

MODELOS DE FUNCIONAMIENTO DE COMUNIDADES PELÁGICAS EN ECOSISTEMAS SINGULARES (LAGOS DE ALTA MONTAÑA DEL PARQUE NACIONAL DE SIERRA NEVADA): UNA HERRAMIENTA PARA LA CONSERVACIÓN

FRANCISCO JIMÉNEZ-GÓMEZ¹, FÁTIMA GARCÍA-JURADO¹, ANDREA GALOTTI¹,
GEMA PARRA¹, ENRIQUE MORENO-OSTOS², FRANCISCO RUEDA³,
RAQUEL JIMÉNEZ-MELERO¹ Y FRANCISCO GUERRERO¹

RESUMEN

El estudio integral de los ecosistemas, valorando aspectos funcionales de los mismos, se ha convertido en una de las tareas claves en las labores de conservación de ecosistemas amenazados. La búsqueda y desarrollo de herramientas en la detección y prevención de alteraciones ambientales nos ha llevado a centrar la atención en las lagunas de alta montaña del Parque Nacional de Sierra Nevada. Estos ecosistemas presentan un singular valor ecológico dentro del ambiente mediterráneo, por su carácter oligotrófico, por su altitud y por la adaptación de sus comunidades a condiciones ambientales extremas.

El proyecto desarrollado se ha centrado en la caracterización limnológica de las lagunas de la Caldera y de Río seco (representativas de dos situaciones tróficas bien diferentes) en dos años con marcadas diferencias hidrológicas, lo cual se ha relacionado con series históricas bien documentadas en la bibliografía. Uno de los componentes claves de estos sistemas, el picoplancton heterotrófico, ha mostrado alteraciones de su actividad respiratoria ante pequeñas elevaciones de temperatura. No obstante, los resultados obtenidos apuntan a una mayor incidencia de los cambios climáticos a través de efectos indirectos, como es el cambio de estado trófico de las lagunas, que a través de modificaciones directas en el metabolismo bacteriano.

Palabras clave: lagunas, comunidad planctónica, bacterias, cambio climático, estado trófico.

SUMMARY

The comprehensive study of ecosystems, assessing their functional processes, has become one of the key tasks in the work of conservation of threatened ecosystems. The research and development of tools for the detection and prevention of environmental changes has led us to focus on the high mountain lakes of Sierra Nevada National Park. These ecosystems presents a unique ecological value in the Mediterranean region, because of their oligotrophic features, by their altitude and their well adapted communities to extreme environmental conditions.

¹ Dept. Biología Animal, B. Vegetal y Ecología, Universidad de Jaén, 23071- Jaén.

² Dept. Ecología y Geología, Universidad de Málaga, 29071- Málaga.

³ Instituto del Agua, Universidad de Granada, Ramón y Cajal 4, 18071 Granada.

The project has been focused on limnological characterization of gaps of La Caldera and Río Seco Lakes (representing two very different trophic situations) in two markedly different hydrological years, which has been associated with well-documented historical series in the literature. One of the key components of these systems, the heterotrophic picoplankton, showed alterations in their respiratory activity with small rises in temperature. However, the results point to an increased incidence of climate change through indirect effects such as trophic state change of the lakes.

Keywords: lakes, plankton community, bacteria, climatic change, trophic state.

INTRODUCCIÓN

Las lagunas del Parque Nacional de Sierra Nevada se manifiestan como parajes únicos en el contexto de las lagunas alpinas mediterráneas y están catalogadas como tal por su indudable valor ambiental y ecológico. Sólo por este motivo se han convertido en un objeto de estudio de primer interés. Amén de esto, constituyen un laboratorio natural para el seguimiento y predicción de los cambios globales que está sufriendo la biosfera. El estudio de ecosistemas en condiciones cuasi prístinas, situados en un contexto ambiental profundamente transformado por el hombre, permite aproximaciones de carácter ecosistémico de cara a la conservación y gestión de espacios naturales (véase GARCÍA-JURADO *et al.* 2007).

No hay que olvidar que la ecología de los lagos de alta montaña está fuertemente influenciada por dos factores climatológicos, como son las precipitaciones en sus diferentes formas y la temperatura (DOUGLAS *et al.* 1994; SOVARI & KORHOLA 1998). Las primeras son las responsables directas del nivel de llenado de las lagunas durante el periodo libre de hielos y la segunda determina en gran medida el ciclo estacional de las comunidades limnéticas.

El análisis de la comunidad planctónica y su acoplamiento al medio físico y químico es por tanto una herramienta clave para el estudio de la respuesta de estos ecosistemas y de los procesos que tienen lugar en él ante cambios en la meteorología, como son el aumento de las temperaturas y los periodos de sequía; fenómenos que según las previsiones incrementarían su frecuencia e intensidad debido a las emisiones de gases con efecto

invernadero y de aerosoles de origen antropogénico (PLANTON *et al.* 2008). Los componentes de las comunidades planctónicas se organizan en redes tróficas complejas, controlados por factores como la depredación, la disponibilidad de recursos (PACE & FUNKE 1991) y el control ejercido por el ambiente físico, sobre todo en estos ambientes extremos. De esta forma la interacción entre variables físicas, químicas y biológicas tiene como resultado la organización de la comunidad, caracterizada por la estructura de tamaños de los organismos que la componen (véase RODRÍGUEZ *et al.* presente monografía) y por su dinámica (figura 1, tomada de GARCÍA-JURADO *et al.* 2007).

Las consecuencias ecológicas del calentamiento del clima siguen sujetas a un intenso debate (SCHEFFER *et al.* 2001; AANES *et al.* 2002). Uno de los principales motivos de controversia es la capacidad para amortiguar dichos cambios que tienen los ecosistemas ante incrementos moderados en las temperaturas (CHRISTOFFERSEN *et al.* 2006). Mientras algunos autores resaltan la importancia de factores específicos de cada ecosistema (WEBSTER *et al.* 1996), otros muestran una gran influencia del clima a nivel regional (BAINES *et al.* 2000); pero además, en los lagos de alta montaña los factores locales cobran una especial importancia (BARON & CAINE 2000).

Autores como MCKEE *et al.* (2003), encuentran efectos moderados del incremento en las temperaturas entre los que destaca el aumento de la liberación de fósforo desde el sedimento. Las precipitaciones determinan a su vez la entrada de nutrientes en los ecosistemas, de manera que tanto los patrones de precipitación como de temperatura pueden actuar sobre el nivel de eutrofi-

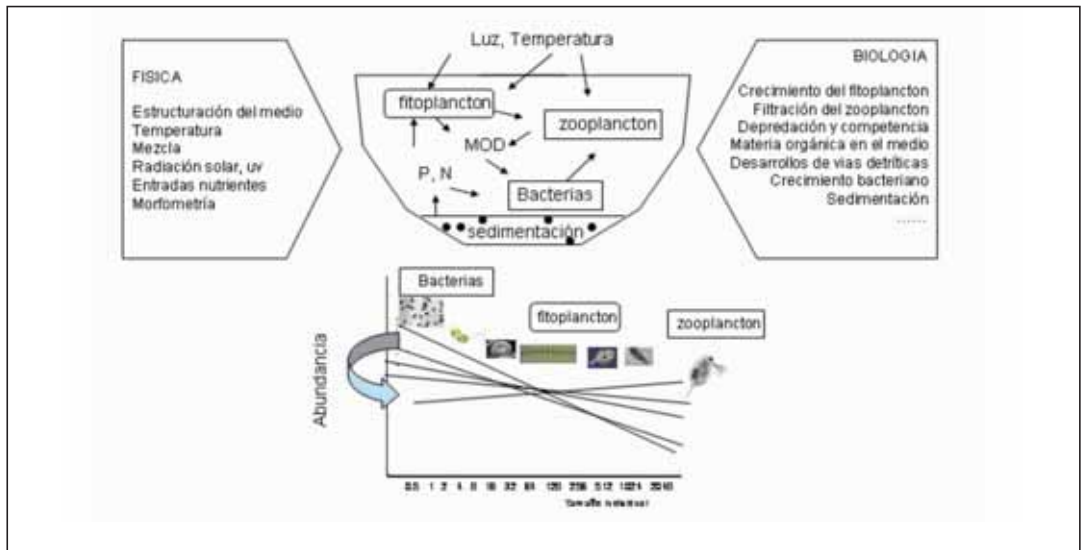


Figura 1. Modelo conceptual de funcionamiento del ecosistema pelágico de una laguna de alta montaña (tomado de García-Jurado *et al.* 2007).

Figure 1. Conceptual model of the processes in the pelagic ecosystem of an high mountain lake (taken from García-Jurado *et al.* 2007).

zación de los mismos (CHRISTENSEN & CHRISTENSEN 2001; MOSS *et al.* 2003). Las variaciones en las concentraciones de nitrógeno y fósforo son de especial interés, ya que pueden ser factores limitantes para el crecimiento del plancton. La transferencia de éstos desde formas inorgánicas a formas orgánicas, dependen de la eficiencia en el acoplamiento nutrientes-plancton. Las temperaturas afectan a estas interacciones controlando procesos esenciales para el crecimiento, nutrición y reproducción de los organismos planctónicos (REYNOLDS 1984; DOWNING & RIGLER 1984). Todo ello puede provocar cambios en las comunidades planctónicas que se propagan en cascada a través de la cadena trófica y que pueden afectar en última instancia a la calidad del agua (JEPPESEN *et al.* 1997).

Finalmente, muchos procesos biológicos como el crecimiento o las tasas de producción de los organismos microbianos están relacionados positivamente con las temperaturas (p. ej. SAVAGE *et al.* 2004). Aunque se han encontrado que estas relaciones pueden ser de carácter tanto exponen-

cial como lineal (MONTAGNES *et al.* 2003), lo cierto es que cambios en la temperatura del agua provocados por el calentamiento global afectan a los microorganismos que componen las cadenas tróficas microbianas en los ecosistemas acuáticos. Una forma sencilla para analizar la magnitud y sensibilidad de dichas respuestas sería a través del estudio del metabolismo y mortalidad de los individuos que componen el plancton. Se sabe, que en lagos oligotróficos los procariontes heterótrofos son uno de los principales componentes de la biomasa bacteriana (COTNER & BIDDANDA 2002), además estos organismos presentan una gran sensibilidad a cambios en las condiciones de crecimiento (POMEROY & WIEBE 2001).

A pesar de que la temperatura ha sido reconocida como un factor de control de especial importancia para los ecosistemas acuáticos, muy pocos estudios examinan cómo cambios en la misma pueden afectar a la dinámica e interacción entre las poblaciones planctónicas. En el presente trabajo, además de caracterizar las comunidades planctónicas

de dos lagunas de alta montaña de diferentes características tróficas, nos planteamos como objetivo fundamental el análisis de los cambios, respuestas, de dichas comunidades ante dos perturbaciones físicas asociadas al cambio climático como son las precipitaciones y la temperatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de estudio.

Lagunas de La Caldera y Río Seco

La Caldera (figura 2) es un pequeño lago (aproximadamente 2 Ha) localizado en Sierra Nevada (SE de España, 36°55'-37°15'N, 2°31'-3°40'W) por encima del límite de la vegetación arbórea (3020 m s.n.m). Ocupa un circo glaciar reliquia de una de las eras frías del cuaternario que tuvo lugar en Sierra Nevada. La actividad glaciar se redujo en

este sistema montañoso a las zonas más elevadas generándose así entre los 2800 y 3080 m s.n.m un conjunto de lagunas que presentan una serie de características comunes, resultado de la estrecha y homogénea área de distribución en la que están localizadas (MORALES-BAQUERO *et al.* 1992).

Río Seco, al igual que La Caldera es un lago pequeño (0.4 Ha), poco profundo (profundidad máxima: 3 m) de origen glaciar y localizado a 3020 m s.n.m (36°55'-37°15'N, 2°31'-3°40'W) sobre un sustrato silíceo. La profundidad máxima en este sistema está determinada por el flujo superficial, el cual cesa según avanza el verano (MORALES-BAQUERO *et al.* 2006). Tiene carácter oligo-mesotrófico (PÉREZ-MARTÍNEZ *et al.* 2007), permanece cubierto de hielo desde Octubre-Noviembre hasta Junio-Julio presentando una vegetación litoral compuesta fundamentalmente por briófitas.



Figura 2. Lagunas de La Caldera, Río Seco y Las Yeguas.

Figure 2. La Caldera, Río Seco and Las Yeguas Lakes.

Toma de muestras

La campaña de muestreo fue llevada a cabo durante los periodos libres de hielo de 2005 y 2006 (aproximadamente entre junio y octubre). Las muestras para el análisis de las variables físico-químicas y biológicas fueron tomadas en el punto de mayor profundidad de cada laguna a intervalos de 0.5 m en la columna de agua mediante una botella hidrográfica Van Dorn de 2 L. Las muestras de zooplancton se tomaron mediante una red de plancton de tamaño de malla de 63 μm , realizando una pesca vertical desde el fondo a la superficie en dicho punto de mayor profundidad.

La estructura térmica de los sistemas fue registrada mediante cadenas de termistores (HOBO® H20-001) colocadas en diferentes puntos de las lagunas y abarcando de esta forma la heterogeneidad espacial de éstas.

Análisis químicos

Las concentraciones de fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT) fueron medidas en el laboratorio directamente a partir de agua no filtrada (APHA 1995). Submuestras fueron filtradas para analizar las concentraciones de fosfato disuelto (SRP) (MURPHY & RILEY 1962), NO_3^- , NO_2^- y NH_4^+ (APHA 1995).

Abundancias microbianas y volúmenes celulares

Las muestras para el análisis de bacterioplancton y nanoflagelados heterótrofos (HNF) fueron fijadas con glutaraldehído (c.f.: 2%), teñidas con DAPI (0.1 µg/L c.f), filtradas a través de filtros de policarbonato de 0.2 µm de tamaño de poro y contadas bajo microscopía de epifluorescencia (PORTER & FEIG 1980).

El pico-nanoplancton autótrofo fue analizado mediante citometría de flujo (CMF). Las muestras fueron tomadas en tubos criogenizables de 4 mL, fijadas con glutaraldehído a una concentración final del 2% y preservadas en nitrógeno líquido hasta su análisis en el laboratorio. Este se llevó a cabo usando un citómetro COULTER modelo EPICS ELITE

El fitoplancton de mayor tamaño y los ciliados se analizaron mediante técnicas de análisis de imagen usando la metodología de UTERMÖHL (1958). Para ello las muestras se preservaron con lugol al 2% (c.f.), se dejaron sedimentar durante 24 h en una cámara de recuento y se analizaron bajo microscopía invertida en un equipo Leica DMIL.

Finalmente, las muestras zooplanctónicas fueron preservadas en formaldehído al 4% (c.f.) y analizadas mediante el uso de una lupa Leica MZ 125 bajo diferentes aumentos. Al igual que se hizo

con las muestras de fitoplancton, dicho análisis se llevó a cabo por el grupo de la Universidad de Málaga encargado del subproyecto 3 pero por coherencia temática los resultados de tales análisis se han incluido en el presente trabajo.

Análisis de la actividad bacteriana

Con el objeto de comprobar el efecto de cambios en la temperatura del agua sobre la proporción de células activas y vivas que componen el bacterioplancton de estos sistemas, se realizaron dos experimentos de manipulación, uno "in situ" y otro en laboratorio, con muestras de agua de la laguna de Las Yeguas durante los veranos de 2007 y 2008.

Experiencia in situ

El diseño experimental estuvo basado en la translocación de muestras de dos profundidades diferentes 6 y 14 m (figura 3), incubándose en botes pirex de 500 mL. Las muestras se retiraron cada 4 horas (0, 4, 8 y 12 horas), midiéndose la fracción de células activas mediante el uso de CTC; de células vivas, mediante el uso de Ioduro de Propidio (IP) y de células de alto contenido en DNA (HDNA), usando SYBR Green. En todos los casos, los diferentes grupos bacterianos fueron analizados mediante citometría de flujo. Para ambas profundidades y cada momento de muestreo se tomaron muestras control (CA y CB).

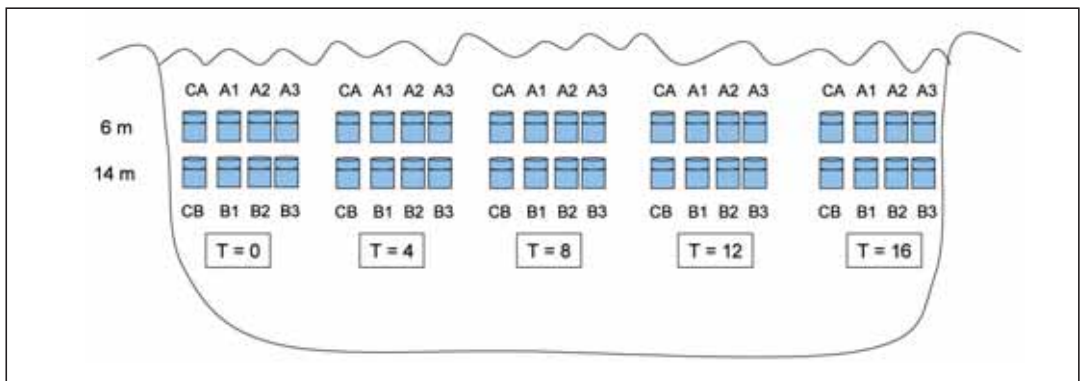


Figura 3. Diagrama representativo del diseño del experimento *in situ* en Las Yeguas.

Figure 3. "In situ" experimental design carried out in Las Yeguas lake.

Experiencias en laboratorio

A partir de muestras integradas (de 3 a 6 m de profundidad) de la laguna de Las Yeguas se procedió a analizar los cambios en la actividad bacteriana como respuesta a cambios controlados de temperatura a una escala temporal superior a la experiencia "in situ". Las muestras fueron repartidas en una serie de microcosmos (botes Pirex de 500 mL) que fueron incubados durante 5 días según los siguientes tratamientos: 2 microcosmos se mantuvieron a temperatura similar a la registrada en el sistema (M1 y M2: 13°C), otros 2 se incubaron a una temperatura mayor a la existente en la laguna (M3 y M4: 19°C) y el tercer par se incubó a una temperatura menor a la temperatura media registrada en Las Yeguas (M5 y M6: 5°C). Previamente a su incubación, el agua de uno de los microcosmos de cada par (M2, M4 y M6) era filtrada a través de filtros Whatman GFC con el objetivo de comprobar el efecto de depredadores sobre las distintas fracciones bacterianas. Para todos los microcosmos se estableció un fotoperiodo de 8 horas de oscuridad y 16 horas de luz.

Se tomaron diariamente muestras por triplicado en cada microcosmos durante 5 días, incluyendo el día del montaje para analizar la proporción de bacterias HDNA y LDNA, CTC+ y Vivas/Muertas.

Análisis de bacterias vivas y muertas mediante IP y citometría de flujo

Una forma de detectar la muerte celular consiste en conocer si las membranas plasmáticas celulares están dañadas. Para ello se puede usar una doble tinción combinando IP con un tinte genérico de ácidos nucleicos (BOULOS *et al.* 1999; GASOL *et al.* 1999; ERICSSON *et al.* 2000; HOEFEL *et al.* 2003). Mientras que el IP sólo penetra en la célula bacteriana dañada, uniéndose al ADN y emitiendo una fluorescencia roja, el segundo (entre los que se encuentran Syto9, SYBR Green) puede penetrar en todas las células proporcionando una fluorescencia verde. En el presente estudio se usó el Kit LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability de Molecular Probes Inc.

Análisis de bacterias activas mediante CTC y citometría de flujo

La actividad respiratoria celular se determinó mediante la valoración de la actividad reductora potencial del CTC por la cadena de transporte de electrones (CRÉACH *et al.* 2003). El CTC es un compuesto no fluorescente y permeable a la membrana plasmática, el cual es reducido por el sistema de transporte electrónico de la célula a un precipitado fluorescente que puede ser medido por CMF.

El discriminante usado fue la fluorescencia roja (PMT5) y el flujo de muestra 70 $\mu\text{L}/\text{min}$. Las bacterias que presentaban fluorescencia roja fueron consideradas células activas y se les llamó CTC+. Para determinar el tamaño de las células CTC+ se usaron citogramas SSC (dispersión lateral de la luz, Side Scatter) *vs.* PMT5 ó FL4. El volumen celular se estimó a partir de la calibración del FSC mediante esferas de calibración.

Tratamiento estadístico de los datos

Las relaciones entre los diferentes grupos bacterianos (totales, HDNA, LDNA, vivas, muertas y CTC+) fueron evaluadas mediante análisis de correlación de Pearson y Análisis de Componentes Principales (ACP). Mientras que las diferencias significativas se establecieron mediante t-test, ANOVA factorial y en los casos en los que no fue posible obtener la homogeneidad de la varianza de los datos se usaron GLM (General Linear Models). Todos los análisis estadísticos realizaron con STATISTICA 7.0 y las diferencias se consideraron significativas para valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Variables fisicoquímicas y disponibilidad de nutrientes

La Caldera y Río Seco han sufrido tres importantes sequías en tan sólo 10 años: 1995, 1999 y 2005. Las consecuencias hidrológicas de estos periodos secos han sido muy diferentes en ambas lagunas, así mientras que La Caldera ha experimentado fuertes cambio de volumen no

ha ocurrido lo mismo con Río Seco que prácticamente ha permanecido con una profundidad constante (figura 4).

Los datos de temperatura obtenidos de los termistores no mostraron diferencias en la columna de agua durante el periodo estudiado (2005 y 2006) entre la superficie y el fondo, por lo que no se registró estratificación térmica en ningún momento.

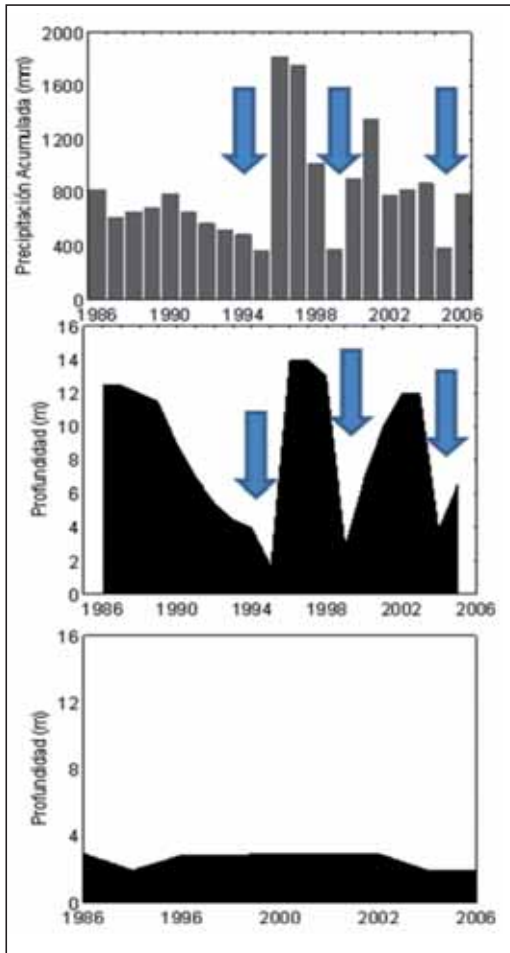


Figura 4. Variabilidad interanual de la precipitación anual acumulada (superior) y de la profundidad máxima de La Caldera (medio) y Río Seco (inferior) en el periodo 1986-2006.

Figure 4. Interannual variability of the rainfall (upper), the maximum depth of La Caldera (middle) and Río Seco lakes (bottom) during the 1986-2006 period.

Las concentraciones de oxígeno fueron elevadas a lo largo del periodo de estudio con valores muy cercanos a la saturación (porcentajes de saturación medios para 2005 y 2006: 85% y 95% respectivamente). Los valores de conductividad encontrados estaban entre 12 y 21 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y la alcalinidad entre 0.25 y 0.7 meq L^{-1} , lo cual representa una considerable capacidad tamponeante (pH entre 6.5 y 7.6).

La Caldera mostró concentraciones de fósforo total más elevadas en 2005 que en 2006 (PT medio para 2005 = 13.2 $\mu\text{g L}^{-1}$; PT medio para 2006 = 7.7 $\mu\text{g L}^{-1}$). Las mayores concentraciones de PT fueron registradas en septiembre y agosto de 2005 y 2006, respectivamente. Generalmente, las concentraciones de fósforo soluble (SRP) representaban una fracción creciente del PT a lo largo del ciclo estacional.

En relación al nitrógeno total, La Caldera no mostró grandes variaciones durante 2005, apreciándose un ligero descenso durante 2006 (30% de reducción). Es de destacar las medidas especialmente bajas de DIN durante el primer año estudiado, mientras que en 2006 representó como media un 63% de las concentraciones de NT, alcanzando sus mayores contribuciones en julio del 2006 (90% del NT). Durante ambos años, el NO_3^- fue la fracción más importante del DIN, excepto para septiembre de 2006, donde NO_3^- y NH_4^+ aparecen en proporciones iguales (50%).

Por su parte la laguna de Río Seco presentó concentraciones medias de PT y NT mayores en el verano más seco (2005), siendo los valores medios de 25 y 480 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 2005 por 18 y 280 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 2006. Al igual que ocurría en La Caldera, las concentraciones de SRP comprendían una fracción creciente del total de PT a lo largo del verano de 2006 y no así durante 2005, en que se mantuvo constante. Las fracciones disueltas de nitrógeno (DIN) presentaron valores mucho menores en 2005 que en 2006, representando el 4 y 37% del NT.

Los ratios entre las diferentes fracciones de compuestos nitrogenados y fosfatados ofrecen una información valiosa sobre la posible limitación para la producción primaria o bacteriana de estos

nutrientes. En la figura 5 se recogen estas ratios, mostrando para La Caldera valores medios de NT:PT cercanos a 30 durante el periodo libre de hielo de 2005, siendo mucho más elevados en el mismo periodo de 2006 (NT:PT=56) ($p<0,05$).

El ratio másico entre las formas inorgánicas (DIN:SRP), también mostró diferencias apreciables entre los dos años estudiados, mostrando una posible limitación por N durante 2005 (valores menores a 7), mientras que fueron significativamente mayores en 2006 ($p<0,05$), especialmente durante junio (DIN:SRP = 89) y julio de

2006 (DIN:SRP = 131) (figura 4). De forma similar, el ratio DIN:PT mostró valores medios significativamente mayores en 2006 (DIN:PT = 37) que en 2005 (DIN:PT<7) ($p<0,05$).

La ratio DIN:PT mostró un comportamiento similar en las dos lagunas, presentando valores medios superiores en 2006 que en 2005. Estas diferencias fueron significativas ($p<0,05$) solamente para el caso de la laguna de La Caldera (DIN:PT < 7 en 2005 y DIN:PT = 37 en 2006), y no para la laguna de Río Seco.

Comunidad planctónica

La ratio entre el biovolumen total de autótrofos y el biovolumen total de heterótrofos (A:H) mostró en La Caldera valores mayores a 1, especialmente durante el verano de 2006 (valor medio=7,5). Sin embargo, para mitad del verano de 2005 el valor de A:H fue menor a 1 (tabla 1). Considerando el biovolumen, los principales componentes heterótrofos y autótrofos, del plancton de La Caldera en 2005 y 2006, fueron el mesozooplancton y el fitoplancton respectivamente (51 y 77% para el fitoplancton en 2005 y 2006; 40 y 18% para el zooplancton para estos mismos años). Por tanto, cambios en los biovolúmenes de estos grupos fueron los responsables de los principales cambios observados en los valores de la ratio A:H.

En cambio, la ratio A:H mostró grandes diferencias para Río Seco entre ambos años (tabla 2). Mientras que durante todo el periodo estival de 2005 presentó valores menores a 1, durante el verano de 2006 estaba por encima de 1 (excepto para julio de este año, cuando es menor a 1 pero sigue siendo mayor a los valores mostrados en 2005). De forma similar a lo ocurrido en La Caldera, los biovolúmenes de fitoplancton y mesozooplancton fueron los dominantes, de forma que en 2005 la fracción más importante fue el zooplancton ($p<0,05$) y en 2006 destaca el biovolumen de fitoplancton ($p<0,05$). Ciliados y bacterias mostraron además del zooplancton un biovolumen medio significativamente mayor en 2005, mientras que el biovolumen de HNF fue similar para ambos veranos ($p<0,05$).

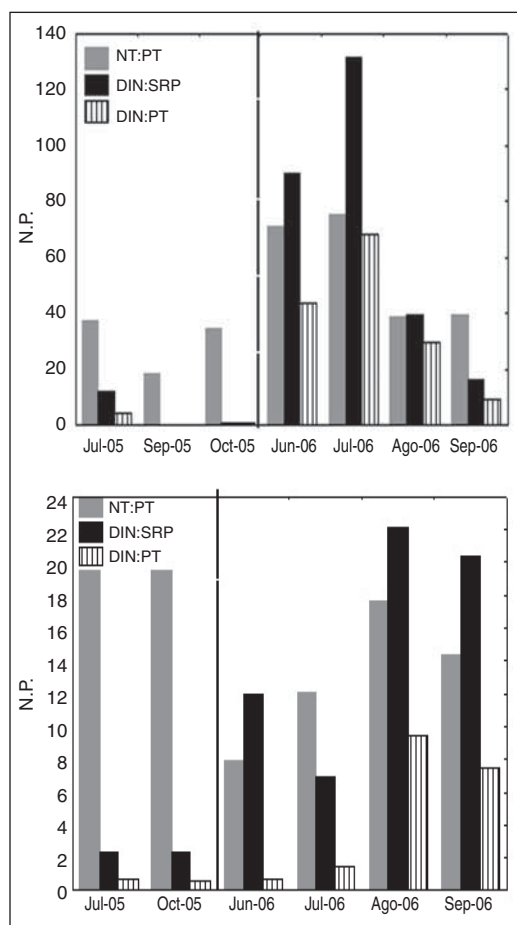


Figura 5. Ratios másicos de diferentes formas de nitrógeno:fósforo para La Caldera (superior) y Río Seco (inferior).

Figure 5. Mass ratio of N:P fractions in La Caldera (upper) and Río Seco (bottom).

	A:H	% BB	% PhyB	% ZooB	% HNFB	% CilB
Jun-05	5,37	2,96	88,69	6,32	3,27	3,52
Jul-05	0,29	1,06	16,60	72,70	0,22	2,24
Sep-05	0,16	3,81	10,73	73,80	0,49	5,05
Oct-05	5,63	5,72	87,82	8,85	0,74	0,00
Jun-06	6,40	7,75	87,66	1,00	3,82	1,11
Jul-06	7,63	0,81	92,15	10,72	0,09	0,01
Ago-06	3,55	3,30	54,64	39,08	0,11	0,00
Sep-06	12,62	2,38	73,07	18,81	0,58	0,00

Tabla 1. Ratio A:H y porcentaje de biovolumen de bacterias (BB), fitoplancton (PhyB), zooplancton (ZooB), heterótrofos nanoflagelados (HNFB) y ciliados (CilB) respecto al biovolumen total para la laguna de La Caldera.

Table 1. A:H ratio and biovolume percentage of bacteria (BB), phytoplankton (PhyB), zooplankton (ZooB), heterotrophic nanoflagellates (HNFB) and ciliates (CilB) in relation to the total biovolume in La Caldera lake.

Los análisis de correlación realizados entre las variables físicas, químicas y biológicas incluidas en este estudio, revelaron diferencias entre los veranos de 2005 y 2006 para las dos lagunas.

En 2005 en La Caldera, las abundancias de bacterias y ciliados estaban correlacionadas positivamente, así como las abundancias y biovolúmenes de fitoplancton y HNF. Además, las abundancias de zooplancton mostraron una correlación positiva con la temperatura y con el biovolumen de ciliados, mientras que estaban correlacionadas de forma negativa con las concentraciones de SRP. De forma contraria al

2005, las abundancias de zooplancton y las concentraciones de SRP estuvieron positivamente correlacionadas en el verano de 2006 en esta laguna. En este verano, el biovolumen de zooplancton presentó una correlación positiva con las concentraciones de PT y con el biovolumen de bacterias, y negativa con el biovolumen de ciliados. Este último a su vez estaba negativamente correlacionado con las concentraciones de PT en el verano de 2006.

En Río Seco de igual manera se encontraron correlaciones muy diferentes entre años. De este modo para 2005 las concentraciones de SRP y

	A:H	% BB	% PhyB	% ZooB	% HNFB	% CilB
Jun-05	0,38	2,6	27,6	64,7	1,7	3,5
Jul-05	0,03	3,4	3,0	88,4	1,1	4,1
Sep-05	0,16	1,2	13,6	77,6	0,5	7,0
Oct-05	0,54	2,7	35,0	55,7	1,0	5,6
Jun-06	1,21	0,3	54,8	44,8	0,1	0,0
Jul-06	0,88	0,1	46,9	52,9	0,0	0,1
Ago-06	3,96	1,8	79,8	14,3	4,1	0,0
Sep-06	1,05	1,0	51,2	47,3	0,5	0,0

Tabla 2. Ratio A:H y porcentaje de biovolumen de bacterias (BB), fitoplancton (PhyB), zooplancton (ZooB), heterótrofos nanoflagelados (HNFB) y ciliados (CilB) respecto al biovolumen total para la laguna de Río Seco.

Table 2. A:H ratio and biovolume percentage of bacteria (BB), phytoplankton (PhyB), zooplankton (ZooB), heterotrophic nanoflagellates (HNFB) and ciliates (CilB) in relation to the total biovolume in Río Seco lake.

DIN aparecen positivamente correlacionadas, al igual que la abundancia de fitoplancton, con el biovolumen de ciliados. La abundancia de HNF y el biovolumen bacteriano también presentaron una correlación positiva y lo mismo ocurre con la abundancia de ciliados y el biovolumen de zooplancton. Para el periodo estival de 2006 destacan las correlaciones positivas entre abundancia y biovolumen de bacterias y la temperatura, y entre biovolumen de fitoplancton y zooplancton. Por otro lado la abundancia de zooplancton y las concentraciones de SRP mostraron una correlación negativa.

Actividad Bacteriana

Experimento in situ (2007)

El análisis de las abundancias de las diferentes fracciones bacterianas medidas en este experimento dejó entrever algunos patrones generales. Así por ejemplo, está claro que tanto las bacterias LDNA como las Muertas dominan la comunidad bacteriana heterótrofa en este sistema y en las condiciones impuestas (figura 6). Los porcentajes de bacterias HDNA y vivas en cambio, fueron muy pequeños y no mostraron grandes diferencias entre tratamientos y tiempos de incubación. Sin embargo, la abundancia de bacterias CTC+ parece ser más variable con la profundidad y el tiempo de incubación. Así mismo, se observó una tendencia hacia una menor abundancia de éstas para tiempos de incubación mayores a 4 horas.

Experimento en laboratorio (2008)

Análisis de las abundancias de bacterias totales, HDNA, LDNA, vivas, muertas, CTC+

La abundancia de bacterias HDNA y vivas mostraron patrones semejantes, siendo significativamente mayores con el paso de los días y con el aumento de la temperatura (microcosmos M3 y M4). Igualmente las abundancias fueron mayores para el caso de los microcosmos en los que no se aplicaba la filtración, aunque estas diferencias no eran significativas en todos los casos (figura 7). Además las bacterias HDNA y Vivas estaban correlacionadas positivamente ($r^2= 0,86$; $p<0,05$). Por otro lado, las abundancias de bacterias LDNA y muertas aumentan significativamente tanto con el transcurso del experimento como con el aumento de temperatura (M3 y M4, figura 8); aunque hay que destacar la gran abundancia de ambos grupos bacterianos encontrada para el microcosmos M5 (5° C y no filtrado). A todas las temperaturas la filtración disminuye de forma significativa la abundancia de bacterias LDNA y muertas, excepto para los microcosmos sometidos a 19 °C . De forma similar a las anteriores, ambas abundancias aparecían correlacionadas positivamente ($r^2= 0,78$; $p<0,05$).

Las bacterias CTC+ mostraron un patrón distinto con el paso de los días. Se produce una disminución de su abundancia a partir del día 3 y aunque fueron más abundantes de nuevo du-

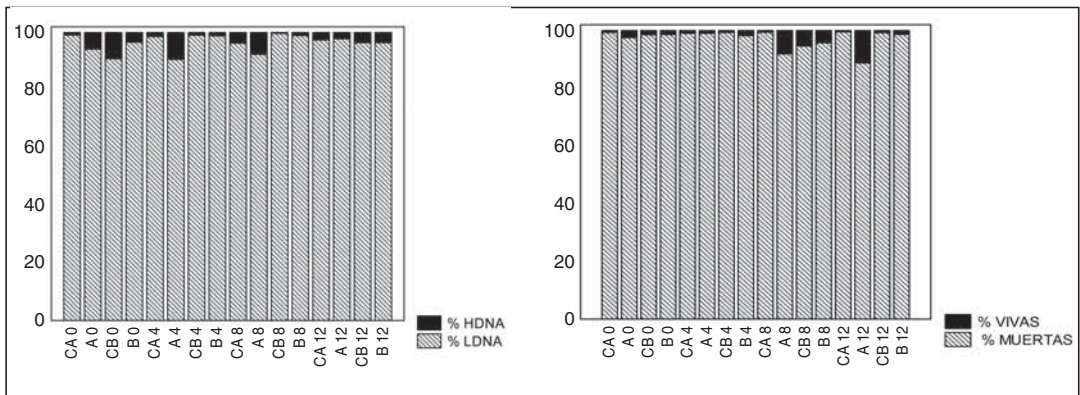


Figura 6. Porcentajes de los diferentes grupos bacterianos presentes en las incubaciones "in situ".

Figure 6. Percentage of the bacterial groups appeared in the "in situ" experiment.

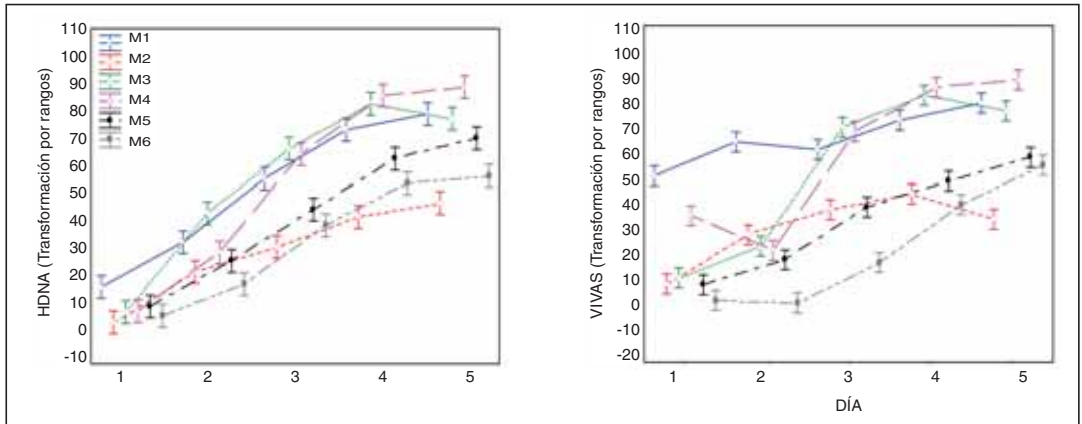


Figura 7. Evolución de las bacterias vivas (inferior) y HDNA (superior) en los microcosmos del experimento de incubaciones “in situ”.
Figure 7. Dynamics of live (bottom) and HDNA (upper) bacteria during the “in situ” experiment.

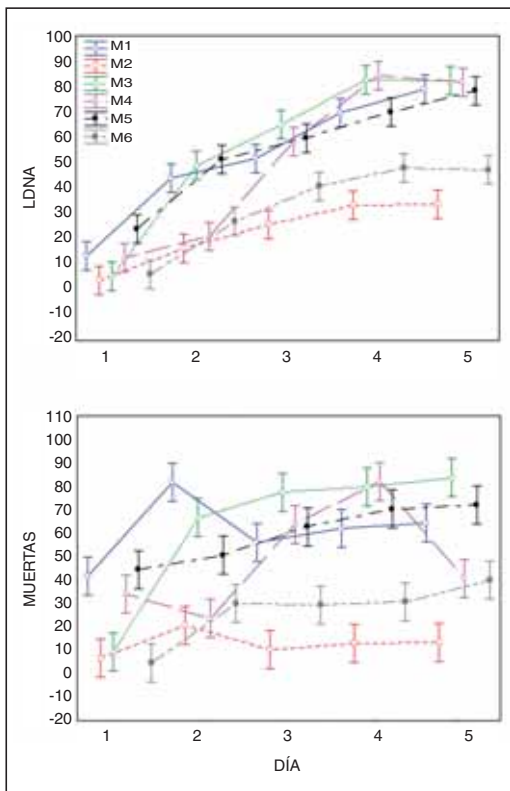


Figura 8. Evolución de las bacterias muertas (inferior) y LDNA (superior) en los microcosmos del experimento de incubaciones “in situ”.
Figure 7. Dynamics of dead (bottom) and LDNA (upper) bacteria during the “in situ” experiment.

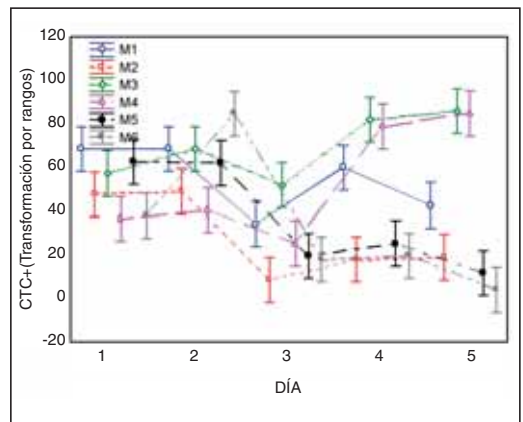


Figura 9. Evolución de las bacterias CTC+ en los microcosmos del experimento de incubaciones “in situ”.
Figure 9. Dynamics CTC+ bacteria during the “in situ” experiment.

rante los días 4 y 5, no se alcanzan los valores de los dos primeros días. En cuanto a la temperatura de nuevo eran más abundantes para los microcosmos M3 y M4 (temperatura de incubación: 19 °C (figura 9). En este caso la abundancia de bacterias CTC+ si disminuye significativamente con el filtrado a todas las temperaturas. Las abundancias de bacterias CTC+ presentaron correlaciones positivas con las abundancias de bacterias vivas ($r^2= 0,72$) y HDNA ($r^2= 0,67$) durante los días 3, 4 y 5.

DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente estudio ha sido obtener una visión global de la respuesta de ecosistemas remotos y prácticamente aislados de la actividad humana, como son las lagunas de alta montaña del P. N. Sierra Nevada, ante variaciones meteorológicas, y en concreto ante periodos de sequía. La razón para pensar que estos ecosistemas podían estar siendo afectados por procesos globales como el cambio climático, surgen de la sensibilidad de los mismos ante cambios en las condiciones meteorológicas dadas las condiciones extremas a los que están sometidos.

La sequía que afecta a las lagunas de La Caldera y Río Seco durante los años 2005 y 2006, tiene la peculiaridad de ser recurrente en el tiempo; tan sólo 10 años antes se había producido un periodo seco de magnitud similar (MÉDINA-SÁNCHEZ *et al.* 1999). El escenario que anuncian las previsiones de un incremento en la frecuencia de fenómenos extremos como la sequía, puede ser reproducido en este tipo de ambientes. Esa recurrencia en el tiempo parece provocar en La Caldera una disminución en el volumen de agua almacenada que no se refleja de la misma manera en Río Seco, ya que en el primero las entradas de agua dependen principalmente de las precipitaciones (VILLAR-ARGÁIZ *et al.* 2001). Pero además en el periodo seco de 2005, algunas características del sistema, que habían permanecido invariables durante periodos con condiciones meteorológicas diversas, se ven modificadas. El ejemplo más llamativo es el aumento en las concentraciones de PT en el agua. Este aumento tiene lugar en ambos sistemas, y especialmente para el verano de 2005, pero mientras que en Río Seco no se observaron modificaciones en la limitación por N registrada con anterioridad para periodos más y menos lluviosos (MORALES-BAQUERO *et al.* 2006); para La Caldera tiene lugar un aumento en la disponibilidad de dicho nutriente, de forma que la tradicional limitación por P mostrada anteriormente para este sistema (CARRILLO *et al.* 1995; RECHE *et al.* 1997; MEDINA-SÁNCHEZ *et al.* 1999; MORALES-BAQUERO *et al.* 2006), es mucho más débil durante estos años e incluso en ocasiones se registra una limitación por N.

Es conocido que la disminución del volumen del lago provoca una mayor incidencia de las fuentes externas de nutrientes como son la deposición atmosférica. La entrada de polvo sahariano rico en compuestos solubles de P entre otros, suministra elementos importantes para los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas (LÖYE-PILOT *et al.* 1986). Los lagos de alta montaña de Sierra Nevada, por su carácter oligotrófico responden de forma apreciable ante estos aportes (MORALES-BAQUERO *et al.* 1999; 2001). Además, la exposición de los sedimentos al aire y por tanto su secado al bajar el nivel de agua, afecta a la disponibilidad de los nutrientes en la columna de agua (DE VICENTE *et al.* 2010). Entre ellos se ha mostrado un aumento de la liberación de P desde el sedimento con el secado del mismo (VILLAR-ARGÁIZ *et al.* 2001).

Estos procesos afectarían de igual manera tanto a La Caldera como a Río Seco, sin embargo se ha visto que el aumento en las concentraciones de PT, y por tanto la influencia en la dinámica trófica del sistema fueron más patentes en el primero, por lo que de nuevo el aumento en la frecuencia de las sequías podría ser la causa de esta mayor sensibilidad de la laguna de La Caldera.

La diferente respuesta entre La Caldera y Río Seco ante la sequía, se manifestó tanto en el estudio de las características limnológicas y comunidades planctónicas, como en el estudio de la estructura de tamaños del plancton de ambos sistemas (*véase* RODRÍGUEZ *et al.* presente monografía). Mientras que La Caldera mostró una mayor importancia en términos de abundancia de los organismos más pequeños de la comunidad, debido a su mayor oligotrofia y mayor contenido en amonio; por el contrario en Río Seco el mayor grado de eutrofia, y la existencia del DIN en forma casi exclusivamente de nitrato permitía el desarrollo de organismos de mayor tamaño (EPPLEY & PETERSON 1979; MALONE 1980).

La mayor disponibilidad de P en La Caldera durante la sequía de 2005 se reflejaba de igual modo en la estructura trófica del plancton. Así, la comunidad de esta laguna presentó valores del ratio A:H menores a 1 durante este verano, lo que

se podía traducir en un control top-down por parte del zooplancton, y por tanto en una intensa herbivoría. En este sentido la posibilidad de que una biomasa algal mucho menor sea capaz de sustentar esa gran biomasa de zooplancton, puede encontrarse en la explotación del microfítobentos, el cual constituiría una fuente adicional de alimento para el zooplancton.

Una característica a resaltar en la comunidad planctónica de la laguna de la Caldera durante el periodo seco de 2005 fue la aparición de organismos no representados de manera significativa en el sistema durante años más húmedos como son los HNF y los ciliados (MÉDINA-SÁNCHEZ *et al.* 1999).

De esta forma, se muestra que los factores abióticos tales como la temperatura y la disponibilidad de nutrientes influyen en la actividad biótica de estos sistemas y en la dinámica trófica de los mismos. Lo que puede traducirse en una gran influencia de la meteorología sobre sus características; ya que los factores climáticos controlan las características fisicoquímicas de los lagos de alta montaña, lo que a su vez determina la dinámica y estructura de la comunidad planctónica que habita en ellos.

Además del incremento en la frecuencia de los periodos de sequía, todos los escenarios futuros planteados prevén un aumento en las temperaturas medias del planeta (SOLOMON *et al.* 2007). Cambios en las condiciones meteorológicas influyen en la estructura y dinámica de las comunidades planctónicas de estos ecosistemas; pero además, la fuerte estacionalidad a la que están sometidos los organismos que habitan en las lagunas de alta montaña así como su tolerancia a temperaturas muy bajas, los convierte en sensores ideales ante cambios en estas condiciones. De forma que el análisis de la viabilidad y metabolismo de estos sería una aproximación válida para la previsión del efecto de dichos incrementos en las temperaturas sobre comunidades sensibles. La importancia de las procariontas heterótrofos en ecosistemas oligotróficos (COTNER & BIDDANDA 2002) permite que se estudien dichos cambios en estas poblaciones, como una representación de la respuesta de la comunidad

planctónica ante cambios en las temperaturas del agua.

La temperatura se manifiesta como un factor de control tanto de la actividad como de la mortalidad bacteriana. En este sentido tanto el aumento como la disminución de la temperatura provocan respuestas en las proporciones de bacterias activas y vivas de una laguna de alta montaña (Las Yeguas, Sierra Nevada). En los experimentos en laboratorio el incremento de las temperaturas provocó un aumento de la abundancia de bacterias tanto activas como vivas, el cual podía explicarse debido al incremento en la actividad del sistema de transporte electrónico de la célula con el aumento de la misma, o también que otros procesos biosintéticos se aceleran con el aumento de ésta (ROBARTS & ZOHARY 1987; SOSIK & MITCHELL 1994). Sin embargo, el experimento *in situ* mostraba que la combinación del efecto de diferentes temperaturas y diferentes exposiciones a la radiación, supone en este sistema una mejor adaptación de las bacterias a un ambiente más frío y con menos luz. Esta diferencia en los resultados obtenidos, se debe a que el experimento *in situ* es mucho más complejo; en el ecosistema intervienen multitud de factores que hacen difícil discernir los efectos de determinados factores de control, ya que muchos de ellos interactúan dando lugar a complejas respuestas. De esta forma la radiación ultravioleta parece tener un efecto negativo sobre la abundancia de bacterias metabólicamente activas y la producción bacteriana, especialmente a elevadas temperaturas (RAE & VINCENT 1998).

Con todo ello, se pueden extraer como patrones generales un aumento de la actividad bacteriana con la productividad del sistema (DEL GIORGIO *et al.* 1997), que se refleja en las bajas proporciones de bacterias activas presentes en estos sistemas oligotróficos. Pero además en este estudio se confirma la heterogeneidad en la actividad tanto de bacterias HDNA como LDNA. Por tanto, la comunidad bacterioplanctónica estaría formada por células que abarcan un continuo de estados metabólicos, desde células muertas, a células vivas y activas, pasando por células en dormancia y células con niveles de actividad pequeños y que no son detectadas por los métodos empleados.

Los factores de control de la actividad y viabilidad bacterianas estarían por tanto relacionados con las condiciones climáticas. No nos referimos sólo a factores puramente climáticos como la temperatura y niveles de radiación, sino que también factores como la disponibilidad de nutrientes o la presencia de determinados depredadores, que con anterioridad se ha visto que aparecen ligados a factores meteorológicos, determinarían la respuesta de los ecosistemas, y en concreto de las comunidades planctónicas y los procesos que tienen lugar en ellas ante el cambio climático.

Podemos concluir diciendo, que cambios en la temperatura del agua inducen cambios en los ecosistemas acuáticos tanto de forma directa como indirecta. Lo que implicaría que las condiciones climáticas son determinantes a la hora de estructurar las cadenas tróficas microbianas. Los resultados de algunos estudios demuestran que cuando el calentamiento y la sequía, actúan en combinación con otros factores de control como

los nutrientes, tienen lugar complejas respuestas por parte de los ecosistemas (CHRISTENSEN & CHRISTENSEN 2001; MOSS *et al.* 2003). En consecuencia, el calentamiento global posiblemente tiene efectos más pronunciados sobre los ecosistemas acuáticos si actúa acompañado de un incremento en la carga de nutrientes (CHRISTOFFERSEN *et al.* 2006), que es justamente los que parece que ocurre en las lagunas oligotróficas de alta montaña de Sierra Nevada, un proceso de eutrofización.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido subvencionado por el Organismo Autónomo de Parques Nacionales (129B/2003). Agradecemos las facilidades dadas por el personal del Parque Nacional de Sierra Nevada así como a Benjamín Viñegla, Cristina Torres y Antonio Jiménez por colaborar en los muestreos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AANES, R. SAETHER, B.E. SMITH, F.M. COOPER, E.J. WOOKEY, P.A. & ØRITSLAND, N.A. 2002. The Arctic Oscillation predicts effects of climate change in two trophic levels in a high-arctic ecosystem. *Ecol. Lett.* 5: 445-453.
- APHA. 1995. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19th Edition. American Public Health Association, Washington, DC.
- BAINES, S.B. WEBSTER, K.E. KRATZ, T.Z. CARPENTER, S.R. & MAGNUSON, J.J. 2000. Synchronous behaviour of temperate, calcium and chlorophyll in lakes of Northern Wisconsin. *Ecology*, 81: 815-825.
- BARON, J.S. & CAINE, N. 2000. Temporal coherence of two alpine lake basins of the Colorado Front Range, U.S.A. *Freshwat. Biol.* 43: 463-476.
- BOULOS, L. PRÉVOST, M. BARBEAU, B. COALLIER, J. & DESJARDINS, R. 1999. LIVE/DEAD BacLight: application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water. *J. Microbiol. Met.*, 37: 77-86.
- CARRILLO, P. RECHE, I. SÁNCHEZ-CASTILLO, P. & 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.
- CHRISTENSEN, J.H. & CHRISTENSEN, O.B. 2001. Regional climate scenarios. A study on precipitation. En: Jørgensen, A.M.K. Fenger, J. & Halsnæs, K. (eds.). *Climate Change Research—Danish Contributions*. Danish Meteorological Institute, 151-166 pp.
- CHRISTOFFERSEN, K. ANDERSEN, N. SØNDERGAARD, M. LIBORIUSSEN, L. & JEPPESEN, E. 2006. Implications of climate-enforced temperature increases on freshwater pico- and Nanoplankton populations studied in artificial ponds during 16 months. *Hydrobiologia*, 560: 259-266.

- COTNER, J. B. & BIDDANDA, B.A. 2002. Small players, large role: Microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. *Ecosystems*, 5: 105-121.
- CRÉACH, V. BAUDOUX, A. BERTRU, G. & LE ROUZIC, B. 2003. Direct estimate of active bacteria: CTC use and limitations. *J. Microbiol. Met.* 52: 19-28.
- DE VICENTE, I. GUERRERO, F. JIMÉNEZ-GÓMEZ, F. & CRUZ-PIZARRO, L. 2010. Settling and re-suspended particles: a source or a sink of phosphate in two contrasting oligotrophic high mountain lakes? En prensa. *C. R. Geosci.* 342: 46-52.
- DEL GIORGIO, P.A. PRAIRIE, Y.T. BIRD, D.F. 1997. Coupling between rates of bacterial production and the abundance of metabolically active bacteria in lakes, counting using CTC reduction and flow cytometry. *Microb. Ecol.* 34: 144-154.
- DOUGLAS, M.S.V. SMOL, J.P. & BLAKE, W. 1994. Marked post-18th century environmental change in high Arctic ecosystems. *Science*, 266: 416-419.
- DOWNING, A. & RIGLER, F.H. 1984. A manual on methods for assessment of secondary productivity in freshwaters. IBP Handbook No. 17, 2nd edn. *Blackwell Scientific*, Oxford, 501 pp.
- EPPLEY, R. & PETERSON, B. 1979. Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature*, 282: 677-680.
- ERICSSON, M. HANSTORP, D. HAGBERG, P. ENGER, J. & NYSTRÖM, T. 2000. Sorting out bacterial viability with optical tweezers. *J. Bacteriol.*, 182: 5551-5555.
- GARCÍA-JURADO, F. GUERRERO, F. GALOTTI, A. PARRA, G. CRUZ-PIZARRO, L. DE VICENTE, I. RUEDA, F. AMORES, V. LUCENA, V. RODRÍGUEZ, V. LEÓN, P. MORENO-OSTOS, E. BAUTISTA, B. BLANCO, J.M. ZABALA, L. GILBERT, J.D. & JIMÉNEZ-GÓMEZ, F. 2007. El plancton de las lagunas de Sierra Nevada: necesidad de estudios transdisciplinares. *M+A, Revista Electrónica de Medioambiente*, 4: 1-10.
- GASOL, J.M. ZWEIFEL, U.L. PETERS, F. FUHRMAN, J.A. & HAGSTRÖM, Å. 1999. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 4475-4483.
- HOEFEL, D. GROOBY, W.L. MONIS, P.T. ANDREW, S. & SAINT, C.P. 2003. Enumeration of waterborne bacteria using viability assays and flow cytometry: a comparison to culture-based techniques. *J. Microbiol. Methods*, 55: 585-597.
- JEPPESEN, E. SØNDERGAARD, MA. SØNDERGAARD, MO. & CHRISTOFFERSEN, K. 1997. The structuring role of submerged macrophytes in lakes. Springer-Verlag, New York. 423 pp.
- LÖYE-PILOT, M.D. MARTIN, J.M. & MORELLI, J. 1986. Influence of Saharan dust on the rain acidity and atmospheric input to the Mediterranean. *Nature*, 321: 427-428.
- MALONE, T. C. 1980. Algal size. En: I. Morris (eds.). *The physiological ecology of phytoplankton. Blackwell Scientific Publications*, Oxford, UK. 433-464.
- MCKEE, D. D. ATKINSON, S. E. COLLING, J. W. EATON, A. B. GILL, I. HARVEY, K. HATTON, T. HEYES, D. WILSON & B. MOSS, 2003. Response of freshwater microcosm communities to nutrients, fish, and elevated temperature during winter and summer. *Limnology and Oceanography* 48: 707-722.
- MEDINA-SÁNCHEZ, J.M. VILLAR-ARGÁIZ, M. SÁNCHEZ-CASTILLO, P. CRUZ-PIZARRO, L. & CARRILLO P. 1999. Structure changes in a planktonic food web: biotic and abiotic controls. *J. Limnol.* 58: 213-222.
- MONTAGNES, D.J.S. KIMMANACE, S.A. & ATKINSON, D. 2003. Using Q10: can growth rates increase linearly with temperature? *Aquat. Microb. Ecol.* 32: 307-313.
- MORALES-BAQUERO, R. CARRILLO, P. CRUZ-PIZARRO, L. & SÁNCHEZ-CASTILLO, P. 1999. Nitrogen-phosphorus relationship in high mountain lakes: effects of the size of catchment basins. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 1809-1817.
- MORALES-BAQUERO, R. CARRILLO, P. BAREA-ARCO, J. PÉREZ-MARTÍNEZ, C. & VILLAR-ARGÁIZ, M. 2006. Climate-driven changes on phytoplankton coupling and nutrient availability in high mountain lakes of Southern Europe. *Freshwat. Biol.* 51: 989-998.

- MOSS, B. MCKEE, D. ATKINSON, S. COLLINGS, S.E. EATON, J.W. GILL, A.B. HARVEY, I. HATTON, K. HEYES, T. & WILSON, D. 2003. How important is climate? Effects of warming, nutrient addition and fish on phytoplankton in shallow lake microcosms. *J. Appl. Ecol.* 40: 782-792.
- MURPHY, J. & RILEY, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 27: 31-36.
- PACE, M.L. & FUNKE, E. 1991. Regulation of planktonic microbial communities by nutrients and herbivores. *Ecology*, 72: 904-914.
- PÉREZ-MARTÍNEZ, C. BAREA-ARCO, J. CONDE-PORCUNA, J.M. & MORALES-BAQUERO, R. 2007. Reproduction strategies of *Daphnia pulicaria* population in a high mountain lake of Southern Spain. *Hydrobiologia*, 594: 75-82.
- PLANTON, S. DÉQUÉ, M. CHAUVIN, F. & TERRAY L. 2008. Expected impacts of climate change on extreme climate events. *C. R. Geosci.* 340: 564-574.
- POMEROY, L.R. & WIEBE, W.J. 2001. Temperature and substrates as interactive limiting factors for marine heterotrophic bacteria. *Aquat. Microb. Ecol.* 23: 187-204.
- PORTER, K.G. & FEIG, Y.S. 1980. Use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25: 943-948.
- RAE, R. & VINCENT, W.F. 1998. Effects of temperature and UV radiation on microbial food web structure: potential responses to global change. *Freshwat. Biol.* 40: 1-12.
- RECHE, I. CARRILLO, P. & CRUZ-PIZARRO, L. 1997. Influence of metazooplankton on interactions of bacteria and phytoplankton in an oligotrophic lake. *J. Plankton Res.* 19: 631-646.
- REYNOLDS, C.S. 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge. 384 pp.
- ROBARTS, R.D. & ZOHARY, T. 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *N.Z.J. Mar. Freshwat. Res.* 21: 391-399.
- SAVAGE, V.M. GILLOOLY, J.F. BROWN, J.H. WEST, G.B. & CHARNOV, E.L. 2004. Effects of body size and temperature on population growth. *Am. Nat.* 163: 429-441.
- SCHEFFER, M. CARPENTER, S. FOLEY, J.A. FOLKE, C. & WALKER, B. 2001. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*, 413: 591-597.
- SOLOMON, S. QIN, D. MANNING, M. CHEN, Z. MARQUIS, M. AVERYT, K.B. TINGOR, M. & MILLER, H.L. 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). *Summary for Policymakers*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. & New York, N.Y.
- SOSIK, H.M. & MITCHELL, B.G. 1994. Effects of temperature on growth and light absorption in *Dunaliella tertiolecta*. *J. Phycol.* 30: 833-840.
- SOVARI, S. & KORHOLA, A. 1998. Recent diatom assemblage changes in subarctic Lake Saanajärvi, NW Finnish Lapland, and their palaeoenvironmental implications. *J. Paleolimnol.* 20: 205-215.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.* 9: 1-39.
- VAN DAM, J.C. 1999. Impact of climate change and climate variability on hydrological regimes. *International Hydrology Series*. Cambridge University Press, Cambridge, 156 pp.
- VILLAR-ARGÁIZ, M. MEDINA-SÁNCHEZ, J.M. CRUZ-PIZARRO, L. & CARRILLO, P. 2001. Inter- and intra- annual variability in the phytoplankton community of a high mountain lake: the influence of external (atmospheric) and internal (recycled) sources of phosphorus. *Freshwat. Biol.* 46: 1017-1034.
- WEBSTER, K.E. KRATZ, T.K. BOWSER, C.J. MAGNUSON J.J. & ROSE, W.J. 1996. The influence of landscape position on lake chemical responses to drought in northern Wisconsin. *Limnol. Oceanogr.* 41: 977-984.