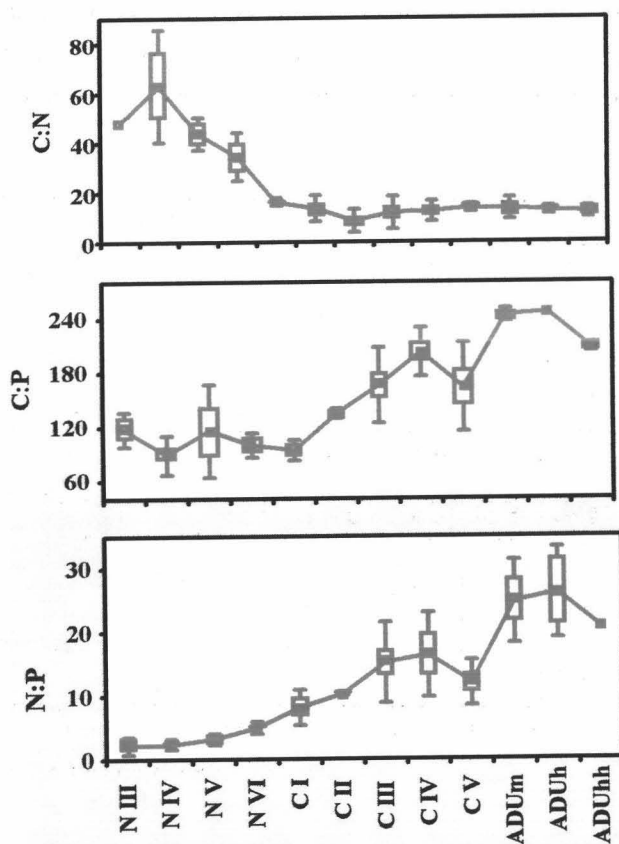


Figura 7.10. Razones C:N:P de *M. laciniatus* a partir del estadio naupliar III.

### 7.3.2.3.- Relación entre las composiciones elementales seston-zooplankton

La razón N:P del seston mostró una oscilación dentro de un rango muy superior a

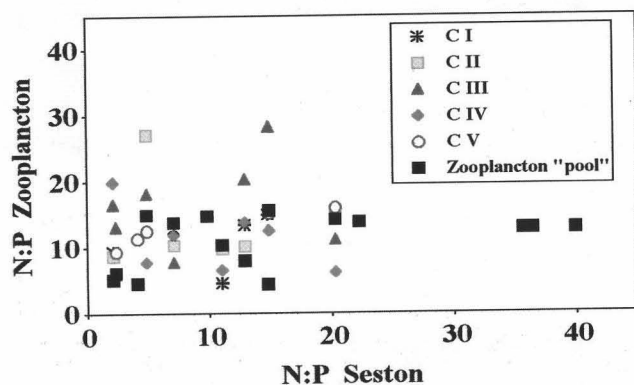


Figura 7.11. Relación entre las razones N:P del seston y zooplancton en 1997.

la del zooplancton. Así mismo, no se encontró relación alguna entre la razón N:P para los copepoditos I-V o el zooplancton total (calculada como media ponderada a partir de las abundancias específicas y las razones N:P para cada uno de los estadios estudiados) y la razón N:P sestónica (Figura 7.11).

#### 7.3.1.4.- Razón lípidos neutrales:lípidos polares

El descenso en la razón lípidos neutrales:polares durante el periodo de estudio fue más pronunciado para los estadios copepodíticos iniciales (II, III y IV): desde 0.8 a 0.1 en el estadio III o desde 0.59 a 0.06 en el estadio II (Figura 7.8D). El último estadio copepodítico y los adultos mostraron una razón lipídica elevada que osciló dentro de un estrecho margen durante el periodo libre de hielo.

#### 7.3.1.5.- Tasas de crecimiento, tamaño del cuerpo y contenido elemental

Como consecuencia de la relación entre las tasas de crecimiento y el tamaño del

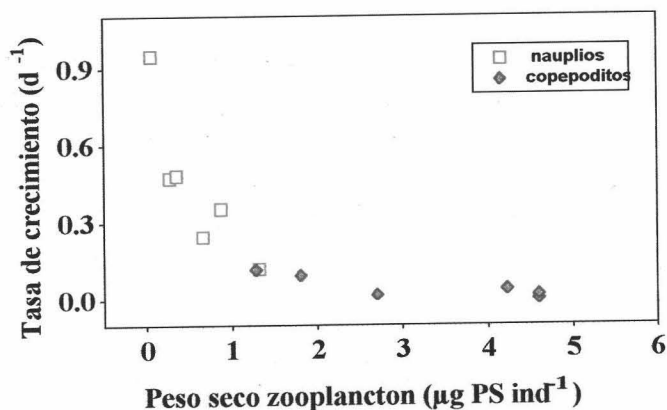
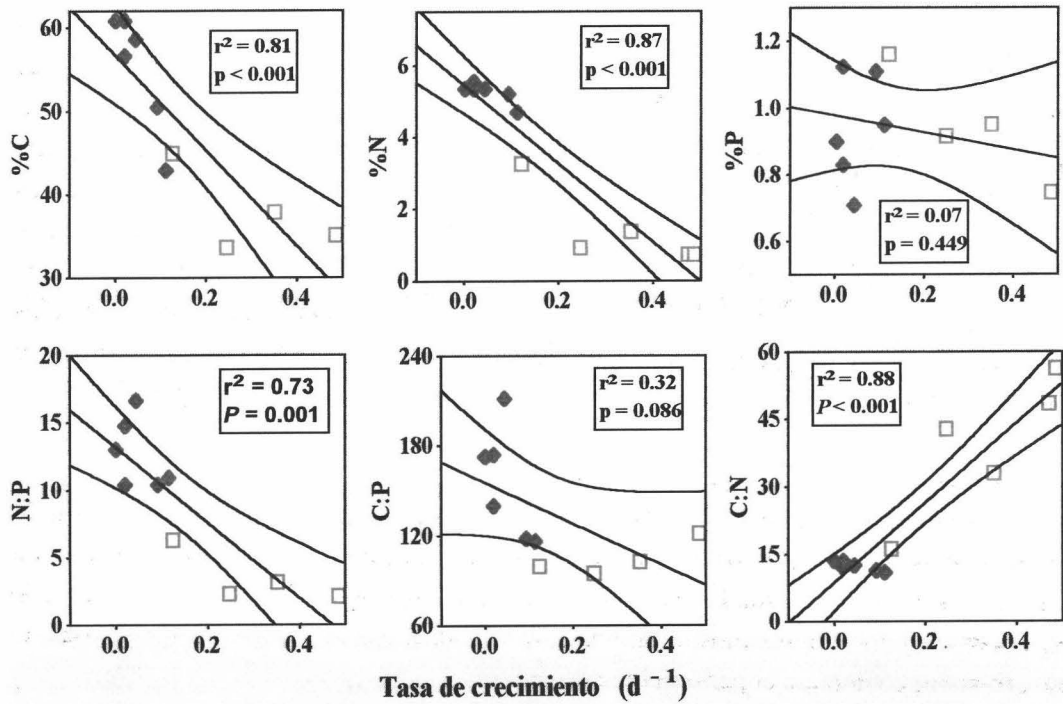


Figura 7.12. Relación entre el peso seco y la tasa de crecimiento de *M.laciniatus* en 1997.

como consecuencia de la relación entre las tasas de crecimiento y el tamaño del cuerpo de *M. laciniatus* (Figura 7.12), la influencia de estas variables sobre el contenido elemental fue explorada de forma independiente. El grado de significación y la varianza explicada fueron mayores cuando, la tasa de crecimiento se

relacionó con el %C, %N o la razón C:N (Figura 7.13).



**Figura 7.13.** Relación entre el %C, %N, %P (panel superior) o las razones C:N:P (panel inferior) y las tasas de crecimiento de *M. laciniatus*. Leyenda como en la Figura 7.12.

Por otra parte, el %P se relacionó significativamente con el tamaño del cuerpo de *M. laciniatus* (Figura 7.14), de la misma forma que lo hicieron las razones C:N y N:P, aunque éstas últimas en mucho menor grado que cuando se relacionaron frente a las tasas de crecimiento. Por ejemplo, el grado de varianza explicada fue mayor cuando se relaciona la razón N:P y las tasas de crecimiento ( $r^2 = 0.73$ ;  $P = 0.001$ ; Figura 7.13) que cuando la variable independiente es el tamaño del cuerpo ( $r^2 = 0.56$ ,  $P = 0.003$ ; Figura 7.14).

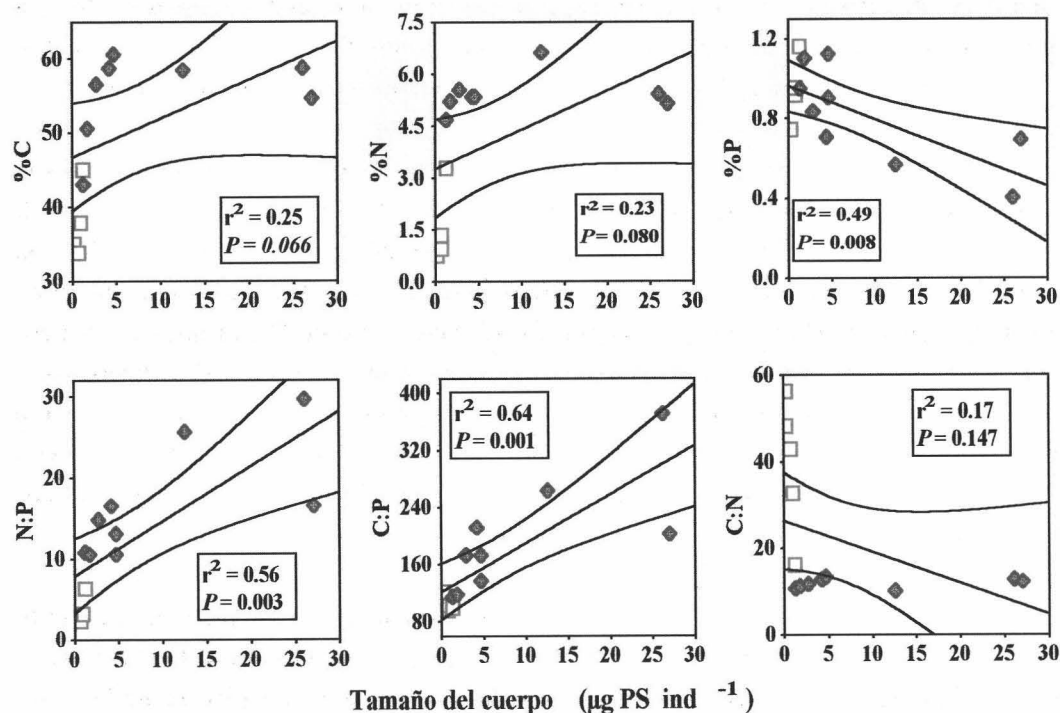


Figura 7.14. Relación entre el %C, %N y %P (panel superior) y las razones C:N:P (panel inferior) y el peso seco de *M.laciniatus*. Leyenda como en la Figura 7.12.

## 7.4.- DISCUSIÓN

### 7.4.1.- Fuentes de variabilidad intraespecífica

#### 7.4.1.1.- Ontogenia

Las razones C:N:P del zooplankton mostraron grandes diferencias intraespecíficas durante el desarrollo de los copépodos y concretamente la razón N:P presentó un patrón similar al previamente sugerido por Elser et al.(1996). A lo largo de la ontogenia del *M. laciniatus* la razón N:P y C:N mostraron tendencias opuestas y en general, la composición elemental de copepoditos y adultos es consistente con observaciones previas para calanoides de aguas dulces (Andersen & Hessen, 1991;

Hessen & Lyche, 1991) o marinos (Harris & Riley, 1956; Vidal, 1980; Båmstedt, 1986; Gorsky et al., 1988; Gismervik, 1997). Sin embargo, a diferencia de los estudios anteriores, nuestros resultados amplían el conocimiento sobre la composición elemental a lo largo de la historia de vida completa de los copépodos y en particular, de nauplios.

Las medias de carbono para estadios naupliares ( $36.3 \pm 5.6\%$  del peso seco) son similares a los valores descritos por Christoffersen et al. (1990) para nauplios en general, y consistentes con los valores encontrados en este sistema cuando se analizó la composición química del zooplancton en el transcurso del periodo de deshielo de dominio de nauplios en 1996 (Capítulo VI, Figura 6.2). El incremento de C con respecto al peso seco (%C) se extendió a lo largo de la ontogenia del copépodo hasta el copepodito V (Figura 7.5). Sin embargo, las máximas tasas de incorporación para este elemento tuvieron lugar desde nauplios hasta copepoditos I a III (Figura 7.6A), coincidiendo con las máximas tasas de crecimiento y la duración mínima de los estadios copepodíticos (Twombly, com.per.).

El contenido medio en P ( $0.84 \pm 0.34\%$ ) también es consistente con el descrito para otras especies de copépodos de agua dulce (Hessen 1990; Hessen & Lyche 1991) y marinos (Båmstedt, 1986). De hecho, el contenido máximo en P se registró para las fases naupliares anteriores al proceso metamorfosis, coincidiendo con los estadios que presentaron las mayores tasas de crecimiento (Figuras 7.5 y 7.8). Elser et al. (1996) sugirieron que los cambios asociados a la metamorfosis podrían originar variaciones en la composición elemental de los copépodos en una magnitud igual o superior a aquella derivada de su propio desarrollo ontogénico. No sería por tanto sorprendente, asociar los últimos estadios naupliares con un período de gran actividad bioquímica en la síntesis de RNA-P. Los resultados reflejan un descenso del %P coincidiendo con la metamorfosis y la aparición del primer estadio copepodítico (Figura 7.5), lo que estaría de acuerdo con la idea de que los procesos de muerte celular que ocurren durante la metamorfosis (Clarke, 1976; Nicol et al., 1992) podrían originar pérdidas de minerales de hasta el 35%. A la luz de estos argumentos es razonable pensar que la pérdida de P estuviera, al menos en parte, asociada a este fenómeno.

Teniendo en cuenta los estudios anteriores sobre cladóceros (Andersen & Hessen, 1991; Baudouin & Ravera, 1972) y particularmente sobre *Daphnia* con un contenido en P  $\sim 1.5\%$ , nuestros datos apoyan la idea general de que existen diferencias interespecíficas entre la composición de copépodos y cladóceros. Al mismo tiempo y

como consecuencia del alto contenido en P de los nauplios (hasta 1.4 % P en los nauplios VI), el alcance de la limitación potencial por P podía hacerse extensible a nauplios, tal y como ha sido recientemente sugerido para juveniles de cladóceros (Main et al., 1997). El desarrollo de estos estadios coincidiendo con la mayor abundancia de recursos (concentraciones máximas de clorofila *a*; Figura 7.2), así como con una elevada calidad del alimento o una razón C:P baja (Figura 7.3) similar a la de lagos subárticos (Hecky et al., 1993), permitiría a los nauplios escapar de una limitación por P durante su crecimiento inmediatamente posterior al deshielo. La selección evolutiva de esta estrategia de vida liberaría a los nauplios del cuello de botella que supondría un alimento limitado en su cantidad y calidad y muy en particular, de una deficiencia en P.

#### 7.4.1.2.- Variabilidad estratégica en la composición elemental

En este estudio, definimos *variabilidad estratégica* como a aquella observada para un mismo estadio de *M. laciniatus* a lo largo del tiempo.

Nuestros resultados indican que existe una gran variabilidad intraespecífica en la composición elemental a lo largo de la ontogenia de los copéodos. Sin embargo, si la ontogenia fuese la única fuente de variación intraespecífica, el contenido elemental para un mismo estadio habría mantenido un patrón general constante a lo largo del tiempo. El hecho de que este hecho no se cumplió, nos lleva a pensar que deberían existir otras causas ambientales o internas al animal, además de la ontogenia, que originarían dicha variabilidad intraespecífica. Los estudios que describen diferencias estacionales en copéodos y que podrían arrojar cierta luz sobre los argumentos anteriores son muy limitados y generalmente restringidos a citar valores de la razón C:N (Gismervik, 1997; Omori, 1969; Båmdstedt, 1986). Tan sólo algunos autores (Berberovic, 1990; Manca et al., 1997) de acuerdo con nuestras observaciones para los copepoditos II a IV, han mostrado una pérdida de C para cladóceros de distintos tamaños a lo largo de su ciclo estacional.

La composición bioquímica ha sido recientemente relacionada con la diapausa (Arashkevich & Drits, 1997) y por lo tanto, debería seguir cambios en las razones de proteínas:carbohidratos:lípidos al estar sometida a variaciones estacionales (Hessen & Lyche, 1991; Sterner & Hessen, 1994). Así, los aumentos de N observados en los copéodos podrían responder a un incremento en la síntesis proteica, mientras que las pérdidas de C hacia el final del periodo libre de hielo probablemente reflejarían la escasez

de alimento, que a su vez explicaría el descenso paralelo en la razón lípidos neutros:polares.

En nuestro estudio dibujamos dos estrategias en el ciclo de *M. laciniatus* frente a estas condiciones adversas. La primera, una *estrategia de supervivencia* que estaría representada por las fases de copepodito V y adultos, las cuales tras haber conseguido la máxima proporción longitud/volumen, podrían derivar las fuentes de C hacia el mantenimiento y acumulación de lípidos neutros. Este fenómeno constituye una característica general en otros sistemas similares incluyendo los marinos (Vanderploeg et al., 1992; Dahms, 1995; Arashkevich & Drits, 1997). El hecho de que estos estadios mantengan la relación lipídica, dentro de un estrecho margen a partir de agosto y hasta finales del periodo libre de hielo, sugiere que no existe una acumulación de lípidos neutros de reserva sino que, por el contrario, los organismos estarían limitados por C y de esta forma la ingestión de fuentes de carbono tan sólo permitiría soportar las demandas metabólicas derivadas del mantenimiento del animal. Llegado este punto, los organismos habrían de afrontar el periodo de diapausa invernal para así completar su desarrollo durante la siguiente estación dando lugar a grandes adultos, incluyendo grandes hembras ovígeras (Cruz-Pizarro, 1983; Lonsdale et al., 1997). La segunda, una *estrategia de crecimiento* que vendría representada por los estadios copepodíticos I-IV cuyos altos requerimientos somáticos (Figura 7.6) justificarían su mayor sensibilidad a sufrir una limitación por C. El descenso de la razón lipídica, del peso seco y del %C, sugieren que todo el C disponible se destinaría al desarrollo estructural y que aún así, se encontrarían limitados por este elemento (Figura 7.8).

En resumen, coincidimos con Fiksen & Carlotti (1998) en que los copépodos en ambientes estacionales se enfrentan continuamente a la decisión de desviar los recursos disponibles al crecimiento somático en lo que hemos denominado *estrategia de crecimiento*, o al almacenamiento y reproducción durante el siguiente periodo estival en lo que vendría a representar una *estrategia de supervivencia*.

El descenso en la abundancia de zooplancton y la escasez de alimento (concentración de clorofila  $a < 0.2 \mu\text{g l}^{-1}$ ) ponen de manifiesto las severas condiciones de limitación por nutrientes a las que el zooplancton se enfrenta hacia finales del periodo de deshielo. Según Sterner (1997), los requerimientos de C con fines metabólicos durante la época de escasez de alimento son más importantes que aquellos destinados al crecimiento. De todo lo anterior, parece justificado señalar que la limitación energética



(C) podría ser crítica en el desarrollo de las poblaciones de *M. laciniatus* y constituir la causa última de la existencia de la elevada proporción de copepoditos con respecto a adultos en La Caldera (Carrillo, 1989; Reche, 1995; Carrillo et al., 1996b).

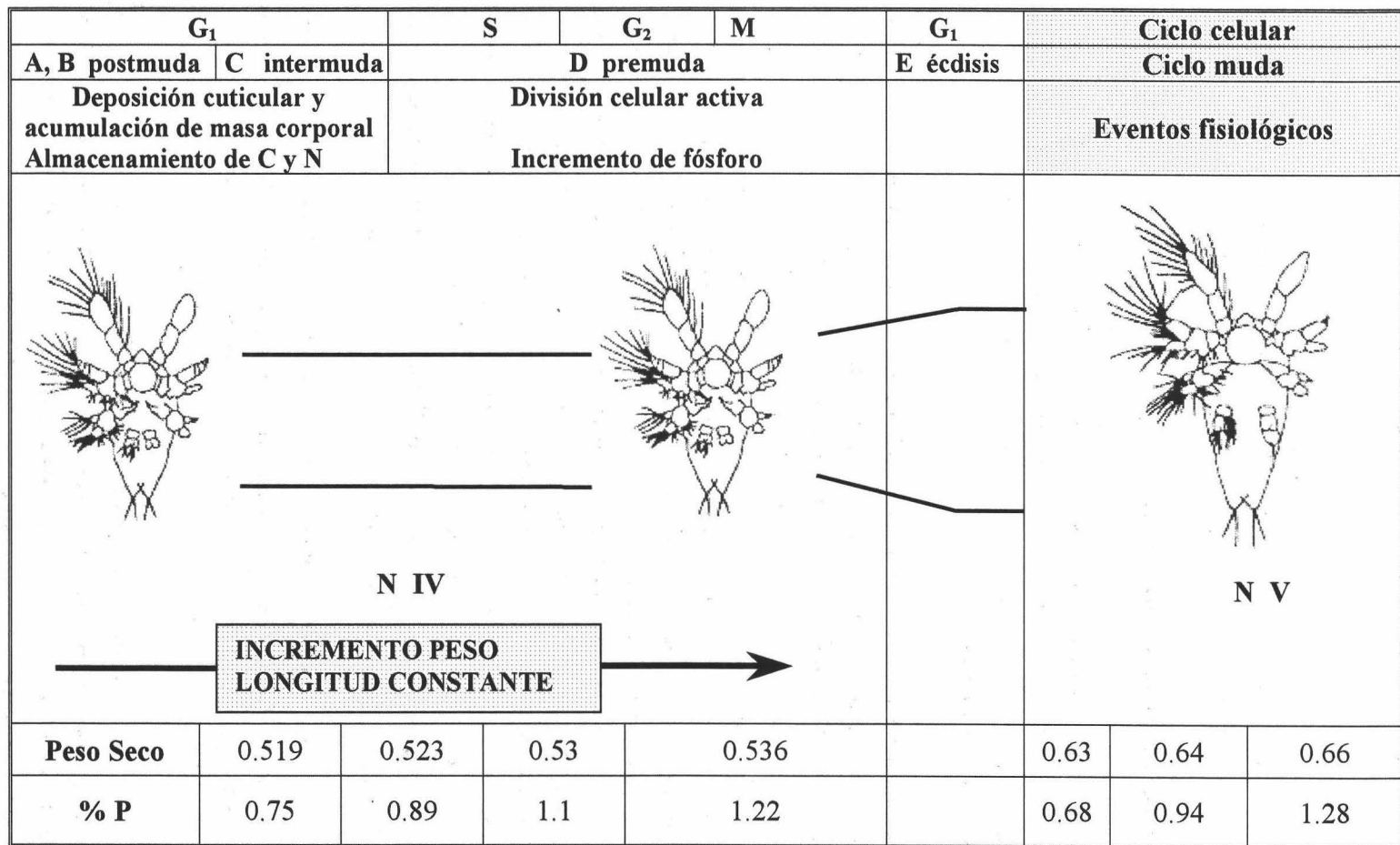
#### 7.4.2.- Estequiometría y parámetros ontogénicos

La relación significativa encontrada entre las tasas de crecimiento y el tamaño del cuerpo tanto en este como en otros estudios (Hirst & Sheader, 1997), motivó que el análisis de su influencia sobre la estequiometría de zooplancton de realizara de forma individual para ambas variables.

Los resultados indican que el mayor grado de significación y varianza explicada se obtiene cuando las tasas de crecimiento y no el tamaño del cuerpo se relacionó con el contenido elemental del zooplancton, lo que identificó a este factor como un mejor predictor de la composición elemental de los copépodos y particularmente, para el %C, %N y la razón C:N. En un estudio reciente, Main et al. (1997) encontraron una relación significativa entre las tasas de crecimiento y la razón N:P que, aunque también existió en este estudio, el grado de varianza explicada y significación para esta relación fueron menores que aquellos descritos para el %C, %N y la razón entre ellos. Es interesante reseñar el hecho de que los organismos en ambos estudios, a pesar de poseer estrategias de vida y tiempos de generación muy diferentes, comparten la característica común de que las tasas de crecimiento explicaron gran parte de la variabilidad en su composición. Además, los resultados obtenidos en ambos estudios, caracterizados por condiciones experimentales muy diferentes (alimento, estado trófico, laboratorio vs. *in situ*, etc.), proporcionan robustez a la hipótesis propuesta por Sterner et al. (1995) que relaciona las tasas de crecimiento de los organismos con su composición elemental.

Aún así, la mayor limitación de los argumentos anteriores la constituye el hecho ya discutido, de que las relaciones planteadas se ajustan en líneas generales de forma preferente a una regresión por partes capaz de discriminar más claramente entre la composición de nauplios y copepoditos/adultos (Tabla 7.1 y Figura 7.6).

El hecho de que las tasas de crecimiento mostraran una mayor relación con el C y N que con el P, podría sugerir que, en general, los copépodos son menos sensibles a la limitación por P que los cladóceros, si bien los estadios naupliares podrían experimentar las mismas restricciones que los cladóceros en sistemas limitados en P.



**Figura 7.15.** Esquema de la relación entre el ciclo de muda (nauplio IV y V), el ciclo celular y algunos eventos fisiológicos en copépodos. El ciclo celular está representado por la interfase 1 (G<sub>1</sub>), periodo de síntesis de ADN (S), interfase 2 (G<sub>2</sub>) y mitosis (M). Las fases del ciclo de muda incluyen la postmuda (A, B), intermuda (C), premuda (D) y la écdisis (E). Diagrama de Freeman (1993) modificado.

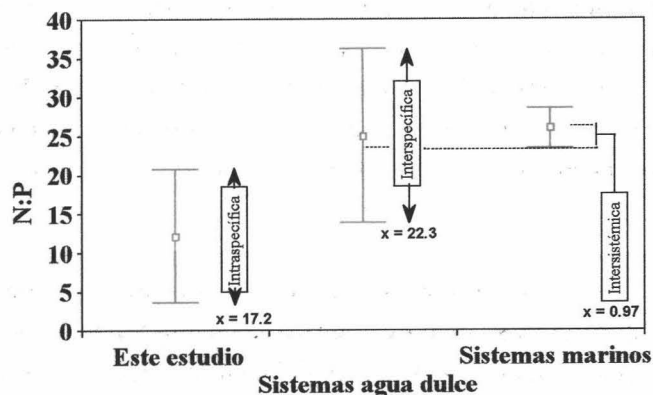
El contenido específico en P decreció con el desarrollo ontogénico del organismo. Sin embargo, el incremento en el %P observado dentro de un mismo estadio podría revelar el papel clave que este elemento posee en los procesos ontogénicos relacionados con la muda (Vrede et al., 1999). Para Clemmesen (1994) existen picos de producción de RNA no asociados con el crecimiento en los procesos de muda o écdisis en crustáceos. Durante el desarrollo de cada fase (instar), la acumulación de masa corporal en la intermuda estaría parcialmente reflejada por la correlación positiva entre el %C y %N con las tasas de crecimiento. A lo largo de la premuda existiría un periodo de una gran actividad de división celular que se sustentaría gracias a un elevado contenido ribosómico de RNA-P. En este contexto, McKee & Knowles (1987) encontraron grandes cambios en el contenido de RNA a lo largo de la ontogenia y, de acuerdo con Hoar (1975), la premuda constituiría un periodo de metabolismo de una gran actividad en los crustáceos, que provocaría el crecimiento en altura de las células epidérmicas, para finalmente degradar la cutícula vieja e iniciar la síntesis de una nueva (Freeman, 1990, 1993).

En nuestra opinión, la comprensión del crecimiento tisular a lo largo de los ciclos de muda de los organismos exige de una profundización sobre la relación que existe entre el ciclo celular y las subfases del ciclo de muda. Tal y como Freeman apuntó (1993), la premuda es la fase dominante del ciclo de muda y, es durante este periodo inmediatamente antes de la écdisis, cuando la mitosis tiene lugar (Figura 7.15). A partir de estos argumentos no sería de extrañar que el contenido en P alcanzara sus máximos inmediatamente antes de la muda, cuando la actividad metabólica es máxima. Nuestros resultados aportan evidencias en esta dirección y sugieren que los procesos de muda y el contenido elemental de los calanoides y particularmente el %P, podrían estar relacionados. El sincronismo en los eventos de muda durante la ontogenia de los copépodos podría afectar a la razón N:P y por consiguiente, a la tasas de reciclado de ambos nutrientes. Al mismo tiempo, el acople entre el %P y los procesos de muda sugiere que la limitación de P podría operar a nivel de este evento fisiológico y en última instancia limitar la producción del zooplancton.

Aunque en este estudio se presentan indicios acerca del efecto de los procesos de muda sobre la bioquímica y fisiología de crustáceos, reconocemos la necesidad de profundizar en esta línea de investigación.

## 7.5.- IMPLICACIONES ECOLÓGICAS

La variación ontogénica en el contenido elemental de *M. laciniatus* que describimos se situó dentro del mismo rango que la variabilidad interespecífica y excedió a la intersistémica (sistemas marinos vs. dulceacuícolas) (Figura 7.16). Sin duda, la discriminación de los estadios de desarrollo larvarios podría situarse en la raíz de este fenómeno. Así pues, sería razonable esperar que la variabilidad intra e intersistémica se equiparasen a la intraespecífica obtenida en este estudio, a medida que futuros estudios incorporen nuevos datos de los estadios larvarios de especies de crustáceos. Como consecuencia, la segregación tradicional de los efectos de las especies a nivel del ecosistema creemos debería ser cuidadosamente revisada, aconsejando la diferenciación de nauplios, copepoditos y adultos en aquellos sistemas donde son especialmente abundantes.



**Figura 7.16.** Variación intraespecífica, interespecífica e intersistémica en la razón N:P.

Por otro lado, la estequiometría interna, puesto que determina los requerimientos específicos de los elementos, proporciona a nuestro juicio, un marco en el que interpretar las tasas de crecimiento y las estrategias de historia de vida de los copéodos. En este sentido, los copepoditos mayores y los adultos (bajas tasas de crecimiento) tenderían a invertir los recursos disponibles en su mantenimiento y supervivencia, mientras que la disponibilidad de recursos en los copepoditos más pequeños (con tasas de crecimiento superiores) quedaría reflejada en la gran variabilidad en la composición intraestadio y especialmente en su razón C:N.

Nuestros resultados son consistentes con la idea de que existe un patrón estacional en la composición intraestadio de los copéodos que no depende de su alimento, lo que apoya la hipótesis de Sterner & Hessen (1994) de que la homeostasis no

es estricta y por tanto establece un vínculo fundamental entre la historia de vida y la composición estequiométrica de los organismos.

Finalmente, el concepto de homeostasis como la resistencia a un cambio en la composición de los consumidores frente a cambios en la composición de su alimento es validado en este trabajo, sin embargo, proponemos su redefinición en un contexto más amplio como reostasis. Definimos la reostasis como la condición por la cual los controles homeostáticos permanecen activos, si bien en una dimensión temporal, existe un cambio en el nivel en que dichos controles son ajustados (Mrosovsky, 1990).

Las desviaciones temporales en la composición elemental de los estadios copepodíticos son, sin duda, el resultado de largos procesos evolutivos (reostasis programada) y poseen consecuencias ecológicas de primera magnitud. Por ejemplo, la llegada de condiciones invernales a un sistema como La Caldera podría acarrear situaciones dramáticas para los organismos que no hubieran alcanzado un cierto nivel de "preparación" o logrado desarrollarse hasta alcanzar un estadio determinado. Una explicación de este tipo permitiría justificar las grandes fluctuaciones en las abundancias de las especies entre años.

Es así mismo muy probable, que la limitación por P y C en la producción de los copépodos no sea una alternativa mutuamente excluyente. Ambos podrían por separado y alternativamente controlar el crecimiento de los copépodos. Es más, las demandas de ambos elementos podrían modificarse a medida que el organismo crece. De hecho, la existencia de un exosqueleto rígido, implica que el crecimiento de los copépodos no ocurre linealmente sino en incrementos sucesivos a modo de escalera, coincidiendo con los procesos de muda entre estadios. En este desarrollo, tanto el C como el N son elementos necesarios para la construcción de la estructura del cuerpo y por lo tanto muestran una relación estrecha con las tasas de crecimiento, mientras que el P sería imprescindible en mantener la elevada actividad metabólica de los procesos que tienen lugar durante la muda y especialmente en la metamorfosis. Los procesos fisiológicos relacionados con la muda no deben seguir siendo ignorados ya que se vislumbran como fundamentales, no sólo en la composición de los organismos, sino que también en su comportamiento. Al mismo tiempo, estos procesos, por sus requerimientos elevados en P, podrían ampliar el ámbito de limitación por P a los copépodos en los sistemas acuáticos.

## *CAPÍTULO VIII*

---

---

### **REDES TROFOQUÍMICAS**

1948

...

...

...

...

...



## 8.1. INTRODUCCIÓN

La concentración del alimento no es el único factor fundamental en el crecimiento de los consumidores herbívoros. Otros factores como la calidad del alimento ingerido (Porter & Orcutt, 1980; MacKay & Elser, 1998), la temperatura o la selección de las presas (DeMott, 1990) son esenciales para evaluar el desarrollo de los consumidores en los sistemas planctónicos naturales.

En las últimas décadas, la mayoría de los estudios experimentales en este campo se han centrado en los aspectos cuantitativos del alimento. Como consecuencia, se ha identificado la naturaleza de las curvas de ingestión (ej. Michaelis-Menten, linear, exponencial) y se han establecido las tasas de ingestión máximas, las constantes medias de saturación o los umbrales de mantenimiento de un gran número de especies y grupos del zooplancton (Duncan, 1985, 1989; Hansen et al., 1995). Estas investigaciones han permitido constatar que los copépodos poseen un umbral de mantenimiento inferior al de *Daphnia* (Lampert & Schober, 1980) y por lo tanto se encuentran mejor adaptados a medios con concentraciones de alimento bajas y fluctuantes, de ahí si alta representación en sistemas oligotróficos.

Los estudios que abordan los aspectos cualitativos del alimento son más incipientes. A pesar de ello, las implicaciones que las razones C:N:P del alimento (calidad del alimento) ingerido repercuten en aspectos tan diversos como la producción de “fecal pellets” en copépodos (Kjørboe, 1989), la respiración, excreción o el crecimiento del zooplancton (Hessen & Andersen, 1992; Urabe & Watanabe, 1992; Urabe, 1993) y cuyos efectos se propagan a lo largo de la cadena trófica (Hessen, 1997).

## 8.2.- LA CALIDAD DEL ALIMENTO

Los herbívoros se enfrentan al desafío nutricional de que los recursos sobre los que se alimentan son, generalmente, deficientes en algún elemento esencial en relación a sus requerimientos somáticos y de crecimiento (Begon et al., 1990). Además la deficiencia nutricional no solamente se refiere a su contenido nutricional elemental (ej. razones C:N o C:P) o biomolecular (ej. gramos de proteína por gramo de biomasa total), sino que también se extiende al balance energético global del organismo. Estos aspectos son, particularmente importantes, cuando el alimento (algas y bacterias) poseen, como se ha puesto de manifiesto en estudios previos (Goldman et al., 1979; Moal et al., 1987), una

composición elemental en C:N:P muy variable. Todo ello determina que el zooplancton herbívoro se encuentre sometido a un alimento fluctuante, no solamente en términos de cantidad, sino de calidad.

A pesar de estas evidencias, los primeros estudios en considerar la importancia de la calidad del alimento en el desarrollo del zooplancton son relativamente recientes y han demostrado que las tasas de crecimiento de *Daphnia* se reducían considerablemente al ser éstas alimentadas con algas deficientes en P en relación al C (Sommer 1992; Sterner, 1993; Sterner et al., 1993). A partir de modelos de balance de masas, Olsen et al. (1986) y Urabe & Watanabe (1992) estimaron un umbral en la razón C:P del alimento por encima del cual la producción de los cladóceros se encontraría limitada por P y no por C. En estos estudios, el valor calculado para *Daphnia* fue ~300 (molar), si bien éstos y otros autores reconocen que este valor podría modificarse dependiendo de la concentración o digestibilidad del C ingerido (Hessen, 1992; Urabe & Watanabe, 1992). Se ha observado que estos umbrales se superan en numerosos lagos de latitudes templadas (Hecky et al., 1993; Elser & Hassett, 1994; Sterner et al., 1997), de lo que se deduce que la limitación por P en *Daphnia* podría ser frecuente.

Así mismo Elser et al. (1995b) han sugerido que el zooplancton podría aliviar su limitación fisiológica derivada de la escasez de P mediante la ingestión suplementaria de bacterias ricas en P. En este sentido la alimentación sobre bacterias ha sido demostrada tanto para *Daphnia* (Wylie & Currie, 1991) como para especies de copépodos (Reche, 1995).

Algunos investigadores han cuestionado la verdadera limitación por P en el crecimiento del zooplancton (Brett, 1993; Müller-Navarra, 1995a,b) y sugieren que el crecimiento de *Daphnia* se encontraría afectado por la disponibilidad de ácidos grasos no saturados de cadena larga como el EPA (*eicosapentaenoic acid*, 20:5 $\omega$ 3) y el DHA (*docosahexaenoic acid*, 22:6 $\omega$ 3) (Ahlgren et al., 1989; Müller-Navarra, 1995b). Aunque la verdadera naturaleza de la limitación del zooplancton suscita controversia y permanece aún por dilucidar, parece cobrar fuerza la idea de que la limitación por P o por ácidos grasos no son mutuamente excluyentes (Gulati & Demott, 1997). Estos autores proponen que existe una alternancia en la naturaleza de esta limitación y que tiene su origen en la disponibilidad del P para las razones C:P sestónicas más elevadas.

Sin duda, estos estudios justifican el interés general que el cálculo de las razones C:P de las fracciones fitoplanctónicas o sestónicas suscita a la hora de interpretar la limitación potencial de las especies de zooplancton en los sistemas acuáticos. Si admitimos como válido el umbral C:P de 300 sugerido anteriormente, las razones C:P de las algas en La Caldera excedieron este valor ampliamente en 1995, hacia mediados del verano en 1996 pero tan sólo de forma puntual en 1997, mientras que la razón C:P bacteriana se situó, casi permanentemente, por encima de este valor. Por tanto, las observaciones sobre la razón C:P fitoplanctónica en La Caldera coinciden con aquellas realizadas sobre numerosos lagos de latitudes templadas. Sin embargo, cabría esperar que las condiciones de limitación del zooplancton por P en 1997 estuvieran mitigadas ( $C:P < 300$ ; Figura 4.3), favoreciendo la aparición de cladóceros en la laguna. No obstante, la ausencia significativa de estos organismos sugiere que otros mecanismos previsiblemente relacionados con la cantidad de alimento (umbral de mantenimiento =  $0.01 \text{ mg C l}^{-1}$ ; Duncan, 1985) o con periodos cortos de bajas concentraciones de alimento (Lampert & Muck, 1985) podrían estar involucrados. En definitiva, la calidad o cantidad del alimento podrían alternativamente provocar la exclusión de las daphnias de determinados sistemas entre los que se incluyen La Caldera, pero no supondría obstáculo para que otras especies, con menores demandas de P como los copépodos, pudieran desarrollarse en este u otros ambientes deficitarios en P.

Así mismo, como se deduce de la razón C:P del fitoplancton en La Caldera (Capítulo IV, Figura 4.3), la máxima limitación por P en el desarrollo del zooplancton, en caso de ocurrir, tendría lugar en teoría hacia mediados del periodo libre de hielo, cuando la razón  $N:P_f$  es alta y el zooplancton se encuentra en un proceso activo de crecimiento (Cruz-Pizarro, 1981; Carrillo et al., 1996a). Sin embargo, *M. laciniatus* presenta sus demandas más elevadas de P coincidiendo con el desarrollo de sus estadios naupliares a comienzos del periodo estival e inmediatamente después del deshielo (Capítulo VII), momento en el que el alimento es más abundante y rico en P. Este hecho permitiría a esta población “escapar” de una severa limitación por P en su crecimiento.

Los pulsos de nutrientes en La Caldera (Capítulo V; Figuras 5.5 y 5.6) provocan un descenso en las razones C:P y N:P del fitoplancton y bacterias que tenderían a aliviar las condiciones de limitación de los organismos y aunque por un tiempo limitado, favorecen las condiciones para el crecimiento de especies con altos requerimientos en P como *Daphnia*. De hecho, estudios anteriores en La Caldera han revelado que los cladóceros y en particular *Daphnia pulicaria* muestran dinámicas temporales muy

peculiares con picos en su abundancia (ej. Carrillo et al., 1995; Echevarría et al., 1990) que podrían estar asociados con los cambios en las condiciones ambientales que supone una entrada de materiales alóctonos al sistema de procedencia sahariana, incluyendo cantidades elevadas de P (Talbot et al., 1986).

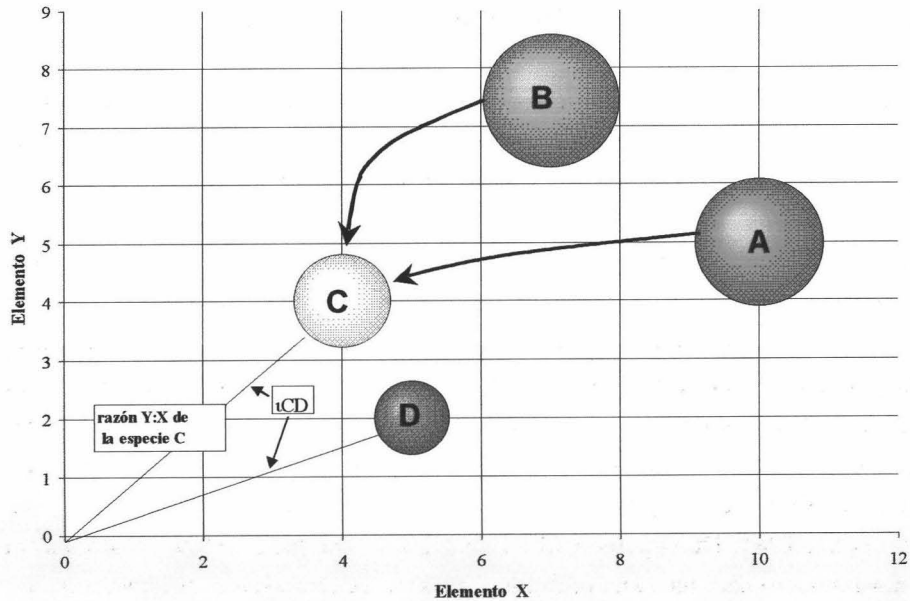
### 8.3.- EL ANÁLISIS DE LAS CONEXIONES ENTRE LAS ESPECIES A TRAVÉS DE LAS REDES TRÓFICAS: REDES TROFOQUÍMICAS

La esencia de los modelos de redes tróficas radica en la presencia de un conjunto de componentes ecológicos (especies) que interaccionan entre ellos, generalmente a través de procesos de consumo (p.ej. Schoenly & Cohen, 1991).

Sin embargo, en la construcción de estos modelos el flujo de materia y/o energía, y las interacciones que se establece entre 2 especies se encontrarían correlacionados, aunque no de forma perfecta. Por una parte, el flujo de energía y materiales es esencial para las poblaciones de animales y plantas, llegando incluso a limitar directamente la estructura de la red trófica tal y como reconocieron Elton (1927) y Lindeman (1942). Por otro lado, las interacciones entre las especies en el conjunto de la red trófica a su vez influyen el flujo de energía y la producción de biomasa (ej. Hairston et al., 1960; Carpenter et al., 1985; DeAngelis et al., 1989). Sin embargo, el estudio trófico a través de ambas aproximaciones ha sido individualizado y generalmente circunscrito al estudio trófico o químico de la red. En este sentido, Hagen (1992) apuntó que uno de los objetivos, aunque malogrado, de Hutchinson consistió en la unificación de las subdisciplinas de la biogeoquímica y de la ecología de poblaciones. Recientemente, Sterner et al. (1995b) han retomado estos conceptos incorporando el efecto indirecto del reciclado de materiales en un nuevo diagrama o red trofoquímica que permite integrar las, hasta el momento, dispersas redes tróficas o químicas.

En un diagrama trofoquímico una especie  $i$  se encuentra definida por 3 elementos X, Y y Z ( $X_i$ ,  $Y_i$  y  $Z_i$ ), dos de los cuales se disponen en el eje X e Y de un sistema de coordenadas, mientras que el tercer elemento está representado por el área circular (Figura 8.1). Las interacciones tróficas se encontrarían representadas por flechas. En este sentido, un diagrama trofoquímico recuerda a un diagrama de red trófica tradicional, salvo por la disposición de las especies en coordenadas químicas. La contribución de una especie o grupo trófico al *pool* de nutrientes es visible de forma

inmediata: bien como el tamaño del área circular o como las posiciones en los ejes X e Y. Así por ejemplo, en la Figura 8.1, la especie A posee la mayor contribución relativa con respecto al elemento X, pero contribuye en segundo lugar al *pool* del elemento Y. La razón Y:X de una especie equivale a la pendiente de la línea que pasa por el centro del círculo definido por dicha especie y llega hasta el origen (línea discontinua en la Figura 8.1).



**Figura 8.1.** Diagrama trofoquímico de una cadena trófica hipotética compuesta por 4 especies, A-D. Las flechas indican las relaciones tróficas (C consume a B y A, etc.). Las pendientes de las líneas discontinuas indican la razón Y:X de las especies C y D y el ángulo que se establece entre ambas ( $\iota_{CD}$ ) representa el *desequilibrio angular* entre ambas especies.

A partir de la teoría estequiométrica elemental se deduce que los requerimientos para el crecimiento del consumidor se encuentran directamente relacionados con su composición interna corporal. Por lo tanto, la calidad del recurso para el consumidor dependerá del grado de similitud entre la composición elemental entre ambos, de forma que, ésta podría ser cuantificada como el ángulo entre la razón Y:X del recurso y del consumidor ( $\iota$ , letra griega “iota”; Figura 8.1). Según esto, un  $\iota$  positivo ocurrirá cuando

$Y:X_{\text{consumidor}} > Y:X_{\text{recurso}}$ , y viceversa, mientras que un crecimiento equilibrado en nutrientes se encontrará definido por un  $\iota \approx 0$ . Por el contrario, un recurso será una calidad de alimento pobre para el consumidor cuando el valor de  $\iota$  sea elevado. Por ejemplo, la especie D que consume a C tendría un *balance angular* mayor que la especie C consumiendo B, de lo que se deduce que B sería para C un alimento de mayor calidad que C para D (Figura 8.1). Al mismo tiempo, un *balance angular positivo* (ej.  $\iota_{AC}$ ) indicaría la deficiencia del elemento Y en el recurso con respecto a los requerimientos del consumidor, en cuyo caso, este elemento puede actuar como factor limitante en la dieta del consumidor y como consecuencia el reciclado de éste se encontraría caracterizado por una razón Y:X baja.

En contraste, un *balance angular negativo* (ej.  $\iota_{CD}$ ) indicaría una deficiencia del recurso en el elemento X, por lo que éste elemento actuaría como factor limitante en el crecimiento del consumidor que reciclaría el exceso del elemento Y y retendría diferencialmente el elemento X, en lo que se traduciría como un reciclado con una baja razón Y:X elevada.

### 8.3.1. Construcción de las Redes trofoquímicas en La Caldera

La posibilidad que presenta La Caldera de separar en fracciones de tamaños los principales compartimentos tróficos (fitoplancton, bacterias y zooplancton) convierten a este sistema en un medio idóneo donde aplicar los modelos trofoquímicos propuestos. Es más, los diagramas trofoquímicos proporcionan una visión relativamente realista de los elementos C, N y P contenido en las fracciones tróficas a excepción del C contenido en la fracción bacteriana representado como el área circular, que constituiría una sobreestima (Capítulo IV, pg. 73).

La disparidad en las condiciones de la laguna a lo largo de estos tres años de estudio tuvieron reflejo en los diagramas trofoquímicos que dieron lugar una estructura variable interanualmente (Figura 8.2).

El zooplancton constituyó la fracción minoritaria para cualquiera de los 3 elementos durante el periodo de estudio. Las algas dominaron el *pool* de P durante los 3 años de estudio, hecho que se repetiría para el *pool* de C si consideramos que el C de la biomasa bacteriana es en realidad el 19% de aquel obtenido experimentalmente a partir del análisis de la fracción 0.2-1.0  $\mu\text{m}$  (Capítulo IV, Tabla 4.1). En líneas generales,

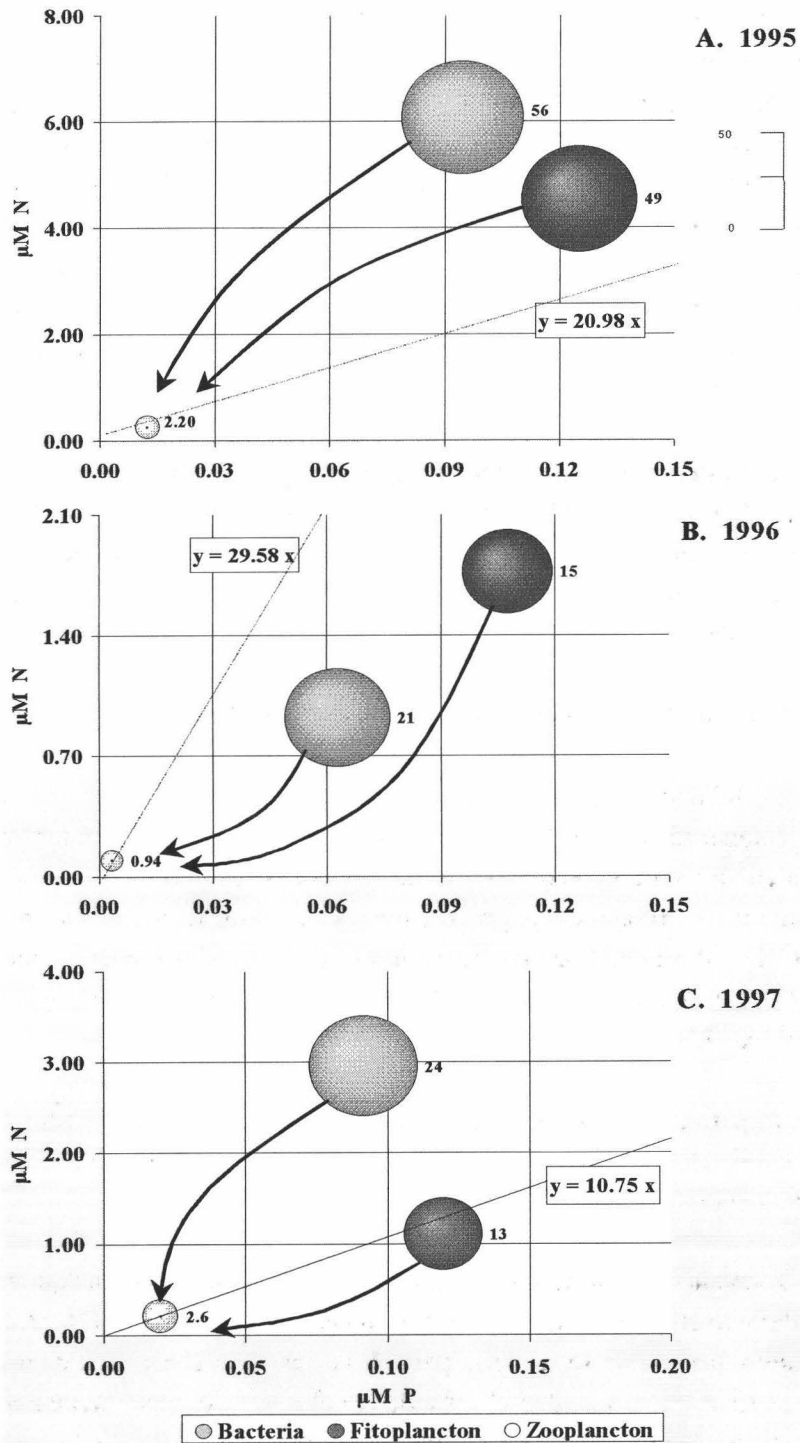


Figura 8.2. Diagramas trofoquímicos para los 3 años de estudio de La Caldera. Concentraciones de bacterias, fitoplancton y zooplancton obtenidas a partir de



estos resultados son consistentes con aquellos otros obtenidos anteriormente para otros lagos (Ahrens & Peters, 1991; Sterner et al., 1995b). Sin embargo, a diferencia de estos estudios las bacterias constituyeron el *pool* dominante de N en 2 de los 3 años de estudio.

La desviación de las bacterias y el fitoplancton con respecto a los requerimientos óptimos del zooplancton representados por la línea discontinua indica que el alimento es deficiente en alguno de los elementos representados en los ejes para los requerimientos óptimos en N y P en el crecimiento de los organismos. Si asumimos que tanto el fitoplancton como las bacterias son consumidas por el zooplancton, el balance angular de esta relación se modificaría de negativo en 1995 a positivo en 1996, mientras que sería positivo para algas y negativo para bacterias en 1997 (Tabla 8.1).

**Tabla 8.1.** Razones C:N:P y desequilibrio angular en las relaciones tróficas a lo largo del periodo de 1995–1997.

Año	Bacterias	Algas	Zooplancton	Vínculo trófico (recurso → consumidor)	Desequilibrio angular, $t_{RC}$
1995	589:64:1	393:36:1	179:21:1	Algas → Zooplancton	-1.15
				Bacteria → Zooplancton	-1.84
1996	335:15:1	143:16:1	283:30:1	Algas → Zooplancton	1.54
				Bacteria → Zooplancton	1.96
1997	261:32:1	105:9:1	133:11:1	Algas → Zooplancton	0.85
				Bacteria → Zooplancton	-3.54

$t_{RC}$ , desequilibrio angular recurso → consumidor

A la luz de estos resultados, podemos especular que la deficiencia nutricional estaría originada por el P en 1995 y por el N en 1996. Finalmente en 1997, el fitoplancton constituiría un alimento muy próximo a los requerimientos óptimos del zooplancton, mientras que las bacterias provocarían un desequilibrio angular negativo y por tanto supondrían un alimento deficitario en P para el zooplancton.

La validez de los diagramas trofoquímicos, que hemos descrito, se encuentra limitada por la detallada caracterización de la razón N:P del zooplancton. De hecho, las

evidencias aportadas en los Capítulos VI y VII apuntan a que el zooplancton de La Caldera presenta una marcada variación intraespecífica en su composición elemental que se encuentra relacionada con su ontogenia. Este hecho unido a que los sistemas como La Caldera donde más del 80% de la biomasa total del zooplancton se encuentra compuesta por una especie de copépodo, hacen a nuestro juicio aconsejable la segregación de los estadios de desarrollo de nauplios y copepoditos/adultos en su representación en diagramas trofoquímicos. En la Figura 8.3A se observa que el desequilibrio angular del zooplancton con respecto al fitoplancton y bacterias durante el periodo de dominio de los nauplios en 1996 es menor que aquel obtenido en la Figura 8.3B para el resto del periodo de dominio de copepoditos y adultos.

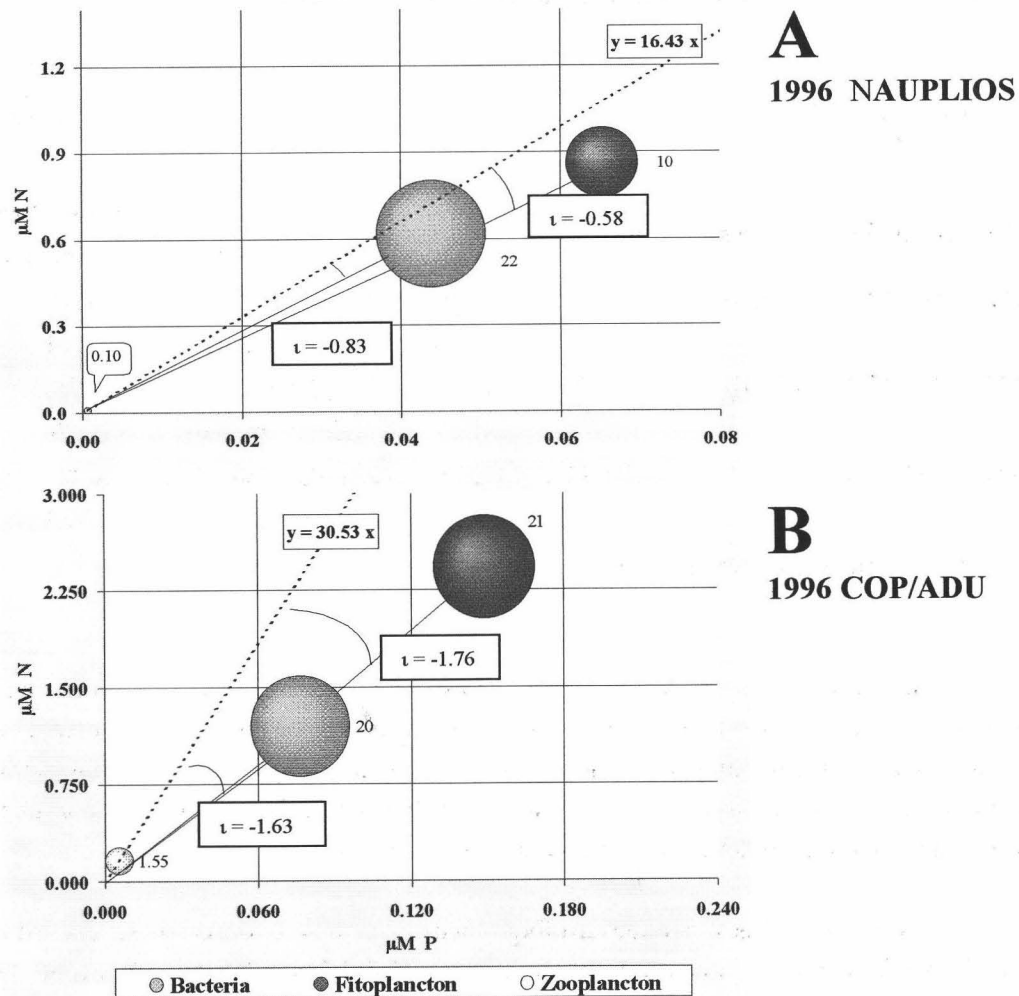


Figura 8.3. Diagramas trofoquímicos en La Caldera durante el periodo de dominio de nauplios (A) y copepoditos/adultos (B) en

Así mismo, se confirma este patrón para el año 1997 con respecto al alimento autotrófico (Figura 8.4), lo permite especular que el desarrollo de los nauplios no se encontraría limitado por la calidad de su alimento en términos de N y P, tal y como apuntamos con anterioridad (Capítulo VII, pg. 180). Por otra parte, el desequilibrio angular positivo de copepoditos y adultos en ambos años con respecto al alimento algal, sugiere que sería el N en mayor proporción al P, podría limitar el crecimiento de estos organismos (Figuras 8.3B y 8.4B).

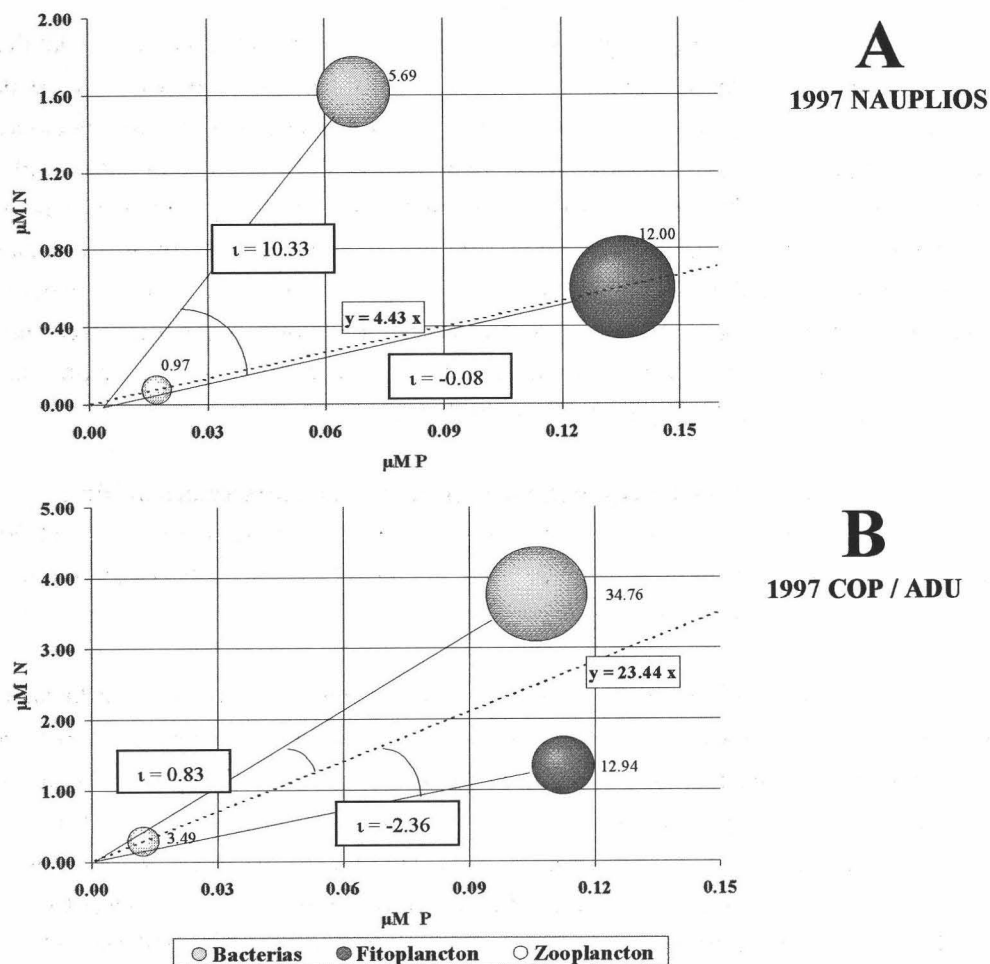


Figura 8.4. Diagramas trofoquímicos en La Caldera durante el periodo de dominio de nauplios (A) y copepoditos/adultos (B) en 1997.

Como consecuencia el zooplancton reciclaría el P en mayor proporción que el N dando origen a un reciclado con una razón N:P baja que en última instancia tendería a aliviar la limitación por P del fitoplancton. De hecho, estas predicciones se encuentran respaldadas por la composición elemental del fitoplancton que refleja condiciones de moderada/severa limitación por P (C:P entre 150-250; Figura 4.3) durante 1996 cuando el zooplancton es cuantitativamente poco importante ( $< 1 \text{ ind l}^{-1}$ ) y sin embargo, se localiza por debajo del umbral de deficiencia moderada por P (C:P  $< 150$ ; Figura 4.3) en la práctica totalidad de 1997 cuando el zooplancton retorna a las densidades características del sistema (Figura 3.8; Carrillo et al., 1996a).

La cadena de pastoreo de la gran mayoría de los sistemas acuáticos continentales se puede esquematizar de la siguiente forma: algas  $\rightarrow$  zooplancton  $\rightarrow$  peces. A pesar de las diferencias en los *desequilibrios angulares*, la trayectoria general en las interacciones de la cadena de pastoreo describe patrones semejantes a lo largo de los años de estudio (Figura 8.2). Así, el vínculo entre algas y el zooplancton se extiende gráficamente desde el margen superior derecho hasta el inferior izquierdo reflejando las notables diferencias en los *pool* de N y de P. Por su parte el esquema bacterias  $\rightarrow$  protozoos  $\rightarrow$  zooplancton describiría la jerarquía de la cadena trófica microbiana. Desafortunadamente carecemos de la caracterización química de los protozoos, debido a su escasa representación, para evaluar de forma separada el compartimento microbiano.

Los diagramas trofoquímicos permiten visualizar las conexiones tróficas y la posición de cada especie en el contexto de los ciclos biogeoquímicos. En este sentido, constituyen un vínculo entre dos disciplinas tradicionalmente diferenciadas como son el flujo de materia o energía y las interacciones tróficas.

Entre las contribuciones originales de los diagramas trofoquímicos destacan la identificación de tendencias en las redes tróficas que no podrían visualizarse a través de otras vías. Por ejemplo, en 1995 se observa que en la interacción trófica clásica (algas  $\rightarrow$  zooplancton) o en la interacción (bacterias  $\rightarrow$  zooplancton) existe una tendencia a acumular P en relación al N (descenso de la razón N:P) a medida que ascendemos al eslabón superior de la cadena trófica en La Caldera, lo que ha sido descrito con anterioridad para otros lagos independientemente de su estado trófico (Sterner et al., 1995b), incluyendo un nivel superior constituido por peces. Además, estos resultados permitirían explicar algunas generalidades observadas a nivel de la red trófica, como el hecho, de que la biomasa de todos los niveles tróficos y no solamente el fitoplancton se

encuentre correlacionada con la concentración en P de los lagos (ej. Peters, 1986). Sin embargo, este comportamiento se invierte en los años 1996 y 1997, durante los cuales el volumen y las poblaciones planctónicas del lago recuperan la “normalidad” anterior al período de sequía. En concreto, la población zooplanctónica pasa a estar constituida en su mayor parte (>80% de la biomasa) por el copépodo calanoide *M. laciniatus*, cuya elevada razón N:P en comparación a otros crustáceos como cladóceros, arroja un *desequilibrio angular positivo* con respecto a las algas, que permite especular con que estos organismos no se encuentran sometidos a una carencia de P en su crecimiento. En concreto, la presencia de cladóceros y particularmente *Daphnia* podría estar restringida por el hecho de poseer una razón N:P próxima a 18 (Andersen & Hessen, 1991), que los haría mucho más susceptibles de sufrir una limitación por P y por tanto originar un *desequilibrio angular negativo* ( $N:P_{\text{consumidor}} < N:P_{\text{algas}}$ ).

Uno de los parámetros esenciales de cualquier red trófica lo constituye la fracción de material que se localiza en cada uno de sus niveles tróficos. Así, en las pirámides clásicas de biomasa eltonianas, la proporción de biomasa se reduce a medida que ascendemos de nivel trófico. Los diagramas trofoquímicos apoyan esta visión en La Caldera, donde las algas generan una base importante para cualquiera de los 3 elementos estudiados y donde el zooplancton, tan sólo, constituye una fracción menor de éstos elementos. Para Sterner et al. (1995b), los diagramas trofoquímicos permiten explorar muchas cuestiones pendientes en ecología, incluyendo los procesos y el funcionamiento bioquímico de las redes tróficas. Por ejemplo, a través de estos diagramas podemos distinguir entre las conexiones tróficas donde los recursos poseen los elementos requeridos para el crecimiento equilibrado de los consumidores de aquellas otras donde los elementos disponibles en los recursos y los requeridos por los consumidores se encuentran *desequilibrados*. Los primeros o interacciones químicas equilibradas, se localizaran describiendo una diagonal que pasaría por el origen (*desequilibrio angular*  $\approx 0$ ), mientras que las interacciones *desequilibradas* presentarían desviaciones importantes con respecto a este patrón. En consecuencia, las interacciones tróficas *desequilibradas* provocan un descenso en la eficiencia de crecimiento de los consumidores (Sterner, 1993) e incluso puede llegar a manifestarse en cambios en la naturaleza de los nutrientes limitantes para los productores. Es en este campo de los *desequilibrios nutricionales* donde los diagramas trofoquímicos se revelan como herramientas esenciales en los análisis ecológicos.

El contraste de los resultados obtenidos en La Caldera tan sólo se realizó con el único trabajo disponible y al mismo tiempo pionero de Sterner et al. (1995b) en el que se proponen estos modelos. Para estos autores, un paso adelante en el avance de estos diagramas lo constituiría la inclusión de las tasas de reciclado en lugar del *pool* de C, N y P o, tal y como proponemos, la utilización de categorías taxonómicas más finas que permitan diferenciar entre los efectos de nauplios frente a copepoditos y adultos. Sin duda la utilización de esta aproximación en el estudio integral de las redes tróficas se vislumbra como prometedora y, quizás, llegue a ocupar un lugar relevante en las representaciones ecológicas equiparable a las ya clásicas pirámides de Elton, o a los diagramas energéticos de Odum.



Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page. Some words like "The" and "of" are barely visible.

Very faint, illegible text located in the lower half of the page. The characters are too light to be read accurately.



*SÍNTESIS*

---

---

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes the need for transparency and accountability in financial reporting.

2. The second part of the document outlines the various methods and techniques used to collect and analyze data. It includes a detailed description of the experimental procedures and the statistical tools employed.

3. The third part of the document presents the results of the study, including a comparison of the different methods and a discussion of the implications of the findings. It also includes a section on the limitations of the study and suggestions for future research.

4. The fourth part of the document provides a summary of the key findings and conclusions. It highlights the main points of the study and offers a final perspective on the overall results.

5. The fifth part of the document contains a list of references and a bibliography. It includes citations to the works of other researchers in the field and provides a comprehensive overview of the literature related to the study.

6. The sixth part of the document includes a section on the acknowledgments, where the author expresses gratitude to the individuals and organizations that provided support and assistance during the course of the research.

7. The final part of the document is a concluding statement that reiterates the main findings and offers a final thought on the significance of the study. It serves as a summary of the entire document and provides a clear and concise conclusion.

## SÍNTESIS

Como consecuencia de los cambios en los regímenes de precipitaciones, el volumen de la laguna experimentó cambios drásticos que la situaron en una profundidad máxima inferior a 2 m en 1995. El incremento en la disponibilidad de fósforo para este año provocó la diversificación de la comunidad planctónica y el reforzamiento de la comunidad heterotrófica manifestado por un valor en la razón autótrofo:heterótrofo (A/H) inferior a 1.

A pesar de las cargas de nutrientes esporádicas asociadas a las deposiciones tanto secas como húmedas, la laguna en 1996 presentó una situación de moderada/severa limitación por fósforo mientras que recuperó su profundidad máxima de 14 m. La entrada masiva de agua provocó la “dilución” de la laguna y como consecuencia, el metazooplancton fue muy escaso ( $< 1 \text{ ind l}^{-1}$ ), los ciliados incrementaron, mientras que la comunidad fitoplanctónica estuvo dominada por las crisofíceas ( $>90\%$  abundancia). La razón A/H durante este año superó ampliamente el valor de 1 (Capítulo III).

Finalmente, hacia finales de 1997, el zooplancton alcanzó los valores de abundancia característicos del sistema, decrecieron los ciliados, así como la razón A/H ( $< 1$ ) y, en general, la laguna recuperó las condiciones del sistema anteriores al periodo de sequía. Las densidades de bacterias y fitoplancton experimentaron un declive progresivo posiblemente asociado a la intensificación del control “top-down” a lo largo del periodo de estudio.

Fitoplancton y bacterias mostraron una composición química muy variable intra- e interanualmente que sugiere que los periodos de limitación por P más intensos ocurren a mediados del periodo estival. Tanto el zooplancton como las entradas externas de nutrientes son críticas para el crecimiento y composición elemental de las algas, mientras que tan sólo la disponibilidad de nutrientes y, en particular de P, se relacionaron con la composición de bacterias.

Por una parte, el zooplancton ejerce un efecto dual de depredación y de reciclado sobre el fitoplancton, cuyo efecto neto se evidencia en la relación entre la razón N:P del fitoplancton y la biomasa del zooplancton (Capítulo IV; Tabla 4.3). Por la otra, existen descensos puntuales pronunciados en las razones C:P y N:P de bacterias y fitoplancton inmediatamente posteriores a cargas atmosféricas en la laguna (ver flechas en Figura 4.2

y 4.3) que coinciden con incrementos en sus poblaciones (Capítulo III). Los pulsos de nutrientes por su naturaleza pueden variar en tamaño desde aquellos derivados de la excreción del zooplancton, hasta grandes eventos atmosféricos que provocan una masiva entrada de nutrientes o procesos de mezcla en la columna de agua. Todo ello apunta en la dirección de atribuir un severo control “top-down” por parte del zooplancton sobre la composición elemental del fitoplancton, aunque modulado por un control “bottom-up” más esporádico y asociado a eventos atmosféricos o procesos derivados del deshielo.

La respuesta a corto (medidas producción) y medio plazo (desarrollo de poblaciones *in situ*) a la adición de P a distintas razones N:P iniciales del sustrato, revela diferencias en el metabolismo y desarrollo de algas y bacterias. Mientras que la producción puso de manifiesto que el fitoplancton se encuentra limitado por el P, este elemento en alternancia con un segundo factor controlarían el crecimiento de las bacterias (Capítulo IV). Los experimentos desarrollados *in situ* a medio plazo demostraron que la respuesta a la adición de P fue importante para la abundancia y composición elemental del fitoplancton, pero tan sólo relevante para un corto periodo de tiempo (24/48 h) en el caso de las bacterias (Capítulo V). Por otra parte, la respuesta de los ciliados en condiciones de ausencia de depredadores y tras un pulso experimental de nutrientes, si bien desfasada en el tiempo (8-15 días), refuerza las observaciones de máximos en la abundancia de ciliados en 1996 tras una carga externa de nutrientes seguido de un descenso drástico en sus poblaciones, lo que sugiere la naturaleza de la integración inexorable que existe entre los componentes microbianos y funcionamiento clásico de las redes tróficas pelágicas (Porter, 1986) y que además parece encontrarse reforzada en los sistemas oligotróficos (Sterner et al., 1995).

Por su parte, las variaciones intranuales en la estequiometría del zooplancton fueron más pronunciadas que aquellas observadas entre años. Así pues, la razón N:P del zooplancton osciló entre 6.0 y 40.1 (media 22.6) en 1995 y entre 10.4 y 42.2 (media 24.9) en 1996. Además, esta razón estuvo asociada al dominio de rotíferos y nauplios en 1995, mientras que se relacionó con el desarrollo ontogénico del copépodo calanoide *Mixodiaptomus laciniatus* en 1996, tal y como se observó para el año 1997.

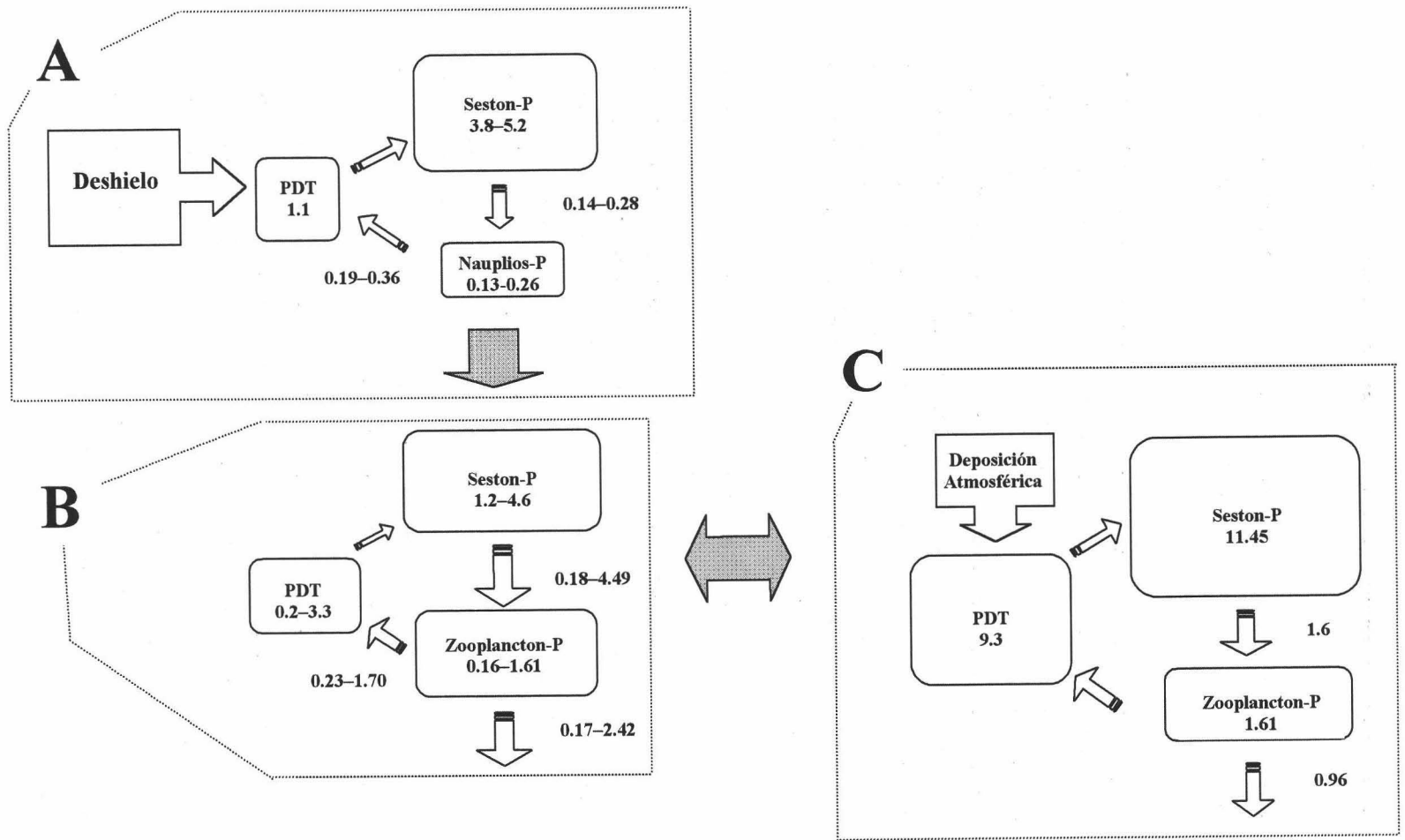
La relativa ausencia de especies caracterizadas por bajas tasas de crecimiento específico y razones N:P bajas en la zona pelágica de la laguna como *Daphnia*, podría estar relacionada con las restricciones tanto bioquímicas como estequiométricas (escasa disponibilidad de P) que operan en un sistema como La Caldera.

La respuesta trófica a una perturbación natural (entrada atmosférica), así como un régimen hídrico variable entre años, tuvieron reflejo en la estructura y composición elemental del fitoplancton, si bien, no se propagó a las razones estequiométricas del zooplancton, que fluctuó entre años dentro de un estrecho rango y que no mostró cambios importantes en su composición taxonómica.

Nuestros resultados sugieren que, en orden de importancia, los *inputs* atmosféricos (>1000%), el reciclado del zooplancton (1.2-335%) y los procesos relacionados con el deshielo (0.37-5.16%) suplieron las demandas mínimas de P del fitoplancton durante los años de 1996 y 1997. Si bien el efecto de fuerzas externas en el aporte de P ocurre de forma esporádica e impredecible en comparación a los procesos de reciclado biológico de nutrientes, ambos podrían afectar de forma sinérgica a la estructura y composición elemental del fitoplancton.

En líneas generales, el flujo de P entre los compartimentos fundamentales de la zona pelágica durante el periodo de desarrollo estacional en la laguna de La Caldera se encuadraría dentro de 3 modelos conceptuales. Mientras que el deshielo proporciona el P que determina el estado nutricional y el crecimiento del fitoplancton en las primeras etapas de la estación de crecimiento (Figura 9.1A), es a mediados de verano, cuando el aporte P por el reciclado adquiere un papel primordial (Figura 9.1B). La naturaleza esporádica de los *inputs* de P asociados a deposiciones atmosféricas podría promover estadios transicionales rápidos entre una comunidad controlada biológicamente y otra en la que los nutrientes se encuentran puntualmente en exceso y donde los procesos de reciclado pierden relevancia (Figura 9.1C). Nuestro propósito final, es el de describir una comunidad dinámica cuyo funcionamiento se encuentra regido por procesos de primer orden y por efectos indirectos no fácilmente distinguibles, que se alternan con periodos en los cuales las contribuciones externas de nutrientes son primordiales.

La determinación en el contenido medio de carbono, nitrógeno y fósforo a lo largo del ciclo de vida de *Mixodiaptomus laciniatus* en 1997 permite, no sólo apoyar los resultados de la caracterización estequiométrica del año anterior, sino también definir que la variabilidad intranual observada en La Caldera es de origen intraespecífico y además, dependiente de la ontogenia (Capítulo VII). Así por ejemplo, el contenido medio en carbono mostró un aumento progresivo durante la ontogenia del copépodo, con medias de  $36.3\% \pm 5.6$  para nauplios,  $51.5 \pm 5.2$  para copepoditos y  $55.8\% \pm 2.6$  para adultos. Por



**Figura 9.1.** Esquema simplificado de las principales rutas del P en la zona pelágica de la laguna de La Caldera durante el deshielo (A), cuando los procesos biológicos adquieren relevancia (B) y después de una entrada de P alóctona (C). El tamaño de los compartimentos ( $\mu\text{g P l}^{-1}$ , cajas) y de los flujos ( $\mu\text{g P l}^{-1} \text{d}^{-1}$ , flechas) varían en proporción a su importancia en términos de P. Las tasas de ingestión de P fueron estimadas siguiendo la metodología empleada por Reche (1995), las tasas de reciclado a partir de Carrillo et al. (1996b) y el P liberado vía “fecall pellets” a partir de este estudio.

otra parte, el fósforo mostró un descenso progresivo desde valores  $\sim 1.5\%$  en los estadios superiores de nauplios, hasta valores medios de  $0.87 \pm 0.21$  en copepoditos y  $0.51 \pm 0.16\%$  en adultos.

La relación que la estequiometría del zooplancton y, particularmente, el %C, %N y la razón C:N mostraron con los parámetros ontogénicos de la tasa de crecimiento y en menor grado con el tamaño corporal, apoyan la hipótesis de que las tasas de crecimiento se encuentran estrechamente asociadas con la composición elemental de los copépodos (Sterner, 1995). En este contexto, describimos un periodo de crecimiento somático intenso, donde los contenidos en C y N están estrechamente unidos a las tasas de crecimiento. La gran variabilidad que se observa en el contenido en P intraestadio a lo largo del desarrollo ontogénico de *M. laciniatus* podría encontrarse asociada a picos de actividad metabólica durante los procesos de muda, en que el P podría operar como un factor limitante en determinados sistemas.

Sin embargo, además del desarrollo ontogénico, las estrategias de vida son un factor esencial para explicar la variabilidad estequiométrica (Capítulo VII). En la presente memoria, formulamos dos estrategias de vida fundamentales en la historia de vida de los copépodos. La primera o *estrategia de crecimiento*, propia de los primeros estadios copepodíticos, estaría orientada a derivar las limitadas reservas de carbono al desarrollo estructural siendo responsable del declive de la razón lípidos neutrales: lípidos polares hacia finales del periodo libre de hielo y que en el caso del copepodito III pasaría de 0.8 a 0.1. La segunda o *estrategia de supervivencia*, estaría representada por el último estadio copepodítico y adultos, en que los requerimientos de crecimiento han sido satisfechos y las fuentes de energía se derivarían hacia el mantenimiento somático, lo que tendría reflejo en la constancia temporal de la razón lipídica.

El hecho de que la composición elemental C:N:P de los copépodos varíe estacionalmente para un mismo estadio y no se relacione con su alimento, no sólo refleja el que los organismos afronten distintas estrategias de vida, sino que al mismo tiempo sugiere que la homeostasis de los copépodos no es estricta. En la presente memoria de Tesis redefinimos el concepto de homeostasis dentro de una perspectiva más amplia como reostasis, o la condición por la cual, los controles homeostáticos permanecen activos a pesar de que a lo largo del tiempo existe un cambio en el nivel en el que dichos controles son ajustados (Mrosovsky, 1990).



De forma global, la variación ontogénica en el contenido elemental de *M. laciniatus* se situó dentro del mismo rango que la variabilidad interespecífica y excedió a la intersistémica (sistemas marinos vs. dulceacuícolas) (Capítulo VII; Figura 7.16). La discriminación de los estadios de desarrollo larvarios en el zooplancton podrían situarse en la raíz de este fenómeno. Así pues, sería razonable esperar que la variabilidad intra e intersistémica podrían equipararse a la intraespecífica a medida que futuros estudios vayan incorporando nuevos datos de estadios larvarios y juveniles. Como consecuencia, la segregación tradicional de los efectos de las especies a nivel del ecosistema debe, a nuestro juicio, ser cuidadosamente revisada, diferenciándose el efecto de nauplios, copepoditos y adultos y, especialmente, en aquellos sistemas donde los primeros son más abundantes.

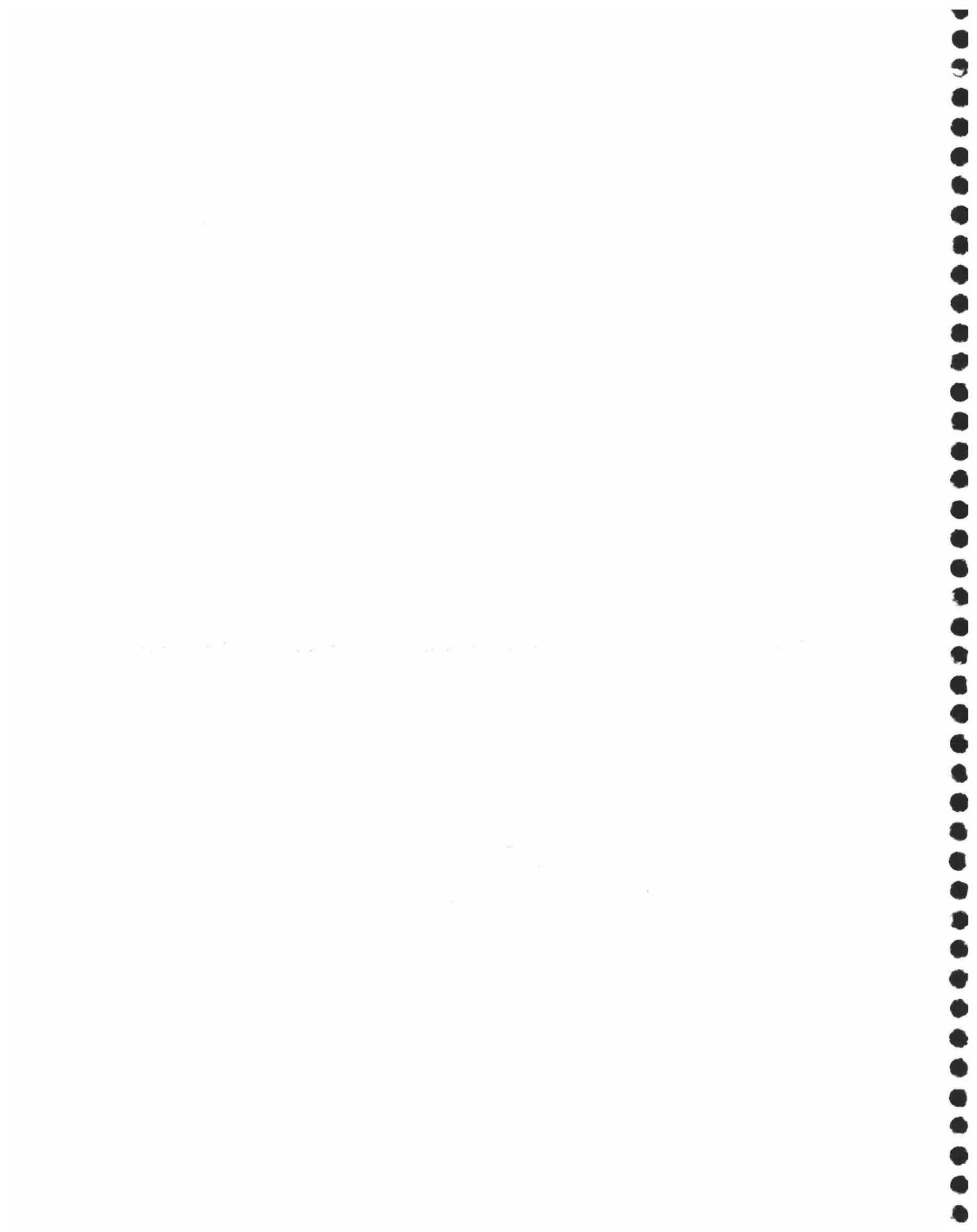
Finalmente, el análisis de los procesos de depredación del fitoplancton o bacterias por parte del zooplancton desde un punto de vista estequiométrico posee implicaciones importantes en cuanto a la calidad del alimento. La existencia de umbrales en la razón C:P del fitoplancton, por encima de los cuales los cladóceros se encontrarían limitados por el P, permitiría explicar la escasa presencia de estos organismos en La Caldera. No obstante, los pulsos naturales de nutrientes provocan un descenso en las razones C:P del fitoplancton o bacterioplancton (Capítulo IV) que tenderían a aliviar las condiciones anteriores de limitación y que podrían ser las responsables de la aparición esporádica de picos de cladóceros tanto en este como en anteriores estudios.

A pesar de que tanto los cladóceros como los últimos estadios de nauplios serían susceptibles de sufrir una limitación por P debido a su alto contenido corporal en este elemento (~1.5%), la estrategia evolutiva que determina la aparición de los nauplios inmediatamente después del deshielo, cuando el alimento es relativamente abundante y su calidad mayor, podría prevenir a éstos organismos de sufrir un déficit de P en su crecimiento.

En apoyo de la hipótesis anterior, la aplicación en este estudio de los diagramas trofoquímicos propuestos por Sterner et al. (1995) indica que el alimento disponible para los nauplios se ajusta en mayor medida a los requerimientos somáticos internos que aquel de copepoditos y adultos (Capítulo VIII, Figuras 8.3A y 8.3B). Además, la construcción de la *Red Trofoquímica* para La Caldera, nos permite cuantificar la calidad del alimento de los consumidores a través de los desequilibrios angulares y al mismo tiempo evaluar las repercusiones que a nivel del ecosistema se originan a través del reciclado de los

nutrientes. Así por ejemplo, los *desequilibrios angulares negativos* ( $N:P_{\text{recursos}} > N:P_{\text{consumidor}}$ ) de las relaciones de depredación recurso/consumidor en 1995 indican la deficiencia del P en el recurso con respecto a los requerimientos del consumidor, que como consecuencia, reciclaría el N de forma más eficiente al P, lo que finalmente, tendería a agudizar las condiciones de limitación de las algas por este nutriente en el sistema (Tabla 8.1). Sin embargo, el *desequilibrio angular positivo* ( $N:P_{\text{consumidor}} > N:P_{\text{recurso}}$ ) obtenido en 1996 daría lugar a la situación contraria: el N sería el elemento deficiente para los consumidores que reciclarían el exceso de P generando un reciclado con una razón N:P baja que actuaría aliviando las condiciones de limitación por P de las algas y fundamentalmente en el caso hipotético de que el zooplancton durante este año hubiera supuesto una fracción más importante de la biomasa total de los organismos.





## *CONCLUSIONES*

---

---



---

---

## CONCLUSIONES

1. El régimen climatológico fluctuante tuvo reflejo en las condiciones bióticas y abióticas de la laguna de La Caldera y afectó, especialmente, a su volumen. La razón autótrofo:heterótrofo (A:H) permite caracterizar la variabilidad interanual de la comunidad planctónica, que estuvo dominada por la cadena de pastoreo, a excepción de en 1996, cuando un zooplancton en proceso de recuperación permitió un mayor desarrollo del bucle microbiano.
2. La composición celular (razones N:P y C:P) de algas y bacterias se encuentra inversamente relacionada con su productividad y por lo tanto proporcionan una estima válida del grado de limitación por nutrientes. Mientras que la producción fitoplanctónica se mostró permanentemente limitada por P, éste elemento alternativamente con el C de origen fotosintético podría ser el responsable de la limitación en la producción bacteriana.
3. El efecto de una adición de nutrientes a distintas razones N:P del sustrato, aunque inicialmente se manifestó en la composición elemental de las bacterias, fue muy superior a corto y medio plazo sobre la abundancia y composición elemental del fitoplancton. La capacidad de las algas de almacenar nutrientes en exceso a sus requerimientos les proporciona una ventaja competitiva frente a las bacterias al permitirles aprovechar el carácter pulsado y esporádico de las entradas de nutrientes, tanto naturales como experimentales.
4. El desarrollo de la comunidad de ciliados tras una entrada de nutrientes tanto natural como experimental y después de un tiempo de desfase, es parcialmente responsable del control de la comunidad bacteriana y refuerza la integración entre los componentes microbianos y la red trófica clásica de los sistemas acuáticos..
5. Las predicciones de modelos estequiométricos señalan que los procesos de reciclado interno por parte de los consumidores son responsables de gran parte de la variabilidad en la composición elemental de la comunidad fitoplanctónica. Su efecto se encuentra potenciado por aportes de nutrientes alóctonos al sistema. Cuantitativamente, los eventos atmosféricos esporádicos, el reciclado de nutrientes por parte del zooplancton y el deshielo satisfacen, en orden de importancia, las demandas mínimas de P por parte de las algas.

6. Existen importantes diferencias intraespecíficas en la composición estequiométrica del zooplancton. Éstas se relacionan, fundamentalmente, con el desarrollo ontogénico y exceden la variabilidad estequiométrica asociada a las estrategias de vida de *M. laciniatus*.
7. La tasa de crecimiento se revela como el mejor predictor del contenido elemental en carbono y nitrógeno de los copépodos calanoides. Sin embargo, la variabilidad en la concentración de P intraestadio parece relacionarse con máximos de actividad metabólica durante los procesos de muda y, particularmente, en la metamorfosis donde el P podría operar como un factor limitante del crecimiento.
8. La variación estacional en el contenido elemental C:N:P para un mismo estadio de *M. laciniatus*, independiente de su alimento, indica que la homeostasis del zooplancton no es estricta. En este contexto, sustituimos el concepto de homeostasis por reostasis que propone la existencia de una regulación con cambios en el nivel en el que los controles homeostáticos son ajustados.



## *BIBLIOGRAFÍA*

---

---

[Faint, illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the page]



- Ahlgren, G., Lundstedt, L., Brett, M. and Forsberg, C. (1989) Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *J. Plankton Res.*, **12**, 809–818.
- Ahrens, M.A. and Peters, R.H. (1991) Patterns and limitations in limnoplankton size spectra. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 1967–1978.
- Aizaki, M. and Otsuki, A. (1987) Characteristics of variations of C:N:P:Chl ratios of seston in eutrophic shallow Lake Kasumigaura. *Jpn. J. Limnol.*, **48**, S99–S106.
- Alebicjuretic, A. (1994) Precipitation chemistry within Kvarner bay area, Northern Adriatic (Croatia). *Water Air Soil Pollut.*, **78**, 343–357.
- APHA (American Public Health Association) (1992) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 18<sup>th</sup> (ed.).
- Ammerman, J.W., Fuhrman, J.A., Hagström, A. and Azam, F. (1984) Bacterioplankton growth in seawater. I. Growth kinetics and cellular characteristics in seawater cultures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **18**, 31–39.
- Andersen, O.K., Goldman, J.C., Caron, D.A. and Dennet, M.R. (1986) Nutrient cycling in a microflagellate food chain: 3. Phosphorus dynamics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **31**, 47–55.
- Andersen, T. and Hessen, D.O. (1991) Carbon, nitrogen and phosphorus content of freshwater zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 807–814.
- Andersson, A., Larsson, U. and Hagström, A. (1986) Size-selective grazing by a microflagellate on pelagic bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **33**, 51–57.
- Arashkevich, E.G. and Drits, A.V. (1997) Biochemical composition, respiration rate and gonad development in late-stage copepodites of calanoides *Carinatus* (kroyer) from the Benguela upwelling region. *Okeanologia*, **37**, 571–577.
- Arnold, D.E. (1971) Ingestion, assimilation, survival and reproduction by *Daphnia pulex* fed seven species of blue-green algae. *Limnol. Oceanogr.*, **16**, 906–921.
- Avila, A., Queraltmitjans, I. and Alarcón, M. (1997) Mineralogical composition of African dust delivered by red rains over Northeastern Spain. *J. Geophys. Res. Atmos.*, **102**, 21977–21996.
- Axler, R.P., Redfield, G.W. and Goldman, C.R. (1981) The importance of regenerated nitrogen to phytoplankton productivity in a subalpine lake. *Ecology*, **62**, 345–354.
- Båmstedt, U. (1986) Chemical composition and energy content. In Corner, E.D.S. and O'Hara, S.C.M. (ed.), *The Biological Chemistry of Marine Copepods*. Clarendon Press, Oxford, pp. 1–58.
- Barica, J., Kling, H. and Gibson, J. (1980) Experimental manipulation of algal bloom composition by nitrogen addition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**, 1175–1183.

- Baudouin, M.F. and Ravera, O. (1972) Weight, size and chemical composition of some freshwater zooplankton: *Daphnia hyalina* (Leydig). *Limnol. Oceanogr.*, **17**, 645–649.
- Baudouin, M.F. and Scoppa, P. (1975) The determination of nucleic acids in freshwater plankton and its ecological implications. *Freshw. Biol.*, **5**, 115–120.
- Beaver, J.R. and Crisman, T.L. (1982) The trophic response of ciliate protozoans in freshwater lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 246–253.
- Begon, M., Harper, J.L. and Townsend, C.R. (1990) *Ecology: Individuals, populations and communities*. Blackwell, Oxford.
- Behrendt, H. (1990) The chemical composition of phytoplankton and zooplankton in an eutrophic shallow lake. *Arch. Hydrobiol.*, **118**, 129–145.
- Bell, R.T. (1990) An explanation for the variability in the conversion factor deriving bacterial cell production from incorporation of (<sup>3</sup>H)-thymidine. *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 910–915.
- Bell, W.H. and Sakshaug, E. (1980) Bacterial utilization of algal extracellular products. 2. A kinetic study of natural populations. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 1021–1033.
- Berberovic, R. (1990) Elemental composition of two coexisting *Daphnia* species during the seasonal course of population development in lake Constance. *Oecologia*, **84**, 340–350.
- Berman, T., Stone, L., Yacobi, Y.Z., Kaplan, B., Schlichter, M., Nishri, A. and Pollinger, U. (1995) Primary production and phytoplankton in Lake Kinneret - A long-term record (1972–1993). *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1064–1076.
- Birk, E.M. and Vitousek, P.M. (1986) Nitrogen availability and nitrogen use efficiency in loblolly pine stands. *Ecology*, **67**, 69–79.
- Bjørnsen, P.K. (1986) Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, **51**, 1199–1204.
- Botrell, H.H., Duncan, A., Gliwicz, Z.M., Grygierek, E., Herzig, A., Hillbricht-Ilkowska, A., Kurasawa, H., Larsson, P. and Weglenska, T. (1976) A review of some problems in plankton production studies. *Norw. J. Zool.*, **24**, 419–456.
- Bowen, H.J.M. (1966) *Trace elements in biochemistry*. London (UK): Academic Press.
- Bratbak, G. (1985) Bacterial biovolume and biomass estimations. *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 1488–1493.
- Bratbak, G. and Thingstad, T.F. (1985) Phytoplankton–bacteria interactions: An apparent paradox? Analysis of a model system with both competition and commensalism. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **25**, 23–30.

- Brett, M.T. (1993) Comment on "Possibility of N and P limitation for planktonic cladocerans: An experimental test" (Urabe and Watanabe) and "Nutrient element limitation of zooplankton production". *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 1333–1337.
- Brett, M.T., Wiackowski, K., Lubnow, F.S., Mueller-Solger, A., Elser, J.J. and Goldman, C.R. (1994) Species-dependent effects of zooplankton on planktonic ecosystems processes in Castle Lake, California. *Ecology*, **75**, 2243–2254.
- Brinch-Iversen, J., King, G.M. (1990) Effects of substrate concentration, growth state, and oxygen availability on relationships among bacterial carbon, nitrogen, and phospholipid phosphorus content. *Microb. Ecol.*, **74**, 345–356.
- Brown, J. (1995) Macroecology. Chicago University Press, Chicago, IL.
- Butler, M. and Dam, H.G. (1994) Production rates and characteristics of fecal pellets of the copepod *Acartia tonsa* under simulated phytoplankton bloom conditions: Implications for vertical fluxes. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **114**, 81–91.
- Button, D.K. and Robertson, B.R. (1993) Use of high-resolution flow cytometry to determine the activity and distribution of aquatic bacteria. In Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. and Cole, J.J. (eds.), *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*. CRC Press, Florida.
- Calder, W.A. (1984) Size, function, and life history. Cambridge (UK): Harvard University Press.
- Caperon, J. and Meyer, J. (1972) Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton. II. Uptake kinetics and their role in nutrient limited growth of phytoplankton. *Deep Sea Res.*, **19**, 619–632.
- Caraco, N.F., Cole, J.J. and Likens, G.E. (1992) New and recycled primary production in an oligotrophic lake: Insights for summer phosphorus dynamics. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 590–602.
- Carman, K.R., Thistle, S., Ertman, S.C. and Foy, M. (1991). Nile red as a probe for lipid-storage products in benthic copepods. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **74**, 307–311.
- Caron, D.A., Goldman, J.C., Andersen, O.K., Dennett, M.R. (1985) Nutrient cycling in a microflagellate food chain: II. Population dynamics and carbon cycling. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **24**, 243–254.
- Carpenter, S.R., Kitchell, J.F. and Hodgson, J.R. (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. *Bioscience*, **35**, 634–639.
- Carpenter, S.R., Cottingham, K.L. and Schindler, D.E. (1992) Biotic feedbacks in lake phosphorus cycles. *Tree*, **7**, 332–336.
- Carpenter, S.R. and Kitchell, J.F. (1993) *The Trophic Cascade in Lakes*. Cambridge University Press, New York.

- Carrillo,P. (1989) Análisis de las interacciones tróficas en el plancton de un sistema oligotrófico. PhD. Thesis. University of Granada, pp. 212.
- Carrillo,P., Cruz-Pizarro,L. and Sanchez-Castillo,P. (1990) Analysis of phytoplankton-zooplankton relationships in an oligotrophic lake under natural and manipulated conditions. *Hydrobiologia*, **200/201**, 49–58.
- Carrillo,P., Cruz-Pizarro,L. and Sánchez-Castillo,P. (1991a) Aportación al conocimiento del ciclo biológico de *Chromulina nevadensis*. *Acta Botanica Malacitana*, **16**, 19–26.
- Carrillo,P., Sánchez-Castillo,P. and Cruz-Pizarro,L. (1991b) Coincident zooplankton and phytoplankton diel migrations in a high mountain lake (La Caldera, Sierra-Nevada, Spain). *Arch. Hydrobiol.*, **122**, 57–67.
- Carrillo,P., Reche,I., Sanchez-Castillo,P. and Cruz-Pizarro,L. (1995) Direct and indirect effects of grazing on the phytoplankton seasonal succession in an oligotrophic lake. *J.Plankton Res.*, **17**, 1363–1379.
- Carrillo,P., Reche,I. and Cruz-Pizarro,L. (1996a) Intraspecific stoichiometric variability and the ratio of nitrogen to phosphorus resupplied by zooplankton. *Freshw. Biol.*, **36**, 363–374.
- Carrillo,P., Reche,I. and Cruz-Pizarro,L. (1996b) Quantification of the phosphorus released by zooplankton in an oligotrophic lake (La Caldera, Spain): regulating factors and adjustment to theoretical models. *J. Plankton Res.*, **18**, 1567–86.
- Chiapello,I., Bergametti,G., Chatenet,B., Bousquet,P., Dulac,F. and Soares,E.S. (1997) Origins of African dust transported over the Northeastern Tropical Atlantic. *J. Geophys. Res. Atmos.*, **102**, 13701–13709.
- Christoffersen,K., Riemann,B., Hansen,L.R., Klysner,A. and Sorensen,H.B. (1990) Qualitative importance of the microbial loop and plankton community structure in a eutrophic lake during a bloom of cyanobacteria. *Microb. Ecol.*, **20**, 253–272.
- Chrzanowski,T.H., Sterner,R.W. and Elser,J.J. (1995) Nutrient enrichment and nutrient regeneration stimulate bacterioplankton growth. *Microb. Ecol.*, **29**, 221–230.
- Chrzanowski,T.H. and Kyle,M. (1996) Ratios of carbon, nitrogen and phosphorus in *Pseudomonas fluorescens* as a model for bacterial element ratios and nutrient regeneration. *Aqua. Microb. Ecol.*, **10**, 115–122.
- Chrzanowski,T.H., Kyle,M., Elser,J.J. and Sterner,R.W. (1996) Elemental ratios and growth dynamics of bacteria in an oligotrophic Canadian shield lake. *Aqua. Microb. Ecol.*, **11**, 119–125.
- Church,R.G. and Robertson,F.W. (1966) A biochemical study of the growth of *Drosophila melanogaster*. *J. Exper. Zool.*, **162**, 337–352.

- Clarke, A. (1976) Some observations on krill (*euphasia superba* dana) maintained alive in the laboratory. *Br. Antarct. Surv. Bull.*, **43**, 111–118.
- Clemmesen, C. (1994) The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. *Mar. Biol.*, **118**, 377–382.
- Cohen, J.B. (1985) *Revolution in Science*. Belknap Press, Cambridge.
- Cole, J.J., Likens, G.E. and Strayer, D.L. (1982) Photosynthetically produced dissolved organic carbon: an important carbon source for planktonic bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 1080–1090.
- Cole, J.J., Findlay, S. and Pace, M. (1988) Bacterial production in fresh and salt-water ecosystems: A cross-system overview. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **43**, 1–10.
- Cole, T.A., Fok, A.K., Ueno, M.S. and Allen, R.D. (1990) Use of Nile red as a rapid measure of lipid content in ciliates. *Eur. J. Protistol.*, **25**, 361–368.
- Copin-Montegut, C. and Copin-Montegut, G. (1983) Stoichiometry of carbon, nitrogen and phosphorus in marine particulate matter. *Deep Sea Res.*, **30**, 31–46.
- Corner, E.D.S. and Davis, A.G. (1971) Plankton as a factor in the nitrogen and phosphorus cycles in the sea. *Adv. Mar. Biol.*, **9**, 101–204.
- Corner, E.D.S., Head, R.N. and Kilvington, C.C. (1972) On the nutrition and metabolism of zooplankton VIII. The grazing of *Biddulphia* cells by *Calanus helgolandicus*. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **52**, 847–861.
- Cotner, J.B. and Wetzel, R.G. (1992) Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 232–243.
- Cottingham, K.L., Knight, S.E., Carpenter, S.R., Cole, J.J., Pace, M.L. and Wagner, A.E. (1997) Response of phytoplankton and bacteria to nutrients and zooplankton: A mesocosm experiment. *J. Plankton Res.*, **19**, 995–1010.
- Coveney, M.F. and Wetzel, R.G. (1992) Effects of nutrients on specific growth rate of bacterioplankton in oligotrophic lake water cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 150–156.
- Coveney, M.F. and Wetzel, R.G. (1995) Biomass, production, and specific growth rate of bacterioplankton and coupling to phytoplankton in an oligotrophic lake. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1187–1200.
- Cruz-Pizarro, L. (1981) Biomasa y producción de *Mixodiaptomus laciniatus* (Copepoda, calanoida) en el lago de La Caldera (Sierra Nevada, Granada). *Act. I Congr. Esp. Limnol.*, pp. 115–124.

- Cruz-Pizarro, L. (1981) Estudio de la comunidad zooplanctónica de un lago de alta montaña (La Caldera, Sierra Nevada, Granada). PhD. University of Granada, pp. 186.
- Cruz-pizarro, L. (1983) Reproductive activity of *Mixodiatomus laciniatus* (copepoda, calanoida) in a high mountain lake (La Caldera Granada, Spain). *Hydrobiologia*, **107**, 97–105.
- Cruz-Pizarro, L. and Carrillo, P. (1991) Top-down regulation under different species-specific and size structure grazer assemblages in an oligotrophic lake. In Giussani, G. Van Liere, L. and Moss, B. (eds.), *Ecosystem research in freshwater environment recovery. Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **48**, 23–27.
- Cruz-Pizarro, L., Reche, I. and Carrillo, P. (1994) Plankton dynamics in a high-mountain lake (Las-Yeguas, Sierra-Nevada, Spain) - indirect evidence of ciliates as food source of zooplankton. *Hydrobiologia*, **274**, 29–35.
- Currie, D.J. (1990) Large-scale variability and interactions among phytoplankton, bacterioplankton, and phosphorus. *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 1437–1455.
- Currie, D.J. and Kalff, J. (1984) A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 298–318.
- Currie, D.J., Bentzen, E. and Kalff, J. (1986) Does algal-bacterial phosphorus partitioning vary among lakes? A comparative study of orthophosphate uptake and alkaline phosphatase activity in freshwater. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43**, 311–318.
- Dagg, M.J. and Littlepage, J.L. (1972) Relationships between growth rate and RNA, DNA, protein, and dry weight in *Artemia salina* and *Euchaeta elongata*. *Mar. Biol.*, **17**, 162–170.
- Dahms, H.U. (1995) Dormancy in the copepoda – and overview. *Hydrobiologia*, **306**, 199–211.
- Dale, D. (1988) Plant-mediated effects of soil mineral stresses on insects. In Heinrichs, E.A. (ed.), *Plant stress-insect interactions*. Wiley, pp. 35–110.
- DeAngelis, D.L. (1989) Effects of nutrient recycling and food-chain length on resilience. *Nature*, **134**, 778–805.
- DeAngelis, D.L. (1992) Dynamics of nutrient cycling and food webs. Chapman and Hall, New York.
- DeBiase, A.E., Sanders, R.W. and Porter, K.G. (1990) Relative nutritional value of ciliate protozoa and algae as food for *Daphnia*. *Microb. Ecol.*, **19**, 199–210.
- Del Giorgio, P.A. and Scarborough, G. (1995) Increase in the proportion of metabolically active bacteria along gradients of enrichment in freshwater and marine plankton:



- Implications for estimates of bacterial growth and production rates. *J. Plankton Res.*, **17**, 1905–1924.
- DeMott, W.R. (1990) Retention efficiency, perceptual bias, and active choice as mechanisms for food selection by suspension-feeding zooplankton. In Hughes, R.N. (ed.), *Behavioral Mechanisms of Food Selection*. Springer-Verlag, New York, pp. 569–594.
- Denoyelles, F. and O'Brien, W. (1978) Phytoplankton succession in nutrient enriched experimental ponds as related to changing carbon, nitrogen and phosphorus conditions. *Arch. Hydrobiol.*, **84**, 137–165.
- Downing, J.A. (1991) Comparing apples with oranges: Methods of ecosystem comparison. In Cole, J.J. et al. (ed.), *Comparative analyses of ecosystems: patterns, mechanisms, and theories*. Springer.
- Downing, J.A. and McCauley, E. (1992) The nitrogen : phosphorus relationship in lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 936–945.
- Droop, M.R. (1974) The nutrient status of algal cells in continuous culture. *J. Mar. Biol. Assoc. Uk.*, **54**, 825–855.
- Duncan, A. (1985) Carbon weight on length regressions of *Daphnia* spp. grown at threshold food concentrations. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **22**, 3109–3115.
- Duncan, A. (1989) Food limitation and body size in the life cycles of planktonic rotifers and cladocerans. *Hydrobiologia*, **186/187**, 11–28.
- Echevarría, F., Carrillo, P., Jimenez, F., Sánchez-Castillo, P., Cruz-Pizarro, L. and Rodríguez, J. (1990) The size-abundance distribution and taxonomic composition of plankton in an oligotrophic, high mountain lake (La Caldera, Sierra Nevada, Spain). *J. Plankton Res.*, **12**, 415–422.
- Elser, J.J., Elser, M.M., Mackay, N.A. and Carpenter, S.A. (1988) Zooplankton – mediated transitions between N and P limited algal growth. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 1–14.
- Elser, J.J., Marzolf, E.R. and Goldman, C.R. (1990) Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton in freshwaters of North America: A review and critique of experimental enrichments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **47**, 1468–1477.
- Elser, J.J. and Goldman, C.R. (1991) Zooplankton effects on phytoplankton in lakes of contrasting trophic status. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 64–90.
- Elser, J.J. and George, N.B. (1993) The stoichiometry of N and P in the pelagic zone of Castle lake, California. *J. Plankton res.*, **15**, 977–992.
- Elser, J.J. and Hassett, R.P. (1994) A stoichiometric analysis of the zooplankton-phytoplankton interaction in marine and freshwater ecosystems. *Nature*, **370**,

- Elser, J.J., Lubnow, F.S., Marzolf, E.R., Brett, M.T., Dion, G. and Goldman, C.R. (1995a) Factors associated with interannual and intraannual variation in nutrient limitation of phytoplankton growth in Castle Lake, California. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **52**, 93–104.
- Elser, J.J., Chrzanowski, T.H., Sterner, R.W., Schampel, D.K. and Foster, D.K. (1995b) Elemental ratios and the uptake and release of nutrients by phytoplankton and bacteria in three lakes of Canadian Shield. *Microb. Ecol.*, **29**, 145–162.
- Elser, J.J. and Frees, D.L. (1995c) Microconsumer grazing and sources of limiting nutrients for phytoplankton growth: Application and complications of a nutrient-deletion/dilution-gradient technique. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1–16.
- Elser, J.J., Dobberfuhl, D.R., Mackay, N.A. and Schampel, J.H. (1996) Organism size, life history and N:P stoichiometry. *Bioscience*, **46**, 674–684.
- Elton, C.S. (1927) *Animal Ecology*. Macmillan, New York.
- Fagerbakke, K.M., Heldal, M. and Norland, S. (1996) Content of carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and phosphorus in native aquatic and cultured bacteria. *Aquat. Microb. Ecol.*, **10**, 15–27.
- Faust, M.A. and Correll, D.L. (1976) Comparison of bacterial and algal utilization of orthophosphate in an estuarine environment. *Mar. Biol.*, **34**, 151–162.
- Fenchel, T. (1968) The ecology of marine microbenthos. III. The reproductive potential of ciliates. *Ophelia*, **5**, 123–136.
- Fiksen, O. and Carlotti, F. (1998) A model of optimal life-history and diel vertical migration in *calanus finmarchicus*. *Sarsia*, **83**, 129–147.
- Findlay, D. (1978) Seasonal succession of phytoplankton in seven lake basins in the experimental lakes area, Northwestern Ontario, following artificial eutrophication. Data from 1974 to 1976. In *Fishery and Marine Service Report* no. 1466.
- Fowler, S.D. and Greenspan, P. (1985) Application of Nile red, a fluorescent hydrophobic probe, for the detection of neutral lipid deposits in tissue sections: comparison with oil red O. *J. Histochem. Cytochem.*, **33**, 833–836.
- Frank, P.W. (1952) A laboratory study of intraspecies and interspecies competition in *Daphnia pulex* (Forbes) and *Simocephalus vetulus* C. F. Müller. *Physiol. Zool.*, **25**, 178–204.
- Frausto da Silva, J.J.R. and Williams, R.J.P. (1991) *The biological chemistry of elements*. Oxford (UK): Clarendon Press.
- Freeman, J.A. (1990) Molt increment, molt cycle duration, and tissue growth in *palaemonetes pugio* holthuis larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **143**, 47–61.

- Freeman, J.A. (1993) The crustacean epidermis during larval development, p. 194-215. In Horst, M.N. and Freeman, J.A. (eds.), *Crustacean integument: morphology and biochemistry*. Crc press, Inc, pp. 194-215.
- Fuhs, G.W., Demerle, S.D., Canelli, E. and Chen, M. (1972) Characterization of phosphorus-limited algae. *Am. Soc. Limnol. Oceanogr. Spec. Symp.*, **1**, 113-132.
- Fuhrman, J.A. and Azam, F. (1980) Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 1085-1095.
- Fuhrman, J.A. and Noble, R.T. (1995) Viruses and protist cause similar bacterial mortality in coastal seawater. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1236-1242.
- Fukushima, T., Amano, K. and Muraoka, K. (1991) Factors explaining sediment concentrations of 16 elements in 28 Japanese lakes. *Water Sci. Technol.*, **23**, 465-474.
- Gächter, R. and Bloesch, J. (1985) Seasonal and vertical variation in the C:P ratio of suspended and settling seston of lakes. *Hydrobiologia.*, **128**, 193-200.
- Geller, W. (1975) Die Nahrungsaufnahme von *Daphnia pulex* in Abhängigkeit von der Futterkonzentration, der Tempertatur, der Körpergrösse und dem Hungerzustand der Tiere. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **48**, 47-107.
- George, N.B. (1994) Nutrient stoichiometry of piscivore-planktivore interactions in two whole-lake experiments. (M.S. thesis). University of Texas, Arlington, TX.
- Gifford, D.J. (1991) The protozoan-metazoan trophic link in pelagic ecosystems. *J. Protozool.*, **38**, 81-86.
- Gismervik, I. (1997) Stoichiometry of some marine planktonic crustaceans. *J. Plankton Res.*, **19**, 279-285.
- Gliwicz, Z.M. (1975) Effect of zooplankton grazing on photosynthetic activity and composition of phytoplankton. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **19**, 1490-1497.
- Gliwicz, Z.M. (1985) Predation of food limitation: an ultimate reason for extinction of planktonic cladoceran species. *Arch. Hydrobiol.*, **21**, 419-430.
- Goldman, C.R. (1981) Lake Tahoe: two decades of change in nitrogen deficient oligotrophic lake. *Proc. Intern. Soc. Theor. Appl. Limnol.*, **21**, 45-70.
- Goldman, C.R., Jasby, A. and Powell, T. (1989) Interannual fluctuations in primary production: Meteorological forcing at two subalpine lakes. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 310-323.
- Goldman, C.R., Jasby, A. and Hackley, S.H. (1993) Decadal, interannual, and seasonal variability in enrichment bioassays at Lake Tahoe, California-Nevada, USA. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **50**, 1489-1496.

- Goldman, J.C., McCauley, R.M. and Peavy, D.G. (1979) Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, **279**, 210–215.
- Goldman, J.C. (1980) Physiological processes, nutrient availability, and the concept of relative growth rate in marine phytoplankton ecology. In Falkowski, P.G. (ed.), *Primary productivity in the sea*. Plenum Press, New York and London.
- Goldman, J., Caron, D.A. and Dennett, M.R. (1987a) Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C:N ratio. *Limnol. Oceanogr.*, **32**, 1239–1252.
- Goldman, J.C., Caron, D.A. and Dennett, M.R. (1987b) Nutrient recycling in a microflagellate food chain: IV. Phytoplankton-microflagellate interactions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **38**, 75–87.
- González, J.M., Sherr, E.B. and Barry, B.F. (1990) Size-selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 583–589.
- González, J.M. (1996) Efficient size-selective bacterivory by phagotrophic nanoflagellates in aquatic ecosystems. *Mar. Biol.*, **126**, 785–789.
- Gorsky, G., Dallot, S., Sardou, J., Fenaux, R., Carre, C. and Palazzoli, I. (1988) C and N composition of some northwestern Mediterranean zooplankton and micronekton species. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **124**, 133–144.
- Goulden, C.E., Horning, L. and Wilson, C. (1978) Why do large zooplankton species dominate? *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **20**, 2457–2460.
- Goulden, C.E., Henry, L.L. and Tessier, A.J. (1982) Body size, energy reserves, and competitive ability in three species of Cladocerans. *Ecology*, **63**, 1780–1789.
- Greenspan, P. and Fowler, S.D. (1985) Spectrofluorimetric studies of the lipid probe, Nile red. *J. Lipid Res.*, **26**, 781–789.
- Güde, H. (1988) Direct and indirect influences of crustacean zooplankton on bacterioplankton of Lake Constance. *Hydrobiologia*, **159**, 63–73.
- Guerzoni, S., Molinaroli, E. and Chester, R. (1997) Saharan dust inputs to the Western Mediterranean Sea – depositional patterns, geochemistry and sedimentological implications. *Deep-Sea Research Part II – Topical Studies in Oceanography*, **44**, 631–654.
- Guiou, C. and Thomas, A.J. (1996) Saharan aerosols: From the soil to the ocean. In S. Guerzoni and R. Chester (eds.), *The impact of desert dust across the Mediterranean*. Kluwer. pp. 207–216.
- Gulati, R.D., Lammens, E.H.R.R., Meijer, M.L. and Van Donk, E. (1990) Biomanipulation tool for water management. Kluwer, Dordrecht.

- Gulati, R.D., Siewertsen, K. and Van Liere, L. (1991) Carbon and phosphorus relationships of zooplankton and its seston food in Loosdrecht Lakes. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, **48**, 279–298.
- Gulati, R.D. and Demott, W.R. (1997) The role of food quality for zooplankton- Remarks on the state of the art, perspectives and priorities. *Freshw. Biol.*, **38**, 753–768.
- Gurevitch, J. and Chester, S.T.J. (1986) Analysis of repeated experiments. *Ecology*, **67**, 251–254.
- Hagen, J.B. (1992) *An entangled bank: The origins of ecosystem ecology*. Rutgers University Press, New Brunswick, NJ.
- Hairton, N.G., Smith, F.E. and Slobodkin, L.B. (1960) Community structure, population control and competition. *Am. Nat.*, **94**, 421–425.
- Håkanson, J.L. (1984) The long and short term feeding condition in field-caught *Calanus pacificus*, as determined from the lipid content. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 794–804.
- Hansen, A.M. and Santer, B. (1995) The influence of food resources on the development, survival and reproduction of the two cyclopoid copepods: *Cyclops vivinus* and *Mesocyclops leuckarti*. *J. Plankton Res.*, **18**, 467–646.
- Harris, E. and Riley, G.A. (1956) Oceanography of long island sound, 1952-1954. VIII. Chemical composition of the plankton. *Bull. Bingham. Oceanogr. Coll.*, **15**, 315–323.
- Harris, G.P. (1986) *Phytoplankton ecology: Structure, function and fluctuations*. Chapman and Hall.
- Harris, G.P. (1994) Pattern, process and prediction in aquatic ecology. A limnological view of some ecological problems. *Freshw. Biol.*, **32**, 143–160.
- Hassett, R.P., Cardinale, B., Stabler, L.B. and Elser, J.J. (1997) Ecological stoichiometry of N and P in pelagic ecosystems: Comparison of lakes and oceans with emphasis on the zooplankton-phytoplankton interaction. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 648–662.
- Healey, F.P. and Hendzel, L.L. (1980) Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **37**, 442–453.
- Hecky, R.E. and Kilham, P. (1988) Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 796–822.
- Hecky, R.E., Campbell, P. and Hendzel, L.L. (1993) The stoichiometry of carbon, nitrogen, and phosphorus in particulate matter of lakes and oceans. *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 709–724.

- Hentschel, B.T. (1998) Spectrofluorometric quantification of neutral and polar lipids suggest a food-related recruitment bottleneck for juveniles of a deposit-feeding polychaete population. *Limnol. Oceanogr.*, **43**, 543–549.
- Herut, B., Zohary, T., Roberts, R., Kress, N. and Krom, M. (1999) Does Saharan dust play an important role in controlling the cycling of phosphorus in the P-limited eastern Mediterranean?. *Mar. Chem.* In press.
- Hessen, D.O. (1990) Carbon, nitrogen and phosphorus status of *Daphnia magna* at varying food conditions. *J. Plankton Res.*, **12**, 1239–1249.
- Hessen, D.O. (1992) Nutrient element limitation of zooplankton production. *Am. Nat.*, **140**, 799–814.
- Hessen, D.O. and Lyche, A. (1991) Inter- and intraspecific variations in zooplankton elemental composition. *Arch. Hydrobiol.*, **121**, 343–353.
- Hessen, D.O. and Andersen, T. (1992) The algae-grazer interface: feedback mechanisms linked to elemental ratios and nutrient cycling. *Arch. Hydrobiol.*, **35**, 111–120.
- Hessen, D.O., Andersen, T. and Faafeng, B. (1992) Zooplankton contribution to particulate phosphorus and nitrogen in lakes. *J. Plankton Res.*, **14**, 937–947.
- Hessen, D.O. (1997) Stoichiometry in food webs – Lotka revisited. *Oikos*, **79**, 195–200.
- Hessen, D.O. and Bjerkeng, B. (1998) A model approach to planktonic stoichiometry and consumer-resource stability. *Freshw. Biol.*, **38**, 447–471.
- Hirst, A.G. and Shearer, M. (1997) Are *in situ* weight-specific growth rates body-size independent in marine planktonic copepods? A re-analysis of the global syntheses and a new empirical model. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **154**, 155–165.
- Hoar, W.S. (1975) Growth and development. General and comparative physiology. In McElroy, W.D. and Swanson, C.P. (eds.), *General and comparative physiology*. Prentice-Hall Inc, New Jersey, pp. 750–773.
- Holland, D.L. and Walker, G. (1975) The biochemical composition of cypris larva of the barnacle *Balanus balanoides* L. *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, **36**, 162–165.
- Huston, M.A., DeAngelis, D.L. and Post, W. (1988) New computer models unify ecological theory. *Bioscience*, **22**, 415–427.
- Hutchinson, G.E. (1964) The lacustrine microcosm reconsidered. *Am. Sci.*, **52**, 334–41.
- Hutchinson, G.E. (1967) A treatise of limnology. In *Introduction to lake biology and the limnoplankton*. Vol. II. – Wiley, New York.
- Istvánovics, V., Petterson, K. and Pierson, D. (1990) Partitioning of phosphate uptake between different size groups of planktonic microorganisms in lake Erken. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **24**, 231–235.



- Jeffrey, S.W. and Humphrey, G.F. (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*1 and *c*2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, **167**, 191–194.
- John, D., Wehr, J.L. and Campbell, L. (1994) Uncoupling of bacterioplankton and phytoplankton production in fresh waters is affected by inorganic nutrient limitation. *Appl. Environ. Microb.*, **60**, 2086–2093.
- Jones, J.C. (1979) A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in freshwater. *FBA Scientific Publication* N° 39.
- Jürgens, K., Arndt, H. and Rothhaupt, K.O. (1994) Zooplankton-mediated changes of bacterial community structure. *Microb. Ecol.*, **27**, 27–42.
- Jürgens, K. and Güde, H. (1990) Incorporation and release of phosphorus by planktonic bacteria and phagotrophic flagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **59**, 271–284.
- Jürgens, K. and Güde, H. (1994) The potential importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **112**, 169–188.
- Kilman, P. and Tilman, D.G. (1975) Some biological effects of atmospheric inputs to lakes: nutrient ratios and competitive interactions between phytoplankton. *Internat. Assoc. Great Lakes Res.*, **1**, 187–191.
- Kilham, S.S. and Kilham, P. (1984) The importance of resource supply rates in determining phytoplankton community structure. In: Meyers, D. G. and Strickler, J. R. (eds.), *Trophic interactions within aquatic systems*. AAAS Spec. Symp. 85, Washington, pp. 7–27.
- Kilham, S.S. (1990) Relationship of phytoplankton and nutrients to stoichiometric measures. In: Tilzer, M.M. and Serruya, C. (eds.), *Large lakes: Ecological structure and function*. Springer, pp. 403–414.
- Kjørboe, T. (1989) Phytoplankton growth rate and nitrogen content: Implications for feeding and fecundity in a herbivorous copepod. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **55**, 229–234.
- Korstad, J. (1983) Nutrient regeneration by zooplankton in Southern Lake Huron. *J. Great Lakes Res.*, **9**, 374–388.
- Kreeger, D.A., Goulden, C.E., Kilham, S.S., Lynn, S.G., Datta, S. and Interlandi, S.J. (1998) Seasonal changes in the biochemistry of Lake seston. *Freshw. Biol.*, **38**, 539–554.
- Kristiansen, K., Nielsen, H., Riemann, B. and Fuhrman, J.A. (1992) Measurements of growth efficiency of freshwater bacterioplankton. *Microb. Ecol.*, **24**, 145–161.
- Kroer, N. (1994) Relationships between biovolume and nitrogen content of bacterioplankton. *Microb. Ecol.*, **13**, 217–224.

- Lampert,W. and Schober,U. (1980) The importance of "threshold" food concentrations. In Kerfoot,W.C. (ed.), *Evolution and Ecology of Zooplankton Communities*. University Press of New England, Hanover, N.H., pp. 264–267.
- Lampert,W. and Muck,P (1985) Multiple aspects of food limitation in zooplankton communities: the *Daphnia-Diaptomus* example. *Arch. Hydrobiol.*, **21**, 311–322.
- Lampert,W., Fleckner,W., Rai,H. and Taylor,B.E. (1986) Phytoplankton control by grazing zooplankton: A study on the spring clear-water phase. *Limnol. Oceanogr.*, **31**, 478–490.
- Larow,E.J., Wilkinson,J.W. and Kumar,K.D. (1975) The effect of food concentration and temperature on respiration and excretion in herbivorous zooplankton. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **19**, 966–973.
- Lawrence,J.M. (1976) Patterns of lipid storage in post-metamorphic marine invertebrates. *Am. Zool.*, **16**, 747–762.
- Le Borgne,R. (1982) Zooplankton production in the eastern tropical Atlantic Ocean: net growth efficiency and P:B in terms of carbon, nitrogen and phosphorus. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 681–698.
- Lean,D.R.S. and White,E. (1983) Chemical and radiotracer measurements of phosphorus uptake by lake plankton. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **40**, 147–155.
- Le,J., Wehr,J.D. and Campbell,L. (1994) Uncoupling of bacterioplankton and phytoplankton production in fresh waters is affected by inorganic nutrient limitation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 2086–2093.
- Lee,S. and Fuhrman,J.A. (1987) Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 1298–1303.
- Lehman,J.T. (1980) Release and cycling of nutrients between planktonic algae and herbivores. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 620–632.
- Lehman,J.T. and Scavia,D. (1982) Microscale patchiness of nutrients in plankton communities. *Science*, **216**, 729–730.
- Lehman,J.T. and Naumoski,T. (1985) Content and turnover rates of phosphorus in *Daphnia pulex*: effect of food quality. *Hydrobiologia*, **128**, 119–125.
- Lignell,R. (1990) Algal exudation and its relation to bacterial production during vernal phytoplankton blooms. *Arch. Hydrobiol.*, **34**, 53–59.
- Likens,G.E. (1992) *The ecosystem approach: Its use and abuse*. Ecology Institute, Oldendorf/Lube, Germany.
- Lindeman,R.L. (1942) The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology*, **23**, 399–418.



- Lonsdale, D.J., Hassett, R.P., Dobbs, F.C. and Yen, J. (1997) Physiological traits associated with a reproductive-resting stage in *Coullana canadensis* (copepoda, harpacticoida). *Mar. Biol.*, **131**, 123–131.
- Lotka, A.J. (1925) Elements of physical biology. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Löye-Pilot, M.D., Martin, J.M. and Morelli, J. (1986) Influence of Saharan dust on the rain acidity and atmospheric input to the Mediterranean. *Nature*, **321**, 427–428.
- MacArthur, R.H. (1972) Geographical ecology. Harper and Row, New York, USA.
- MacKay, N.A. and Elser, J.J. (1998) Factors potentially preventing trophic cascades: Food quality, invertebrate predation, and their predation. *Limnol. Oceanogr.*, **43**, 339–347.
- McDowell, L.R. (1992) Minerals in animal and human nutrition. Academic Press, San Diego, CA.
- Main, T.M., Dobberfuhl, D.R. and Elser, J.J. (1997) N:P stoichiometry and ontogeny of crustacean zooplankton: A test of the growth rate hypothesis. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 1474–1478.
- Manca, M., Comoli, P. and Spagnuolo, T. (1997) Length-specific carbon content of the *Daphnia* population in a large subalpine lake, Lago-Maggiore (northern Italy)-The importance of seasonality. *Aquat. Sci.*, **59**, 48–56.
- Månsson, B.Å. and McGlade, J.M. (1993) Ecology, thermodynamics, and H.T. Odum's conjectures. *Oecologia*, **93**, 582–596.
- Martínez, R. (1977) Phytoplankton species, biomass, and diversity in lake La Caldera (S. Nevada). *Acta hidrobiol.*, **19**: 95–107.
- Matthews, J.A. (1979) A study of the variability of some successional and climax plant assemblage-types using multiple discriminant analysis. *J. Ecol.*, **67**, 255–271.
- Mattson, W.J. (1980) Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **11**, 119–161.
- Mattson, W.J. and Scriber, J.N. (1987) Nutritional ecology of insect folivores of wood plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. In Slansky, F. and Rodriguez, J.G. (eds.), *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates*. Wiley, New York.
- McIntosh, R.P. (1985) The background of ecology: concept and theory. Cambridge (UK), Cambridge University Press.
- McKee, M. and Knowles, C.O. (1987) Levels of protein RNA, DNA, glycogen and lipids during growth and development of *Daphnia magna* straus (crustacea: cladocera). *Freshw. Biol.*, **18**, 341–351.

- McKinnon,A.D. (1996) Growth and development in the subtropical copepod *Acrocalanus gibber*. *Limnol. Oceanogr.*, **41**, 1438–1447.
- McNaughton,S.J. (1988) Mineral nutrition and spatial concentrations in African ungulates. *Nature*, **334**, 343–345.
- McQueen,D.J. and Post,J.R. (1988) Cascading trophic interactions: Uncoupling at the zooplankton–phytoplankton link. *Hydrobiologia*, **159**, 277–296.
- Middelboe,M., Jørgensen,N.O.G. and Kroer,N. (1996) Effects of viruses on nutrient turnover and growth efficiency of noninfected marine bacterioplankton. *Appl. Environ. Microb.*, **62**, 1991–1997.
- Migon,C. and Sandroni,V. (1999) Phosphorus in rainwater: Partitioning inputs and impact on the surface coastal ocean. *Limnol. Oceanogr.*, **44**, 1160–1165.
- Moal,J., Martin-Jezequel,V., Harris,R.P., Samain,J.F. and Poulet,S.A. (1987) Interspecific and intraspecific variability of the chemical composition of marine phytoplankton. *Oceanol. Acta*, **10**, 339–346.
- Montages,D.J.S. and Lynn,D.H. (1987) A quantitative protargol staining (QPS) for ciliates: Method description and test of its quantitative nature. *Mar. Microb. Food Webs*, **2**, 83–93.
- Morris,D.P. and Lewis,W.M. (1988) Nutrient limitation of bacterioplankton growth in lake Dillon, Colorado. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 1179–1192.
- Morris,D.P. and Lewis,W.M. (1988). Phytoplankton nutrient limitation in colorado mountain lakes. *Freshw. Biol.*, **20**, 315–327.
- Moss,B. (1973) The influence of environmental factors on the distribution of freshwater algae: An experimental study, II. The role of pH and the carbon dioxide-bicarbonate system. *J. Ecol.*, **61**, 157–177.
- Moulin,C., Guillard,F., Dulac,F. and Lambert,C.E. (1997a) Long-term daily monitoring of Saharan dust load over ocean using Meteosat Isccp-B2 data. 1. Methodology and preliminary results for 1983-1994 in the Mediterranean. *J. Geophys. Res. Atmos.*, **102**, 16947–16958.
- Moulin,C., Lambert,C.E., Dulac,F. and Dayan,U. (1997b) Control of atmospheric export of dust from North-Africa by the North-Atlantic oscillation. *Nature*, **387**, 691–694.
- Mrosovsky,N. (1990) Rheostasis – The physiology of change. Oxford university press, New York.
- Müller-Navarra,D. (1995a) Evidence that a highly unsaturated fatty acid limits *Daphnia* growth in nature. *Arch. Hydrobiol.*, **132**, 297–307.

- Müller-Navarra, D. (1995b) Biochemical versus mineral limitation in *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 1209–1214.
- Mullin, M.M. and Brooks, E.R. (1970) Growth and metabolism of two planktonic, marine copepods as influenced by temperature and type of food. In Steele, J.H. (ed.), *Marine food chains*. University of California Press, Berkeley, pp. 74–95.
- Murphy, J. and Riley, J.P. (1962) A modified single solution methods for the determination of phosphate in natural waters. *Annal. Chim. Acta.*, **27**, 31–36.
- Nagata, T. (1986) Carbon and nitrogen content of natural planktonic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 28–32.
- Naiman, R.J. (1988) Animal influences on ecosystem dynamics. *Bioscience*, **38**, 750–752.
- Nakanishi, M., Mitamura, O. and Matsubara, T. (1990) Sestonic C:N:P ratios in the south basin of Lake Biwa with special attention to nutritional state of phytoplankton. *Jap. J. Limnol.*, **51**, 185–189.
- Nakano, S. (1994) Carbon-nitrogen-phosphorus ratios and nutrient regeneration of a heterotrophic flagellate fed on bacteria with different elemental ratios. *Arch. Hydrobiol.*, **129**, 257–271.
- Neill, W.E. (1988) Complex interactions in oligotrophic lake food webs: responses to nutrient enrichment. In Carpenter, S.R. (ed.), *Complex interactions in lake communities*. Springer-Verlag, New York.
- Nicol, S., Stolp, M. and Nordstrom, O. (1992) Change in the gross biochemistry and mineral content accompanying the moult cycle in the antarctic krill *Euphasia superba*. *Mar. Biol.*, **113**, 201–209.
- Nixon, S.W. (1988) Physical energy inputs and the comparative ecology of lake and marine ecosystems. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 1005–1025.
- Norland, S. (1993) The relationship between biomass and volume of bacteria. In Kemp, P., Sherr, B., Sherr, E. and Cole, J. (eds.), *Handbook of methods in aquatic microbiology*, Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 303–308.
- Norland, S., Faggebakke, K.M. and Haldal, M. (1995) Light element analysis of individual bacteria using X-ray microanalysis. *Appl. Environ. Microb.*, **61**, 1357–1362.
- Nygaard, K. and Tobiesen, A. (1993) Bacterivory in algae - A survival strategy during nutrient limitation. *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 273–279.
- Ochs, C.A., Cole, J.J. and Likens, G.E. (1995) Population-dynamics of bacterioplankton in an oligotrophic lake. *J. Plankton Res.*, **17**, 365–391.
- Odum, H.T. (1957) Primary productions measurements in eleven Florida springs and a marine turtle grass community. *Limnol. Oceanogr.*, **2**, 85–97.

- Odum, E.P. (1971) *Fundamentals of Ecology*, 3<sup>rd</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania.
- Olsen, Y., Varum, K.M. and Jensen, A. (1986) Dependence on the rate of release of phosphorus by zooplankton on the P:C ratio in the food supply, as calculated by the recycling model. *Limnol. Oceanogr.*, **31**, 34–44.
- Olson, J.S. (1958) Rates of succession and soil changes on southern Lake Michigan sand dunes. *Bot. Gaz.*, **119**, 125–170.
- Omori, M. (1969) Weight and chemical composition of some important oceanic zooplankton in the north pacific ocean. *Mar. Biol.*, **3**, 4–10.
- O'Neill, R.D., DeAngelis, D., Pastor, J., Jackson, B. and Post, W. (1989) Multiple nutrient limitations in ecological models. *Ecol. Model.*, **46**, 147–163.
- Pace, M.L. and Cole, J.J. (1994a) Comparative and experimental approaches to top-down and bottom-up regulation of bacteria. *Microb. Ecol.*, **28**, 181–193.
- Pace, M.L. and Cole, J.J. (1994b) Primary and bacterial production in lakes: Are they coupled over depth? *J. Plankton Res.*, **16**, 661–672.
- Panfferhöfer, G.A. and Knowles, S.C. (1979) Ecological implications of fecal pellet size, production and consumption by copepods. *J. Mar. Res.*, **37**, 35–49.
- Parslow, J.S., Harrison, P.J. and Thompson, P.A. (1984) Saturated uptake kinetics: Transient response of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* to ammonium, nitrate, silicate and phosphate starvation. *Mar. Biol.*, **83**, 51–59.
- Parsons, T.R., Stephens, K. and Strickland, J.D.H. (1961) On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankton. *J. Fish Res. Board Can.*, **18**, 1001–1016.
- Pastor, J., Aber, J.D., McClaugherty, C.A. and Melillo, J.M. (1984) Aboveground production and N and P dynamics along a nitrogen mineralization gradient on Blackhawk Island, Wisconsin. *Ecology*, **65**, 256–268.
- Peduzzi, P. and Herndl, G.J. (1992) Zooplankton activity fueling the microbial loop - differential growth-response of bacteria from oligotrophic and eutrophic waters. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 1087–1092.
- Pernthaler, J., Sattler, B., Simek, K., Schwarzenbacher, A. and Psenner, R. (1996) Top-down effects on the size-biomass distribution of a fresh-water bacterioplankton community. *Aquat. Microb. Ecol.*, **10**, 255–263.
- Perry, K.D., Cahill, T.A., Eldred, R.A., Dutcher, D.D. and Gill, T.E. (1997) Long range transport of North-African dust to the Eastern of United States. *J. Geophys. Res. Atmos.*, **102**, 11225–11238.
- Peters, R.H. (1983) *The ecological implications of body size*. Cambridge (UK): Cambridge University Press.

- Peters,R.H. (1986) The role of prediction in limnology. *Limnol. Oceanogr.*, **31**, 1143–1159.
- Peters,R.H., Armesto,J.J., Boeken,B., Cole,J.J., Driscoll,C.T., Duarte,C.M., Frost,T.M., Grime,J.P., Kolasa,J., Prepas,E. and Dprules,W.G. (1991) On the relevance of comparative ecology to the larger field of Ecology. In Cole,J.J., Lovett,G. and Findlay,S. (eds.), *Comparative analyses of ecosystems*. Springer-Verlag, New York, pp. 46–63.
- Pettersson,K. (1980) Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus as phosphorus deficiency indicators in Lake Erken. *Arch. Hydrobiol.*, **89**, 54–87.
- Pina,S., Creus,A., González,N., Gironés,R., Felip,M. and Sommaruga,R. (1998). Abundance, morphology, and distribution of planktonic virus-like particles in two high-mountain lakes. *J. Plankton Res.*, **20**, 2413–2421.
- Porter,K.G. (1973) Selective grazing and differential digestion of algae by zooplankton. *Nature*, **244**, 179–180.
- Porter,K.G., Pace,M.L. and Battey,J.F. (1979) Ciliate protozoans as links in freshwater planktonic food chains. *Nature*, **277**, 563–565.
- Porter,K.G. and Feig,Y.S. (1980) Use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 943–948.
- Porter,K.G. and Orcutt,J.R. (1980) Nutritional adequacy, manageability, and toxicity that determine the food quality of green and blue-green algae for *Daphnia*. *Am. Soc. Limnol. Oceanogr. Spec. Symp.*, **3**, 268–281. New England.
- Porter,K.G., (1988) Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs. *Hydrobiologia*, **159**, 89–97.
- Porter,K.G. (1996) Integrating the microbial loop and the classic food chain into a realistic planktonic food web. In G. A. Polis,G.A. and Winemiller KO (ed.), *Food Webs. Interaction of patterns and dynamics*. Chapman & Hall, New York, pp. 72–80.
- Prange,H.D., Andersen,J.F., Rahn,H. (1979) Scaling of skeletal mass to body mass in birds and mammals. *Am. Nat.*, **113**, 103–122.
- Priscu,J.C., Priscu,L.R., Palmisano,A.C. and Sullivan,C.W. (1990) Estimation of neutral lipid levels in Antarctic sea ice microalgae by Nile red fluorescence. *Antartic Sci.*, **2**, 149–155.
- Psenner,R and Zapf,F. (1990) High mountain lakes in the Alps: peculiarities and biology. In Johannessen.M., Mosello,R. and Barth,H. (eds.), *Acidification processes in remote mountain lakes. Air pollution research report 20*. Commission of the European Communities. Brussels: pp 22–37.

- Reche,I., Sánchez-Castillo,P. and Carrillo,P. (1994) The principal regulating mechanism on the structure of the phytoplankton community in a high-mountain lake. *Arch. Hydrobiol.*, **130**, 163–178.
- Reche,I. (1995) Análisis de las conexiones entre el flujo de carbono y el reciclado de nutrientes en un sistema oligotrófico. PhD Thesis. University of Granada, Spain, pp. 186.
- Reche,I., Pugnetti,A., Cruz-Pizarro,L. and Carrillo,P. (1996) Relationship between bacteria and phytoplankton in a high-mountain lake: Importance of the organic carbon released by pelagic algae for bacterioplankton. *Arch. Hydrobiol.*, **48**, 31–38.
- Reche,I., Carrillo,P. and Cruz-Pizarro,L. (1997) Influence of metazooplankton on interactions of bacteria and phytoplankton in an oligotrophic lake. *J. Plankton Res.*, **19**, 631–646.
- Redfield,A.C. (1958) The biological control of chemical factors in the environment. *Am. Sci.*, **46**, 205–221.
- Redfield,A.C., Ketchum,B.H. and Richards,F.A. (1963) The influence of organisms on the composition of sea-water. In Hill,M.N. (ed.), *The Sea*. Interscience, pp. 26–77.
- Redfield,G.W. (1980) The effect of zooplankton on phytoplankton productivity in the epilimnion of a subalpine lake. *Hydrobiologia*, **70**, 217–224.
- Reiners,W.A. (1986) Complementary models for ecosystems. *Am. Nat.*, **127**, 59–73.
- Renaud,P.E., Hay,M.E. and Schmitt,T.M. (1990) Interactions of plant stress and herbivory: Intraspecific variation in the susceptibility of a palatable versus an unpalatable seaweed to sea urchin grazing. *Oecologia*, **82**, 217–226.
- Reynolds,C.S. (1984) The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, New York, pp. 384.
- Reynolds,C.S. (1989) Physical determinants of phytoplankton succession. In Sommer,U. (ed.), *Plankton ecology. Succession in plankton communities*. Springer-Verlag.
- Reynolds,C.S. (1990) Temporal scales of variability in pelagic environments and the responses of phytoplankton. *Freshwat. Biol.*, **23**, 25–53.
- Reynolds,C.S. (1992) Eutrophication and the management of planktonic algae: what Vollenweider couldn't tell us. In Sutcliffe,D.W. and Jones,J.G. (eds.), *Eutrophication: research and application to water supply*. Freshwater Biological Association, Ambleside, pp 4–29.



- Reynolds, C.S. and Bellinger, E.G. (1992) Patterns of abundance and dominance of the phytoplankton of Rostherne Mere, England - evidence from an 18-year data set. *Aquat. Sci.*, **54**, 10–36.
- Reynolds, C.S. (1994) The ecological basis for the successful biomanipulation of aquatic communities. *Arch. Hydrobiol.*, **130**, 1–35.
- Reynolds, C.S. (1998) What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status. *Hydrobiologia*, **370**, 11–26.
- Rhee, G. (1972) Competition between an alga and an aquatic bacterium for phosphate. *Limnol. Oceanogr.*, **17**, 505–514.
- Rhee, G. (1978) Effects of N:P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake. *Limnol. Oceanogr.*, **23**, 10–25.
- Roberts, R.D., Wicks, R.J. and Sephton, L.M. (1986) Spatial and temporal variations in bacterial macromolecule labelling with (methyl-<sup>3</sup>H) thymidine in a hypertrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 1368–1373.
- Rocha, O. and Duncan, A. (1985) The relationship between cell carbon and cell volume in freshwater algal species used in zooplankton studies. *J. Plankton Res.*, **7**, 279–294.
- Rodier, J. (1981) *Análisis de las aguas*. Omega. Barcelona. 1047 pp.
- Rodriguez, G.G., Phipps, D., Ishiguro, K. and Ridgway, H.F. (1992) Use of a fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria. *Appl. Environ. Microb.*, **58**, 1801–1808.
- Rothhaupt, K.O. (1992) Stimulation of phosphorus-limited phytoplankton by bacterivorous flagellates in laboratory experiments. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 750–759.
- Rott, E. (1984) Phytoplankton as biological parameter for the trophic characterization of lakes. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **22**, 1078–1085.
- Ruttner-Kolisko, A. (1977) Suggestion for biomass calculations of plankton rotifers. *Arch. Hydrobiol.*, **8**, 71–76.
- Salonen, K. and Jokinen, S. (1988) Flagellate grazing on bacteria in a small dystrophic lake. *Hydrobiologia*, **161**, 203–209.
- Sanchez-Castillo, P., Cruz-Pizarro, L. and Carrillo, P. (1989) Caracterización del fitoplancton de las lagunas de alta montaña de Sierra Nevada (Granada, Spain) en relación con las características físico-químicas del medio. *Limnetica*, **5**, 37–50.
- Sarnelle, O. (1993) Herbivore effects on phytoplankton succession in a eutrophic lake. *Ecol. Monogr.*, **63**, 129–149.

- Scavia, D. and Laird, G.A. (1987) Bacterioplankton in Lake Michigan: dynamics, control, and significance to carbon flux. *Limnol. Oceanogr.*, **32**, 1017–1033.
- Schindler, D., Armstrong, F., Holmgren, S. and Brunskill, G. (1971) Eutrophication of lake 227, Experimental Lakes Area, northwestern Ontario, by addition of phosphate and nitrate. *J. Fish Res. Bd. Canada*, **28**, 1763–1782.
- Schindler, D.E. and Eby, L.A. (1997) Stoichiometry of fishes and their prey: implications for nutrient recycling. *Ecology*, **78**, 1816–1831.
- Schlesinger, W.H. (1991) Biogeochemistry: An analysis of global change. Academic Press, San Diego, California.
- Schmid, I., Schmid, P. and Giorgi, J.V. (1988) Conversion of logarithmic channel numbers into relative linear fluorescence intensity. *Cytometry*, **9**, 533–538.
- Schoenly, K. and Cohen, J.E. (1991) Temporal variation in food web structure: 16 empirical cases. *Ecol. Monogr.*, **61**, 267–298.
- Schwikowski, M., Novo, A., Baltensperger, U., Delmas, R., Gaggeler, H.W., Kasper, A., Kuhn, M., Nikus, U., Preunkert, S., Puxbaum, H., Rossi, G.C., Schoner, W. and Wagenbach, D. (1997) Intercomparison of snow sampling and analysis within the alpine-wide snowpack investigation. *Water Air Soil Poll.*, **93**, 67–91.
- Sherr, B.F. and Sherr, E.B. (1984) Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flow in aquatic ecosystems. In Klug, M.J. and Reddy, C.A. (eds.), *Current Perspectives in Microbial Ecology*. American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 412–423.
- Shinn, J.A. (1941) A practical handbook of seawater analysis. *Fish. Res. Bd. Can. Bull.* pp. 167.
- Simon, M. and Azam, F. (1989) Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **51**, 201–213.
- Simon, M., Cho, B.C. and Azam, F. (1992) Significance of bacterial biomass in lakes and the ocean: Comparison to phytoplankton biomass and biogeochemical implications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **86**, 103–110.
- Skibbe, O. (1994) An improved quantitative protargol stain for ciliates and other planktonic protists. *Arch. Hydrobiol.*, **130**, 339–347.
- Slobodkin, L.B. (1985) Breakthrough in ecology. In Hägerstrand, T. (ed.), *The identification of Progress in Learning*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 187–195.
- Smith, S.V. (1991) Nitrogen, phosphorus and nitrogen fixation in lacustrine and estuarine ecosystems. *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 1852–1859.



- Smith, V.H. (1985) Predictive models for the biomass of blue-green algae in lakes. *Water Res. Bull.*, **21**, 433–439.
- Sommaruga, R., Krossbacher, M., Salvenmoser, W., Catalan, J. and Psenner, R. (1995a) Presence of large virus-like particles in a eutrophic reservoir. *Aquat. Microb. Ecol.*, **9**, 305–308.
- Sommaruga, R. and Psenner, R. (1995b) Permanent presence of grazing-resistant bacteria in a hypertrophic lake. *Appl. Environ. Microb.*, **61**, 3457–3459.
- Sommer, U. (1988) Does nutrient competition among phytoplankton occur in situ?. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **23**, 707–712.
- Sommer, U. (1989) Maximal growth rates of Antarctic phytoplankton: Only weak dependence on cell size. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 1109–1112.
- Sommer, U. (1990) The role of competition for resources in phytoplankton succession. In Sommer, U. (ed.), *Plankton ecology: Succession in plankton communities*. Springer, pp. 57–106.
- Sommer, U. (1992) Phosphorus-limited *Daphnia*: Intraspecific facilitation instead of competition. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 966–973.
- Steeemann-Nielsen, E. (1952) The use of radioactive carbon ( $^{14}\text{C}$ ) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Cons. Int. Explor. Mer.*, **18**, 117–140.
- Stegmann, P. and Peinert, R. (1984) Interrelations between herbivorous zooplankton and phytoplankton and their effect on production and sedimentation of organic matter in Kiel Bight. *Limnologica*, **15**, 487–495.
- Stemberger, R.S. and Gilbert, J.J. (1985) Body size, food concentration, and population growth in planktonic rotifers. *Ecology*, **66**, 1151–1159.
- Sterner, R.W. (1990) The ratio of nitrogen to phosphorus resupplied by herbivores: zooplankton and the competitive arena. *Am. Nat.*, **136**, 209–229.
- Sterner, R.W., Elser, J.J. and Hessen, D.O. (1992) Stoichiometric relationships among producers, consumers and nutrient cycling in pelagic ecosystems. *Biogeochemistry*, **17**, 49–67.
- Sterner, R.W. (1993) *Daphnia* growth on varying quality of *Scenedesmus*: Mineral limitation of zooplankton. *Ecology*, **74**, 2350–2360.
- Sterner, R.W., Hagemeyer, D.D., Smith, W.L. and Smith, R.F. (1993) Phytoplankton nutrient limitation and food quality for *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 857–871.
- Sterner, R.W. (1994) Seasonal stoichiometry of species in ecosystems. In Jones, C.G. and Lawton, J.H. (ed.), *Linking species and ecosystems*. New York, Chapman & Hall, pp. 240–262.

- Sterner, R.W. and Hessen, D.O. (1994) Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **25**, 1–29.
- Sterner, R.W. (1995) Elemental stoichiometry of species in ecosystems. In Jones, C. and Lawton, J. (ed.), *Linking Species and Ecosystems*. Chapman and Hall, New York, pp. 240–252.
- Sterner, R.W., Chrzanowski, T.H., Elser, J.J. and George, N.B. (1995a) Sources of nitrogen and phosphorus supporting the growth of bacterioplankton and phytoplankton in an oligotrophic Canadian Shield Lake. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 242–249.
- Sterner, R.W., Elser, J.J., Chrzanowski, T.H., Schampel, J.H. and George, N.B. (1996) Biogeochemistry and trophic ecology: a new food web diagram. In Polis, G.A. and Winemiller, K.O. [eds.], *Food webs. Interaction of patterns and dynamics*. Chapman & Hall, New York, pp. 72–80.
- Sterner, R.W., Elser, J.J., Fee, E.J., Guildford, S.J. and Chrzanowski, T.H. (1997) The light:nutrient ratio in lakes: The balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *Am. Nat.*, **150**, 663–684.
- Sterner, R.W. (1997) Modelling interactions of food quality and quantity in homeostatic consumers. *Freshw. Biol.*, **38**, 473–481.
- Stoecker, D.K. and Capuzzo, J.M. (1990) Predation on protozoa: its importance to zooplankton. *J. Plankton Res.*, **12**, 891–908.
- Suttle, C.A., Stockner, J.G. and Harrison, P.J. (1987) Effects of nutrient pulses on community structure and cell size of a freshwater phytoplankton assemblage in culture. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, **44**, 1768–1774.
- Suttle, C.A. and Harrison, P.J. (1988) Ammonium and phosphate uptake kinetics of size-fractionated plankton from an oligotrophic fresh-water lake. *J. Plankton Res.*, **10**, 133–149.
- Suttle, C.A., Fuhrman, J.A. and Capone, D.G. (1990) Rapid ammonium cycling and concentration-dependent partitioning of ammonium and phosphate: implications for carbon transfer in planktonic communities. *Limnol. Oceanogr.*, **35**, 424–433.
- Taft, J.L., Taylor, W.R. and McCarthy, J.J. (1975) Uptake and release of phosphorus by phytoplankton in the Chesapeake Bay Estuary, USA. *Mar. Biol.*, **33**, 21–32.
- Talbot, R.W., Harris, R.C., Browell, E.V., Gregory, G.L., Sebacher, D.I. and Beck, S.M. (1986) Distribution and geochemistry of aerosol in the tropical North Atlantic troposphere: Relationship to Saharan dust. *J. Geophys. Res. Atmos.*, **91**, 5173–5182.
- Talling, J.F. (1971) The underwater light climate as a controlling factor in the production ecology of freshwater phytoplankton. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **21**, 369–381.

- Takamura, N. and Iwakuma, T. (1991) Nitrogen uptake and C:N:P ratio of epiphytic algae in the littoral zone of Lake Kaisumigaura. *Arch. Hydrobiol.*, **121**, 161–170.
- Taylor, B.E. (1985) Effect of food limitation on growth and reproduction of *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol.*, **21**, 285–296.
- Taylor, W.D. (1984) Phosphorus flux through epilimnetic zooplankton from lake Ontario: relationship with body size and significance to phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **41**, 1702–1712.
- Tezuka, Y. (1985) C:N:P ratios of seston in Lake Biwa as indicators of nutrient deficiency in phytoplankton and decomposition process of hypolimnetic particulate matter. *Jpn. J. Limnol.*, **46**, 2239–2246.
- Tezuka, Y. (1990) Bacterial regeneration of ammonia and phosphate as affected by the carbon:nitrogen:phosphorus ratio of organic substrates. *Microb. Ecol.*, **19**, 227–238.
- Thingstad, T.F., Skjoldal, E.F. and Bohne, R.A. (1993) Phosphorus cycling and algal-bacterial competition in Sandsfjord, Western Norway. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **99**, 239–259.
- Thingstad, T.F. and Rassoulzadegan, F. (1995) Nutrient limitations, microbial food webs, and biological C-pumps - suggested interactions in a P-limited Mediterranean. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **117**, 299–306.
- Thingstad, T.F., Riemann, B., Havskum, H. and Garde, K. (1996) Incorporation rates and biomass content of C and P in phytoplankton and bacteria in the Bay of Aarhus (Denmark) June 1992. *J. Plankton Res.*, **18**, 97–121.
- Thingstad, T.F., Zweifel, U.L. and Rassoulzadegan, F. (1998) P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the northwest Mediterranean. *Limnol. Oceanogr.*, **43**, 88–94.
- Thistle, D., Weatherly, G.A., Wonnacott, A. and Ertman, S.C. (1995) Suspension by winter storms exacts an energetic cost from adult male, benthic harpacticoid copepods. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, **125**, 77–86.
- Thomas, W.H., Cho, B.C. and Azam, F. (1991a) Phytoplankton and bacterial production and biomass in subalpine Eastern Brook Lake, Sierra Nevada, California. I. Seasonal interrelationships between the two biotic groups. *Artic and Alpine Res.*, **23**, 287–295.
- Thomas, W.H., Cho, B.C. and Azam, F. (1991b) Phytoplankton and bacterial production and biomass in subalpine Eastern Brook Lake, Sierra Nevada, California. II. Comparison with other high-elevation lakes. *Artic and Alpine Res.*, **23**, 296–302.

- Thompson, P.A. and Rhee, G.Y. (1994) Storage of phosphorus in nitrogen fixing *Anabaena flos aquae* (Cyanophyceae). *J. Phycol.*, **30**, 267–273.
- Threlkeld, S.T. (1987) Experimental evaluation of trophic–cascade and nutrient mediated effect of planktivorous fish on plankton community structure. In Kerfoot, W.C. and Sih, A. (eds.), *Predation: Direct and indirect impact on aquatic communities*. The University Press of New England, Hanover (N.H.), pp. 161–173.
- Tilman, D. (1982) Resource competition and community structure. Princeton University Press, NJ.
- Toggweiler, J.R., Sarmiento, J.L., Najjar, R. and Papademetriou, D. (1987) Models of chemical cycling in the Ocean. Ocean Tracers Laboratory Technical Report No. 4. Atmospheric and Oceanic Sciences Program, Department of Geological and Geophysical Sciences, Princeton University, Princeton, New Jersey.
- Turner, M.G., Baker, W.L., Peterson, C.J. and Peet, R.K. (1998) Factors influencing succession: Lessons from large, infrequent natural disturbances. *Ecosystems*, **1**, 511–523.
- Urabe, J. (1993) N and P cycling coupled by grazers' activities: Food quality and nutrient release by zooplankton. *Ecology*, **74**, 2337–2350.
- Urabe, J., Clasen, J. and Sterner, W. (1997) Phosphorus limitation of *Daphnia* growth: is it real?. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 1436–1443.
- Urabe, J. and Watanabe, Y. (1992) Possibility for N or P limitation for planktonic cladocerans: An experimental test. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 244–251.
- Uthermöl, H. (1958) Zur wemlkommung der quantitative phytoplankton methidik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **9**, 1–38.
- Vadstein, O., Jensen, A., Olsen, Y. and Reinertsen, H. (1988) Growth and phosphorus status of limnetic phytoplankton and bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 489–503.
- Vadstein, O., Harkjerr, B.O., Jensen, A., Olsen, Y., and Reinertsen, H. (1989) Cyling of organic carbon in the photic zone of a eutrophic lake with special reference to the heterotrophic bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, **34**, 840–855.
- Vadstein, O. and Olsen, Y. (1989) Chemical composition and phosphate uptake kinetics of limnetic bacterial communities cultured in chemostats under phosphorus limitation. *Limnol. Oceanogr.*, **33**, 939–946.
- Vadstein, O., Olsen, Y. and Reinertsen, H. (1993) The role of planktonic bacteria in phosphorus cycling in lakes – sink and link. *Limnol. Oceanogr.*, **38**, 1239–1544.
- Vadstein, O., Brekke, O., Andersen, T. and Olsen, Y. (1995) Estimation of phosphorus release rates from natural zooplankton communities feeding on planktonic algae and bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 250–262.

- Van Veen, J.A. and Paul, E.A. (1979) Conversion of biovolume measurements of soil organisms, grown under various moisture tensions, to biomass and their nutrient content. *Appl. Environ. Microb.*, **37**, 686–692.
- Vanderploeg, H.A., Gardner, W.S., Parrish, C.C., Liebig, J.R. and Cavaletto, J.F. (1992) Lipids and life-cycle strategy of a hypolimnetic copepod in lake michigan. *Limnol. Oceanogr.*, **37**, 413–424.
- Vanni, M.J. and Layne, C.D. (1997) Nutrient recycling and herbivory as mechanisms in the “top-down” effect of fish on algae in lakes. *Ecology*, **78**, 21–40.
- Vanni, M.J., Layne, C.D. and Arnott, S.E. (1997) “Top-down” trophic interactions in lakes: effects of fish on nutrient dynamics. *Ecology*, **78**, 1–20.
- Vidal, J. (1980) Physioecology of zooplankton. I. Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the growth of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. *Mar. Biol.*, **56**, 111–134.
- Villar-Argaiz, M., Medina-Sánchez, J.M., Cruz-Pizarro, L. and Carrillo, P. (1999) Life history implications of calanoid *Mixodiaptomus laciniatus* in C:N:P stoichiometry. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **27**, In press.
- Vitousek, P.M. (1977) The regulation of element concentrations in mountain streams in the northeastern United States. *Ecol. Monogr.*, **47**, 65–87.
- Vitousek, P. (1982) Nutrient cycling and nutrient use efficiency. *Am. Nat.*, **119**, 553–572.
- Vollenweider, R.A. (1976) Advances in defining critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication. *Mem. Ist. Ital. Di Idrobiol.*, **33**, 53–83.
- Vrede, T., Andersen, T. and Hessen, D.O. (1999) Phosphorus distribution in three crustacean zooplankton species. *Limnol. Oceanogr.*, **44**, 225–229.
- Watanabe, Y. (1990) C:N:P ratios of size-fractionated seston and planktonic organisms in various trophic levels. *Verh. Int. Ver. Limnol.*, **24**, 195–199.
- Wedin, D.A. and Tilman, D. (1990) Species effects on nitrogen cycling: A test with perennial grasses. *Oecologia*, **84**, 433–441.
- Wehr, J.D., Le, J., and Campbell, L. (1994) Does microbial biomass affect pelagic ecosystem efficiency? An experimental study. *Microb. Ecol.*, **27**, 1–17.
- Welschmeyer, N.A. and Lorenzen, C.J. (1984) Carbon-14 labelling of phytoplankton carbon and chlorophyll *a* carbon: Determination of specific growth rates. *Limnol. Oceanogr.*, **29**, 135–145.
- Wetzel, R.G. and Likens, G.E. (1991) *Limnological analyses*. Springer-Verlag, New York.
- White, T.C.R. (1993) *The inadequate environment: nitrogen and the abundance of animals*. New York: Springer Verlag.

- Wright,D.H., Currie,D.J. and Maurer,B.A. (1994) Energy supply and patterns of species richness on local and regional scales. In Ricklefs,R.E. and Schluter,D. (eds.), *Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives*. Chicago (IL), Chicago University Press, pp. 66–74.
- Wylie,J.L. and Currie,D.J. (1991) The relative importance of bacteria and algae as food sources for crustacean zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 708–728.
- Yaalon,DH. (1997) Comments of the source, transport and deposition scenario of Saharan dust to Southern Europe. *J. Arid. Environ.*, **36**, 193–196.
- Ziman,J. (1985) Pushing back frontiers – or redrawing maps!. In Hägerstrand,T. (ed.), *The identification of Progress in Learning*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1–12.



**UNIVERSIDAD DE GRANADA**  
COMISION DE DOCTORADO

UNIVERSIDAD DE GRANADA Facultad de Ciencias Fecha 3/9/99..... ENTRADA NUM. 2941.....
---

Fecha: 30 de Julio de 1999  
Su Ref<sup>a</sup>.  
Nuestra Ref<sup>a</sup>.  
Fecha de Salida:  
Unidad de Origen: COMISIÓN DE DOCTORADO

UNIVERSIDAD DE GRANADA Registro General  20 AGO. 1999  SALIDA N.º 11716
--

**Destinatario:**

**Ilmo. Sr. DECANO DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS**

En cumplimiento del artículo 36 de las Normas Regulatoras de los estudios de Tercer Ciclo de esta Universidad, adjunto se remite un ejemplar de la Tesis Doctoral presentada por el Doctorando D.MANUEL VILLAR ARGAIZ titulada REDES TROPICAS PELAGICAS: UNA PERSPECTIVA ESTEQUIOMETRICA y dirigida por el Profesor/es Dr/es LUIS JOSE CRUZ PIZARRO, PRESENTACION CARRILLO LECHUGA con objeto de mantenerla depositada desde el día 30 de Julio de 1999 hasta el día 04 de Octubre de 1999 para que pueda ser examinada por cualquier Doctor que así lo desee.

Granada, a 30 de Julio de 1999.

LA SECRETARIA DE LA COMISIÓN  
DE DOCTORADO

S. W



**Fdo.: SULTANA WAHNON BENSUSAN**  
**Secretaria de la Comisión de Doctorado**