



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Interacciones tróficas y distribución de los crustáceos planctónicos de los Pirineos

Danilo Buñay Chicaiza

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**Interacciones tróficas y distribución de los crustáceos
planctónicos de los Pirineos**

Danilo Buñay Chicaiza

Tesis Doctoral

Contra portada

Fotografía del Estany d'Engorgs durante el muestreo en el verano del 2011, tomada por Alex Mirò

TESIS DOCTORAL

Universitat de Barcelona

Facultat de Biologia

Departament de Biologia Evolutiva, Ecologia i Ciències Ambientals

Programa de doctorado en Ecologia Fonamental i Aplicada

Interacciones tróficas y distribución de los crustáceos planctónicos de los Pirineos

Interaccions tròfiques i distribució dels crustacis planctònics dels Pirineus

Memòria presentada per Danilo Fernando Buñay Chicaiza per optar al grau de doctor per la Universitat de Barcelona

Danilo Fernando Buñay Chicaiza

Blanes, juliol 2017

Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CEAB)
Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC)

Vist i plau

El director de la tesi

Dr. Marc Ventura Oller

Investigador del CEAB-CSIC

Vist i plau

La tutora de la tesi

Dra. Marisol Felip i Benach

Professora UB

A la Hildi,
mi madre

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mi director Marc Ventura por su apoyo, supervisión y paciencia durante estos años de estudio y aprendizaje.

En segundo lugar al Gobierno del Ecuador (2007-2017) y a la Secretaria Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (SENESCYT) por financiar mi doctorado con la beca: 20090187-20130946.

Agradezco también a la dirección y administración del Centre d'Estudis Avançats de Blanes (CEAB-CSIC), del Centro de Reserca de Alta Montanya (CRAM) y del Departamento de Biología Evolutiva, Ecología i Ciències Ambientals de la Universitat de Barcelona (UB) por el apoyo y las facilidades prestadas.

Especialmente quiero agradecer a las personas que en estos años han compartido mi trabajo y colaborado en el desarrollo de esta tesis: Alex Miró por reunir los datos de anfibios y peces además del análisis del hábitat del litoral y temperatura de las masas de agua. Lluís Camarero por su apoyo en la logística y análisis de laboratorio. Teresa Buchaca por analizar los grupos del fitoplancton y ayudarme en el capítulo 1. María Miracle (+) por su aporte de información y críticas taxonómicas. David Alonso por el cálculo de las tasas de colonización-extinción. Ibor Sabas y Jennifer Caner por su apoyo en el laboratorio y grata compañía. Así como a las personas que estuvieron en las campañas de muestro: Alex Miró, Ibor Sabas, Marta Bonastre, Tommas Larsen, María Villa, Sandra López y Roser Farres.

Agradezco a las profesoras y profesores que dieron su tiempo para ayudarme. Isabel Muñoz, Jordi Catalan, Marisol Felip y Francesc Oliva.

Quiero expresar mi aprecio a las personas que pude llegar a conocer en mi estancia en el CEAB. Aquellas que me permitieron trabajar cómodamente (Dani, Ma. Angeles, Gema, Carmela, Susana, Marta, Concha y Margarita), a quienes solucionaron mis problemas logísticos (Ramón y Ángel) o me dieron una mano en el laboratorio (Gustavo, Roser y Montserrat). A todos los compañeros y compañeras con quienes compartí la *cena de empresa*, el café de las 11 o la comida de las 14 que con el tiempo dejaron de ser rutina y se volvieron familiares (Nuria C., Federica, Fede, Susana, Joao, Mirco, Vicente, Sara R., Rudi, Guillermo, Jordi P., Nixon, Marc T., Francesco, Chiara, Miquel R., Guillem, María C., Magda, Celia, Víctor, Aitana, Steffi, Lili, Tatiana, Marielena, Pau, Ada, Carlos P., Carlos R., Paola M., Paola

S., Lluís, Nayeli, Leire y Miguel). Al personal de servicio cuya empatía siempre me vino bien (Mary, Emma, Anna, Asunción y Víctor).

Quiero mencionar a Jessica, Mayra, Elvis y sus respectivas familias. Amigos, quienes me han acompañado durante estos años.

Finalmente agradezco a mi madre (Hilda), mi abuelo (Luis+), hermanas (Sandra y Amparito), hermano (Geovanny) y resto de mi familia (Juan-Carlos, Sandrita, Francis, Andreita, Juanca, Pablito y Pamelita) que han tenido la paciencia y me han dado su apoyo y cariño en estos años lejos del hogar.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	5
1.1. CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS ENTRE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA.....	5
1.2. HISTORIA NATURAL DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LOS LAGOS DE ALTA MONTAÑA	6
1.3. ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE ALTA MONTAÑA.....	7
1.4. EL PAPEL DE LA COMPETENCIA Y LA DEPREDACIÓN EN LAS REDES TRÓFICAS DEL PLANCTÓN	12
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. EL TAMAÑO DEL ECOSISTEMA DETERMINA UN GRADIENTE EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA	21
4. UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN PREDICE LA OCURRENCIA DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA DE LOS PIRINEOS	53
5. RELEVANCIA DEL FILTRO AMBIENTAL Y LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTACEOS PLANCTÓNICOS.....	71
6. DEPREDACIÓN, COMPETENCIA Y USO DEL HÁBITAT DE <i>GAMMARUS</i> CF. <i>ALPINUS</i> EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA.....	99
7. DISCUSIÓN GENERAL.....	131
8. CONCLUSIONES.....	139
BIBLIOGRAFÍA.....	145
GLOSARIO.....	167
ANEXOS.....	173

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS ENTRE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA

El estudio de las masas de agua se ha concentrado tradicionalmente en lagos grandes y profundos en regiones de actividad glacial geológicamente reciente donde estos sistemas abundan. Por otro lado, los millones de lagos poco profundos y lagunas son menos espectaculares pero igual de importantes (Wetzel, 2001). Hasta hace poco tiempo, las lagunas continentales tuvieron un papel secundario en el estudio de los procesos y ciclos globales (Downing, 2010). Una revisión de Oertli *et al.* (2009) mostró que las publicaciones científicas sobre lagunas han aumentado en los últimos años, particularmente en temas de diversidad, pero aún son minoritarias comparadas con los estudios en lagos y otros sistemas de agua dulce. Estimaciones recientes han mostrado que la extensión superficial de las masas de agua más pequeñas han sido subestimadas (Downing *et al.*, 2006, Seekell & Pace, 2011) demostrando que las lagunas y charcas dominan la extensión superficial de las aguas continentales corrigiendo la idea equivocada que los lagos grandes eran más importantes (Downing, 2010).

Un problema fundamental es la ausencia de límites claros para diferenciar un lago de una laguna, ya que comparten características estructurales y funcionales, por lo que, la transición entre los dos tipos de sistema es muy gradual, incluso considerar límites de superficie o profundidad puede parecer lógico pero no dejan de ser artificiales (De Meester *et al.*, 2005, Sondergaard *et al.*, 2005). Estudios limnológicos en sistemas alpinos han utilizado como criterio para discriminar entre lagos y lagunas la superficie de 0.5 ha (Catalan *et al.*, 2009a, 2009b). La superficie del lago es proporcional a su volumen en todos los lagos de alta montaña debido a su origen común. Diversos análisis han mostrado que muchos procesos son más intensos en los sistemas acuáticos pequeños (Downing, 2010), por ejemplo el pequeño volumen de una laguna impide un proceso de estratificación térmica y su carga de nutrientes es probablemente más alta, además las tasas de reciclaje de los nutrientes son más rápidas en lagos poco profundos que en lagos profundos (Wetzel, 2001). En los lagos se ha considerado tradicionalmente que el fósforo (P) es el elemento limitante de los productores primarios, sin embargo la limitación por nitrógeno (N) es posible y supondría una relación sinérgica entre P y N (Lewis & Wurtsbaugh, 2008). Información experimental ha demostrado que la acumulación de biomasa del fitoplancton puede estar limitada tanto por P como

por N (Elser *et al.*, 2009). En la actualidad se ha observado un aumento de la deposición atmosférica de fósforo que puede causar cambios en la limitación de P a N en el fitoplancton (Camarero & Catalan, 2012).

Los Pirineos constituyen un sistema montañoso que se distribuye desde el Océano Atlántico hasta el Mar Mediterráneo al norte de la Península Ibérica. En el Pirineo existen alrededor de 1000 lagos grandes que conforma una distrito lacustre con su propia identidad ecológica (Catalan *et al.*, 2009b), mientras que el número de lagunas y charcas es mucho mayor (alrededor de 4500). Los lagos en el Pirineo han sido estudiado en detalle tanto en sus características abióticas (*e.g.* Catalan *et al.*, 1993, Bartrons *et al.*, 2010, Camarero & Catalan, 2012) como bióticas (*e.g.* Gacia *et al.*, 1994, Camarero *et al.*, 1999, Felip *et al.*, 1999) pero las lagunas y charcas no han sido estudiadas prácticamente hasta el momento (Figura 1.1).



Figura 1.1: Masas de agua del Pirineo; (A) un lago grande profundo, *Estany Gerber*, (B) un lago poco profundo, *Estany Mort* y (C) una laguna, *Bassa negra de baix 10*. Fotos: Buñay D.

1.2. HISTORIA NATURAL DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LOS LAGOS DE ALTA MONTAÑA

El plancton de los lagos de alta montaña se caracteriza por tener un número muy reducido de especies consumidoras (Catalan *et al.*, 2009b, Kernan *et al.*, 2009). Los cladóceros del género *Daphnia* son los consumidores primarios más abundantes del plancton (Gliwicz *et al.*, 2001, Ventura & Catalan, 2005) son fundamentales en la cadena trófica (Vandenbosch & Santer, 1993, Wilhelm & Schindler, 1999) y normalmente hay una sola especie por lago. También puede haber entre una y dos especies de copépodos, *Cyclopoida* o *Calanoida*, cuyos hábitos alimenticios varían según su etapa de desarrollo, los nauplios son herbívoros y los copepoditos como los adultos se consideran habitualmente omnívoros. Especies como *Cyclops abyssorum* Forbes, tiene una plasticidad notable, puede sobrevivir tanto como herbívoro o como carnívoro (Vandenbosch & Santer, 1993, Ventura & Catalan,

2008) y depredar activamente sobre los individuos de *Daphnia* (Gliwicz & Umana, 1994, Ventura & Catalan, 2008) o sobre sus huevos cuando los copepoditos CI-CIII ingresan a la cámara incubadora (Gliwicz & Stibor, 1993, Gliwicz & Lampert, 1994, Hanazato & Dodson, 1995). En algunos lagos con suficiente grado de mineralización se puede encontrar alguna especie de anfípodo del género *Gammarus* (Zehmer *et al.*, 2002). En sistemas acuáticos de agua dulce del norte de Europa se ha descrito *Gammarus lacustris* (Sars 1863) (Vainio & Väinölä, 2003). Los *Gammarus* del Pirineo se han descrito como un relicto boreo-alpino que llegaron por dispersión desde Escandinavia a finales del holoceno, asociado con el deshielo de los glaciales en la última glaciación (Margalef, 1983). Los *Gammarus* se encuentran solo en los extremos del Pirineo, coincidiendo con los primeros puntos liberados del hielo, esto apunta a que está realmente en esta cordillera desde hace más de diez mil años. Trabajos sobre la filogenia (Hou *et al.*, 2007) y distribución biogeográfica (Väinölä *et al.*, 2008) de los anfípodos, aportaron elementos de juicio que cuestionan la presencia de la especie *G. lacustris* en los Pirineos. Alther *et al.* (2016) presentó un análisis morfológico, genético y biogeográfico donde redefine las poblaciones de *G. lacustris* de los Alpes como *G. alpinus* sp. nov. Resultados preliminares de nuestro grupo indican que los *Gammarus* del Pirineo son filogenéticamente próximos a *G. alpinus* sp. nov., antes que a *G. lacustris* (M. Ventura comunicación personal).

1.3. ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE ALTA MONTAÑA

1.3.1. FILTRO AMBIENTAL Y EFECTO PRIORITARIO EN LA INCIDENCIA DE ESPECIES

Una especie ha podido ocupar un espacio estable como respuesta a los factores bióticos, abióticos y el uso de los recursos (Grinnell, 1917, Hutchinson, 1958), sumándose a la comunidad y a la diversidad local cuando adquiere un rol empezando por su propio nivel trófico (Elton, 1927, Macarthur & Levins, 1967). Cuando los primeros colonizadores llegan a monopolizar efectivamente los recursos producirán un fuerte efecto prioritario que evitará que la llegada de nuevos colonizadores pueda fijar sus genes (De Meester *et al.*, 2002). La diversidad local es el resultado tanto de los procesos globales de dispersión y producción de las especies, como sus circunstancias históricas particulares (Ricklefs, 1987). El enfoque ecológico tradicional asocia la composición de la comunidad con un proceso que ordena las especies de acuerdo a un gradiente ambiental. Actualmente

existe un consenso que las comunidades son ensambladas por una combinación de factores abióticos, interacciones bióticas, efectos prioritarios y procesos de dispersión (Leibold *et al.*, 2004). Los procesos locales son importantes para la diversidad del zooplancton porque generan diferencias entre los lagos dentro de una región biogeográfica (Shurin *et al.*, 2000). Las comunidades de lagos y lagunas son buenos ejemplos de cómo las especies son filtradas por factores ambientales y existen solamente en sitios ambientalmente adecuados (Beisner *et al.*, 2006, Chase, 2007, Mergeay *et al.*, 2011).

1.3.2. ESPACIO Y AMBIENTE EN EL ENSAMBLAJE DE LA COMUNIDAD

Las dinámicas espaciales pueden influir en los procesos locales cuando las comunidades están directamente conectadas unas con otras (Cottenie & De Meester, 2003). La conexión de un conjunto de especies mediante la dispersión desde un grupo de comunidades locales con el potencial de interactuar conformará una metacomunidad (Wilson, 1992). A la vez, en una metacomunidad las interacciones locales y la dispersión serán críticas para determinar la coexistencia de las especies en el pool regional (Mittelbach & Schemske, 2015). A escala regional los procesos evolutivos dominan, en particular, la especiación y la migración de nuevas especies son balanceadas con la extinción local de especies a través del desplazamiento competitivo, deriva demográfica o eventos catastróficos (Chave, 2011), (Figura 1.2). El enfoque ecológico tradicional asocia la composición de la comunidad a un proceso de clasificación de especies por una dinámica espacial que depende de las condiciones ambientales locales (*specie sorting*), no obstante, la interacción y demografía de las comunidades locales podrían estar influenciadas por otro tipo de dinámicas espaciales, como el flujo de individuos desde comunidades donde son malos competidores hacia otras comunidades donde son buenos competidores (*mass effect*) (Shmida & Wilson, 1985) o una dinámica espacial en la cual hay una mejora de las poblaciones locales deficientes por la migración desde poblaciones más productivas (*source-sink effects*) (Pulliam, 1988). En la actualidad trabajos empíricos y teóricos sobre metacomunidades descansan sobre cuatro modelos paradigmáticos que destacan: la heterogeneidad ambiental, los procesos de dispersión, el nicho o la neutralidad descritos en Leibold *et al.* (2004).

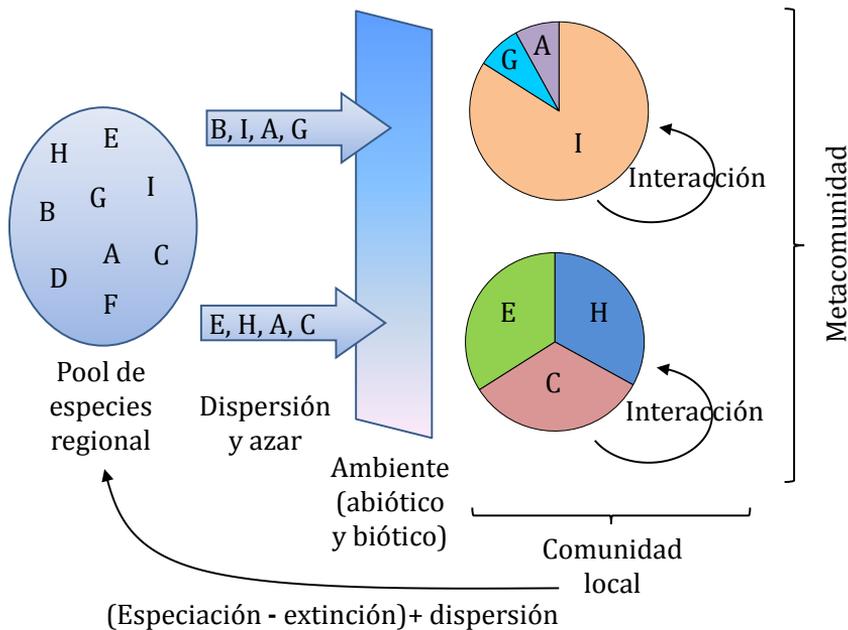


Figura 1.2: Las comunidades locales comprenden un subgrupo de especies del pool regional que han pasado a través del filtro ambiental. La especiación añade nuevas especies al pool de especies regional. La extinción remueve otras y la dispersión permite la persistencia de especies que de otra manera se extinguirán. Tomado de Mittelbach & Schemske (2015).

La estructura espacial es un componente fundamental del ecosistema (Levin, 1992). Existe una amplia discusión como integrar el valor de la estructura espacial en los sistemas naturales (Borcard *et al.*, 1992, Legendre, 1993, Dale *et al.*, 2002, Cottenie, 2005, Beisner *et al.*, 2006, Blanchet *et al.*, 2008b, Peres-Neto & Legendre, 2010, Dray *et al.*, 2012, Heino *et al.*, 2014) y cómo puede determinar la coexistencia de las especies (Tilman, 1994, Chase & Leibold, 2002, Keitt *et al.*, 2002, Kneitel & Chase, 2004, Bertuzzo *et al.*, 2011). Legendre & Legendre (2012) consideran que la estructura espacial puede aparecer por dos procesos. El primero una dependencia espacial inducida por la dependencia funcional de una variable respuesta Y (*e.g.* las especies) sobre una variable explicativa X (*e.g.* el ambiente), es decir, las especies han adquirido la estructura espacial del ambiente, este modelo es el fundamento de la teoría de nicho de Hutchinson (1958). En un segundo proceso, la dependencia espacial puede aparecer en la distribución de especies como el resultado de procesos neutrales (deriva ecológica y dispersión), que crean autocorrelación espacial (*sensu stricto*) en las variables respuesta, es decir el proceso que ha producido los valores de la especie es espacial y ha generado correlación entre las observaciones (Figura 1.3). Los lagos han sido un caso de interés para cuantificar la

estructura espacial y la heterogeneidad ambiental en la estructura de la comunidad, particularmente con las comunidades de zooplancton (Pinel-Alloul *et al.*, 1995, Shurin *et al.*, 2000, Havel *et al.*, 2002, Frisch *et al.*, 2012, Pinel Alloul & Mimouni, 2013, Gascón *et al.*, 2016).

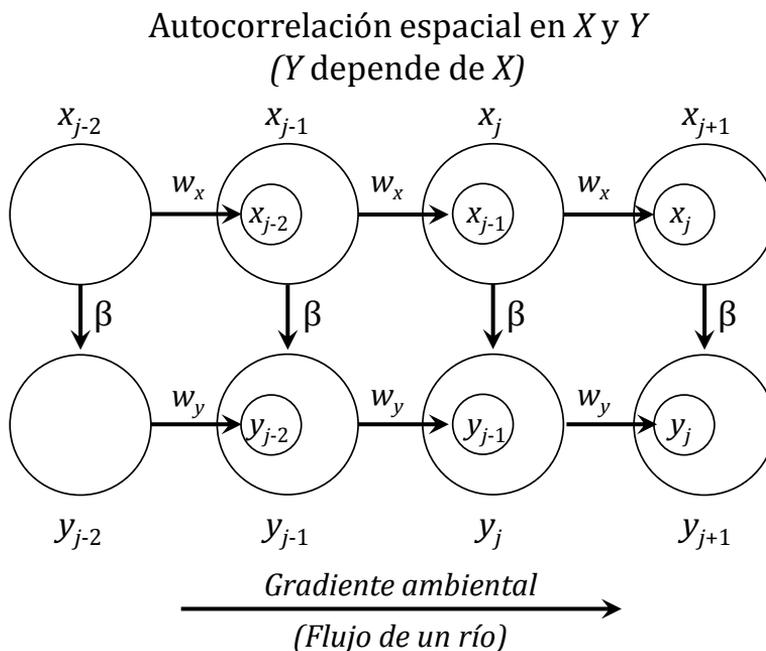


Figura 1.3: Representación del caso más complejo pero frecuente en la naturaleza de cómo la estructura espacial puede originarse de acuerdo a la autocorrelación espacial más la dependencia espacial inducida. Utilizamos un sistema simple de cuatro lagunas (círculos grandes) conectadas por un río para ilustrar el caso. La fila superior de círculos representa la variable ambiental X (*e.g.* altitud) mientras la fila inferior describe la variable respuesta Y (*e.g.* abundancia de crustáceos). Hay una dependencia espacial inducida porque la estructura espacial observada en Y refleja la estructura espacial auto-correlacionada de X a través de la dependencia funcional de Y según X. Las flechas indican la transferencia de la fracción aleatoria (j-2) al objeto más cercano (j-1) (círculo pequeño dentro del círculo más grande) y así continuamente a la cadena de objetos. W representa el peso de la influencia de los sitios vecinos. β representa una constante de la dependencia funcional de Y según X. Y_j representa la variable respuesta Y en el sitio j. Tomado de Legendre & Legendre (2012).

1.3.3. LA COMPETENCIA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS ESPECIES

Darwin escribió en el *Origen de las Especies* que las especies del mismo género tienden a ser ecológicamente más similares y deben, por lo tanto, competir más severamente que las especies de distinto género. La competencia es la relación más

ubicua entre las especies (Amarasekare, 2011) y es un paradigma clásico para entender la diversidad de las especies (Hutchinson, 1959), la estructura de la comunidad por las relaciones tróficas (Hairston *et al.*, 1960, Tilman, 1994) o las relaciones filogenéticas (Webb, 2000). La competencia puede conducir los patrones de coocurrencia de especies por el principio de exclusión competitiva (Hardin, 1960). Desde un punto de vista evolutivo, la exclusión competitiva causará la coocurrencia de taxones filogenéticamente cercanos (especies) con menos frecuencia de lo esperado por el azar (Webb *et al.*, 2002, Cavender-Bares *et al.*, 2009) (Figura 1.4). La competencia entre las especies de las comunidades del zooplancton ha sido estudiada ampliamente (DeMott & Kerfoot, 1982, Vanni, 1986, Schwartz & Hebert, 1989, Boersma, 1995, Shurin & Allen, 2001). El papel de la competencia con independencia de los cambios ambientales y perturbaciones que intervienen en el ensamblaje de la comunidad de crustáceos sigue siendo un tema en discusión.

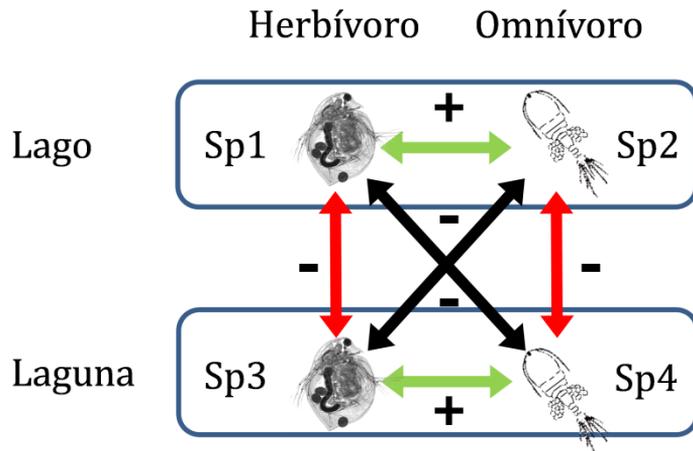


Figura 1.4: Ejemplos de interacciones entre las especies. Las especies pueden coocurrir con más frecuencia de lo esperado por azar cuando sus requerimientos ambientales convergen (flechas verdes). Las especies coocurrirán con menos frecuentes de lo esperado por azar por exclusión competitiva si son filogenéticamente cercanas (flechas rojas). Las especies pueden estar condicionadas por las interacciones con otra especie y coocurrir con menos frecuencia de lo esperado por azar debido a una interacción indirecta (flechas negras). Imagen del copépodo tomada de internet.

1.4. EL PAPEL DE LA COMPETENCIA Y LA DEPREDACIÓN EN LAS REDES TRÓFICAS DEL PLANCTÓN

La competencia puede actuar de manera directa interfiriendo, limitando o reduciendo tanto la aptitud como el equilibrio de la densidad poblacional o ambas, en un competidor (Pianka, 2000). La competencia puede actuar de manera indirecta cuando dos o más poblaciones usan los mismos recursos y cuando los recursos son escasos, esto puede ocasionar que un competidor superior desplace a un competidor inferior (Amarasekare, 2011). La depredación es direccional en el sentido que un miembro (el depredador) se beneficia de la interacción mientras el otro (la presa) es afectado adversamente (Pianka, 2000). El impacto de la depredación en las comunidades va más allá del efecto directo de la mortalidad sobre la presa, además puede conducir un encadenamiento de interacciones indirectas que afectan muchas otras especies, puede liberar espacio y recursos que permitirán a competidores inferiores o escasos ser más capaces de soportar la depredación para persistir (Holt, 2009). La depredación tiene un profundo impacto en el origen y mantenimiento de la diversidad y es un elemento clave en los sistemas ecológicos.

En muchas masas de agua del Pirineo el principal depredador son los peces introducidos por el ser humano desde hace muchos años (Miró & Ventura, 2013), no obstante en masas de agua libre de peces las interacciones de depredación y competencia entre las especies son menos conocidas. Estudios de las relaciones tróficas en el Pirineo son escasos y restringidos a muy pocos lagos. Catalan *et al.* (2004) realizaron una descripción de toda la cadena alimenticia del estany Redon (Pirineos centrales) utilizando isótopos estables. Ventura & Catalan (2008) examinaron con más detalle las relaciones tróficas de los crustáceos planctónicos en el mismo lago y demostraron la depredación del *C. abyssorum* sobre la *Daphnia pulicaria*. Las especies de *Gammarus* son miembros conspicuos de las comunidades bentónicas de agua dulce y son descritos generalmente como detritívoros y carroñeros (McGrath & Matthews, 2000, Zimmer & Bartholme, 2003), pero se ha encontrado que pueden ser depredadores muy activos e influir en la estructura de la comunidad del zooplancton en lagos donde no hay peces (Wilhelm *et al.*, 1999, Wilhelm & Schindler, 1999, 2001, Zadereev *et al.*, 2010). Las redes tróficas de los lagos de alta montaña se caracterizan por tener un número reducido de especies consumidoras debido a su naturaleza oligotrófica y ambiente extremo (Catalan *et al.*, 2009a, Kernan *et al.*, 2009) por ello son ideales para estudiar las interacciones y relaciones tróficas entre las especies.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

INTERACCIONES TRÓFICAS Y DISTRIBUCIÓN DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LOS PIRINEOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de esta tesis fue estudiar la importancia de los factores ambientales y las relaciones entre las especies que intervienen en el ensamblaje de las comunidades, utilizando como modelo los crustáceos planctónicos de los lagos y lagunas de alta montaña de los Pirineos.

En el **capítulo 3** estudiamos las diferencias entre las características bióticas, abióticas y espaciales entre los lagos y lagunas de alta montaña. En el **capítulo 4** predecimos la ocurrencia de los crustáceos con un modelo de colonización-extinción y estimamos su persistencia local y regional. En el **capítulo 5** valoramos la importancia del filtro ambiental, la dispersión y la exclusión competitiva en el ensamblaje de las comunidades. En el **capítulo 6** estudiamos la red trófica de la comunidad en masas de agua de diferente tamaño y testamos experimentalmente la relevancia de la depredación y la competencia entre las especies del zooplankton de un lago poco profundo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

EL TAMAÑO DEL ECOSISTEMA DETERMINA UN GRADIENTE EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA

Los lagos de los Pirineos ha sido muy estudiados, se caracterizan por ser relativamente pequeños, fríos, oligotróficos, diluidos y tener una baja diversidad de especies (*e.g.* Miracle, 1978, Catalan *et al.*, 1993, Gacia *et al.*, 1994, Felip *et al.*, 1999, Catalan *et al.*, 2006, Catalan *et al.*, 2009b, Camarero & Catalan, 2012). En cambio las lagunas y charcas de pequeño tamaño no han sido estudiadas prácticamente hasta el momento. La hipótesis planteada fue que un gradiente de tamaño del ecosistema puede estar relacionado con un gradiente en el nivel trófico. Por esto, el objetivo del **capítulo 3** fue comparar el estado trófico de lagos y lagunas de alta montaña y estudiar cómo los grupos del fitoplancton cambiaban en estos ecosistemas. Para esto i) comparamos la concentración en iones mayoritarios y nutrientes de los lagos y lagunas, ii) comparamos la disponibilidad relativa de nitrógeno o fósforo

entre lagos y lagunas, iii) estudiamos la variabilidad de los principales grupos de fitoplancton de acuerdo con las variables ambientales, espaciales y biológicas.

UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN PREDICE LA OCURRENCIA DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA DE LOS PIRINEOS

La estabilidad de las comunidades puede ser analizada apropiadamente con datos de presencia-ausencia en una serie temporal, cuando la extinción llega a ser frecuente y donde los datos cuantitativos de abundancia de especies son difíciles de obtener (Rahel, 1990). Nosotros esperamos que las comunidades de crustáceos de los lagos y lagunas de alta montaña sean estables en el tiempo. En el **capítulo 4** utilizamos la información de presencia-ausencia de los crustáceos planctónicos en 404 masas de agua del Pirineo reunida en un periodo de 40 años para estudiar la estabilidad de las comunidades de crustáceos en el tiempo, para ello: i) determinamos la ocurrencia de las especies según sus tasas de colonización-extinción y ii) cuantificamos la persistencia local y regional de las especies.

RELEVANCIA DEL FILTRO AMBIENTAL, LA DISPERSIÓN Y LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTACEOS PLANCTÓNICOS

En el **capítulo 5** estudiamos como el filtro ambiental y la exclusión competitiva determinan el ensamblaje de los crustáceos del plancton o si es una consecuencia de procesos estocásticos de dispersión. Se espera que los animales con baja capacidad de dispersión tengan mayor probabilidad de adaptación local y menor dispersión efectiva (Bohonak & Jenkins, 2003). La primera hipótesis fue que existe un gradiente del ambiente respecto al espacio entre los grupos taxonómicos donde la importancia relativa del ambiente es mayor para *Cyclopoidea* > *Branchiopoda* > *Calanoida* que el espacio y viceversa. Las especies estrechamente relacionadas ocurren en diferentes comunidades, posiblemente como resultado de la competencia actual o pasada, mientras las especies ecológicamente más parecidas tendrán una coocurrencia mayor de lo esperado por azar (Cavender-Bares & Wilczek, 2003). La segunda hipótesis fue que las especies filogenéticamente más próximas tendrán una coocurrencia menor de lo esperado por azar en un patrón de repulsión filogenética. De acuerdo con esto, nuestros objetivos fueron: i) determinar el filtro ambiental del conjunto de especies y de los tres principales grupos taxonómicos (*Cyclopoida*, *Branchiopoda* y *Calanoida*), ii) valorar la

importancia relativa del ambiente respecto al espacio de acuerdo a la teoría de metacomunidad y iii) comprobar si la exclusión competitiva tiene un efecto significativo al margen del filtro ambiental en el ensamblaje de las comunidades.

DEPREDACIÓN, COMPETENCIA Y USO DEL HÁBITAT DE *GAMMARUS* CF. *ALPINUS* EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA

Los anfípodos del género *Gammarus* pueden ocupar el espacio pelágico, profundo o litoral (Wilhelm & Schindler, 1999, Zadereev *et al.*, 2010) y tener una dieta basada en detritus y restos vegetales (Zimmer & Bartholme, 2003) pero también puede depredar sobre las larvas acuáticas de insectos (*e.g.*, Mminshall, 1967, Kelly *et al.*, 2002a, Weidman *et al.*, 2011), crustáceos planctónicos (*e.g.*, Wilhelm & Schindler, 1999) u otros anfípodos (*e.g.*, Dick *et al.*, 1993). La hipótesis que nos planteamos fue que *Gammarus* puede consumir tanto organismos del plancton como del bentos y modificar la comunidad del zooplancton. El objetivo del **capítulo 6** fue cuantificar la importancia del plancton y del bentos en la dieta de *Gammarus* y valorar su papel ecológico en la estructura de la comunidad planctónica. Para responder a este objetivo, *i)* estimamos la dieta de *Gammarus* mediante la señal isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en tres masas de agua de distinta profundidad, enfatizando las diferencias entre la contribución de los hábitats planctónico y bentónico y *ii)* evaluamos experimentalmente la función depredadora de *Gammarus* o su interacción con otros depredadores en la comunidad del zooplancton.

CAPÍTULO 3

EL TAMAÑO DEL ECOSISTEMA DETERMINA
UN GRADIENTE EN LA DISPONIBILIDAD DE
FÓSFORO EN LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA
MONTAÑA

3. EL TAMAÑO DEL ECOSISTEMA DETERMINA UN GRADIENTE EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA

RESUMEN

Las características limnológicas de lagunas y lagos someros están menos descritas que las de lagos más grandes. En general la disponibilidad de fósforo es menor que el nitrógeno para la producción de algas en aguas dulces; sin embargo, en algunos ambientes muy productivos la disponibilidad de nitrógeno puede ser el más limitante para el fitoplancton. Estudiamos las características limnológicas y en particular la variabilidad relativa del nitrógeno y fósforo y su relación con la composición del fitoplancton en 208 masas de agua (74 lagos y 134 lagunas) de los Pirineos. El tamaño del ecosistema determinó un gradiente de disponibilidad de fósforo respecto al nitrógeno en lagos y lagunas de alta montaña de los Pirineos, junto con la proporción de vegetación en la orilla y la temperatura. Los lagos mostraron bajas concentraciones de fósforo total (TP) y nitrógeno total (TN), una característica de sistemas ultra-oligotróficos, mientras que las lagunas tenían un rango de concentración más amplio de TP y TN presentando un gradiente de continuidad trófica, de oligotrófico a eutrófico. En los sistemas pequeños el N de fuentes orgánicas tenía más importancia, mientras que en los lagos la tenía el N de fuentes inorgánicas. Las masas de agua con mayor probabilidad de estar limitadas por P tenían concentraciones significativamente menores de Chl-a que las limitadas por N según los cocientes TN/TP y DIN/TP. La biomasa de clorófitas y criptófitas fue significativamente menor en los sistemas limitados por P que en los limitados por N.

INTRODUCCIÓN

Hasta muy recientemente, las masas de agua continentales de menor profundidad se habían ignorado completamente en los estudios de procesos y ciclos globales porque se creía que tenían una baja representatividad (Downing, 2010). Inventarios recientes basados en aproximaciones geográficas han revelado que las aguas continentales ocupan casi el doble del área que se creía anteriormente (Downing *et al.*, 2006). Además, estos inventarios han mostrado que las lagunas y lagos poco profundos superan en extensión superficial a la de los grandes lagos (Downing, 2010) confirmando que su extensión espacial había sido históricamente subestimada (Downing *et al.*, 2006, Seekell & Pace, 2011). Diversos análisis han resaltado el papel de los sistemas acuáticos de poca profundidad sobre los ciclos globales, por ejemplo del carbono (Downing, 2009, Tranvik *et al.*, 2009). Aun así las características limnológicas de lagunas y lagos poco profundos están menos descritas que las de los lagos grandes y más profundos (Oertli *et al.*, 2009).

Las lagunas y lagos poco profundos comparten características estructurales y funcionales que hacen que la transición entre los dos tipos de sistema sea gradual, por lo que no se han establecido límites claros entre unos y otros. Considerar límites de superficie o profundidad puede parecer lógico pero no dejan de ser artificiales (De Meester *et al.*, 2005, Sondergaard *et al.*, 2005). Diversos análisis han mostrado que muchos procesos son más intensos en los sistemas acuáticos pequeños (Downing, 2010), por ejemplo el pequeño volumen de una laguna impide un proceso de estratificación térmica y su carga de nutrientes es probablemente más alta, además las tasas de reciclaje de los nutrientes son más rápidas en lagos poco profundos que en lagos profundos (Wetzel, 2001). Las lagunas temporales y charcas son periódicamente inundadas por la precipitación y escorrentía o están secas en un momento del año favoreciendo la oxidación de la materia orgánica, pueden tener una mayor entrada de materia orgánica alóctona y el metabolismo microbiano béntico tiene más importancia (Wetzel, 2001).

En la mayoría de lagos de la zona templada, la producción primaria está limitada por la disponibilidad de fósforo (P) (Lewis & Wurtsbaugh, 2008). En los lagos de alta montaña la deposición atmosférica de N ha aumentado desde fuentes antropogénicas en las últimas décadas incrementando la limitación de P en estos ecosistemas (Schindler, 1977, Bergström & Jansson, 2006, Elser *et al.*, 2009, Camarero & Catalan, 2012). Sin embargo el aumento de la deposición de P atmosférico más la tendencia decreciente de nitrógeno inorgánico disuelto (DIN)

de las últimas décadas podría revertir la limitación por P a una limitación por N del fitoplancton en el futuro (Camarero & Catalan, 2012). De hecho, ya se está produciendo en algunos lagos (Elser *et al.*, 2009). Las lagunas, a diferencia de los lagos, pueden tener una limitación menor de P ya que, al no estratificarse de manera permanente hay una mayor recirculación de los nutrientes desde el sedimento a la columna de agua. Su menor volumen ocasiona que puedan llegar a secarse en verano y/o congelarse completamente en invierno lo que acelera la oxidación de la materia orgánica y posterior movilización del P desde el sedimento, también hay una mayor proporción que son distróficas, condiciones que favorecen la redisolución del fosfato (Wetzel, 2001).

Los organismos foto-autótrofos del fitoplancton, algas y cianobacterias, coexisten como un ensamblaje complejo, con características taxonómicas y fisiológicas diversas que responden a las condiciones espaciales, físico-químicas o biológicas de una masa de agua (Wetzel, 2001). La composición taxonómica y la diversidad de sus especies pueden cambiar al aumentar la concentración de nutrientes (Phillips *et al.*, 2013). Las formas coloniales de crisófitas (Chrysophyceae) pueden llegar a ser el principal componente del fitoplancton de lagos oligotróficos por su habilidad en asimilar fosfato eficientemente del ambiente cuando este se encuentra en concentraciones extremadamente bajas, también se adaptan a niveles bajos de temperatura y luz (Roiackers 1986 en Wetzel, 2001). Las clorófitas (Chlorophyta) son un grupo amplio y morfológicamente diverso que tiene una distribución ubicua en las masas de agua dulce. Las criptófitas (Cryptophyta) ocurren en casi todos los lagos independientemente de su estado trófico, particularmente son comunes en lagos oligotróficos (Wetzel, 2001) y generalmente aprovechan mejor el incremento de nutrientes cuando sus concentraciones son altas (Drakare *et al.*, 2002). Las diatomeas (Bacillariophyceae) es un grupo muy importante del fitoplancton y del sustrato litoral en sus formas sésiles y son bastante abundantes y diversas en las masas de agua (Wetzel, 2001). Las cianobacterias (Cyanobacteria) tienen algunas representantes capaces de fijar N atmosférico gracias a la presencia de heterocistos (Schindler, 1977, Downing & McCauley, 1992), estos grupos capaces de fijar N atmosférico pueden ser dominantes en cocientes bajos de N/P y raros en cocientes altos (Smith, 1983). Las dinoflageladas (Dinophyta) pueden ser ubicuas y muy tolerantes al ambiente pero también hay especies poco tolerantes a cambios de temperatura, pH o calcio (Wetzel, 2001) muchas se desarrollan mejor en aguas epilimnéticas (Llewellyn & Mantoura, 1997). Una característica primordial de todos estos organismos es la presencia de pigmentos fotosintéticos como la clorofila, carotenoides y biliproteínas (Wetzel 2001). El estudio de la composición

de pigmentos de una muestra de plancton nos permite estimar la composición del fitoplancton a una resolución de División/Clase (Buchaca, 2009).

Los lagos de alta montaña, como los del Pirineo, se caracterizan por ser relativamente pequeños, con temperaturas bajas, una dilución extrema de sus aguas, carácter oligotrófico y por tener la productividad limitada por la disponibilidad de fósforo (Buchaca & Catalan, 2007, Catalan *et al.*, 2009b). El pastoreo es el agente eutrofizador más importante en lagos de los Pirineos, pero su efecto se halla restringido a lagos pequeños, someros y de carácter endorreico (Catalan *et al.*, 1993). La disminución del nitrógeno inorgánico disuelto en los lagos relacionado con el aumento de la deposición atmosférica de fósforo en los Pirineo están causando cambios en la limitación de P a N en el fitoplancton (Camarero & Catalan, 2012). A diferencia de los lagos, las lagunas de los Pirineos han sido menos estudiadas hasta el momento.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

Para abordar los dos primeros objetivos muestreamos 208 masas de agua de los Pirineos (74 lagos ≥ 0.5 ha y 134 lagunas <0.5 ha) entre 1619 y 2660 m s. n. m. cubriendo la mayor parte de la cordillera ($0^{\circ} 42' W - 2^{\circ} 12' E$, $42^{\circ} 57' - 42^{\circ} 23' N$; Figura 3.1). De estos lagos se tomaron muestras de agua para el análisis químico (iones mayoritarios y nutrientes) y distintas variables ambientales. Entre estas se escogieron un subgrupo de 74 masas de agua (26 lagos y 48 lagunas) para analizar la composición del fitoplancton (objetivo iii). El muestreo cubrió los principales gradientes de altitud y características químicas del agua (geología) en el Pirineo. El 67% de las masas de agua estuvieron ubicadas en cuencas de roca plutónica, el 16% de tipo metamórfico, el 4% de tipo sedimentario y el 13% de tipo mixto.

MUESTREO Y ANÁLISIS

El muestreo se realizó entre el 2005 y el 2013 durante el verano (principalmente entre julio y agosto). Las muestras de agua para el análisis de química fueron colectadas en la salida del lago. Para estimar la biomasa total y de los principales grupos del fitoplancton utilizamos la composición de pigmentos fotosintéticos (Buchaca & Catalan, 2007). Las muestras para el análisis de pigmentos del fitoplancton se colectaron en la zona más profunda del lago a 1.5 veces la

profundidad de visión del disco de Secchi o a 2 m por encima del sedimento en los lagos en que esta profundidad era igual o superior a la profundidad máxima. Para las lagunas con una profundidad máxima de 2.5 m, se tomó una muestra integrada de la columna de agua. Las muestras fueron recogidas en filtros GF/F refrigeradas en el campo y luego congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Las variables químicas analizadas fueron: la conductividad (Cond), el pH (pH), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K), alcalinidad (ALK), sulfato (SO_4), cloro (Cl), silicato total (Si), nitrógeno total (TN), nitrato (NO_3), amonio (NH_4), fósforo total (TP), fosfato (PO_4) y carbono orgánico disuelto (DOC). Los análisis se realizaron utilizando los métodos descritos en Ventura *et al.* (2000). El nitrógeno inorgánico disuelto (DIN) fue la suma de NH_4 y NO_3 . El nitrógeno orgánico total (TON) se obtuvo restando el DIN del TN.

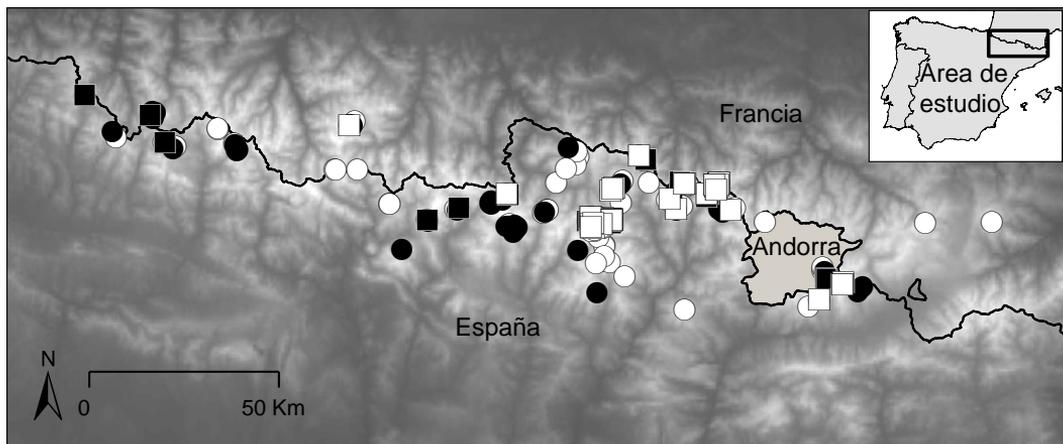


Figura 3.1: Mapa de los lagos (74) y lagunas (134) muestreados a lo largo del Pirineo. Las figuras negras representan a los lagos y las figuras blancas a las lagunas, los círculos representan las masas de agua sin muestras de grupos algales del fitoplancton (G. A.) y los cuadrados representan las masas de agua con muestras de G. A.

Los pigmentos fueron extraídos de los filtros GF/F con un sonicador (50 W, 2 min) usando acetona al 90%. El extracto fue filtrado con filtros Whatman Anodisc ($0.1\text{ }\mu\text{m}$) y analizado primero por espectrofotometría para cuantificar la clorofila siguiendo el método de Jeffrey & Humphrey (1975) y después por cromatografía con un equipo Waters AQUITY UHPLC para cuantificar los grupos del fitoplancton. Para el análisis cromatográfico las muestras (ca. $7\text{ }\mu\text{L}$) fueron analizadas con el siguiente gradiente: de 100% de solvente B (0.3 M acetato de amonio en metanol:acetonitrilo:MiliQ, 51:36:13 (v/v/v)), a 75% B y 25% A (acetato etilo:acetonitrilo, 70:30, (v/v)) en 3 min, 0.45 min en gradiente isocrático a 75% B

y 2 min de gradiente lineal hasta 100% de solvente A. La composición del solvente volvía a las condiciones iniciales en 0.55 min. La columna cromatográfica utilizada era una Acquity UPLC HSS C18 SB 1.8 μm , (2.1 mm x 100 mm) de Waters. El flujo de análisis fue de 0.7 mL/min. Utilizamos los cromatogramas a 440 y 660 nm para cuantificar los carotenoides y forbinas respectivamente. Los pigmentos fueron identificados por comparación con una librería de espectros de pigmentos obtenida a partir de extractos de monocultivos de algas de la Colección de Cultivos de Algas y Protozoarios (CCAP, Oban, Escocia, UK). El coeficiente de extinción usado para los cálculos fue obtenido de la literatura (Davies, 1976, Rowan, 1989, Jeffrey *et al.*, 1997). Los pesos moleculares de los pigmentos fueron obtenidos de la literatura (Proteau *et al.*, 1993, Jeffrey *et al.*, 1997, Borrego *et al.*, 1999). La concentración de los pigmentos en la columna de agua fue calculada en nmol/L. Se utilizó la concentración de clorofila *a* del seston (Chl-*a*) como sustituto para estimar la biomasa total del fitoplancton.

Muchos métodos basados en pigmentos usan los cocientes entre un pigmento marcador y la Chl-*a* para estimar la contribución de cada grupo de algas y cianobacterias del fitoplancton. Uno de estos métodos es un programa que estima la abundancia del fitoplancton mediante un análisis factorial (CHEMTAX) (Mackey *et al.*, 1996). Este método permite distinguir entre grupos del fitoplancton con idéntica composición cualitativa de pigmentos a partir de las diferencias cuantitativas de los cocientes entre cada pigmento y la Chl-*a* de la muestra. En este estudio hemos usado entre 1 y 4 pigmentos marcadores de grupo (División/Clase) incluyendo marcadores de clorófitos, crisófitos, criptófitos, diatomeas, dinoflagelados y cianobacterias. La estima inicial de los cocientes de pigmentos (MH0) fue obtenida a partir de estudios previos en lagos del Pirineo (Buchaca *et al.*, 2005, Buchaca, 2009). Los resultados fueron expresados en concentración de clorofila (nmol Chl-*a*/L) y tratados como un indicador de la biomasa de cada grupo taxonómico.

DESCRIPTORES AMBIENTALES

Para estudiar los factores que afectan la variabilidad en la composición química del agua se tomaron distintos tipos de parámetros ambientales de los lagos y lagunas incluyendo sus cuencas hidrológicas, las características morfológicas, físicas y las características del litoral. Para estudiar los factores que afectan la variabilidad en la composición de los grupos del fitoplancton se utilizaron como variables ambientales la composición química del agua (iones mayoritarios y nutrientes), las

características físicas y morfológicas de los lagos y sus cuencas hidrológicas. Como variables bióticas se utilizaron la biomasa de zooplancton, el recubrimiento de vegetación acuática del litoral (macrófitos), densidad de anfibios y ocurrencia de peces (Tabla 3.1).

Las variables morfológicas utilizadas fueron la cuenca total (TCATCH), la cuenca directa (DCATCH), el área del lago (LA), la altitud (ALT), el valle y la litología correspondiente a cada masa de agua, obtenidas con un sistema de información geográfica (ArcMap 10 (ESRI 2011)). La clasificación litológica estuvo basada en Casals-Carrasco *et al.* (2009) (Anexo 1). También calculamos el cociente entre la cuenca total y la superficie de cada lago (TC/LA) como un indicador del tiempo de renovación del agua. La profundidad (DEPTH) fue determinada con una sonda de mano Plastimo (Tabla 3.1).

Las características del litoral fueron descritas distinguiendo entre **hábitat del litoral** (dentro del agua) y **hábitat de la orilla** (perímetro alrededor del lago, fuera del agua). El **hábitat del litoral** fue descrito con las características visuales de la composición del sustrato por medio de varios transectos (entre 10 y 30 dependiendo del perímetro) paralelos a la orilla de 10 metros de largo, dos metros dentro del agua, dos metros próximos a la zona terrestre y distribuidos proporcionalmente para cubrir el perímetro y la variedad de sustratos encontrados en las masas de agua, esta metodología fue adaptada de otro estudio de lagos de alta montaña (Knapp *et al.*, 2001). Estimamos la *pendiente* y el *sustrato del litoral* desde la línea de costa hacia dentro de la masa de agua, la *pendiente del litoral* (LitSlop) fue descrita como: somera (<10 cm de profundidad, <15° pendiente), poca pendiente (15°-30° pendiente), pendiente media (~45° pendiente) o sub-vertical (70°-90° pendiente), el *sustrato del litoral* (LitSub) fue caracterizado como: materia orgánica, hielo-nieve, limo-arena (<0.5 cm), grava (>0.5-2.5 cm), guijarro (>2.5-25 cm), roca (>25 cm-1 m) o rocas grandes (>1 m). Para el **hábitat de la orilla** evaluamos el tipo de *sustrato* desde la línea de costa hacia la zona terrestre que rodea la masa de agua, el hábitat del *sustrato de la orilla* (ShoSub) fue caracterizado como: hielo-nieve, guijarro-piedra (2.5 cm-1 m), piedra grande-roca (>1 m) o vegetación terrestre. Los descriptores fueron expresados como porcentaje de cobertura para cada categoría (LitSlop, LitSub, ShoSub). El descriptor más importante de cada categoría fue determinado con un análisis de componentes principales, así determinamos que el porcentaje de pendiente del litoral somero (LITSHALL, r=0.93), el porcentaje del sustrato del litoral limo-arena (LITTOSILT, r=0.91) y el porcentaje de vegetación terrestre de la orilla (SHOREVEG, r=0.99)

tuvieron la correlación más alta con el eje de mayor variación (PCA1) para las categorías del litoral y la orilla (LitSlop=58.2%, LitSub=50% y ShoSub=82.6%, respectivamente).

Las características térmicas de las masas de agua fueron descritas con la temperatura acumulada (ADD) durante el periodo libre de hielo con un modelo estadístico de grados-día acumulados desarrollado por Miro & Ventura (2015). El modelo estima los ADDs de las masas de agua a partir de varios parámetros morfológicos con un modelo mixto de regresión lineal que fue calibrado integrando los datos de temperatura max/min diaria de ca. 30 lagos > 0.5 ha (entre el 2009-2011) con el método de curva sinusoidal. Solo se consideró la temperatura por encima de 7.6 °C asumiendo que por debajo de esta temperatura los procesos metabólicos son muy reducidos (Balcells, 1975).

Los crustáceos de los lagos fueron colectados con una red tipo Hensen de 0.027 m² y 160 µm ojo de malla. El muestreo en los lagos se realizó en la zona más profunda con una muestra integrada por tres arrastres verticales, mientras que las lagunas fueron muestreadas con un tubo de plexiglás (PMMA) de 2x0.075 m recomendable para sistemas poco profundos (Jeppesen *et al.*, 1997). Las muestras fueron conservadas con formol. La biomasa de los crustáceos fue el producto de su abundancia (N) y su masa media (M). La abundancia de cada especie (Ind/m³) se obtuvo contando un mínimo de 250 individuos por alícuota o toda la muestra si el material fue escaso, el conteo se efectuó con un estereoscopio Wild M3 Heerbrugo. La masa media de cada especie fue calculada con las ecuaciones de regresión longitud-peso (Downing & Rigler, 1984), la longitud media de las especies se obtuvo a partir de Alonso (1996) y datos propios (M. Ventura no publicados). La biomasa de las especies de crustáceos fue contabilizada dentro de un grupo funcional de acuerdo con los criterios de nicho (depredadores, herbívoros y omnívoros) (Barnett & Beisner, 2007) (Anexo 2) y como biomas total (CBM). La vegetación acuática (AQVEG) fue cuantificada como el porcentaje de recubrimiento de macrófitos en la zona litoral en el mismo transecto donde fue caracterizado el hábitat de litoral. Los anfibios (TadpoleD) fueron cuantificados con la visualización directa de los renacuajos en los lagos estimando su densidad en la orilla (Crump & Scott Jr, 1994). Los registros de piscardos (Pez.P) y salmónidos (Pez.S) fueron obtenidos de Miró & Ventura (2013, 2015).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Análisis de las características limnológicas

La proporción relativa de lagos y lagunas que podemos encontrar en cada cuenca no es constante en el espacio y varía entre zonas con distintas características litológicas, incluso entre valles. Para poder bloquear el efecto de las características litológicas en las diferencias debidas directamente al tamaño, las características limnológicas de las masas de agua fueron evaluadas a tres niveles espaciales: los grandes grupos litológicos de los Pirineos, el valle y el tamaño. El primero fue el tipo de *litología* a nivel de los Pirineos porque las características limnológicas de las masas de agua dependen directamente de su geología. El segundo factor fue el *valle* en que se encuentra cada masa de agua para incorporar las diferencias litológicas en cada valle, que no están recogidas en la caracterización litológica general. Finalmente el factor *tamaño* clasificó cada masa de agua como un lago cuando su superficie era ≥ 0.5 ha, o como una laguna cuando era < 0.5 ha. Estos niveles espaciales fueron usados como factores en una ANOVA simple de tres factores para cada variable morfológica, físico-química y biótica. También las variables morfológicas y los nutrientes fueron evaluados con un análisis de componentes principales (PCA) entre las masas de agua con muestreos de fitoplancton.

Tabla 3.1: Variables utilizadas en el estudio con: los mínimos y máximos (MIN- MAX), la mediana (MED), el promedio (AVE), el error estándar (SE) y el número de casos (N) para lagos y lagunas, además los resultados de ANOVAs de tres factores: litología (LIT), valle (VAL) y tamaño (LA) de las masas de agua. Las diferencia significativas corresponden: $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (), $p < 0.001$ (***), no significativa (ns), datos insuficientes (nd) o no se calculó (nc). Las interacciones no son mostradas porque no hubo resultados significativos o las interacciones no pudieron ser calculadas.**

VARIABLES	CÓDIGO	LAGOS					LAGUNAS				ANOVAs			
		MIN MAX	MED	AVE	SE	N	MIN MAX	MED	AVE	SE	N	LIT	VAL	LA
VARIABLES MORFOLÓGICAS														
Área del lago (ha)	LA	0.53 24	2	3.8	0.5	74	0.001 0.48	0.04	0.1	0	134	*	*	-
Altitud (m s.n.m.)	ALT	1619 2660	2260	2257	23	74	1477 2666	2255	2242	16	134	***	***	ns
Profundidad (m)	DEPTH	0.40 73	7	12	2	72	0.02 7.70	0.4	0.8	0.1	131	*	ns	***
Cuenca total (ha)	TCATCH	4 3940	76	159	54	74	0.01 1487	2	29	12	134	ns	*	***
Cuenca directa (ha)	DCATCH	4 2888	53	106	39	74	0.01 320	1	8	3	134	ns	**	***
Cuenca total/Área Lago	TC/LA	4 715	33	63	13	74	3 38711	37	763	405	134	ns	ns	*
Pendiente litoral somera (%)	LITTSBALL	0 90	10	24	4	52	0 100	80	62	3	115	ns	**	***
Sustrato del litoral de limo-arena (%)	LITTSILT	0 80	15	22	3	52	0 100	50	49	3	115	ns	*	***
Vegetación terrestre de la orilla (%)	SHOREVEG	0 98	60	57	4	52	0 100	70	64	3	115	ns	ns	ns

VARIABLES	CÓDIGO	LAGOS					LAGUNAS					ANOVAs		
		MIN MAX	MED	AVE	SE	N	MIN MAX	MED	AVE	SE	N	LIT	VAL	LA
VARIABLES FISICOQUÍMICAS														
Fósforo total (µg/L)	TP	0 43	3	5	0.8	65	0 283	11	33	5	121	ns	ns	***
Nitrógeno total (µg/L)	TN	50 863	228	241	17	64	74 9000	408	744	93	121	ns	ns	***
Amonio (µg/L)	NH ₄	0 44	7	11	1	56	0 6939	11	105	61	117	ns	ns	ns
Fósforo (µg/L)	PO ₄	0 22	1	2	0.5	56	0 137	2	8	2	116	ns	ns	ns
Nitrato (µg/L)	NO ₃	1.37 236	33	70	10	58	0 354	16	41	5	122	ns	***	ns
Fósforo orgánico total (µg/L)	TOP	0 21	0.4	3	1	56	0 214	8	26	4	116	ns	ns	***
Nitrógeno orgánico total (µg/L)	TON	0 734	123	157	17	56	0 2788	363	572	53	117	ns	ns	***
Carbono orgánico disuelto (mg/L)	DOC	0.34 6	2	2	0.21	37	1 40	3	6	1	49	ns	ns	***
Nitrógeno inorgánico disuelto (µg/L)	DIN	4.27 241	49	81	10	58	0 6950	37	141	59	122	ns	***	ns
Conductividad (µS/cm 20 °C)	Cond	3.42 176	20	32	4	67	3 171	13	21	2	126	ns	***	ns
pH	pH	5.65 9	7.5	7.4	0.1	62	5 8	6	6.5	0.1	111	ns	ns	***
Alcalinidad (µeq/L)	Alk	1.03 1330	164	246	33	63	-10 1264	49	135	19	120	ns	***	**

VARIABLES	CÓDIGO	LAGOS					LAGUNAS					ANOVAs		
		MIN MAX	MED	AVE	SE	N	MIN MAX	MED	AVE	SE	N	LIT	VAL	LA
Silicio (mg/L)	Si	0 2	0.26	0.4	0.06	56	0 4.7	0.03	0.3	0.1	108	ns	*	*
Calcio (mg/L)	Ca	0.28 48	4	5.4	0.9	64	0.2 27	1.3	2.7	0.4	111	ns	***	**
Magnesio (mg/L)	Mg	0.04 7	0.14	0.5	0.13	64	0.01 2.81	0.13	0.3	0.04	111	*	***	ns
Sodio (mg/L)	Na	0 4	0.51	0.6	0.07	64	0 29	0.5	1.1	0.34	111	ns	ns	ns
Potasio (mg/L)	K	0 1	0.12	0.2	0.03	64	0 16	0.38	0.8	0.17	111	ns	ns	ns
Sulfato (mg/L)	SO ₄	0.08 20	0.44	0.9	0.35	58	0.04 21	0.43	0.9	0.22	113	ns	***	ns
Cloro (mg/L)	Cl	0.07 5	0.21	0.3	0.08	58	0.04 44	0.36	1.3	0.49	113	ns	ns	ns
Cociente TN/TP	TN/TP	11 1660	66	171	33	60	5 706	37	56	8	119	ns	*	***
Cociente DIN/TP	DIN/TP	0.2 444	20	73	15	52	0.1 109	2.7	11	2	115	ns	***	***
Cociente DIN/PO4	DIN/PO4	0.5 444	47	100	17	51	0.3 790	21	52	11	101	ns	ns	*
Cociente TON/TOP	TON/TOP	16 3453	64	212	98	35	0 461	35	53	6	107	ns	ns	*
Cociente Chl-a/TP	Chl-a/TP	0.08 7.21	0.26	0.77	0.32	23	0 1.4	0.2	0.27	0.04	51	ns	*	**

VARIABLES	CÓDIGO	LAGOS					LAGUNAS					ANOVAs		
		MIN MAX	MED	AVE	SE	N	MIN MAX	MED	AVE	SE	N	LIT	VAL	LA
Cociente Chl-a/TN	Chl-a/TN	0.00 0.137	0.005	0.01	0.01	24	0 0.05	0.004	0.01	0	51	ns	ns	ns
Temperatura acumulada (°C Día)	ADD	372 1318	806	774	46	26	406 1111	789	794	23	52	ns	***	ns
VARIABLES BIÓTICAS														
Densidad de renacuajos (Ind/m)	TadpoleD	0 114	0.006	11	6	26	0 82	0.1	10	3	52	ns	*	ns
Vegetación acuática (%)	AQVEG	0 40	0	4	2	26	0 60	0	8	2	52	ns	ns	ns
Clorofila-seston (µg/L)	Chl-a	0.14 51	0.95	0.16	0	26	0.11 19	1.22	0.2	0.03	50	ns	ns	ns
Salmónido (binario)	Pez.S		42*			26		21*			52			
Piscardo (binario)	Pez.P		27*			26		21*			52			
Biomasa total de crustáceos (µg/L)	CBM	0.02 2726	18	202	129	22	0 3535	13	256	99	52	nd	ns	ns
CBM Depredadores (µg/L)	Zoo.D	0 469	0.3	41	24	21	0 115	0.1	5	3	53	nd	***	ns
CBM Herbívoros (µg/L)	Zoo.H	0 2725	2.9	155	129	21	0 3534	7	226	98	53	nd	ns	ns
CBM Omnívoros (µg/L)	Zoo.O	0 191	0	12	9	21	0 755	0	25	14	53	nd	ns	ns

VARIABLES	CÓDIGO	MIN MAX	MED	LAGOS			N	MIN MAX	LAGUNAS			N	ANOVAs		
				AVE	SE				MED	AVE	SE		LIT	VAL	LA
GRUPOS DEL FITOPLANCTON															
Clorófitas (nmol Chl-a/L)	CHLORO	0 30	0.09	1.39	1.16	26	0 5.39	0.18	0.43	0.12	48	nc	nc	nc	
Crisófitas (nmol Chl-a/L)	CHRYSO	0 0.8	0.05	0.11	0.04	26	0 0.78	0.03	0.08	0.02	48	nc	nc	nc	
Criptófitas (nmol Chl-a/L)	CRYPTO	0 0.6	0.02	0.07	0.03	26	0 0.52	0.01	0.04	0.01	48	nc	nc	nc	
Diatomeas (nmol Chl-a/L)	DIATO	0 2	0.005	0.16	0.09	26	0 0.26	0.004	0.02	0.01	48	nc	nc	nc	
Dinoflageladas (nmol Chl-a/L)	DINO	0 0.32	0.004	0.02	0.01	26	0 0.27	0.003	0.04	0.01	48	nc	nc	nc	
Cianobacterias (nmol Chl-a/L)	CYANO	0 0.14	0.03	0.04	0.01	26	0 0.27	0.03	0.05	0.01	48	nc	nc	nc	

(*) El valor corresponde al porcentaje de lagos o lagunas ocupados por salmónidos o piscardos

Clasificación de las masas de agua de acuerdo a la probabilidad de limitación de nitrógeno o fósforo y la concentración de clorofila del seston

La disponibilidad relativa de nitrógeno o fósforo de lagos y lagunas se puede estimar a partir del cociente entre el fósforo total y el nitrógeno total (TN/TP) o entre el cociente DIN/TP (Bergström, 2010). Ambos cocientes dan resultados similares, pero el primero puede dar una idea sesgada de la disponibilidad relativa de nitrógeno si hay una proporción importante de nitrógeno orgánico. Por este motivo en este estudio hemos utilizado el cociente DIN/TP como indicador de la disponibilidad relativa de nitrógeno y fósforo. Según Bergström (2010) un cociente DIN/TP (en masa) mayor a 1.5 se puede asociar a una probabilidad mayor al 25% de limitación por P, un cociente DIN/TP mayor a 2.2 una probabilidad mayor al 50% de limitación por P y un cociente DIN/TP mayor a 3.4 una probabilidad mayor al 75% de limitación por P.

Para discernir las variables que ordenan las masas de agua de acuerdo a su disponibilidad relativa de N o P utilizamos un análisis de árbol de regresión univariante (URT) con el cociente DIN/TP. Por otro lado realizamos un segundo URT para discernir las variables que ordenan las masas de agua de acuerdo a la concentración de clorofila (Chl-a). El URT del DIN/TP se realizó con las variables morfológicas, las características del litoral más el porcentaje de vegetación acuática (AGVEG) y temperatura acumulada diaria (ADD). El URT de la Chl-a se realizó con las variables morfológicas, las variables físico-químicas (exclusivamente los nutrientes) y las variables bióticas. La cuenca directa no fue utilizada en ninguno de los URTs por estar altamente correlacionadas con la cuenca total ($r_{\text{Spearman}} > 0.85$) (Tabla 3.1).

Los árboles de regresión y clasificación son técnicas adecuadas para explorar y modelar datos ecológicos porque explican la variación de una variable respuesta al dividir repetidamente los datos en grupos más homogéneos utilizando combinaciones de variables explicativas categóricas o numéricas, cada grupo homogéneo se caracteriza por: un valor típico de la variable de respuesta, el número de observaciones en el grupo y los valores de las variables explicativas que lo definen (De'ath & Fabricius, 2000). El mejor resultado del URT fue evaluado con el error relativo por validación cruzada (CVRE, *cross validated relative error*), un valor de CVRE cercano a 0 indica una predicción perfecta y un valor cercano a 1 una mala predicción (Borcard *et al.*, 2011, Therneau & Atkinson, 2014). Complementariamente los grupos de clasificación de las masas de agua obtenidos

de cada URT fueron utilizados como factor para testar las variables con una ANOVA simple más una prueba Post-Hoc con el test HSD de Tukey.

Variabilidad en la composición de los grupos del fitoplancton.

Para encontrar los patrones de distribución de los grupos del fitoplancton [Yi] a lo largo de un gradiente de variables exploratorias agrupadas en un componente abiótico [Ei], biótico [Bi] y espacial [Si] utilizamos un análisis de redundancias (RDA) (Borcard *et al.*, 2011). El componente abiótico [Ei] estuvo formado por las variables morfológicas (n=9) y variables físico-químicas (n=20, no fueron consideradas TN/TP, DIN/TP, Chl-a/TP ni Chl-a/TN por ser redundantes con el TN y TP). Las variables espaciales fueron descritas por predictores usados comúnmente en análisis ecológicos del espacio (Sattler *et al.*, 2010, Landeiro *et al.*, 2011, Grönroos *et al.*, 2013) de acuerdo al método de Dray *et al.* (2006). Este método diagonaliza una matriz de ponderación espacial para después obtener los vectores propios y maximizar la autocorrelación entre los sitios por medio del índice de Moran. Estos vectores propios (MEMs) pueden ser usados directamente como variables explicativas del espacio en un modelo de regresión canónica (Borcard *et al.*, 2011). Nosotros obtuvimos 64 vectores propios significativos que fueron considerados como el componente espacial [Si]. El componente biótico [Bi] estuvo formado por las variables bióticas (n=7 excluyendo la Chl-a) (Tabla 3.1).

Un primer RDA con los grupos del fitoplancton (matriz respuesta) y el componente ambiental (matriz explicativa) fue realizado con el método descrito en Blanchet *et al.* (2008a). La dependencia lineal de las variables fue calculada con el factor de inflación de la varianza (VIF), resultados de VIF superiores a 10 deben ser evitados (Borcard *et al.*, 2011), el RDA y sus ejes fueron testados con permutaciones (perm=9999), el resultado final fue un grupo de variables parsimoniosas de la matriz de variables explicativas. Este procedimiento se repitió con los componentes espacial y biótico como matrices explicativas. Después realizamos un RDA final con las variables parsimoniosas de cada componente [Ei+Bi+Si] como matriz explicativa y los grupos del fitoplancton como matriz respuesta. Posteriormente se realizó un análisis de partición de la varianza (VP-rda) con un RDA-parcial con los grupos del fitoplancton y las variables parsimoniosas de cada componente para analizar la relación entre las variables explicativas y respuesta después de remover la influencia de las covariables (Borcard *et al.*, 2011). Finalmente, las concentraciones de los grupos del

fitoplancton fueron evaluadas con una ANOVA simple considerando como factor la probabilidad de limitación por N o P de cada masa de agua.

Las variables fueron estandarizadas (AVE=0, SD=1) y normalizadas con las funciones: raíz cuadrada (Cl); raíz cúbica (PO₄, Si); raíz cuarta (AQVEG, DOC, ALK, grupos del fitoplancton); ln(x+1) (TN, TP, TON, DIN, NH₄, NO₃, Na, K, TN/TP, DIN/TP, biomasa de crustáceos); ln(100x+1) (DEPTH, LA, TCATCH, DCATCH, TC/LA, Cond, Ca, Mg, SO₄, Chl-a, Chl-a/TP, Chl-a/TN, TadpoleD). La altitud y ADD no necesitaron ser normalizadas. Los análisis fueron calculados en R 3.1.1. con los paquetes: "Spacemaker" (Dray, 2010) para calcular los MEMs; "mvpart" (Therneau *et al.*, 2004) para realizar el URT; "vegan" (Oksanen *et al.*, 2013) para el análisis de redundancias y partición de la varianza; "packfor" (Dray *et al.*, 2011) para la selección de las variables parsimoniosas por permutaciones; "stats" (R Development Core Team, 2014) para análisis de la varianza y Post Hoc

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS LIMNOLÓGICAS

Los 74 lagos muestreados tenían de promedio 3.8 ha de superficie y 7 m de profundidad máxima (rango de la superficie 0.53 - 24 ha y la profundidad 0.4-73 m) y las 134 lagunas 0.04 ha y 0.4 m (rango de la superficie 0.001 - 0.48 ha y la profundidad 0.02 - 7.7 m; Tabla 3.1). No hubo diferencias significativas en la altitud ni la temperatura acumulada. En cambio los lagos tuvieron la cuenca significativamente más grande, pero un menor tiempo de renovación del agua (menor cociente TC/LA). La forma del litoral también fue distinta entre lagos y lagunas, las lagunas tuvieron un litoral más somero, con una mayor proporción de limos y más vegetación en la orilla del lago.

La composición de los iones mayoritarios no fue significativamente distinta a nivel de los grandes grupos litológicos a excepción del magnesio (Tabla 3.1). En cambio sí encontramos diferencias entre lagos y lagunas para, la conductividad, la alcalinidad y los iones calcio y silicio. El pH fue más bajo en las lagunas que en los lagos, pero no fue significativamente distinto para las categorías litológicas o los valles. Los nutrientes fueron significativamente diferentes entre los lagos y lagunas. En las lagunas fueron más altos el TP, TN, TON, TOP y DOC (Figura 3.2), mientras que en los lagos fueron más altos los cocientes DIN/TP, TN/TP y Chl-a/TP. La excepción fueron el nitrato y el nitrógeno inorgánico disuelto que no

fueron diferentes entre lagos y lagunas pero sí fueron significativamente distintos entre los valles.

Tabla 3.2: Resultado del análisis de redundancia parsimonioso (RDA) del componente abiótico [Ei], el componente biótico [Bi] y el componente espacial [Si]. Además el resultado de la partición de la varianza (VP-rda) con la contribución exclusiva del componente abiótico [Ei|Bi+Si], la contribución exclusiva del componente biótico [Bi|Ei+Si], la contribución exclusiva del espacio [Si|Ei+Bi], la varianza compartida [Ei∩Bi∩Si] y la varianza no explicada [U].

Grupos del fitoplancton [Yi]		R ²	R ² _{adj}	p-valor
RDA	Modelo completo	0.504	0.185	0.005
	Modelo parsimonioso	0.216	0.181	0.001
	[Ei] TP	0.095		0.001
	DIN	0.065		0.001
	ADD	0.056		0.002
	Modelo completo	0.237	0.147	0.002
	Modelo parsimonioso	0.156	0.118	0.001
	[Bi] Zoo Depredador	0.056		0.006
	Piscardos	0.049		0.006
	Salmónidos	0.051		0.001
	Modelo completo	0.925	-0.032	0.611
	[Si] Modelo parsimonioso	0.069	0.056	0.004
	MEM21	0.069		0.003
	[Ei+Bi+Si] Todas las variables	0.324	0.248	0.001
	[Ei Bi+Si] Abiótico exclusivo		0.093	0.001
[Bi Ei+Si] Biótico exclusivo		0.054	0.001	
[Si Bi+Ei] Espacio exclusivo		0.009	0.122	
[Ei∩Bi∩Si] Compartida		0.092		
[U] No explicada		0.752		

DISPONIBILIDAD RELATIVA DEL FÓSFORO Y NITRÓGENO

Según los criterios propuestos por Bergström (2010) el cociente DIN/TP mostró que el 85% de los lagos y el 59% de las lagunas tuvieron una probabilidad mayor de estar limitados por P, mientras que el 15% de los lagos y el 41% de las lagunas tuvieron una probabilidad mayor de estar limitados por N (Figura 3.3).

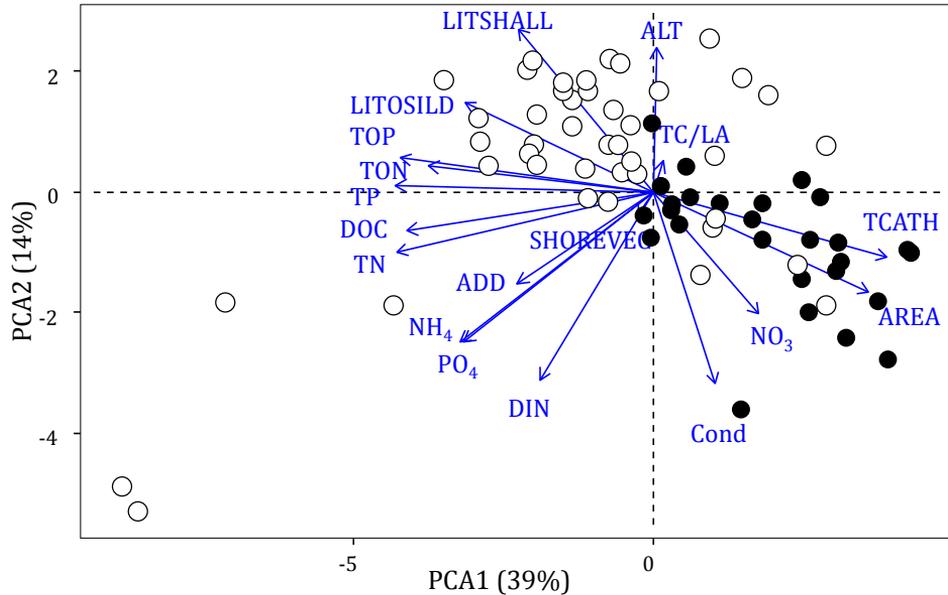


Figura 3.2: Componentes principales de los nutrientes y las variables morfológicas entre lagos y lagunas. Los círculos negros corresponden a los lagos y los círculos blancos a las lagunas

El análisis de URT entre el cociente DIN/TP y las variables morfológicas ordenó las masas de agua en cuatro grupos distintos (CVRE=0.81, R²=0.41) seleccionando como variables significativas la profundidad, el porcentaje del sustrato del litoral limo-arena (LITTSILT), la temperatura acumulada diaria (ADD), el área, la pendiente del litoral (LITTSBALL), la cuenca total y la vegetación acuática (AQVEG) (Figura 3.4A). El primer nodo (N_{DIN/TP1}) segregó 88 masas de agua (C1) principalmente lagunas poco profundas, la mitad de las cuales con una alta probabilidad de estar limitadas por N. El segundo nodo (N_{DIN/TP2}) segregó 35 masas de agua (C4) con un hábitat del litoral pobre en sustrato limo-arena y profundo, la mayoría lagos con una alta probabilidad de estar limitados por P. El tercer nodo (N_{DIN/TP3}) segregó un pequeño grupo de 6 masas de agua (lagos=3, lagunas=3) más frías con una alta probabilidad de estar limitadas por P (C3) de otro grupo de 38 lagos y lagunas (C2) con temperatura acumulada comparable a C1 y C4.

Los cuatro grupos obtenidos por el URT representan un gradiente de profundidades de los más someros (C1) a los más profundos (C4). La mayor parte de las masas de agua tenían diferencias significativas (ANOVA univariante, test Post-Hoc) en todas las variables seleccionadas por el análisis (Figura 3.5). Este

gradiente de profundidades se correspondía con una disminución progresiva de la proporción de sedimento y de la pendiente del litoral, con un aumento de la cuenca total y una disminución progresiva de la concentración del fósforo total. En cambio la concentración de DIN (básicamente relacionado con la variabilidad de nitrato) se dividió en dos grupos, las lagunas de menor profundidad (C1) y lagos poco profundos (C2) con concentraciones bajas de DIN, de los lagos o lagunas de más profundidad, con concentraciones más altas (C3 y C4).

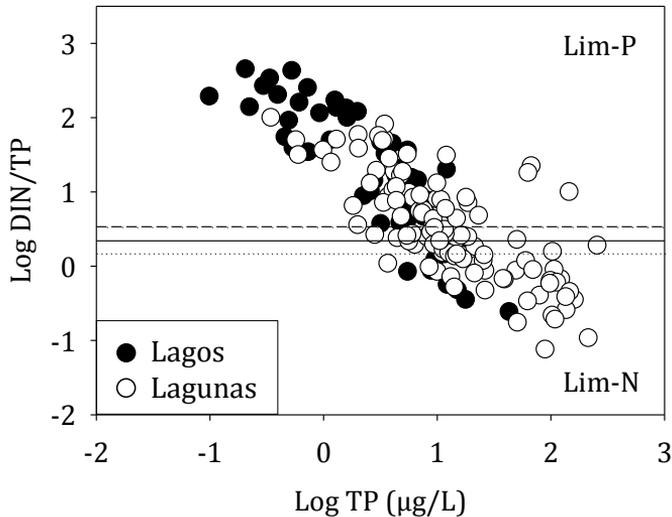


Figura 3.3: Representación de lagos y lagunas de acuerdo a la probabilidad de limitación de nitrógeno y fósforo del cociente DIN/TP (Bergström, 2010). Las líneas punteada, sólida y discontinua marcan los límites para la probabilidad limitación de P del 25, 50 y 75%, respectivamente. Los puntos negros representan los lagos y los puntos blancos las lagunas.

CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA DEL SESTON

El análisis de URT entre la clorofila y las variables ambientales ordenó las masas de agua en cuatro grupos (CVRE=0.66, $R^2=0.73$), las variables seleccionadas fueron el cociente DIN/TP, fósforo total, fosfato, fósforo orgánico total, nitrógeno orgánico total, incidencia de salmónidos, biomasa de crustáceos depredadores (Zoo.D) y el porcentaje del sustrato limo-arena del litoral (LITTOSILT) (Figura 3.4B). El primer nodo (N_{Chla1}) segregó 6 masas de agua (C5) con cocientes DIN/TP y nitratos bajos pero fósforo total mayor a 5 µg/L confiriéndoles un carácter eutrófico (Wetzel, 2001) y una probabilidad de limitación por N alta en todos los casos. El segundo nodo (N_{Chla2}) segregó 14 masas de agua (C8) con valores más bajos tanto para TP como Chl-a y una probabilidad de limitación de P. El tercer nodo (N_{Chla3}) segregó un

grupo de 36 masas de agua (C6) con concentraciones de TP y TOP más altas que otro grupo de 14 masas de agua (C7) con concentraciones más bajas. Las masas de agua en los grupos describieron un gradiente desde las concentraciones más altas de Chl-a (C5) hasta las concentraciones más bajas de Chl-a (C8), la mayoría de los nutrientes presentaron diferencias significativas (ANOVA univariante, test Post-Hoc) entre los grupos. El decrecimiento de la Chl-a se correspondió con un decrecimiento de TP, TOP, TON, DOC pero con un crecimiento del cociente DIN/TP entre los grupos (Figura 3.6).

VARIABILIDAD EN LA COMPOSICIÓN DE LOS GRUPOS DEL FITOPLANCTON

El análisis de redundancia para el componente ambiental [Ei] ($R^2_{\text{adj}}=0.181$, $F_{3,66}=6.1$, $p<0.001$) seleccionó las variables TP ($R^2=0.095$, $p=0.001$), DIN ($R^2=0.066$, $p=0.001$) y ADD ($R^2=0.056$, $p=0.002$). Para el componente biótico [Bi] ($R^2_{\text{adj}}=0.118$, $F_{3,66}=4.1$, $p<0.001$) las variables del modelo parsimonioso seleccionadas fueron: la biomasa de crustáceos depredadores (Zoo.D: $R^2=0.056$, $p=0.006$), ocurrencia de piscardo (Pez.P: $R^2=0.049$, $p=0.006$) y ocurrencia de salmónidos (Pez.S: $R^2=0.051$, $p=0.001$). Para el componente espacial [Si] ($R^2_{\text{adj}}=0.032$, $F_{1,68}=5.1$, $p=0.002$) la variable parsimoniosa seleccionada fue el MEM21 ($R^2=0.07$, $p=0.003$). El resultado del RDA parsimonioso final ($R^2_{\text{adj}}=0.219$, $F_{4,65}=5.8$, $p<0.001$) con las variables significativas de cada componente [Ei+Bi+Si] fue: TP ($R^2=0.095$; $p=0.001$), DIN ($R^2=0.066$; $p=0.007$), ADD ($R^2=0.056$; $p=0.002$) y piscardo ($R^2=0.048$; $p=0.001$). El primer eje (RDA1) fue representativo del TP y DIN (correlaciones con el eje $r=0.7$ y $r=-0.5$, respectivamente) y explicó el 14% de la varianza mientras que el segundo eje (RDA2) fue representativo de ADD y piscardo ($r=0.8$ y $r=0.6$ respectivamente) y explicó el 6% de la varianza (Figura 3.7). El resultado de la partición de la varianza mostró que el ambiente exclusivo [Ei|Bi+Si] explicó 9% de la variabilidad; el componente biótico exclusivo [Bi|Ei+Si] explicó el 5% y el espacio exclusivo [Si|Ei+Bi] aproximadamente 1%, la varianza compartida representó aproximadamente el 10% y la varianza no explicada por los componentes ambiental, biótico y espacial fue del 75% (Tabla 3.2).

La Chl-a y las concentraciones de clorófitas y criptófitas fueron significativamente más altas en las masas de agua con una mayor probabilidad de estar limitadas por N (ANOVA univariante) el resto de grupos del fitoplancton no mostraron diferencias significativas con la probabilidad de limitación de N o P (Figura 3.8).

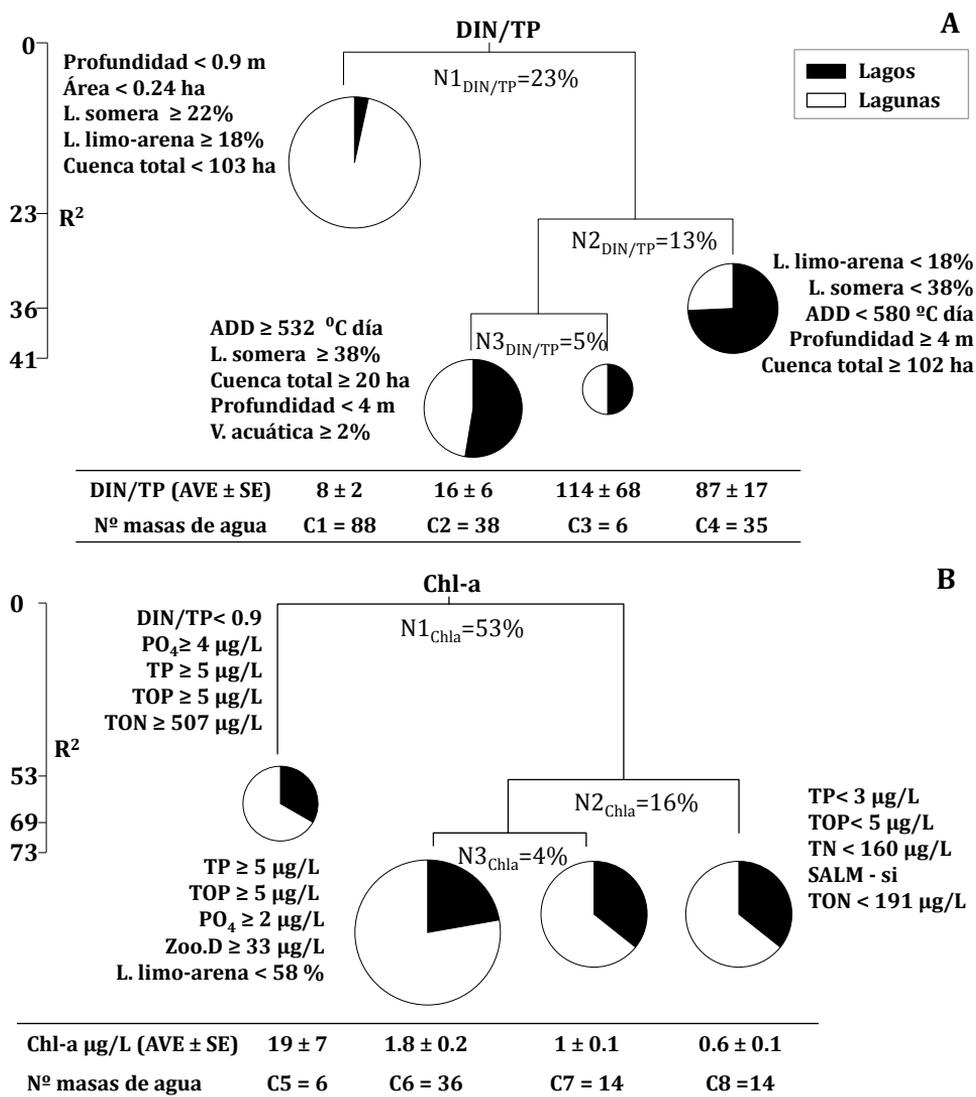


Figura 3.4: Árboles de regresión univariante (URT) de las masas de agua para: (A) el cociente DIN/TP y (B) la concentración de clorofila. Bajo cada nodo (N_i) se muestra su variabilidad relativa. Las listas de variables y su valor de clasificación corresponden a la rama más próxima. Los pasteles representan la abundancia relativa de lagos (fracción negra) y lagunas (fracción blanca) en cada rama. Al pie de la figura se indica el promedio y error estándar del cociente DIN/TP o la concentración de Chl-a y el número de masas de agua de cada rama.

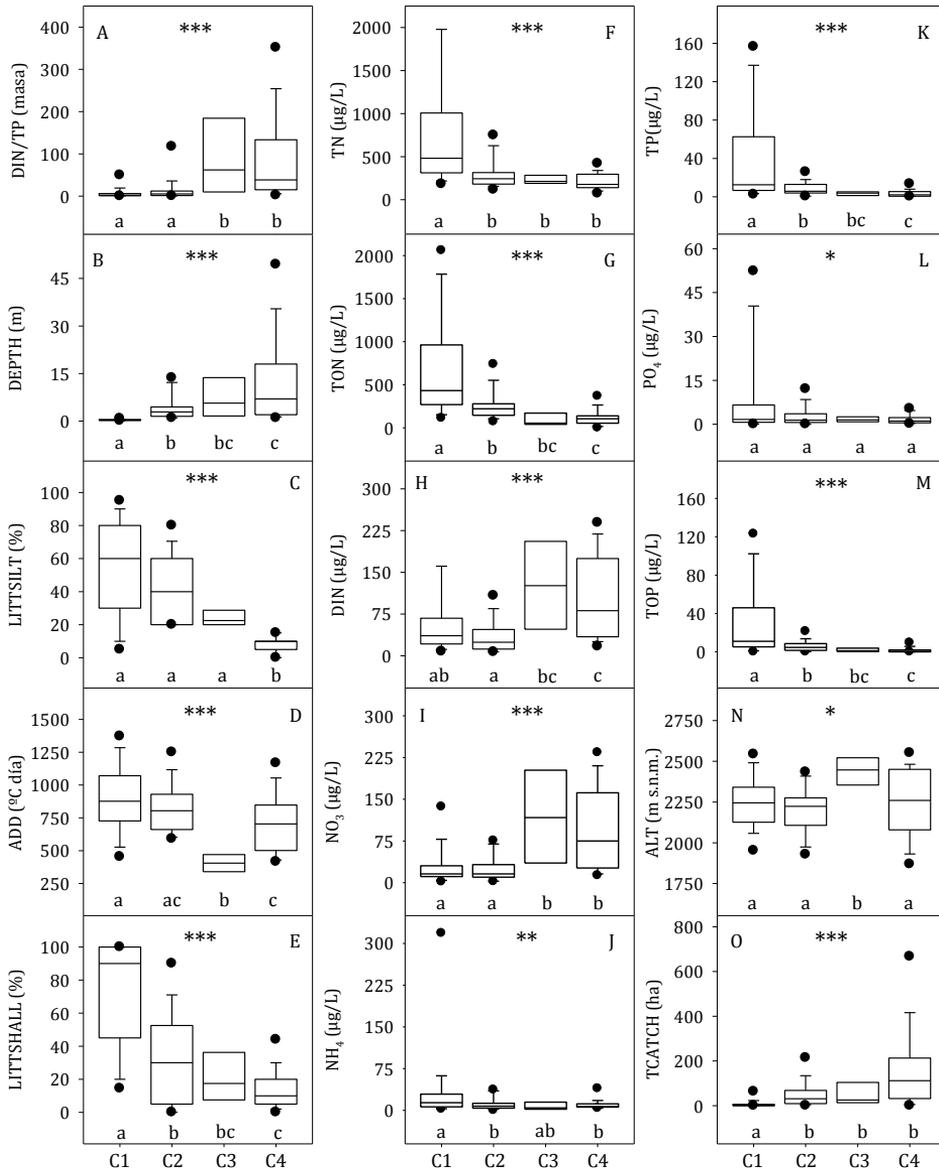


Figura 3.5: Clasificación de las masas de agua de acuerdo al resultado del URT del DIN/TP para: (A) el cociente DIN/TP, (B) la profundidad, (C) el porcentaje de sustrato del litoral limo-arenosos, (D) la temperatura acumulada diaria, (E) el porcentaje de la pendiente del litoral somera, (F) el nitrógeno total, (G) el nitrógeno orgánico total, (H) el nitrógeno inorgánico disuelto, (I) el nitrato, (J) el amonio, (K) el fósforo total, (L) el fosfato, (M) el fósforo orgánico total, (N) la altitud y (O) la cuenca total. Los datos extremos fueron removidos, la distribución corresponde a los percentiles 5^o/95^o y la línea horizontal de la caja a la mediana. La diferencia significativa entre las ramas corresponde a: p<0.001 (***), p<0.01 (**) y p<0.05 (*). Las letras (a, b, c) representan las diferencias entre grupos de acuerdo al análisis post-hoc HDS de Tukey.

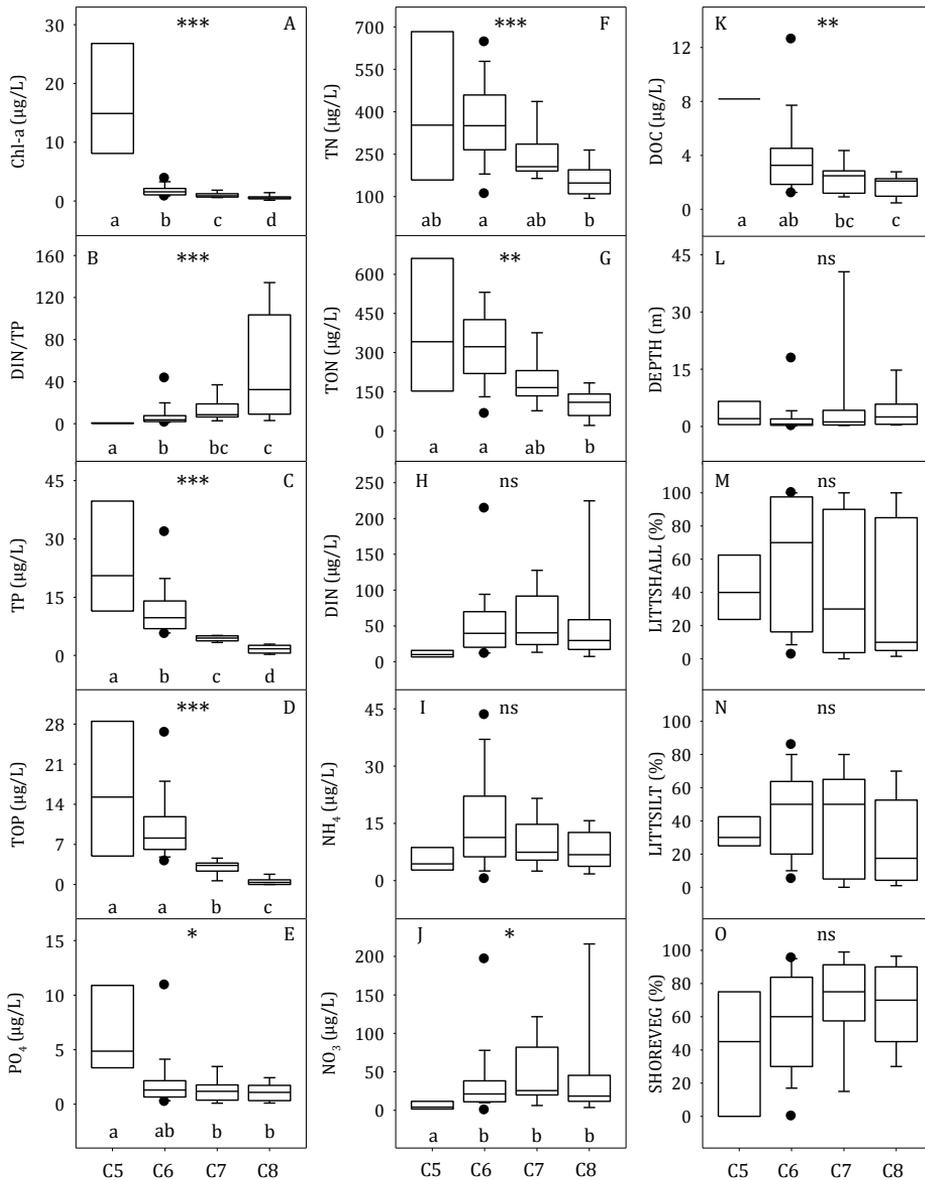


Figura 3.6: Clasificación de las masas de agua de acuerdo a los resultados del URT de la Chl-a para: (A) la clorofila-a, (B) el cociente DIN/TP, (C) el fósforo total, (D) fósforo orgánico total, (E) el fosfato, (F) el nitrógeno total, (G) el nitrógeno orgánico total, (H) el nitrógeno inorgánico disuelto, (I) el amonio, (J) el nitrato, (K) el carbono orgánico disuelto, (L) la profundidad, (M) el porcentaje de la pendiente del litoral somera, (N) el porcentaje de sustrato del litoral limo-arenosos y (O) el porcentaje de vegetación terrestre de la orilla. Los datos extremos fueron removidos, la distribución corresponde a los percentiles 5^o/95^o y la línea horizontal de la caja a la mediana. La diferencia significativa entre las ramas corresponde a: $p < 0.001$ (***), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ (*) y no-significativa (ns). Las letras (a, b, c) representan las diferencias entre grupos de acuerdo al análisis post-hoc HDS de Tukey.

DISCUSIÓN

ESTADO TRÓFICO EN LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA

Los lagos mostraron bajas concentraciones de TP y TN característicos de sistemas ultra-oligotróficos (Wetzel, 2001) similares a los encontrados en estudios anteriores en lagos de alta montaña (Catalan *et al.*, 1993, Kopáček *et al.*, 1995, Camarero *et al.*, 2009). El cociente DIN/TP y el TP fueron los mejores predictores de la biomasa de los productores primarios (como $\mu\text{g Chl-a/L}$). Las masas de agua con valores de Chl-a altos tuvieron valores de TP altos y valores de DIN/TP bajos, tal como se ha descrito en numerosos trabajos mostrando que el TP es el mejor predictor de la concentración de Chl-a (Phillips *et al.*, 2008) y la abundancia del fitoplancton (McMaster & Schindler, 2005). En cambio las lagunas tuvieron un rango de concentración más amplio de TP y TN presentando un subgrupo de continuidad trófica, de oligotrófico a eutrófico (Wetzel, 2001). Los estudios que integran las características limnológicas de lagos y lagunas con la disponibilidad de nutrientes y la relación de N/P son escasos, especialmente en zonas alpinas (Figura 3.9). Algunos estudios no encuentran diferencias entre lagos y lagunas (Lim *et al.*, 2001, Michelutti *et al.*, 2002, Lim & Douglas, 2003, Medeiros *et al.*, 2012). En cambio otros trabajos encuentran, como en este estudio, un mayor gradiente trófico en lagunas que en lagos (Figura 3.9; Lim *et al.*, 2005, McMaster & Schindler, 2005, Bos & Pellatt, 2012). En las lagunas es más fácil que el fósforo esté disponible desde el sedimento debido a su mayor proximidad con la columna de agua (Berman & Bronk, 2003, Lim *et al.*, 2005, Bos & Pellatt, 2012, Medeiros *et al.*, 2012) o que se oxide más rápidamente debido a congelarse completamente en invierno o a secarse en verano (Sahuquillo *et al.*, 2012). Las lagunas pueden mantener una limitación de N o co-limitación NP generalizada cuando hay un mayor aporte de P y una restricción de las tasas de fijación de N (Mischler *et al.*, 2014). También la proporción entre las zonas litoral y planctónica en las lagunas es mayor que en los lagos (Wetzel, 2001), en este caso, la renovación de N (orgánico e inorgánico) es dominada por las plantas acuáticas y la heterotrofia (Sondergaard *et al.*, 2005, Durand *et al.*, 2011), por lo tanto las lagunas presentan una sinergia entre la profundidad y el litoral que ocasiona una mayor producción-consumo de N y P. Otros estudios sobre la disponibilidad de nutrientes y la relación de N/P destacan que el suelo y la cobertura vegetal de la cuenca puede retener eficazmente los nutrientes que llegan a las masas de agua particularmente el N (Kopáček *et al.*, 2000; 2011; Camarero *et al.*, 2009; Elser *et al.*, 2009) desde la deposición

atmosférica (Kopáček *et al.*, 1995, Bergström *et al.*, 2005, 2006, 2013). También se ha encontrado un aumento de la deposición atmosférica de P en las masas de agua (Camarero & Catalan 2012, Brahney *et al.*, 2015, Kopáček *et al.*, 2011, 2015). Nosotros no encontramos evidencia que el aporte de nutrientes y la relación de N/P en lagos y lagunas se deba a diferencias generales de la cuenca sino a diferencias particulares de volumen, vegetación acuática y características del litoral.

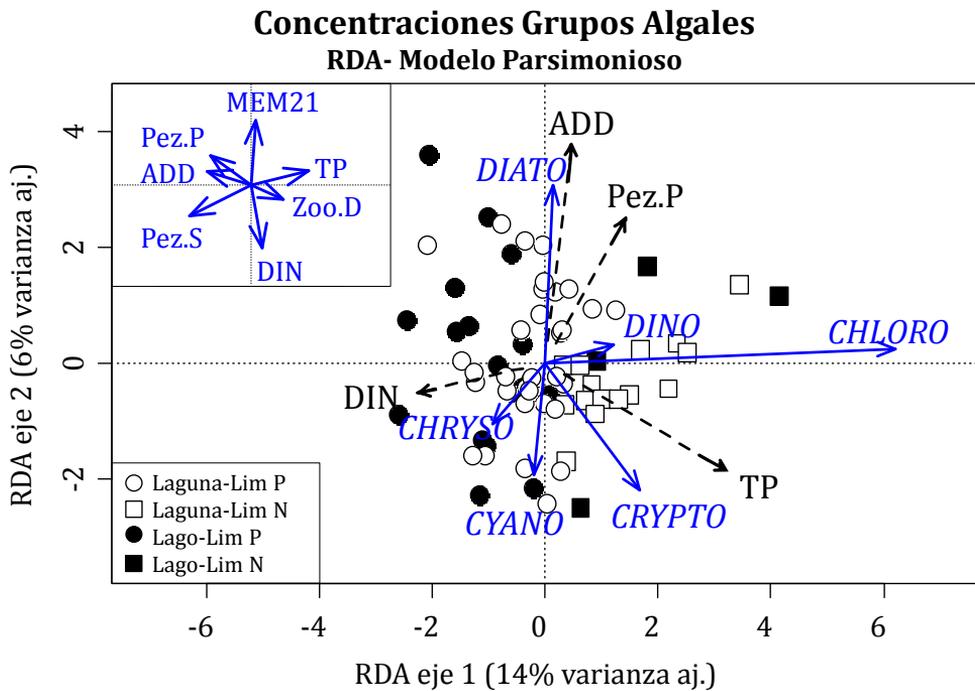


Figura 3.7: Análisis de redundancia para la concentración de los grupos del fitoplancton (Chl-a de cada grupo taxonómico) y las variables significativas de los componentes abiótico y biótico (ninguna variable del componente espacial fue seleccionada en el resultado parsimonioso). Los círculos blancos representan las lagunas limitadas por P, los círculos negros los lagos limitados por P. Los cuadrados blancos a las lagunas limitadas por N y los cuadrados negros a los lagos limitados por N. En el recuadro se indica el resultado del análisis de componentes principales de las variables parsimoniosos de cada componente.

Encontramos que aparte de la profundidad, también las características del litoral y la temperatura acumulada describieron la variabilidad de la relación N/P de las masas de agua. Las masas de agua con un DIN/TP más bajo fueron casi todas lagunas de poca profundidad y superficie (< 0.9 m y < 0.24 ha, respectivamente) con una cuenca pequeña y un litoral llano con una gran proporción de sedimento.

Estas lagunas se caracterizan por tener concentraciones altas de TN y TP, de las cuales la mayor parte está en forma orgánica (TON 86% y TOP 74%; Figura 3.5.), también tuvieron una concentración alta de DOC (Figura 3.2) y una menor concentración de DIN.

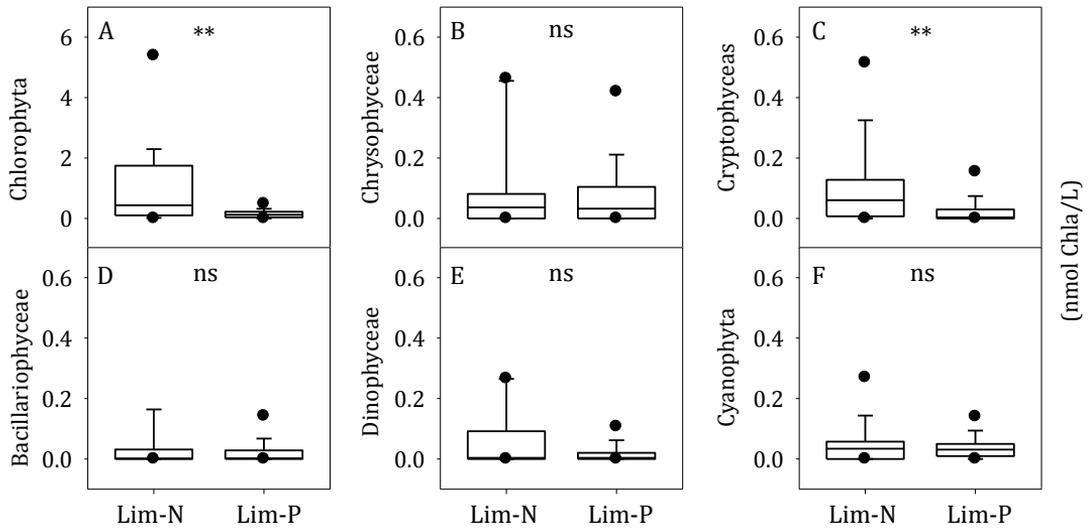


Figura 3.8: Concentración de los grupos del fitoplancton (nmol Chl-a/L) para 74 masas de agua de acuerdo a la probabilidad de limitación por N (Lim-N) o limitación por P (Lim-P) según el cociente DIN/TP (limitación por P= $DIN/TP_{masas} \geq 2.2$). La diferencia significativa corresponde a un p-valor <0.01 (). La diferencia no significativa (ns).**

Estudios en lagunas alpinas han encontrado una mayor probabilidad de limitación de N cuando el fósforo en la columna de agua fue alto (McMaster & Schindler, 2005, Mischler *et al.*, 2014) o cuando los nutrientes disueltos fueron recalcitrantes (Sorrell *et al.*, 2013) pero también las masas de agua poco profundas pueden estar limitadas por P cuando el aporte de nitrógeno y fósforo desde el sedimento a la columna de agua es alto (Bos & Pellatt, 2012, Medeiros *et al.*, 2012) o a partir de una mayor frecuentación de herbívoros ungulados (Lim *et al.*, 2005). El hecho que no hubo diferencias significativas entre la concentración de potasio sugiere que una mayor frecuencia de ganado no es la causa principal de esta mayor concentración de fósforo en las lagunas poco profundas. La baja concentración de DIN junto con la alta concentración de P, N y C orgánicos sugiere que estas lagunas se caracterizaron por tener una importante proporción del litoral con tremedales o suelos con vegetación de zonas húmedas. Esto explicaría también porqué la variable vegetación terrestre de la orilla no apareció como significativa en la

caracterización de estas lagunas, ya que esta variable no distinguía entre distintos tipos de vegetación.

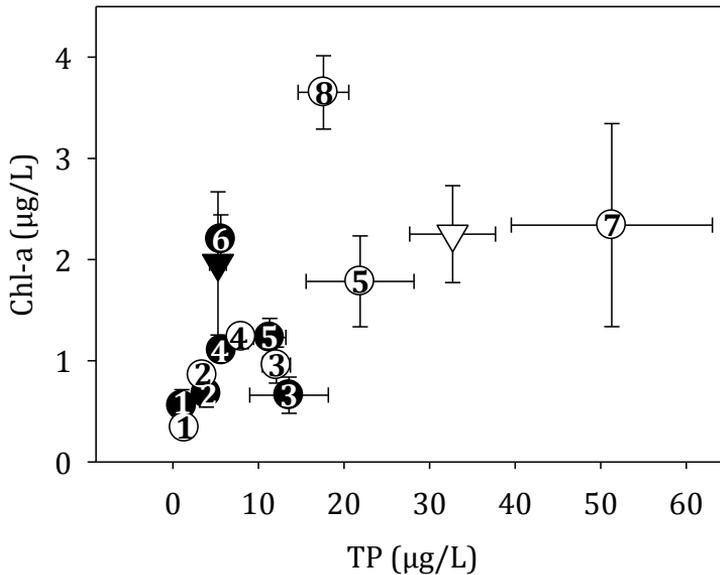


Figura 3.9: Promedio y error estándar del fósforo total (TP) y clorofila del seston (Chl-a) de estudios de masas de agua alpinas (círculos) y nuestros resultados (triángulos). Las figuras negras representan lagos y las figuras blancas lagunas. Los datos para lagos y lagunas fueron tomados de (1) Michelutti *et al.* 2002, (2) Lim & Douglas 2003, (3) Lim *et al.* 2001, (4) Medeiros *et al.* 2012, (5) Lim *et al.* 2005; datos solo de lagos (6) Catalan *et al.* 2009; datos solo de lagunas (7) McMaster & Schindler 2005, (8) Bos & Pellat 2012.

VARIABILIDAD DEL FITOPLANCTON SEGÚN LA DISPONIBILIDAD DE NITRÓGENO Y FÓSFORO

El análisis de redundancia mostró que el DIN y el TP fueron las variables más importantes para explicar la variabilidad en la biomasa de los distintos grupos del fitoplancton describiendo un eje de productividad. La composición taxonómica del fitoplancton y la diversidad de especies cambia al aumentar la concentración de nutrientes (Phillips *et al.*, 2013). En el eje de mayor variabilidad (RDA1) los clorófitos, dinoflagelados estuvieron muy relacionados positivamente con el P y tuvieron una tendencia a aumentar en las lagunas con valores altos de TP, PO₄ y DOC y algo menos los criptófitos porque pueden aprovechar mejor el incremento de la concentración de nutrientes (Drakare *et al.*, 2002). Los crisófitos se relacionaron positivamente con el N, estos tienden a estar en lagunas y lagos con pocos nutrientes y suelen dominar en sistemas pobres en P donde son más

eficientes (Wetzel, 2001, Buchaca, 2009) quizá porque el N o C pueden ser más importantes para su dinámica que el P (Levine & Schindler, 1999). Los clorófitos, dinoflagelados y criptófitos se relacionaron positivamente con las masas de agua donde el elemento limitante fue el N, mientras que los crisófitos se relacionaron positivamente con las masas de agua donde el elemento limitante fue el P.

La temperatura acumulada diaria (ADD) y la presencia de piscardo (Pez.P) tuvieron una alta correlación negativa con la altitud en el segundo eje de variabilidad (RDA2). Las diatomeas tuvieron una relación positiva con estas dos variables y son un grupo que responde a la química del agua (Catalan *et al.*, 2009a) y a sistemas mesotróficos de los Pirineos (Buchaca, 2009), la mayoría son formas sésiles asociadas al sustrato del litoral (Wetzel, 2001). Los criptófitos, crisófitos y principalmente las cianobacterias tuvieron una relación negativa con el ADD y la presencia de piscardo. Las cianobacterias respondieron a este segundo eje y no al de productividad porque pueden captar N atmosférico y proliferar en condiciones de deficiencia de N (Schindler, 1977, Downing & McCauley, 1992). La concentración de criptófitos, crisófitos y cianobacterias fue mayor en las masas de agua con mayor altitud y menor temperatura y las condiciones opuestas lo fueron para las diatomeas independientemente del tamaño de las masas de agua.

La concentración de clorófitas y criptófitas fue menor en las masas de agua limitadas por P. Las clorófitas y criptófitas tienen un amplio rango de distribución en un gradiente trófico (Phillips *et al.*, 2013). La mayoría de masas de agua tuvieron valores inferiores a 30 $\mu\text{g/L}$ de TP similar a otros estudios en lagos de montaña (*e.g.* Buchaca, 2009), solamente encontramos dos masas de agua con concentraciones de TP superiores, una de ellas, el lago Closell, presentó el valor más alto de clorófitas (30 nmol Chl-a/L) y valores extremos de TP y TN. Las clorófitas son abundantes también en condiciones eutróficas e hiper-eutróficas (Jensen *et al.*, 1994, Jeppesen *et al.*, 2005). Las criptófitas prosperan en concentraciones altas de TP cuando el pH tiende a la neutralidad (Levine & Schindler, 1999) y son importantes en los lagos pocos profundos o polimícticos (Jeppesen *et al.*, 2005). Nosotros también observamos biomásas más altas de criptófitas en similares condiciones de TP y pH. Podríamos haber esperado altas concentraciones de cianobacterias en masas de agua limitadas por N, pero no fue así porque estas responden principalmente a la concentración de TP antes que a la relación N/P (Smith, 1990) y también aumentan en escenarios eutróficos e hiper-eutróficos (Vrede *et al.*, 2009) condiciones anecdóticas en nuestras masas de agua. Los grupos del fitoplancton no fueron determinados por la mayor o menor

concentración de nutrientes sino por la disponibilidad de P en las masas de agua independientemente de su tamaño.

CAPÍTULO 4

UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN
PREDICE LA OCURRENCIA DE LOS
CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LAGOS Y
LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA DE LOS
PIRINEOS

4. UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN PREDICE LA OCURRENCIA DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA DE LOS PIRINEOS

RESUMEN

En una escala de tiempo ecológica, la colonización desde un pool de especies regional es el principal proceso que determina la diversidad local, mientras que la extinción es necesariamente un proceso que afecta la supervivencia de las especies locales. La persistencia de una comunidad dependerá del balance entre la colonización y extinción de las especies que la componen. Nosotros estudiamos la persistencia local y regional de los crustáceos de alta montaña y estimamos su probabilidad de ocurrencia de acuerdo a sus tasas de colonización-extinción en un periodo de 40 años en base al modelo biogeográfico de islas de MacArthur y Wilson. Solamente *Cyclops abyssorum* y *Daphnia longispina* tuvieron tasas de colonización mayores que las tasas de extinción, su probabilidad de ocurrencia fue mayor que la de otras especies, mientras que *Diaptomus cyaneus*, *Daphnia pulicaria*, *Mixodiaptomus laciniatus*, *Holopedium gibberum*, *Diaptomus castaneti*, *Daphnia obtusa*, *Scapholeberis mucronata* y *Acantocyclops vernalis* fueron especies con tasas de colonización menores que las tasas de extinción. Las persistencias local y regional fueron altas a corto plazo y fueron cayendo con el tiempo mostrando un cambio de especies a largo plazo, además las lagunas aportaron significativamente especies a la riqueza regional de crustáceos porque las especies poco competitivas en los lagos tienen más oportunidades de persistir en las lagunas.

INTRODUCCIÓN

El ensamblaje de especies y su organización en comunidades es el resultado tanto de interacciones bióticas, abióticas, factores biogeográficos e históricos que ocurren a diferentes escalas temporales y espaciales (Cohen & Shurin, 2003). El ensamblaje de la comunidad puede ser abordado desde dos niveles: el primero, local o ecológico que trata las interacciones entre las especies y el medio abiótico dentro de localidades relativamente pequeñas y homogéneas, preocupándose por las diferencias entre los organismos o el hábitat que permiten la coexistencia de múltiples especies o genotipos (Havel & Shurin, 2004). El segundo, regional o biogeográfico que considera importante el movimiento de los individuos y la colonización entre localidades aisladas y separadas dentro de una escala espacial amplia, este espacio regional engloba el pool de especies colonizadoras disponibles para ocupar un espacio local (Shurin *et al.*, 2000), el enfoque regional enfatiza los procesos neutrales y de deriva como la colonización y la extinción e ignora las diferencias entre las especies y el ambiente (Havel & Shurin, 2004).

Una comunidad persiste cuando tiene la capacidad de mantener constante su composición en el tiempo y el espacio particularmente durante una fase de perturbación (Grossman, 1982, Rahel, 1990), mientras que un sistema poco estable es más propenso a perder especies y a sufrir invasiones (Woodward *et al.*, 2002). Las especies no podrían persistir donde los rangos de extinción local exceden los rangos de colonización (Araújo & Williams, 2000). Esto ha sido considerado para evaluar cambios temporales en un ensamblaje natural, así como un método para valorar la diversidad del ecosistema y sus dinámicas (Meffe & Minckley, 1987, Araújo & Williams, 2000, Suweis *et al.*, 2012). Durante el ensamblaje de la comunidad en una escala de tiempo ecológica, la colonización de un grupo de especies regional es el principal proceso que determina la diversidad local, mientras que la extinción es necesariamente un proceso que afecta a la supervivencia de las especies locales (Alonso *et al.*, 2015). Para muchas aplicaciones, se supone que las comunidades están en un estado estable de extinción-colonización dinámico, es decir, se asume que las tasas de colonización y de extinción no varían entre las especies de la comunidad bajo la suposición de neutralidad e independencia de las especies (Alonso *et al.*, 2015). La idea que la colonización y la extinción pueden determinar la estructura local de la comunidad mediante la dispersión fue asimilada por la teoría de la biogeografía de islas de MacArthur & Wilson (1967) . Las aguas continentales están frecuentemente

aisladas unas de otras y proporcionan un ejemplo excelente de hábitat de isla (De Meester *et al.*, 2002).

MATERIALES Y METODOS

ÁREA DE ESTUDIO Y MUESTRAS

Reunimos la información de incidencia (presencia/ausencia) de 19 especies de crustáceos, en 404 masas de agua (245 lagos ≥ 0.5 ha y 159 lagunas < 0.5 ha.) (Tabla 4.1) muestreadas en las últimas cuatro décadas en el Pirineo (1973-77, 1987, 1998-2000, 2005-2013). Las subespecies se reunieron en una sola especie y las especies bentónicas fueron excluidas. Para calcular la persistencia local y la probabilidad de ocurrencia regional con las tasas de colonización (c) y extinción (e) seleccionamos un subgrupo de 95 masas de agua que tuvieron al menos un remuestreo en el tiempo (238 muestras y 13 especies) cada muestreo fue tratado individualmente como parte de una serie temporal (17 muestreos), las 309 masas de aguas restantes, sin remuestreos, fueron utilizadas para la validación cruzada de la probabilidad de ocurrencia regional. Para estudiar la riqueza regional cada incidencia (n=547) fue clasificada dentro de cuatro grupos temporales de acuerdo al periodo de muestreo para realizar un análisis de rarefacción (Tabla 4.2).

OCURRENCIA REGIONAL ESPERADA SEGÚN UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN

El paso inicial fue calcular las **tasas de colonización-extinción** con las incidencias de cada especie en las masas de agua con remuestreos. Primero creamos una lista de vectores con las presencias-ausencias de cada especie (1 o 0, respectivamente) para cada masa de agua en orden cronológico (excluyendo los datos perdidos, NA) y otra lista con la longitud de cada vector. Segundo, calculamos las tasas de colonización-extinción y sus intervalos de confianza con un modelo estocástico simple desarrollado por Alonso *et al.* (2015). Las tasas de colonización y extinción sirvieron para calcular la **probabilidad de ocurrencia esperada** de cada especies siguiendo el modelo estocástico de Alonso *et al.* (2015).

La probabilidad de ocurrencia de la especie en un tiempo específico (t), donde la especie está presente (1) o no (0) puede ser definida como:

$$P(1; t) + P(0; t) = 1$$

Independientemente del estado inicial del sistema, la probabilidad P^* de una especie de estar presente a lo largo del tiempo converge hacia un valor constante.

$$\lim_{t \rightarrow \infty} P(1; t) = P^*(1) = \frac{c}{e + c}$$

La variabilidad de la probabilidad de ocurrencia esperada (ΔP^*) puede ser calculada con las tasas de c y e como:

$$\Delta P^* = \frac{1}{(e + c)^2} (e\Delta c + c\Delta e)$$

Los intervalos de confianza (IC_{Sp}) de la probabilidad esperada fueron calculados de acuerdo a:

$$IC_{Sp} = \pm \frac{\Delta P^*}{2}$$

El resultado de P^* fue validado con la ocurrencia observada de las especies en las masas de agua que no fueron utilizadas en el modelo de probabilidad (309 sin remuestreos). La ocurrencia observada de cada especie (OP_i) se calculó con su ocurrencia en cada periodo de muestreo (Isp_i) entre el número de masas de agua de ese periodo de muestreo (PM_i), después se encontró el promedio y error estándar (SE) entre los periodos ($i=4$).

$$OP_i = \frac{Isp_i}{PM_i}$$

La probabilidad de una especie de persistir (T_{11}) de acuerdo a sus tasas de colonización y extinción fue determinada con la expresión presentada por Alonso *et al.* (2015).

$$T_{11} = 1 - \frac{e}{e + c} (1 - \exp(-(e + c)\Delta t))$$

Estimamos la persistencia de cada especie a escala regional en un intervalo de tiempo concreto. Nosotros utilizamos $\Delta t_1=1$, como persistencia máxima, $\Delta t_2=20$ como un punto de transición hasta $\Delta t_3=40$ comparable al rango de tiempo de los datos empíricos utilizados en el modelo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La riqueza local entre lagos y lagunas fue comparada con un análisis de ANOVA simple. La riqueza regional entre los periodos de muestreo se comparó con una prueba de rarefacción basada en muestras, este análisis permite comparar el número de especies entre comunidades cuando el tamaño de las muestras no es igual y calcula el número esperado de especies en cada muestra si todas fueran reducidas a un tamaño estándar (Moreno & Halffter, 2001). Las curvas de rarefacción y sus intervalos de confianza fueron calculados con el método de interpolación de Colwell *et al.* (2004) que se basa en un modelo mixto binomial general para la función de acumulación con la incidencia de las especies de una muestra. Este método permite comparar estadísticamente la riqueza entre los muestreos mediante sus intervalos de confianza. Las curvas de rarefacción para cada periodo de muestreo fueron determinadas con las incidencias de: i) todas las especies en todas las masas de agua, ii) todas las especies solo en los lagos >0.5 ha, iii) las especies de Cladocera en todas las masas de agua y iv) las especies de Copepoda en todas las masas de agua.

La persistencia local representa la probabilidad de incidencia local de un grupo de especies en un área concreta en un periodo de tiempo (Araújo & Williams, 2000, Woodward *et al.*, 2002) y puede ser cuantificada con un índice de similitud de la comunidad (Yant *et al.*, 1984, Rahel, 1990). La persistencia local fue calculada entre las masas de agua con remuestreos en el tiempo con el coeficiente binario asimétrico de Sorensen. Este índice valora las dobles presencias reforzando la semejanza (Legendre & Legendre, 2012). Cuando el valor es uno, la persistencia de la comunidad local es máxima o cero cuando la comunidad ha cambiado totalmente en el tiempo. En las masas de agua con más de dos muestreos, la persistencia fue calculada solamente entre los muestreos continuos en el tiempo.

Las curvas de rarefacción y sus intervalos de confianza fueron calculados con EstimateS 9.1.0 (Colwell, 2013), y se representaron con el paquete “ggplot2” (Wickham & Chang, 2014). El índice de similitud de Sorensen fue calculado con el paquete “labdsv” (Roberts, 2007). El análisis de varianza fue realizado con el paquete “stats” (R Core Team and contributors worldwide). Las tasas de colonización-extinción y sus intervalos de confianza fueron calculados con el paquete “island” (Jimenez & Alonso, 2016) en R vs 3.1.1.

Tabla 4.1: Ocurrencia (absoluta y relativa) de las especies de crustáceos entre los lagos (n=245) y lagunas (n=159) para el periodo de estudio (1973-2013). La clasificación taxonómica es tomada de Martin & Davis (2001). Donde lo indica la categoría taxonómica corresponde a: Subclase (Sc), Orden (Or), Suborden (So) o Familia, (Fa).

CLASE	ORDEN	TAXÓN	ESPECIES	SP	LAGOS (n=245)	LAGUNAS (n=159)	% LAGOS	% LAGUNAS
Branchiopoda	Anostraca	Branchipodidae (Fa)	<i>Branchipus schaefferi</i>	<i>B. schaefferi</i>	0	1	0.0	0.6
		Chirocephalidae (Fa)	<i>Chirocephalus diaphanus</i>	<i>C. diaphanus</i>	1	18	0.4	11.3
	Diplostraca	Cladocera (So)	<i>Bosmina longirostris</i>	<i>B. longirostris</i>	6	0	2.4	0.0
			<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	<i>C. quadrangula</i>	6	10	2.4	6.3
			<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	<i>C. reticulata</i>	1	2	0.4	1.3
			<i>Daphnia longispina</i>	<i>D. longispina</i>	169	56	69.0	35.2
			<i>Daphnia obtusa</i>	<i>D. obtusa</i>	4	29	1.6	18.2
			<i>Daphnia parvula</i>	<i>D. parvula</i>	0	5	0.0	3.1
			<i>Daphnia pulicaria</i>	<i>D. pulicaria</i>	17	9	6.9	5.7
			<i>Holopedium gibberum</i>	<i>H. gibberum</i>	15	0	6.1	0.0
			<i>Scapholeberis mucronata</i>	<i>S. mucronata</i>	16	21	6.5	13.2
			<i>Simocephalus vetulus</i>	<i>S. vetulus</i>	5	9	2.0	5.7
			Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae (Fa)	<i>Gammarus cf. alpinus</i>	<i>G. cf. alpinus</i>	4
<i>Diaptomus castaneti</i>	<i>D. castaneti</i>	13				47	5.3	29.6
Maxillopoda	Copepoda (Sc)	Calanoida (Or)	<i>Diaptomus cyaneus</i>	<i>D. cyaneus</i>	49	7	20.0	4.4
			<i>Eudiaptomus vulgaris</i>	<i>E. vulgaris</i>	40	33	16.3	20.8
			<i>Mixodiaptomus laciniatus</i>	<i>M. laciniatus</i>	32	7	13.1	4.4
		Cyclopoida (Or)	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	<i>A. vernalis</i>	16	15	6.5	9.4
			<i>Cyclops abyssorum</i>	<i>C. abyssorum</i>	182	31	74.3	19.5

Tabla 4.2: Número de muestreos y muestras de lagos y lagunas del Pirineo reunidos entre 1973-2013 y ordenados en cuatro periodos de muestreo (COD). Se indica el número de muestras de cada periodo de muestreo para los lagos y lagunas y entre paréntesis su porcentaje. Se indica el número de muestras total de cada periodo (PM) y el número relativo (% PM) del total de masas de agua (n=404).

PERIODO DE MUESTREO (PM)	COD	N° DE MUESTREOS EN EL PM		LAGOS	LAGUNAS	PM (%PM)
1973-1977	PS1	5		124 (82)	27 (18)	151 (37)
1980	PS2	1		45 (94)	3 (6)	48 (12)
1990-2000	PS3	2		90 (99)	1 (1)	91 (23)
2005-2013	PS4	9		89 (40)	134 (60)	223 (55)

RESULTADOS

RIQUEZA LOCAL Y REGIONAL

La riqueza local más frecuente fue dos especies en el 39% de los lagos y en el 34% de las lagunas. La riqueza máxima fue 5 especies en el 4% lagos y 6 especies en el 1% lagunas (Figura 4.1). Los lagos tuvieron significativamente (ANOVA simple, $F_{1,402}=14$, $p<0.001$) más especies que las lagunas (AVE±SD; 2.36 ± 1.09 y 1.89 ± 1.30 especies, respectivamente). Las especies con mayor presencia en los lagos fueron *Cyclops abyssorum* y *Daphnia longispina* (74 y 69%, respectivamente), mientras que en las lagunas fueron *D. longispina* y *Diaptomus castaneti* (35 y 30%, respectivamente) (Tabla 4.1).

Las curvas de rarefacción entre todas las masas de agua mostraron diferencias entre el periodo PS2 (años 80's) y el periodo PS4 (después del año 2005) (Figura 4.2A), particularmente el periodo PS2 tuvo un número bajo de masas de agua (12% del total) y la mayoría fueron lagos (94%), en PS4 el número de masas de agua fue mayor (55% del total) y predominaron las lagunas (60%) (Tabla 4.2). En un segundo análisis de rarefacción solamente con los lagos (>0.5 ha.) la diferencia observada en el primer análisis se perdió (Figura 4.2B). El análisis de rarefacción solamente con las especies de Cladocera (10 sp) o Copepoda (6 sp) no mostró diferencias significativas entre los periodos de muestreo para Cladocera (Figura 4.2C), pero para Copepoda la riqueza del periodo PS2 fue significativamente menor

que los otros periodos (Figura 4.2D) porque no registramos *Acanthocyclops vernalis* ni *D. castaneti*.

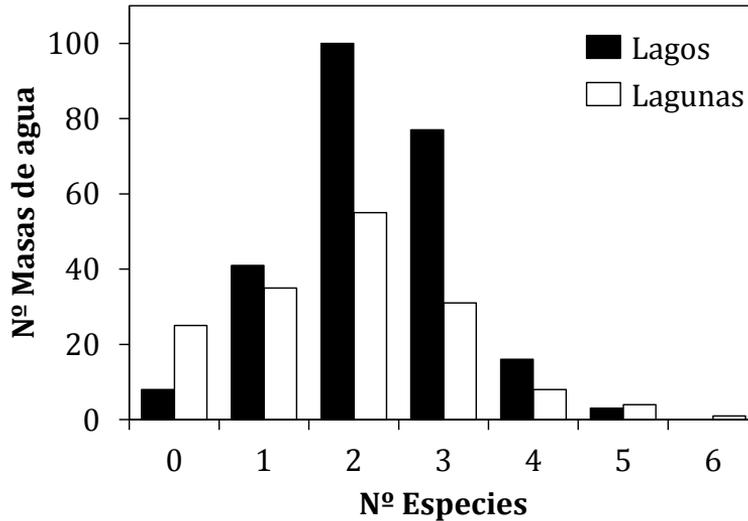


Figura 4.1: Frecuencia de la riqueza local de crustáceos planctónicos encontrados en los lagos (245) y lagunas (159).

TASAS DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN Y OCURRENCIA ESPERADA

La tasa de colonización (c), extinción (e) y sus intervalos de confianza ($\pm IC$) pudieron ser determinados para 13 especies, el resto de especies no tuvieron casos suficientes para establecer tasas e intervalos de confianza (Tabla 4.3). La tasa de colonización fue más alta que la tasa de extinción, para *C. abyssorum* ($c=0.485\pm 0.210$, $e=0.137\pm 0.057$) y *D. longispina* ($c=0.049\pm 0.027$, $e=0.026\pm 0.012$), el resto de especies tuvieron la tasa de colonización más baja que la tasa de extinción, entre ellas *Scapholeberis mucronata* ($c=0.046\pm 0.038$, $e=0.958\pm 0.756$) fue la especie con la tasa de extinción más alta (Figura 4.3A). La probabilidad de ocurrencia esperada (P^*) fue más alta para *C. abyssorum* (0.780) y *D. longispina* (0.654), el resto de especies tuvieron una P^* inferiores a 0.2 (Figura 4.3B).

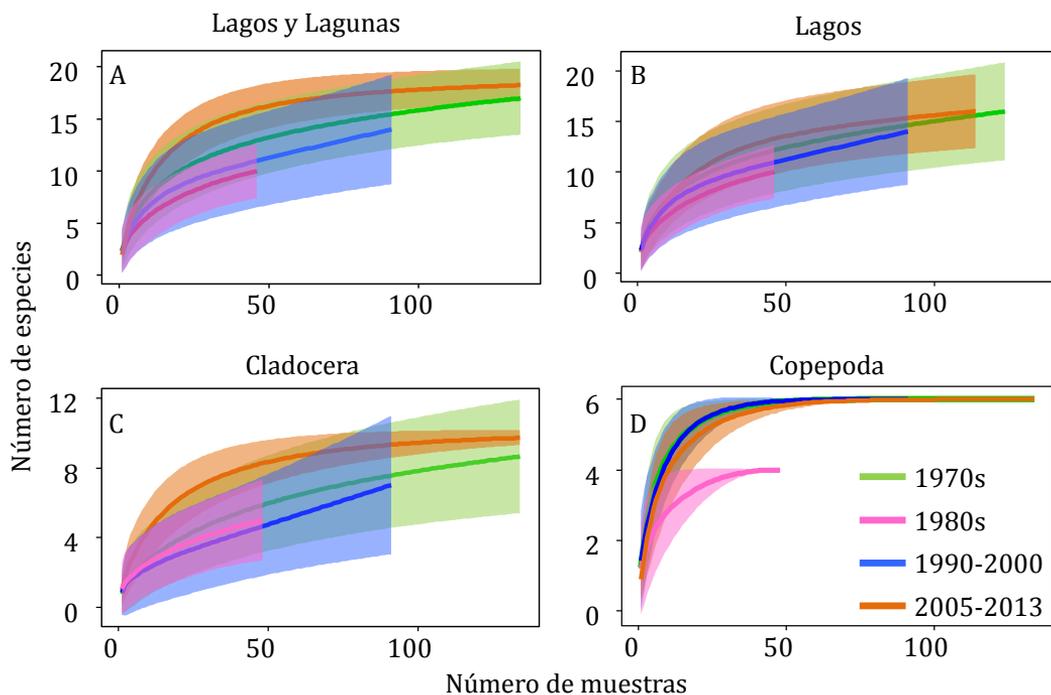


Figura 4.2: Curvas de rarefacción para los diferentes periodos de muestreo: (A) Para todas las masas de agua y todas las especies. (B) Solo los lagos superior a 0.5 ha y todas las especies. (C) Todas las masas de agua y solo las especies de Cladocera. (D) Todas las masas de agua y solo las especies de Copepoda. El final de la curva 2005-2013 se omitió para que coincida con el final de la curva 1970s y facilitar la visualización.

PERSISTENCIA LOCAL Y REGIONAL DE LAS ESPECIES

La persistencia local de las comunidades fue alta ($AVE \pm SD$, 0.67 ± 0.33). Un valor de persistencia máxima ($P=1$) se observó en el 51% de las transiciones mientras que un valor de persistencia mínima ($P=0$) se observó en el 14% de las transiciones, dentro de estas, el 25% fue debido a un recambio total de especies o disimilitud perfecta, mientras que el 75% restante fue por ausencia de especies en ambas transiciones o en una de ellas, en ambos casos una disimilitud perfecta espuria. Si excluimos las disimilitudes espurias la persistencia local aumentó (0.75 ± 0.25). Las transiciones con menos de 30 años tuvieron una persistencia media mayor a 0.60 mientras que las transiciones con más de 30 años tuvieron una persistencia media inferior a 0.19 (Figura 4.4).

Tabla 4.3: Probabilidad de ocurrencia y tasas de colonización-extinción. Ocurrencia observada (Po) y su error estándar (Po-SE). Probabilidad de ocurrencia esperadas (P*) y su intervalo de confianza (\pm IC P*). Tasas de colonización (c) y extinción (e) con sus intervalos de confianza (\pm IC).

ESPECIES	Po	Po-SE	P*	\pm IC P*	c	\pm IC c	e	\pm IC e
<i>C. abyssorum</i>	0.606	0.162	0.780	0.146	0.485	0.210	0.137	0.057
<i>D. longispina</i>	0.603	0.106	0.654	0.225	0.049	0.027	0.026	0.012
<i>S. mucronata</i>	0.050	0.030	0.046	0.071	0.046	0.038	0.958	0.756
<i>C. quadrangula</i>	0.015	0.009	0.054	0.081	0.033	0.026	0.582	0.465
<i>G. cf. alpinus</i>	0.000	0.000	0.050	0.073	0.019	0.016	0.354	0.249
<i>D. cyaneus</i>	0.096	0.056	0.142	0.156	0.011	0.007	0.065	0.040
<i>A. vernalis</i>	0.054	0.027	0.038	0.093	0.006	0.007	0.163	0.254
<i>E. vulgaris</i>	0.132	0.030	0.137	0.176	0.006	0.005	0.035	0.023
<i>H. gibberum</i>	0.035	0.026	0.066	0.109	0.005	0.005	0.076	0.066
<i>D. pulicaria</i>	0.089	0.045	0.104	0.209	0.004	0.003	0.032	0.043
<i>D. castaneti</i>	0.114	0.054	0.035	0.109	0.003	0.004	0.089	0.182
<i>M. laciniatus</i>	0.116	0.025	0.038	0.091	0.002	0.002	0.042	0.043
<i>D. obtusa</i>	0.050	0.040	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.113

La persistencia regional para $\Delta t=1$ fue 0.85 ± 0.18 (AVE \pm SD) y las especies más persistentes fueron *D. longispina*, *D. pulicaria* y *Eudiptomus vulgaris* (0.97 para las tres especies) y *S. mucronata* fue la menos persistente (0.40). Cuando $\Delta t=20$, la persistencia regional bajo drásticamente a 0.34 ± 0.26 y la especie más persistente fue *C. abyssorum* (0.78) y *S. mucronata* fue la menos persistente (0.05). Cuando $\Delta t=40$, la persistencia regional fue de 0.23 ± 0.24 y la especie más persistente continuó siendo *C. abyssorum* (0.78) y la menos persistente fue *A. vernalis* (0.04) (Figura 4.5).

DISCUSIÓN

Solamente *D. longispina* y *C. abyssorum* tuvieron tasas de colonización mayores que sus tasas de extinción el resto de especies evaluadas lo contrario. Una especie con una tasa de colonización mayor que la tasa de extinción tiene una mayor probabilidad de resistir invasiones de otras especies desde el pool regional (Shurin, 2000).

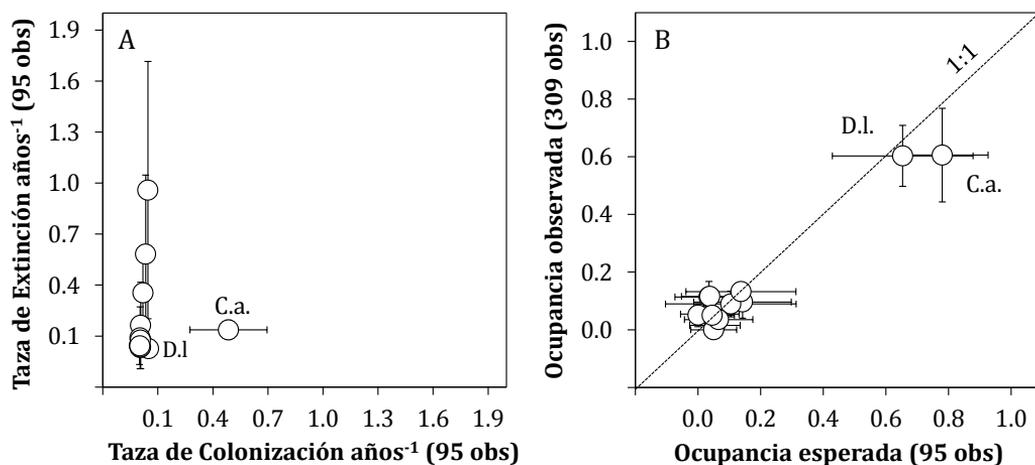


Figura 4.3: (A) Representación de las tasas de colonización y extinción y sus intervalos de confianza para trece especie. (B) Ocurrencia esperada y su intervalo de confianza obtenida con el modelo de colonización-extinción y la ocurrencia observada y su error estándar para el resto de las masas de agua no modeladas. D.l. y C.a. corresponden a *D. longispina* y *C. abyssorum* respectivamente.

Por otro lado, *D. longispina* y *C. abyssorum* fueron las especies con mayor ocurrencia en las masas de agua pero diferían en sus tasas de colonización y extinción. *D. longispina* tuvo unas tasas bajas tanto de colonización como de extinción, mientras que *C. abyssorum* lo contrario. Esta última especie tuvo la tasa de colonización más alta de todas las especies estudiadas. Estas diferencias coinciden con las características ecológicas conocidas por ambas especies e ilustran cómo estrategias totalmente opuestas pueden conducir a una dispersión efectiva similar. *D. longispina* tiene una reproducción partenogenética alternando reproducción asexual y sexual. En este último caso genera efipios, huevos de resistencia que le permiten colonizar nuevos ambientes pero sobre todo resistir a períodos adversos como la desecación. En un estudio previo sobre la distribución de *D. longispina* en el Pirineo oriental encontramos que es una especie con una extraordinaria variabilidad genética interpretada como una evidencia de su alta capacidad adaptativa, de manera que cada nueva colonización viene asociada con un fuerte efecto prioritario y de monopolización (Ventura *et al.*, 2014). Por otro lado *C. abyssorum*, al igual que el resto de copépodos, se reproduce sexualmente de forma obligada pero tiene la particularidad que las hembras pueden almacenar el esperma de los machos durante varias semanas o meses, echo que se ha planteado como una ventaja para poder dispersarse (Santer, 1998). En cambio tiene una menor capacidad de resistencia a la desecación, echo que explicaría su ausencia de

la mayor parte de lagunas (ver capítulo 5). Estudios moleculares del género *Cyclops* de Krajiček *et al.* (2016) sugieren que *C. abyssorum* corresponde a una tardía especiación y distribución durante los eventos de glaciación en el Pleistoceno. Resultados preliminares de nuestro grupo indican que la colonización de los Pirineos por parte de *C. abyssorum* data aproximadamente de hace unos 40.000 años, y el de *D. longispina* de unos 10.000 años (Ventura *et al.*, 2014), y son las dos especies que hemos analizado, que tienen una tasa de colonización más antigua. Esto implica que son las especies que han tenido más tiempo para poderse dispersar. Otro aspecto interesante es que la ocurrencia de *C. abyssorum* y *D. longispina* se produce principalmente en los lagos de mayor tamaño (ver capítulo 5) y que *C. abyssorum*, al menos en los lagos que han sido estudiados hasta el momento, depreda sobre *Daphnia*, echo que podría sugerir una cierta interacción positiva entre las dos especies. Otros estudios indican que la mayoría de interacciones ocurren entre pequeños subgrupos ordenados de especies, o compartimentos, y que esto mejora la probabilidad de persistencia de las especies (Rozdilsky *et al.*, 2004) y una comunidad compartimentada puede amortiguar la propagación de extinciones (Stouffer & Bascompte, 2011).

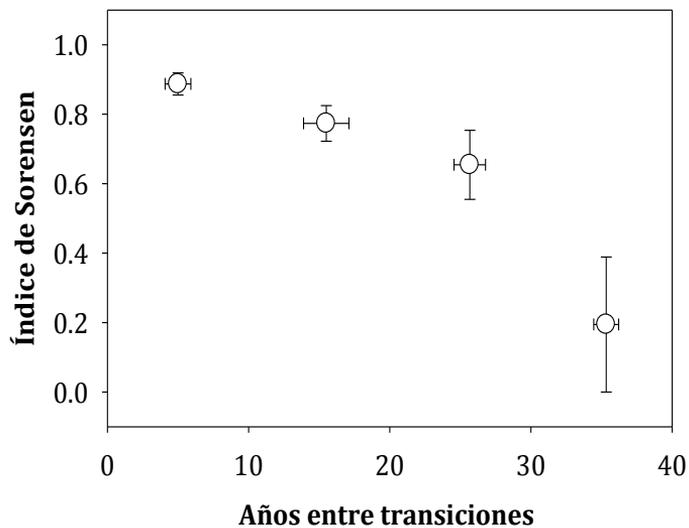


Figura 4.4: Promedio y error estándar del índice de Sorensen entre los muestreos de acuerdo al número de años de separación entre ellos. Las barras representan el error estándar. Las disimilitudes espurias fueron excluidas.

A nivel de comunidad, la similitud entre las comunidades disminuyó de forma progresiva al aumentar el tiempo entre los muestreos. Varios factores pueden explicar este resultado, incluyendo la variabilidad interanual, diferencias en el

método de muestreo, extinciones puntuales en algunas especies o un cambio real en la composición de la comunidad. Todos los muestreos se realizaron entre julio y agosto, pero debido a la variabilidad interanual en la fusión de la cubierta de hielo (Thompson *et al.*, 2009), las comunidades muestreadas en años distintos podían tener diferencias en la fenología de las especies y por tanto se podría pensar que este factor explicaría diferencias entre los distintos muestreos. Estudios estacionales realizados en los Pirineos (Ventura, 2005, Ventura & Catalan, 2005) o en otras cordilleras (Nilssen & Elgmork, 1977) describen que tanto cladóceros como copépodos ciclopoideos se encuentran en los lagos durante todo el año, mientras los copépodos calanoides es el único grupo con una clara estacionalidad. En este caso el ciclo vital suele durar unos tres meses, un período suficientemente largo como para descartar que la variabilidad interanual en la cubierta de hielo (unos 2 meses entre los veranos más cálidos y los más fríos) puede explicar la ausencia de algunas de las especies. Por otra parte, el método de muestreo no fue el mismo en todos los lagos y lagunas. En la mayor parte de lagos se muestreo desde una barca en el punto más profundo, mientras que en algunos lagos (especialmente los muestreados en los años 70) y las lagunas se muestrearon desde el litoral, ya sea tirando una red (lagos) o con un tubo transparente (lagunas). Esta diferencia en el lugar de muestreo es improbable que explique diferencias en la composición de las especies. Por un lado las especies con una ecología bentónica fueron eliminadas del conjunto de datos para evitar un sesgo, por otro, el muestreo desde el litoral es un método relativamente frecuente en crustáceos planctónicos debido a que habitualmente se encuentran las mismas especies que en el plancton y cuando se encuentra más de una especie, estas suelen encontrarse sincrónicamente en el plancton, ya sea segregadas por tamaño (e.g. copépodos calanoides o distintos géneros de cladóceros) o por el espacio (en un solo lago de los ca. 400 muestreados encontramos dos especies de *Daphnia* en el mismo momento) distintas especies.

La extinción puntual de alguna de las especies, o presencia en concentraciones muy bajas, debido al colapso de la población de alguna de ellas -por procesos ecológicos naturales de los lagos- puede ser otro factor que explica las desapariciones de alguna de las especies. Estas desapariciones pueden haberse producido puntualmente, pero debido a que la mayor parte de las especies tienen formas de resistencia el año siguiente se vuelvan a encontrar en el plancton. Estos serían casos de falsas extinciones. En los pocos estudios estacionales realizados en los Pirineos (Ventura, 2005, Ventura & Catalan, 2005) nunca se ha encontrado este tipo de extinciones, lo cual indica que es probable que no sea un proceso muy

habitual. Finalmente esta disminución de la similitud puede ser debido a un cambio real de la composición de las especies. Un período de 40 años puede ser un período suficiente como para que ocurran cambios relevantes en los lagos. Durante este período se han producido introducciones de peces, tanto truchas como piscardo que aumentaron de un 25% a un 55% de los lagos con peces introducidos (Miró & Ventura, 2015) y pueden suponer cambios en la composición de las especies de crustáceos de los lagos (e.g. Knapp *et al.*, 2001, Tiberti *et al.*, 2014). Algunos lagos han sido alterados hidrológicamente para su explotación hidroeléctrica (Catalan *et al.*, 1997) pudiendo cambiar tanto la estructura física del propio lago, como introduciendo especies de otros lagos interconectados. En otros casos pueden haberse producido cambios en la composición de las especies, simplemente por la llegada de algunas especies por dispersión (Ricklefs, 1987, Shurin, 2000). En cualquier caso este cambio en la composición de las comunidades a lo largo del tiempo es una clara evidencia que existe una dinámica temporal en la metacomunidad de crustáceos planctónicos de los lagos de los Pirineos.

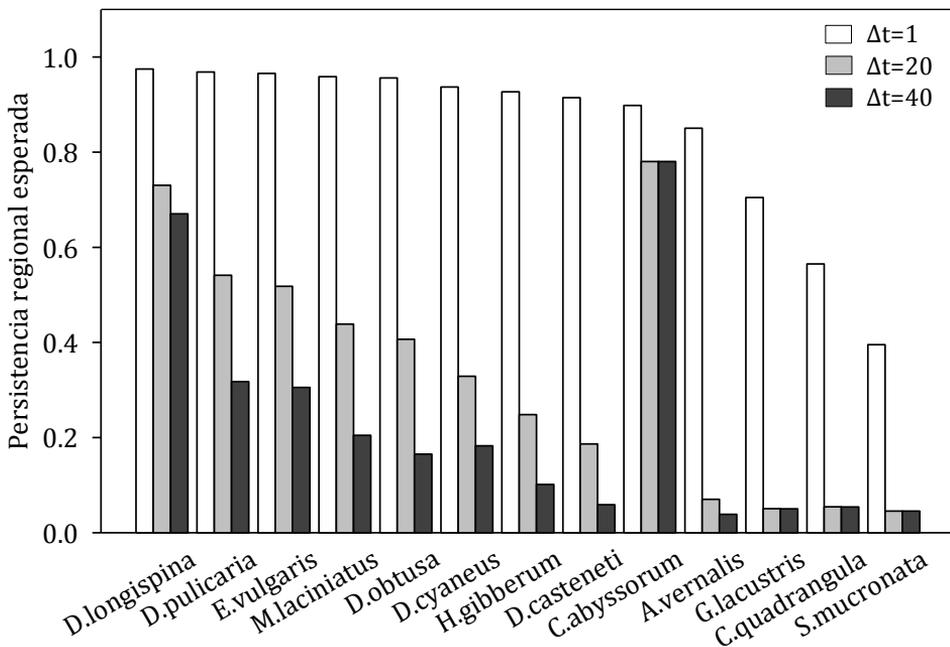


Figura 4.5: Persistencia regional esperada (T_{11}) de las especies calculada con las tasas de colonización-extinción para diferentes periodos de tiempo en años (Δt). Las barras blancas son para un $\Delta t=1$, las barras grises para un $\Delta t=20$ y las barras negras para un $\Delta t=40$.

La riqueza local fue estadísticamente mayor en los lagos que en las lagunas pero la riqueza es una variable discreta y la diferencia estadística no tendría importancia

ecológica porque la moda (frecuencia más común de especies) en los lagos y lagunas fue la misma (dos especies), si bien la mayor subdivisión de nicho y hábitat que tiene los lagos grandes puede favorecer una mayor riqueza (Cottenie & De Meester, 2003, Catalan *et al.*, 2009b). Las lagunas también pueden ser excepcionalmente ricas en términos de biodiversidad (Williams *et al.*, 2004, Olmo *et al.*, 2012), por esto cuando excluimos la riqueza local que aporta las lagunas la riqueza regional disminuyó significativamente (Figura 2B), ya que cada ecosistema aporta un tipo de hábitat donde la aptitud de una u otra especies permite que sobreviva y ensamble una comunidad local (Mouquet & Loreau, 2002). En esta línea encontramos diferencias ambientales entre lagos y lagunas que trascienden en el ensamblaje de las comunidades (capítulo 5) y son un factor clave en el aporte excepcional de las lagunas a la riqueza regional, por ejemplo, Calanoida puede producir huevos de resistencia con mejor aptitud que los copepoditos inactivos de Cyclopoida para sobrevivir a la desecación y ocupar con mayor éxito las lagunas (Dahms, 1995, Hairston & Bohonak, 1998).

CAPÍTULO 5

RELEVANCIA DEL FILTRO AMBIENTAL Y LA
EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL
ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE
CRUSTACEOS PLANCTÓNICOS

5. RELEVANCIA DEL FILTRO AMBIENTAL Y LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTACEOS PLANCTÓNICOS

RESUMEN

El ensamblaje de las comunidades de crustáceos de alta montaña puede ser determinado por el filtro ambiental e interacciones entre las especies como la exclusión competitiva o por factores estocásticos como la dispersión. Describimos el filtro ambiental con los umbrales ambientales relacionados con las especies y utilizamos el marco conceptual de una metacomunidad para valorar la importancia relativa del ambiente, la dispersión y la exclusión competitiva en el ensamblaje de las especies. Utilizamos la información filogenética y la probabilidad de coocurrencia de las especies para valorar la exclusión competitiva en el ensamblaje de las especies. El filtro ambiental fue caracterizado principalmente por el tamaño de las masas de agua, el pH y la altitud. Determinamos que el ensamblaje de las especies es el resultado tanto del ambiente como de la dispersión. Encontramos que la importancia relativa del ambiente independiente del espacio fue más alta en Cyclopoida (14%), disminuyó con Branchiopoda (7%) y fue más baja en Calanoida (3%), mientras que la dispersión, explicada por la distribución en el espacio, mostró un patrón opuesto (12, 15 y 24%, respectivamente). La mayor variabilidad del ambiente puede interpretarse como una mayor dependencia de las condiciones ambientales y una mayor efectividad de dispersión. La mayor variabilidad del espacio puede deberse a una mayor estructura espacial debido a una limitación de la dispersión. Determinamos que las especies cercanas filogenéticamente coocurrieron con menor frecuencia de lo esperado por azar debido a la exclusión competitiva. Observamos que *Daphnia longispina* y *Cyclops abyssorum* fueron las especies con ocurrencias más altas en los lagos, mientras que *Daphnia obtusa* y *Diaptomus castaneti* tendrían una mejor aptitud para ocupar las lagunas.

INTRODUCCIÓN

Una metacomunidad es el resultado de la conexión de un conjunto de especies mediante su dispersión desde un número discreto de comunidades locales que pueden interactuar potencialmente (Wilson, 1992). En la actualidad trabajos empíricos y teóricos sobre metacomunidades descansan sobre cuatro modelos paradigmáticos que enfatizan diferentes elementos potencialmente importantes como: la heterogeneidad ambiental, los procesos de dispersión, el nicho o la neutralidad (Leibold *et al.*, 2004). Cottenie (2005) relacionó la composición de las comunidades locales con los procesos locales y la dispersión utilizando un método que integra la dinámica de las comunidades ecológicas con la importancia relativa tanto del ambiente como el espacio en el marco de una metacomunidad. Un factor importante es la dispersión que permite a nuevas especies colonizar comunidades locales donde ellas estaban ausentes previamente y homogenizarlas (Hanski, 1999). La dispersión posibilita la persistencia regional de especies competidoras, consecuentemente en una metacomunidad las especies son localmente diferentes pero regionalmente similares (Mouquet & Loreau, 2002). Un método práctico para cuantificar la fuerza de la dispersión es el análisis espacial de las distancias geográficas entre las localidades (Beisner *et al.*, 2006, Jacobson & Peres-Neto, 2010, Grönroos *et al.*, 2013, Soininen, 2014).

En el ensamblaje de las comunidades hay dos procesos centrales involucrados: el filtro ambiental de las especies que pueden persistir dentro de la comunidad por su mejor adaptación o tolerancia al ambiente abiótico y las interacciones competitivas entre las especies que limitaran su coexistencia a largo plazo (Cavender-Bares *et al.*, 2004). La concepción habitual del efecto del filtro ambiental falla al no separar el efecto real de las condiciones abióticas de los procesos bióticos. Kraft *et al.* (2015) define el filtro ambiental *sensu stricto* como las condiciones abióticas que incapacitan a una especie para establecerse y persistir en un sitio, separándolo de las interacciones bióticas. Recientemente ha habido un creciente interés en la búsqueda de patrones filogenéticos en la composición de las comunidades porque las especies más relacionadas filogenéticamente son probablemente más similares ecológicamente (e. g. mismo nicho) (Helmus *et al.*, 2007b). En este caso se excluyen unas a otras de una misma comunidad por competencia (Diamond, 1975). Esto conduce a combinaciones poco probables de especies cercanas filogenéticamente (Helmus *et al.*, 2007b). Por lo contrario, las especies podrían compartir los mismos requerimientos ecológicos (e. g. mismo hábitat) y ser más probables a coocurrir en la misma comunidad (Helmus *et al.*, 2007a), entonces la

estructura filogenética de la comunidad dependerá de la evolución conservativa o convergente de los caracteres de las especies (Pausas & Verdú, 2010). La coocurrencia de especies y sus relaciones filogenéticas han sido usadas como un indicador del filtro ambiental y procesos de competencia que intervienen en el ensamblaje de las especies (Webb *et al.*, 2002, Helmus *et al.*, 2007a, 2007b, 2010, Pausas & Verdú, 2010, Pillar & Duarte, 2010). El ensamblaje final de la comunidad podría reflejar el efecto combinado del filtro ambiental que selecciona las especies de caracteres similares y las interacciones de competencia que conduce a la coexistencia de especies con caracteres diferentes (Helmus *et al.*, 2007b, Pausas & Verdú, 2010).

Los ecosistemas acuáticos de alta montaña son buenos ejemplos de cómo las especies son filtradas por el ambiente y existen solamente en sitios ambientalmente adecuados (Beisner *et al.*, 2006, Catalan *et al.*, 2009a). Las comunidades de crustáceos de sistemas acuáticos de alta montaña están formadas por pocas especies consumidoras y depredadoras que son una parte sustancial del zooplancton (Ventura & Catalan, 2008). Muchas especies de crustáceos han desarrollado formas de resistencia para poder sobrevivir aun cuando las condiciones ambientales no son favorables entrando en diapausa y después retomar su desarrollo cuando si lo sean (Hairston & Munns, 1984, Dahms, 1995). Dentro de los crustáceos se encuentran distintas estrategias de dispersión: los copépodos calanoides y los cladóceros se sabe que producen huevos de resistencia y que tienen una baja capacidad de dispersión, mientras que los copépodos ciclopoideos no producen huevos de resistencia y parecen ser dispersores más efectivos que los otros dos grupos (Hairston & Bohonak, 1998). También tienen distintos tipos de reproducción: los dos grupos de copépodos tienen reproducción sexual, mientras que los cladóceros se reproducen por partenogénesis cíclica lo que permite a un único individuo colonizar un nuevo lugar. Una vez ha llegado a un nuevo ecosistema, alternando reproducción sexual y asexual, el colonizador rápidamente monopoliza los recursos maximizando la resistencia a las invasiones de otras especies o clones a través de los efectos prioritarios (De Meester *et al.*, 2002). Se espera que la distribución de los copépodos ciclopoideos se vea más afectada por factores ecológicos (Guisande *et al.*, 2003), mientras que los copépodos calanoides y los cladóceros se espera que tengan una mayor influencia del efecto fundador (Hairston & Walton, 1986, De Meester *et al.*, 2002, Yoshida *et al.*, 2003). Entre estos dos últimos grupos, los cladóceros muy probablemente tienen un efecto fundador más fuerte debido a su modo de reproducción partenogenética cíclica (Ventura *et al.*, 2014). Por este motivo son un buen modelo

para estudiar las relaciones entre las especies del ecosistema y como las comunidades son ensambladas por el ambiente y la competencia.

METODOLOGÍA

ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue realizado en masas de agua del Pirineo con la información de presencia/ausencia (incidencia) de 16 especies de crustáceos: *Chirocephalus diaphanus* Desmarest, 1823; *Ceriodaphnia quadrangula* (Müller, 1785); *Daphnia longispina* (Müller, 1776); *Daphnia obtusa* Kurz, 1875; *Daphnia parvula* Fordyce, 1901; *Daphnia pulicaria* Forbes, 1893; *Scapholeberis mucronata* (Müller, 1776); *Simocephalus vetulus* (Müller, 1776); *Holopedium gibberum* Zaddach, 1855; *Gammarus cf. alpinus* sp. nov.; *Acanthocyclops vernalis* (Fischer, 1853); *Cyclops abyssorum* Sars G.O., 1863; *Diatomus castaneti* Burckhardt, 1920; *Diatomus cyaneus* Gurney, 1909; *Eudiaptomus vulgaris* (Schmeil, 1896); *Mixodiatomus laciniatus* (Lilljeborg in Guerne & Richard, 1889), (Figura 5.1). Para abordar los dos primeros objetivos utilizamos la incidencia en 237 masas de agua (111 lagunas <0.5 ha y 126 lagos > 0.5 ha). Para analizar las interacciones de las especies (objetivo iii) utilizamos la incidencia en 370 masas de agua (134 lagunas y 236 lagos).

MUESTREO Y ANÁLISIS

Las muestras de agua para el análisis de química fueron colectadas en la salida del lago. El muestreo se realizó entre el 2010 y el 2013 durante el verano (principalmente entre julio y agosto). Los análisis se realizaron utilizando los métodos descritos en Ventura *et al.* (2000). Las variables químicas analizadas fueron: conductividad (Cond), pH, magnesio (Mg), potasio (K), alcalinidad (ALK), sulfato (SO₄), nitrato (NO₃), cloro (Cl), fósforo total (TP), nitrógeno total (TN), nitrógeno orgánico total (TON), nitrógeno inorgánico disuelto (DIN) y amonio (NH₄). Las variables geomorfológicas cuenca total (TCATCH), área de la masa de agua (LA) y altitud (ALT) fueron obtenidas con un sistema de información geográfica (ArcMap 10 (ESRI, 2011)) (Tabla 5.1).

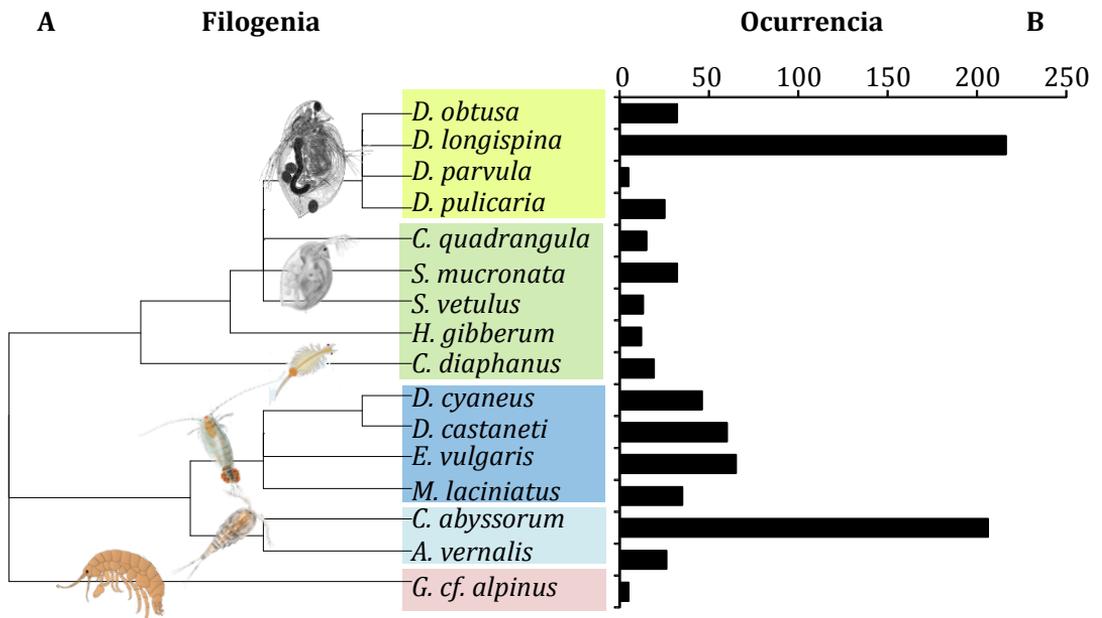


Figura 5.1: (A) Filogenia de las especies de acuerdo al método de Clarke & Warwick (1998). (B) ocurrencias absolutas para las 370 masas de agua estudiadas. Los grupos filogenético fueron: *Daphnia* (verde claro), otras especies de *Branchiopoda* (verde oscuro), copépodos *Cyclopoida* (azul), *Calanoida* (azul claro) y *Amphipoda* (rojo). Imágenes de crustáceos tomadas de internet.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Efecto del ambiente y el espacio en el ensamblaje de las especies

Para definir la importancia relativa del ambiente y el espacio en la incidencia de especies utilizamos un análisis de redundancia (RDA). La incidencia de especies constituyó el componente biótico [Bi] analizado de cuatro maneras distintas: todas las especies juntas [B16] y por separado: los copépodos *Cyclopoida* con dos especies [B2], *Branchiopoda* con nueve especies [B9] y *Calanoida* con cuatro especies [B4]. El componente biótico fue transformado con el método de Hellinger (Eq. 1) apropiado para analizar la composición de la comunidad con datos de presencia/ausencia (Borcard *et al.*, 2011) porque excluye la porción de los dobles ceros empleando el coeficiente de semejanza de Ochiai (Eq.2) (Legendre & Legendre, 2012).

Eq. 1

$$D_{Hellinger} = \sqrt{2} \sqrt{1 - S_{Ochiai}}$$

Eq. 2

$$S_{Ochiai} = \frac{a}{\sqrt{(a+b)(a+c)}}$$

En este estudio el componente ambiental [Ei] integró el grupo de variables abióticas (variables geomorfología y químicas) y variables bióticas (presencia/ausencia de salmónidos y piscardos) de las masas de agua. Para identificar la dependencia lineal (colinealidad) entre las variables se realizó un análisis de correlación de Pearson, en los casos de correlaciones altas ($r > 0.8$) se excluyó del análisis una de las variables. Las variables del componente ambiental fueron estandarizadas (media=0 y SD=1). Los datos de peces se transformaron con el método de Hellinger (Eq. 1). El componente espacial [Si] fue descrito por predictores espaciales de acuerdo al método de Dray *et al.* (2006) usados en el análisis ecológico del espacio (*e.g.* Declerck *et al.*, 2011, Frisch *et al.*, 2012, Gascón *et al.*, 2016). Este método diagonaliza una matriz de ponderación espacial para después obtener los vectores propios y maximizar la autocorrelación entre los sitios por medio del índice de Moran. Estos vectores propios (MEMs) pueden ser usados directamente como variables explicativas del espacio en un modelo de regresión canónica (Borcard *et al.*, 2011). Nosotros obtuvimos 108 vectores propios positivos que fueron considerados como el componente espacial. Los MEMs negativos no se utilizaron porque tuvieron un R^2 negativo que desde un punto de vista ecológico no tienen interés (Legendre & Legendre, 2012).

El RDA busca, en un orden sucesivo, una serie de combinaciones lineales de las variables explicativas que mejor representan la variación de la matriz respuesta. Un primer RDA con el componente biótico (matriz respuesta) y el componente ambiental (matriz explicativa) fue realizado de acuerdo al método de Blanchet *et al.* (2008a). La dependencia lineal de las variables fue calculada con el factor de inflación de la varianza (VIF) que mide la proporción por la cual la varianza de un coeficiente de regresión crece en presencia de otras variables explicativas, resultados superiores a un VIF de 10 deben ser evitados (Borcard *et al.*, 2011), el resultado del RDA y sus ejes fueron testados con permutaciones (perm=9999), el resultado final fue un grupo de variables parsimoniosas del componente ambiental [Ei]. Un segundo RDA se realizó intercambiando la matriz de variables ambientales

por la matriz de variables espaciales para determinar las variables parsimoniosas del componente espacial [Si]. Finalmente realizamos un tercer RDA con las variables parsimoniosas de ambos componente [Ei+Si] como matriz explicativa. Este procedimiento se repitió con cada uno de los componentes bióticos.

Tabla 5.1: Variables abióticas y bióticas del componente ambiental [Ei] para 237 masas de agua. Se muestra los valores mínimos (MIN), máximos (MAX), la media (AVE), la mediana (MED) y la desviación estándar (SD).

VARIABLES	CÓDIGO	MIN	MAX	AVE	MED	SD
VARIABLES ABIÓTICAS						
<i>Variables geomorfológicas</i>						
Altitud (m s.n.m.)	ALT	1477	2990	2263	2270	229
Área (ha)	LA	0.00	53	3	0.6	6.6
Cuenca total (ha)	TCATCH	0.01	3940	121	33	322
Cociente TCATCH /LA	TC/LA	3.35	38711	613	30	4046
<i>Variables químicas</i>						
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$ 20 °C)	COND	2.70	285	30	19	35
Alcalinidad ($\mu\text{eq}/\text{L}$)	ALK	-94	1773	198	97	269
pH	pH	4.38	9	7	6.9	0.8
Magnesio (mg/L)	Mg	0.01	12	0.4	0.2	1.1
Potasio (mg/L)	K	0.00	16	0.4	0.2	1.2
Sulfato (mg/L)	SO ₄	0.04	34	2	1	4
Nitrato ($\mu\text{g}/\text{L}$)	NO ₃	0.00	354	68	34	74
Cloro (mg/L)	Cl	0.04	44	1	0.3	3.6
Fósforo total ($\mu\text{g}/\text{L}$)	TP	0.01	283	16	5	35
Nitrógeno inorgánico disuelto ($\mu\text{g}/\text{L}$)	DIN	3.99	6950	125	57	469
Nitrógeno orgánico total ($\mu\text{g}/\text{L}$)	TON	0.00	2788	305	157	436
Cociente DIN/TP	DIN/TP	0.11	25800	309	10	2385
Cociente TON/TP	TON/TP	0.00	37600	244	28	2463
VARIABLES BIÓTICAS						
Salmónidos (0/1)	Pez.S	0	1	35*	-	-
Piscardos (0/1)	Pez.P	0	1	25*	-	-

(*) El valor corresponde al porcentaje de masas de agua ocupadas por los salmónidos o los piscardos

El componente biótico y el resultado parsimonioso de las variables ambientales y espaciales fueron evaluados con un análisis de la partición de la varianza (RDA-VP) (Borcard *et al.*, 1992, Peres-Neto *et al.*, 2006) utilizado en el análisis ecológico del zooplancton (Cottenie *et al.*, 2003, Cottenie, 2005, Pinel Alloul *et al.*, 2013). La partición de la varianza permite estimar la variación relativa de los componentes: ambiental y espacial total $[E_i+S_i]$, ambiental $[E_i]$, espacial $[S_i]$, ambiental independiente del espacio $[E_i|S_i]$, espacial independiente del ambiente o espacio exclusivo $[S_i|E_i]$, ambiente correlacionado con el espacio o compartido $[E_i \cap S_i]$ y no-explicado por el ambiente y el espacio o residual $[1-(E_i+S_i)]$. Los resultados sirvieron para describir la dinámica de la metacomunidad de acuerdo al método de Cottenie (2005).

Para describir el ensamblaje de las especies junto con un gradiente ambiental y predecir la relación especie-ambiente utilizamos un árbol de regresión multivariante (MRT) (De'ath, 2002). El MRT puede determinar las variables importantes asociadas con la estructura comunitaria (Cottenie, 2005, Ouellette *et al.*, 2012) cuando las relaciones entre las variables dependientes e independientes no son lineales (Borcard *et al.*, 2011). El MRT minimiza la diferencia de los valores ambientales de los sitios y utiliza la composición de las especies como una medida de disimilaridad para predecir los umbrales de los valores ambientales. El MRT toma la forma de un clúster donde un nodo divide los objetos (masas de agua) en dos ramas que describen un tipo de ensamblaje (especies) asociado a un tipo de hábitat definido por sus valores ambientales (De'ath, 2002). El número de nodos y ramas fueron seleccionados con el error relativo de validación cruzada (CVRE), un valor de CVRE cercano a 0 indica una predicción perfecta y un valor cercano a 1 una mala predicción. El número de ramas no debe ser mayor al número de especies (Borcard *et al.*, 2011, Therneau & Atkinson, 2014). El MRT fue realizado con las variables ambientales parsimoniosas seleccionadas en el análisis RDA. La relevancia de las especies en cada rama fue evaluada con el índice *Indval* (Dufrene & Legendre, 1997). Adicionalmente las variables ambientales fueron testadas con una ANOVA simple más una prueba post-hoc con el test HSD de Tukey considerando como factor la rama de clasificación de cada objeto en el MRT. Las variables ambientales fueron normalizadas con la función $\log_{10}X*100+1$.

Interacciones entre las especies

Para detectar asociaciones entre las especies utilizamos la comparación entre la filogenia y la coocurrencia de las especies. La filogenia fue obtenida con la distancia

cofenética del árbol filogenético que conecta las especies de acuerdo al método de Clarke & Warwick (1999). La semejanza filogenética fue igual a $1 - distancia\ cofenética$. Las especies semejantes filogenéticamente tendrán valores próximos a uno y las especies diferentes valores próximos a cero.

El filtro ambiental puede causar que especies ecológicamente semejantes (mismo nicho y en nuestra hipótesis relacionadas filogenéticamente) sean seleccionadas por los factores ambientales en la misma comunidad y por exclusión competitiva las especies relacionadas filogenéticamente no ocurren en la misma comunidad (e.g. Webb *et al.*, 2002, Slingsby & Verboom 2006). Para discernir entre el efecto del ambiente y la exclusión competitiva utilizamos el método de Helmus *et al.* (2007b) que excluye estadísticamente el efecto del ambiente de las coocurrencias mediante una regresión logística entre la matriz de incidencias original (p_0) y la matriz de las variables ambientales. Así se obtiene una matriz de las incidencias dependiente del ambiente (p_1) y una matriz de residuos (r_0) de las incidencias con independencia del ambiente. Para las matrices de incidencias originales y de residuos calculamos la correlación de Pearson como un valor de la coocurrencia de las especies. La relación entre las coocurrencias estimadas independientes del ambiente (residuos de la regresión logística) y la semejanza filogenética puede mostrar el efecto en las especies emparentadas filogenéticamente cuando coocurren con menos frecuencia de lo esperado por azar (repulsión filogenética) independiente del efecto del ambiente (Helmus *et al.*, 2007b). Este ejercicio solo fue factible con las especies con ocurrencias altas ($n \geq 25$ ocurrencias): *C. abyssorum*, *D. castaneti*, *D. cyaneus*, *D. longispina*, *E. vulgaris* y *M. laciniatus*. El ambiente fue descrito por las variables seleccionadas en el RDA del filtro ambiental. Un segundo ejercicio fue relacionar la semejanza filogenética con la correlación de las ocurrencias de todas las especies en las lagunas y los lagos por separado.

Determinamos la probabilidad de coocurrencia de las especies con el método de Veech (2013) con la incidencia de crustáceos (16 sp) en todas las masas de agua (370 casos). Este método aplica la teoría de probabilidades para analizar los patrones de coocurrencia de las especies y obtener la probabilidad exacta (coocurrencia esperada) que dos especies coocurran con mayor o menor frecuencia que las coocurrencias observadas. Si la coocurrencia esperada es menor a 1 el emparejamiento es descartado. El método busca minimizar el error Tipo I (clasificación positiva o negativa falsa de dos especies que verdaderamente coocurren por azar) y el error Tipo II (clasificación azarosa falsa de una coocurrencia positiva o negativa verdadera). El análisis probabilístico también

permite testar los patrones significativos de las coocurrencias y determinar si ambas especies coocurren significativamente con menos frecuencia (coocurrencia negativa, $P_{lt} < 0.05$) o más frecuencia (coocurrencia positiva, $P_{gt} < 0.05$) que lo esperado por el azar. Desarrollamos un árbol de decisión para juzgar cuando la probabilidad de coocurrencias entre las especies distintas del azar se debe al filtro ambiental o a la exclusión competitiva. Para esto consideramos la semejanza filogenética entre las especies junto con los requerimientos ambientales de las especies determinados con el MRT y el índice *Indval* (Figura 5.2).

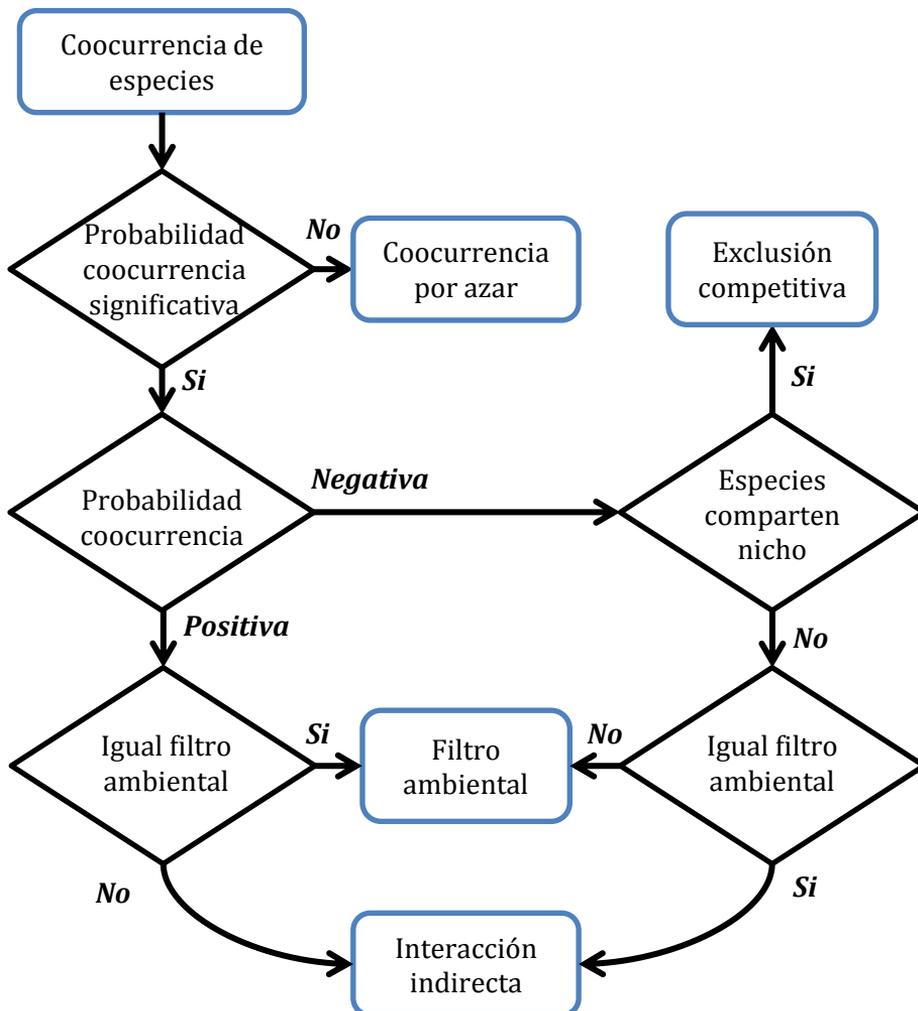


Figura 5.2: Árbol de decisión para establecer el tipo de interacción entre dos especies de acuerdo a los resultados de la probabilidad de coocurrencia y el tipo de hábitat y nicho.

Todos los análisis estadístico fueron realizados en R vs 3.1.1. con los siguientes paquetes: “Spacemaker” (Dray, 2010) para calcular los MEMs; “vegan” (Oksanen *et al.*, 2013) para el análisis de redundancia, partición de la varianza y cálculo de las distancias filogenéticas; “packfor” (Dray *et al.*, 2011) para seleccionar las variables parsimoniosas por permutaciones; “mvpart” (Therneau *et al.*, 2004) para calcular el MRT; “MVPARTwrap” (Ouellette & Legendre, 2012) para discriminar las especies en cada rama de clasificación y estimar los valores de R^2 del MRT; “labdsv” (Roberts, 2007) para calcular el valor del índice Indval; “picante” (Kembel *et al.*, 2010) para separar el efecto del filtro ambiental de las coocurrencias e inferir la repulsión filogenética; “cooccur” (Griffith *et al.*, 2014) para calcular la probabilidad de coocurrencias y el efecto estandarizado entre las especies; “igraph” (Csardi & Nepusz, 2006) para representar las coocurrencias; y “stats” (R Core Team and contributors worldwide) para el análisis de la varianza, post-hoc y prueba de correlación.

RESULTADOS

ENSAMBLAJE DE LAS ESPECIES POR EL AMBIENTE Y EL ESPACIO

Ensamblaje del conjunto de especies [B16]

El componente ambiental para el conjunto de especies tuvo un $R^2_{adj}=0.164$ ($F_{10,226}=5.64$, $p=0.001$), las variables parsimoniosas fueron: el TON ($R^2=0.074$, $p<0.001$), pH ($R^2=0.032$, $p<0.001$), el área ($R^2=0.024$, $p<0.001$), la altitud ($R^2=0.015$, $p<0.001$), NO_3 ($R^2=0.012$, $p=0.002$), DIN/TP ($R^2=0.010$, $p=0.005$), TC/LA ($R^2=0.009$, $p=0.015$), TP ($R^2=0.008$; $p=0.015$), DIN ($R^2=0.008$, $p=0.013$) y Salmónidos ($R^2=0.008$, $p=0.024$). El componente espacial tuvo un $R^2_{adj}=0.242$ ($F_{34,201}=3.16$, $p=0.001$) y las variables parsimoniosas fueron 35 MEMs. El resultado parsimonioso final [E16+S16] tuvo un $R^2_{adj}=0.268$ ($F_{28,208}=4.08$, $p=0.001$). El primer eje (RDA1) explicó el 12.5% de la varianza ($F_{1,220}=56.03$, $p<0.001$) y las variables significativas fueron: TON, pH, TP y Área (correlaciones con el eje: $r= -0.6$, $r= 0.6$, $r= -0.5$ y $r= 0.5$, respectivamente). El segundo eje (RDA2) explicó el 4.4% de la varianza ($F_{1,220}=19.97$, $p<0.001$) y las variables significativas fueron: NO_3 , MEM3, MEM2 y MEM6 ($r= 0.4$, $r= 0.4$, $r= -0.4$ y $r= -0.4$, respectivamente) (Tabla 5.2). El análisis de partición de la varianza para el ambiente independiente del espacio explicó el 6.1% de la variabilidad (fracción ambiental estricta 5.8 y fracción biótica 0.3%), el espacio independiente del ambiente 13.9%, la varianza compartida represento el 10.3% y la variabilidad no explicada fue el 70%, (Tabla 5.3).

Tabla 5.2: Resumen del análisis de redundancia para cada componente biótico [Bi] con sus especies. La varianza explicada por los componentes ambiental [Ei] y espacial [Si] parsimoniosos. Las variables del RDA parsimoniosas final [Ei+Si], la varianza total y los cuatro primeros ejes.

	CONJUNTO DE ESPECIES [B16]	CYCLOPOIDA [B2]	BRANCHIOPODA [B9]	CALANOIDA [B4]
Especies	<i>G. cf. alpinus</i> , <i>C. quadrangula</i> , <i>D. longispina</i> , <i>D. obtusa</i> , <i>D. pulicaria</i> , <i>D. parvula</i> , <i>S. mucronata</i> , <i>S. vetulus</i> , <i>A. vernalis</i> , <i>C. abyssorum</i> , <i>D. cyaneus</i> , <i>D. castaneti</i> , <i>E. vulgaris</i> , <i>M. laciniatus</i> , <i>C. diaphanus</i> , <i>H. gibberum</i>	<i>A. vernalis</i> , <i>C. abyssorum</i>	<i>C. quadrangula</i> , <i>D. longispina</i> , <i>D. obtusa</i> , <i>D. pulicaria</i> , <i>D. parvula</i> , <i>S. mucronata</i> , <i>S. vetulus</i> , <i>C. diaphanus</i> , <i>H. gibberum</i>	<i>D. cyaneus</i> , <i>D. castaneti</i> , <i>E. vulgaris</i> , <i>M. laciniatus</i>
Varianza explicada por [Ei] (%)	16.4	24.4	13	15.6
Varianza explicada por [Si] (%)	24.2	22.9	20.6	36.4
Resultado parsimonioso final [Ei+Si]				
Variabes del resultado final	TON, pH, AREA, ALT, NO ₃ , DIN/TP, TC/LA, TP, MEMs(3,6,2,99,1,31,8,24,5,27,4,44,18,32,58,34,95,94,84,88)	AREA, Salmónidos, ALK, TON, MEMs(99,24,6,72,56,1,31)	TON, pH, DIN, TP, TC/LA, ALT, MEMs(1,2,5,6,8,9,1,1,14,18,24,31,44,45,52,63,94,102,104,106)	pH, NO ₃ , DIN/TP, TON, ALT, MEMs(3,4,5,27,57,2,30,41,21,46,6,58,37,73,10,32,18,89,84,34,78,14,55)
Varianza explicada para el resultado parsimonioso final (%) por ejes:				
Total	26.8	34.5	26.2	34.7
Primer eje	12.5	33.4	13.1	17
Segundo eje	4.4	1.1	3.8	9.1
Tercer eje	2.2	-	3.4	5.9
Cuarto eje	1.8	-	2.3	2.7

El MRT para el conjunto de las especies explicó el 17% de la varianza ($R^2_{adj}=0.169$) y consistió de dos nodos y tres ramas ($CVRE=0.882$) (Figura 5.3A). El primer nodo representó el 14.2% de la varianza y las especies discriminantes fueron *C. abyssorum*, *D. longispina*, *D. castaneti* y *D. obtusa* (52, 27, 9 y 5% de la devianza explicada respectivamente). El segundo nodo representó el 3.4% de la varianza y las especies discriminantes fueron *D. castaneti*, *D. obtusa* y *D. longispina* (55, 28 y 8% de la devianza explicada respectivamente). La primera rama (C1) agrupó a 14 masas de agua (lagunas distróficas) con valores bajos de pH (<5.6) y área (<0.01 ha), junto con valores altos de TP (≥ 17 $\mu\text{g/L}$), TON (≥ 598 $\mu\text{g/L}$) y altitud (≥ 2493 m s.n.m.), las especies significativas que caracterizaron estas lagunas fueron: *D. obtusa* ($\text{Indval}=0.52$, $p=0.001$) y *D. castaneti* ($\text{Indval}=0.71$, $p=0.001$). La segunda rama (C2) agrupó a 87 masas de agua (lagunas) con rangos opuestos a C1, no hubieron especies significativas para esta rama, sin embargo *D. obtusa*, *S. mucronata*, *A. vernalis*, *D. castaneti* y *C. diaphanus* tuvieron una mayor ocurrencia en C2 que en las otras ramas. La tercera rama (C3) agrupó a 136 masas de agua (lagos y lagunas de mayor profundidad) con valores superiores para el área (≥ 0.3 ha) y TON (≥ 250 $\mu\text{g/L}$), junto con valores bajos de pH (<6.5) y TP (<19 $\mu\text{g/L}$), y la presencia de salmónidos, las especies significativas en C3 fueron *D. longispina* ($\text{Indval}=0.53$, $p=0.001$) y *C. abyssorum* ($\text{Indval}=0.66$, $p=0.001$). El análisis de varianza y post-hoc entre los grupos del MRT (HSD Tukey para un $p<0.05$) fue significativo para: el Área ($C1<C2<C3$), TC/LA ($C1=C3<C2$), ALK ($C1<C2<C3$), pH ($C1<C2<C3$), TP ($C1>C2>C3$), NO_3 ($C1=C2<C3$), DIN ($C2<C3$, $C1=C3$, $C1=C2$), TON ($C1>C2>C3$), DIN/TP ($C1<C2<C3$), la Altitud no fue significativa (Figura 5.4).

Ensamblaje para las especies de Cyclopoida [B2]

El componente ambiental para Cyclopoida tuvo un $R^2_{adj}=0.244$ ($F_{4,232}=20.09$, $p<0.001$), las variables parsimoniosas fueron: el área ($R^2=0.136$, $p<0.001$), incidencia de salmónidos ($R^2=0.061$, $p>0.001$), ALK ($R^2=0.034$, $p=0.001$) y TON ($R^2=0.026$, $p=0.002$). El componente espacial tuvo un $R^2_{adj}=0.229$ ($F_{12,224}=6.83$, $p<0.001$) y las variables parsimoniosas fueron 12 MEMs, el MEM99 fue el más importante ($R^2=0.05$, $p<0.001$). El resultado parsimonioso final [E2+S2] tuvo un $R^2_{adj}=0.345$ ($F_{11,225}=12.28$, $p<0.001$). El primer eje (RDA1) explicó el 33.4% de la varianza ($F_{1,234}=136.66$, $p<0.001$), las variables significativas fueron: el área, incidencia de salmónidos y TON ($r= 0.6$, $r= 0.6$ y $r= -0.5$, respectivamente). El segundo eje (RDA2) explicó el 1.1% de la varianza ($F_{1,234}=3.80$, $p= 0.029$) y las variables significativas fueron: MEM56, MEM99 y TON ($r= 0.5$, $r= 0.4$ y $r= 0.4$,

respectivamente) (Tabla 5.2). El análisis de partición de la varianza para el ambiente independiente del espacio explicó el 13.7% de la varianza (fracción ambiental estricta 12.4 y fracción biótica 1.3%), el espacio independiente del ambiente 12%, la varianza compartida represento el 11% y la variabilidad no explicada fue el 63% (Tabla 5.3).

El MRT para Cyclopoida explicó el 35.7% de la varianza ($R^2_{adj}=0.354$) este consistió de un solo nodo y dos ramas (CVRE=0.697) (Figura 5.3B). *C. abyssorum* y *A. vernalis* representaron el 98.7 y 1.3% de la devianza explicada respectivamente. La primera rama (C1) agrupó a 109 observaciones (lagunas) con valores bajos para el área (<0.44 ha) y la alcalinidad (<38 $\mu\text{eq/L}$) pero valores altos de TON ($\geq 251 \mu\text{g/L}$) y la ausencia de salmónidos, la especie significativa en esta rama fue *A. vernalis* (Indval=0.084, $p=0.003$). La segunda rama (C2) agrupó 128 observaciones (lagos) con resultados ambientales opuestos a C1, la especie significativa en C2 fue *C. abyssorum* (Indval=0.685, $p<0.001$). El análisis de varianza fue significativo para: el área (C1<C2), TC/LA (C1>C2), ALK (C1<C2), pH (C1<C2), TP (C1>C2), NO_3 (C1<C2), DIN (C1<C2), TON (C1>C2), DIN/TP (C1<C2), la altitud no fue significativa (Figura 5.4).

Ensamblaje para las especies de Branchiopoda [B9]

El componente ambiental para Branchiopoda tuvo un $R^2_{adj}=0.130$ ($F_{6,230}=6.86$, $p=0.001$), las variables parsimoniosas fueron: TON ($R^2=0.083$, $p<0.001$), pH ($R^2=0.020$, $p<0.001$), DIN ($R^2=0.014$, $p=0.016$), altitud ($R^2=0.012$, $p=0.010$), TP ($R^2=0.012$, $p=0.013$) y TC/LA ($R^2=0.011$, $p=0.021$). El componente espacial tuvo un $R^2_{adj}=0.206$ ($F_{24,212}=3.55$, $p=0.001$) y las variables parsimoniosas fueron 24 MEMs, los MEMs 31, 8, 7 y 1 fueron los más importantes ($R^2=0.02$, $p<0.01$; para todos los casos). El resultado parsimonioso final [E9+S9] tuvo un $R^2_{adj}=0.262$ ($F_{25,211}=4.35$, $p<0.001$). El primer eje (RDA1) explicó el 13.1% de la varianza ($F_{1,227}=58.45$, $p<0.001$) y las variables significativas fueron: TON, TP y pH ($r= 0.7$, $r= 0.6$ y $r= -0.5$, respectivamente). El segundo eje (RDA2) explicó el 3.8% de la varianza ($F_{1,227}=16.76$, $p<0.001$), la variable más importante fue la altitud ($r= 0.5$) (Tabla 5.2). El análisis de partición de la varianza para el ambiente independiente del espacio explicó el 7.4% de la varianza (todo fracción ambiental estricta), el espacio independiente del ambiente 15%, la varianza compartida represento el 5.7% y la varianza no explicada fue el 72% (Tabla 5.3).

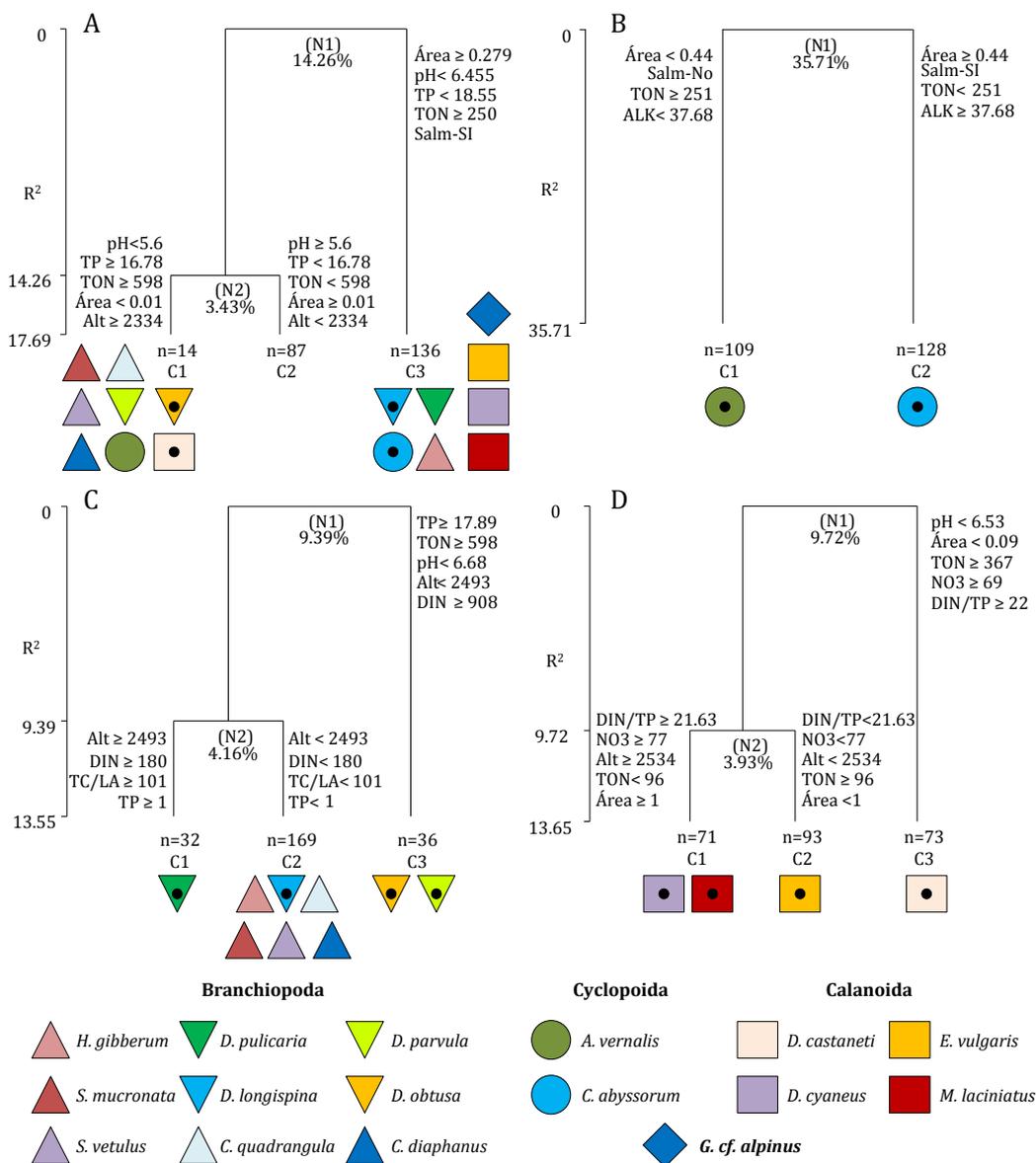


Figura 5.3: Representación del árbol de regresión multivariable (MRT) para cada componente biótico: (A) Todas las especies, 16 especies, (B) Cyclopoida, dos especies, (C) Branchiopoda, nueve especies y (D) Calanoida, cuatro especies. Se indica los umbrales de las variables ambientales para cada nodo (N). Bajo cada nodo se indica el porcentaje de varianza explicada. Junto a cada MRT se indica los valores acumulados de R². Al final de cada rama (C1, C2, C3) se indica el número de masas de agua (n) y las especies asignadas a cada rama. Las especies indicadoras según el índice Indval llevan un punto interior.

El MRT para Branchiopoda explicó el 13.5% de la varianza ($R^2_{adj}=0.128$) consistió de dos nodos y tres ramas ($CVRE=0.959$) (Figura 5.3C). El primer nodo representó el 9.4% de la varianza y las especies discriminantes fueron *D. longispina* y *D. obtusa* (51, 43% de la devianza explicada respectivamente). El segundo nodo representó el 4.2% de la varianza y las especies discriminantes fueron *D. longispina* y *D. pulicaria* (53, 43% de la devianza explicada respectivamente). La primera rama (C1) agrupó a 32 observaciones (lagos y lagunas) con valores altos de altitud (≥ 2493 m s.n.m.), pH (≥ 6.7), DIN (≥ 180 $\mu\text{g/L}$), TC/LA (≥ 101) y TP (≥ 1 $\mu\text{g/L}$), la especie significativa para esta rama fue *D. pulicaria* ($\text{Indval}=0.31$; $p=0.001$). La segunda rama (C2) agrupó a 169 observaciones (lagos y lagunas) con los rangos opuestos a C1, la especie significativa en C2 fue *D. longispina* ($\text{Indval}=0.45$; $p=0.001$). La tercera rama (C3) agrupó a 36 observaciones (lagunas distróficas) con valores altos de TP (≥ 18 $\mu\text{g/L}$), TON (≥ 598 $\mu\text{g/L}$) y DIN (≥ 908 $\mu\text{g/L}$) junto con valores bajos de pH (< 6.7) y altitud (< 2493 m s.n.m.), las especies significativas para esta rama fueron *D. obtusa* ($\text{Indval}=0.38$; $p=0.001$) y *D. parvula* ($\text{Indval}=0.11$; $p=0.002$). El análisis de varianza y post-hoc entre los grupos del MRT (HSD Tukey para un $p<0.05$) fue significativo para: la altitud (C1>C2>C3), área (C1=C2>C3), TC/LA (C1<C2, C1=C3=C2), ALK (C2>C3, C2=C1=C3), pH (C1=C2>C3), TP (C1=C2<C3), NO_3 (C1>C2>C3), DIN (C1>C2=C3), TON (C1=C2<C3) y DIN/TP (C1=C2>C3) (Figura 5.4).

Ensamblaje para las especies de Calanoida [B4]

El componente ambiental para Calanoida tuvo un $R^2_{adj}=0.156$ ($F_{7,229}=7.21$, $p<0.001$), las variables parsimoniosas fueron: el pH ($R^2=0.085$, $p<0.001$), NO_3 ($R^2=0.027$, $p<0.001$), DIN/TP ($R^2=0.016$, $p=0.009$), SO_4 ($R^2=0.015$, $p=0.008$), TON ($R^2=0.016$, $p=0.003$), altitud ($R^2=0.011$, $p=0.020$) y área ($R^2=0.010$, $p=0.026$). El componente espacial tuvo un $R^2_{adj}=0.364$ ($F_{36,200}=4.75$, $p<0.001$) y las variables parsimoniosas fueron 36 MEMs, los MEMs 4 y 3 fueron los más importantes ($R^2=0.04$, $p<0.001$ y $R^2=0.03$, $p<0.001$; respectivamente). El resultado parsimonioso final [E4+S4] tuvo un $R^2_{adj}=0.347$ ($F_{28,208}=5.48$, $p<0.001$). El primer eje (RDA1) explicó el 17% de la varianza ($F_{1,232}=83.94$, $p<0.001$) y la variable significativa fue el pH ($r=-0.6$). El segundo eje (RDA2) explicó el 9.1% de la varianza ($F_{1,232}=44.85$, $p<0.001$) y la variable más importante fue el NO_3 ($r=0.5$) (Tabla 5.2). El análisis de partición de la varianza mostró que el ambiente independiente del espacio explicó 3% de la variabilidad (todo fracción ambiental estricta), el espacio independiente del ambiente 24%, la variabilidad compartida representó el 13% y la variabilidad no explicada el 61% (Tabla 5.3).

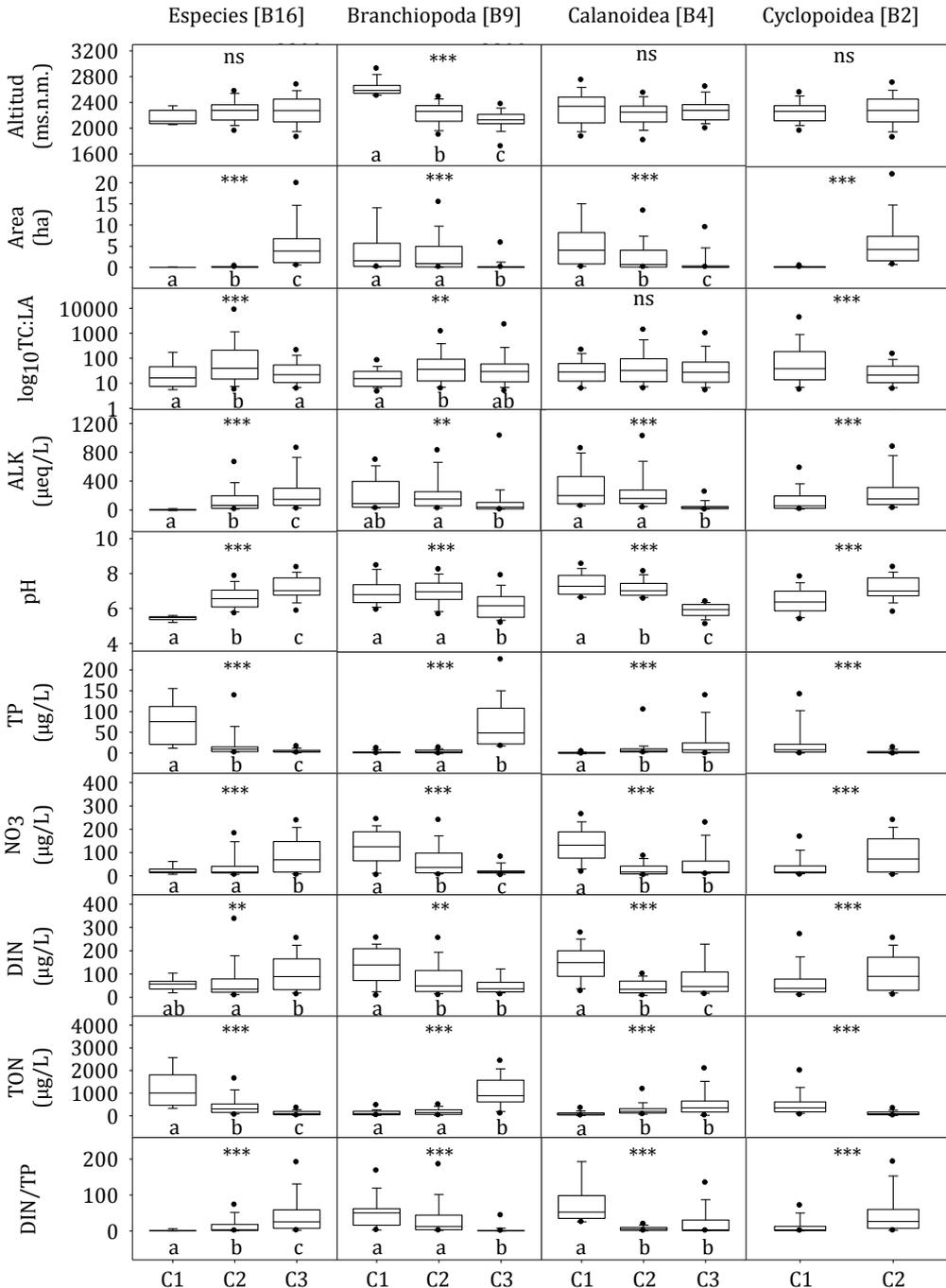


Figura 5.4: Variables ambientales para la clasificación de las masas de agua por el MRT y el resultado de la ANOVA de un factor. Las letras bajo las cajas representan el resultado entre los grupos del análisis post-hoc (HDS Tukey $p < 0.05$). Los valores atípicos no son mostrados. Los niveles de significación son: $p < 0.001$ (***), $p < 0.01$ (**), $p < 0.05$ (*) y no significativo (ns).

El MRT para Calanoida explicó el 13.7% de la varianza ($R^2_{adj}=0.118$) y consistió de dos nodos y tres ramas ($CVRE=1$) (Figura 5.3D). El primer nodo representó el 9.7% de la varianza y la especie discriminante fue: *D. castaneti* (94% de la devianza explicada). El segundo nodo representó el 3.9% de la varianza y las especies discriminantes fueron: *D. cyaneus*, *M. laciniatus* y *E. vulgaris* (39, 38 y 23% de la devianza explicada respectivamente). La primera rama (C1) agrupó a 71 observaciones (lagos) con valores altos de DIN/TP (≥ 22), NO_3 ($\geq 77 \mu\text{g/L}$), altitud (≥ 2534 m s.n.m.), área (≥ 1 ha), además de valores bajos de TON ($< 96 \mu\text{g/L}$), las especies significativas para esta rama fueron: *D. cyaneus* ($Indval=0.176$, $p=0.001$) y *M. laciniatus* ($Indval=0.178$, $p=0.001$). La segunda rama (C2) agrupó a 93 observaciones (lagos y lagunas) con los valores opuestos a C1, la especie significativa en C2 fue *E. vulgaris* ($Indval=0.126$, $p=0.015$). La tercera rama (C3) agrupó a 73 observaciones (lagunas distróficas) con valores bajos de pH (< 6.3) y área (< 0.1 ha) junto con valores altos de TON ($\geq 367 \mu\text{g/L}$), NO_3 ($\geq 69 \mu\text{g/L}$) y DIN/TP (≥ 22), la especie significativa en C3 fue *D. castaneti* ($Indval=0.391$, $p=0.001$). El análisis de varianza y post-hoc entre los grupos del MRT (HSD Tukey para un $p < 0.05$) fue significativo para: el área ($C1 > C2 > C3$), ALK ($C1 = C2 > C3$), pH ($C1 > C2 > C3$), TP ($C1 < C2 = C3$), NO_3 ($C1 > C2 = C3$), DIN ($C1 > C3 > C2$), TON ($C1 < C2 = C3$), DIN/TP ($C1 > C2 = C3$), no hubo diferencias para la altitud ni para TC/LA (Figura 4).

Tabla 5.3: Variabilidad explicada por el ambiente y el espacio para cada componente biótico [Bi] con la partición de la varianza. Los componentes son el ambiente [Ei], el espacio [Si], el espacio independiente del ambiente [Si|Ei], el ambiente independiente del espacio [Ei|Si], la fracción compartida entre el ambiente y el espacio [Ei∩Si] y la fracción residual no explicada por ninguno de ellos. El número de cada componente biótico indica el número de especies de la matriz de incidencias.

COMPONENTES DE LA VARIABILIDAD	CONJUNTO DE ESPECIES [B16]		CYCLOPOIDA [B2]		BRANCHIOPODA [B9]		CALANOIDA [B4]	
	R ² adj	p-val	R ² adj	p-val	R ² adj	p-val	R ² adj	p-val
[Ei]	0.16	<0.001	0.24	<0.001	0.13	<0.001	0.16	<0.001
[Si]	0.24	<0.001	0.23	<0.001	0.21	<0.001	0.36	<0.001
[Si Ei]	0.14	<0.001	0.12	<0.001	0.15	<0.001	0.24	<0.001
[Ei Si]	0.06	<0.001	0.14	<0.001	0.07	<0.001	0.03	<0.001
Compartida	0.10		0.11		0.06		0.13	
Residuo	0.70		0.63		0.72		0.61	

VARIABILIDAD RELATIVA DEL AMBIENTE Y ESPACIO ENTRE LOS ENSAMBLAJES

De acuerdo a la significancia de los componentes ambiental y espacial del análisis de partición de la varianza para los cuatro ensamblajes propuestos (Tabla 5.3) determinamos una metacomunidad estructurada de manera independiente por el filtro ambiental y la dinámica espacial o dinámica SS+ME (*Species sorting and mass effect*, siguiendo Cottenie, 2005). No obstante, la variabilidad explicada por el ambiente (estricto, fracción biótica y el ambiente correlacionado con el espacio) y el espacio exclusivo no fue igual entre los ensamblajes de especies. Para Cyclopoida el ambiente fue mayor que el espacio exclusivo ($[Ei] > [Si|Ei]$), para el conjunto de especies y Branchiopoda ($[B16]$ y $[B9]$, respectivamente) el ambiente fue similar al espacio exclusivo ($[Ei] \approx [Si|Ei]$) y para Calanoida el ambiente fue menor que el espacio exclusivo ($[Ei] < [Si|Ei]$) (Figura 5.5).

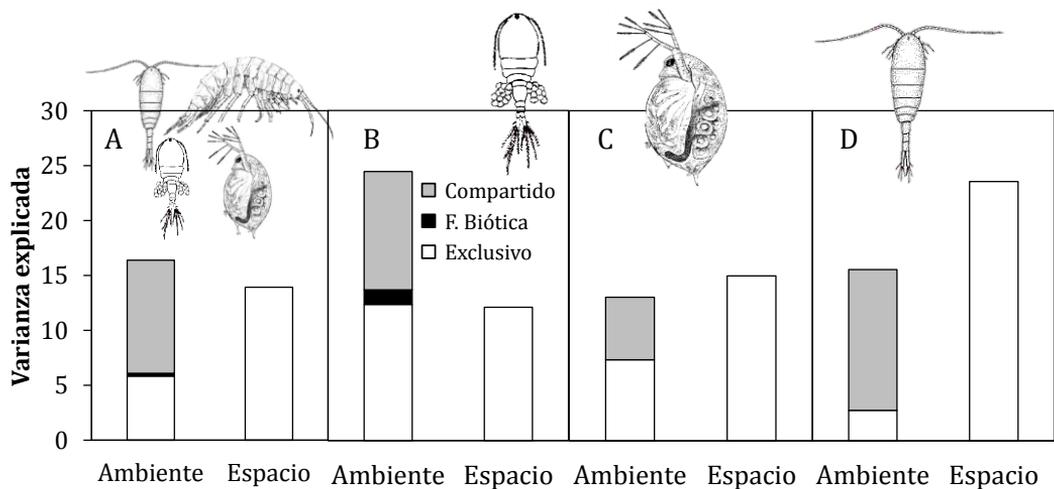


Figura 5.5: Porcentaje de la varianza explicada entre el ambiente independiente del espacio $[Ei|Si]$, (segmento blanco para el ambiente exclusivo y segmento negro para la fracción biótica), ambiente compartido con el espacio (segmento gris) y el espacio independiente del ambiente $[Si|Ei]$, para cada componente biótico: (A) Todas las especies $[B16]$, (B) Cyclopoida $[B2]$, (C) Branchiopoda $[B9]$ y (D) Calanoida $[B4]$. Imágenes de crustáceos tomadas de internet.

INTERACCIONES ENTRE LAS ESPECIES

El cálculo de la probabilidad de coocurrencia de las 16 especies de crustáceos en las 307 masas de agua muestreadas mostró 85 interacciones (parejas) entre especies, de las cuales 29 (34%) resultaron ser significativamente distintas de lo esperado por azar. Un 12% fueron interacciones más frecuentes y un 22% menos

frecuente que el azar. Las interacciones reunieron 626 coocurrencias observadas (número de lagos en que ocurrió cada interacción), la mayoría (58%) fueron significativamente distintas de lo esperado por azar, particularmente el 43% de las coocurrencias observadas fueron de interacciones más frecuentes que el azar. La coocurrencia entre *D. longispina* y *C. abyssorum* (22%) fue la más común de este grupo. Un 15% de las coocurrencias observadas fueron de interacciones menos frecuentes que el azar, particularmente *C. abyssorum/E. vulgaris* (5%) fue la más representativa de este grupo. Las coocurrencias observadas por azar representaron el 42%.

De acuerdo a nuestro árbol de decisión (Figura 5.2) las interacciones entre las especies menos frecuentes de lo esperado por azar correspondieron: al filtro ambiental el 11% (e.g. *D. castaneti/D. longispina*), a la exclusión competitiva el 9% (e.g. *D. longispina/D. pulicaria*) y a una interacción indirecta el 2% (e.g. *C. abyssorum/E. vulgaris*). Las interacciones más frecuentes de lo esperado por azar correspondieron a especies con requerimientos ambientales semejantes el 9% (e.g. *D. longispina/C. abyssorum*, *D. obtusa/D. castaneti*) y a una interacción indirecta el 2% (e.g. *E. vulgaris/S. mucronata*), (Tabla 5.4) (Figura 5.6). Si nos fijamos en el número de coocurrencias observadas la mayoría (248 o 43%) fueron de interacciones explicadas por especies con un mismo filtro ambiental.

La semejanza filogenética no se relacionó significativamente con la coocurrencia de las especies sin excluir el efecto del ambiente (Figura 5.7A). Al excluir el efecto del ambiente (residuos de la regresión logística) sí observamos una correlación significativa entre la semejanza filogenética y la coocurrencia de las especies ($r = -0.65$, $p < 0.05$) (Figura 5.7B). Como el principal gradiente ambiental encontrado en todas las especies fue el área de la masa de agua utilizamos los resultados obtenidos para el área con el MRT para calcular la correlación entre la semejanza filogenética y la coocurrencia de las especies en tres grupos distintos sin excluir el efecto del ambiente: lagos (≥ 0.44 ha), lagunas (≥ 0.09 y < 0.44 ha) y charcas (< 0.09 ha). Encontramos que la semejanza filogenética tuvo una correlación significativa con las coocurrencias de las especies en charcas y lagos ($r = -0.23$, $p < 0.05$ y $r = -0.31$, $p < 0.01$, respectivamente) (Figura 5.7 C y E), pero no con las coocurrencias de las lagunas ($p > 0.05$) (Figura 5.7D). Es decir, en las charcas y en los lagos las especies más cercanas filogenéticamente se excluyeron.

Tabla 5.4: Resumen del tipo de interacción de las especies de crustáceos producto del modelo de probabilidades entre todas las masas de agua (370). Se muestra el número de interacciones, menor de lo esperado (negativas), mayor de lo esperado (positivas) y por azar y sus coocurrencias observadas. En paréntesis se muestran los valores relativos. El tipo de interacción (interacción indirecta, exclusión competitiva o filtro ambiental) fue el resultado del árbol de decisión entre las combinaciones.

Tipo de interacción		Interacciones	#Correlaciones observadas
	Exclusión competitiva	8 (9)	17 (3)
Negativa	F. ambiental	9 (11)	51 (8)
	I. indirecta	2 (2)	29 (5)
	Total negativas	19 (22)	97 (15)
Positiva	F. ambiental	8 (9)	248 (40)
	I. indirecta	2 (2)	20 (3)
	Total positivas	10 (12)	268 (43)
Total distinto del azar		29 (34)	365 (58)
Total por azar		56 (66)	261 (42)
Total		85 (100%)	626 (100%)

DISCUSIÓN

PAPEL DEL FILTRO AMBIENTAL Y EL ESPACIO EN LAS METACOMUNIDADES DE CRUSTÁCEOS

La variabilidad explicada por los componentes ambiental y espacial fue significativa para cada uno de los ensamblajes estudiados. Este resultado en el marco de una metacomunidad puede ser interpretado tanto por la clasificación local de las especies por un gradiente ambiental (perspectiva del control local (*Species Sorting* o *SS*)), como por su dispersión desde un sistema-fuente, del que son excluidas al no ser competitivas, hacia un sistema-captador por migración donde sí lo son con independencia del gradiente ambiental (perspectiva efecto masa (*Mass Effect* o *ME*)) (Leibold *et al.*, 2004). Cottenie (2005) mostró con una amplia variedad de especies y ecosistemas, incluyendo zooplancton de lagos, que ambas dinámicas están presentes e importan en la estructura de las comunidades locales donde el efecto de la heterogeneidad ambiental está modulado por un efecto independiente de la dispersión (dinámica *SS+ME*). Esta dinámica entre el

ambiente y el espacio ha sido descrita en metacomunidades de peces (Olden *et al.*, 2001, Beisner *et al.*, 2006, Mehner *et al.*, 2014), macro-invertebrados acuáticos (Grönroos *et al.*, 2013) y zooplancton en lagos (Cottenie *et al.*, 2003, Beisner *et al.*, 2006, Ng *et al.*, 2009, Dallas & Drake, 2014, Gascón *et al.*, 2016). Por lo tanto la influencia combinada e independiente del filtro ambiental y la dispersión de las especies determinara los patrones y procesos en la organización de las comunidades de los lagos y lagunas (Heino *et al.*, 2014).

Encontramos que la importancia relativa del ambiente y el espacio no fue homogénea entre los grupos taxonómicos, así los copépodos ciclopoideos tuvieron una mayor proporción de la varianza explicada por el ambiente que el espacio, esta fue disminuyendo mientras el espacio aumentó en los branquiópodos y en los copépodos calanoides. El resultado de los ciclopoideos se ha interpretado como una mayor dependencia del ambiente (e. g. Gascón *et al.*, 2016) y una mayor efectividad de dispersión (Hirston & Bohonak, 1998, Wetzel, 2001). El ambiente compartido con el espacio o filtro ambiental estructurado espacialmente (Peres-Neto *et al.*, 2012) fue relativamente similar al ambiente estricto en los ensamblajes propuestos, excepto en los calanoides que fue mucho mayor (Figura 5.5D). Estos resultados confirman la primera hipótesis, donde los copépodos ciclopoideos fueron más afectados por los factores ecológicos y más efectivos para dispersarse, mientras los branquiópodos y calanoides mostraron tener una capacidad de dispersión menor, pero la reproducción partenogenética cíclica de los branquiópodos crea un efecto fundador (Ventura *et al.*, 2014) más fuerte que en los calanoides, por eso estos últimos tienen una capacidad de dispersión menor (Hirston & Bohonak, 1998). El espacio independiente del ambiente no superó el 25% de la variabilidad de los ensamblajes, ya que los predictores espaciales pueden describir bien la estructura espacial a gran escala pero tienen dificultad para detectar la estructura espacial a pequeña escala, más relacionada con las interacciones bióticas (Peres-Neto & Legendre, 2010, Gascón *et al.*, 2016). Por otro lado encontramos un porcentaje de varianza no explicada muy importante. Esta elevada variabilidad no explicada por el ambiente y el espacio puede responder a otros fenómenos relacionados tanto con la historia natural de las especies como con las interacciones locales que limitan la diversidad y la composición de las especies en la comunidad.

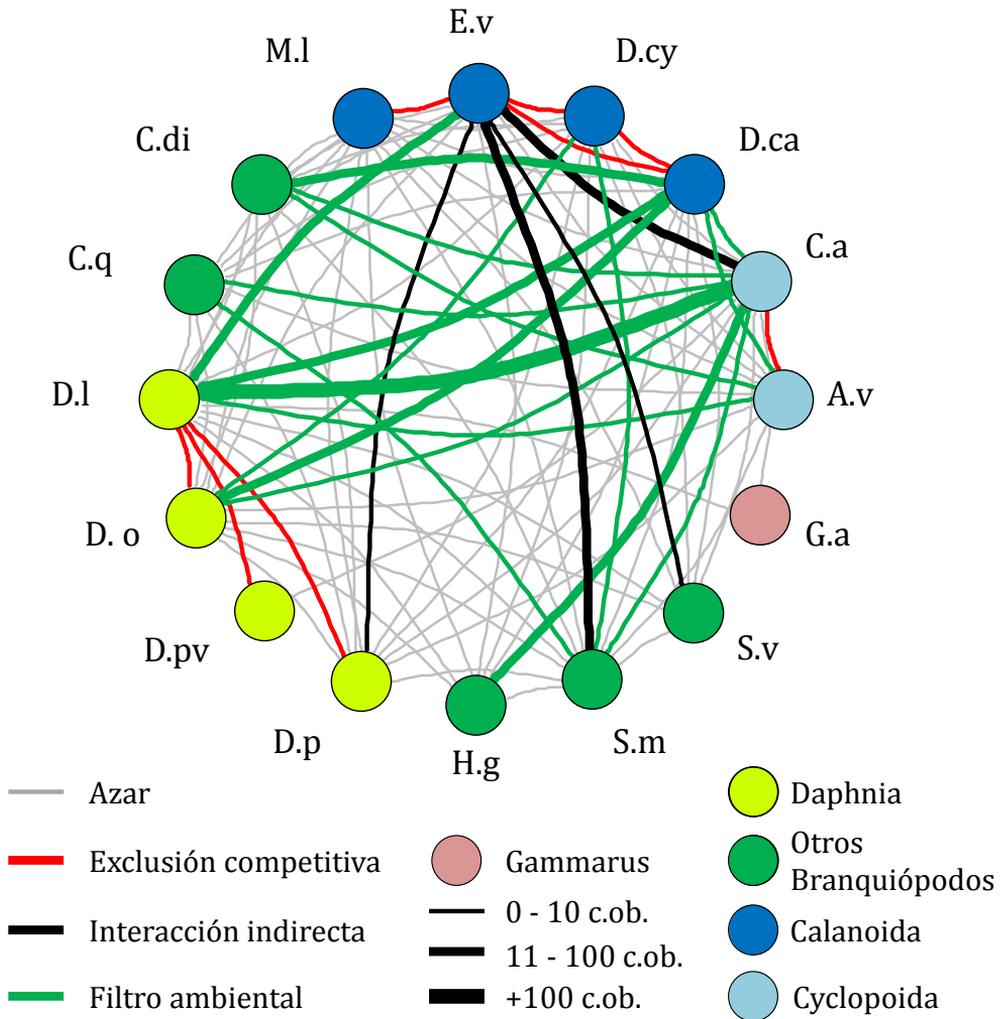


Figura 5.6: Representación de las parejas de crustáceos encontradas en las 370 masas de agua y su tipo de interacción. Las interacciones por azar se representan con líneas grises y las interacciones distintas del azar por la exclusión competitiva con líneas rojas, el filtro ambiental con líneas verdes y la interacción indirecta con líneas negras. El grosor de las líneas corresponde al número de coocurrencias observadas (c.ob.) para las parejas distintas del azar. Las abreviaciones corresponden a: *M. laciniatus* (M.l), *E. vulgaris* (E.v), *D. cyaneus* (D.cy), *D. castaneti* (D.ca), *C. abyssorum* (C.a), *A. vernalis* (A.v), *G. cf. alpinus* (G.a), *S. vetulus* (S.v), *S. mucronata* (S.m), *H. gibberum* (H.g), *D. pulicaria* (D.p), *D. parvula* (D.pv), *D. obtusa* (D.o), *D. longispina* (D.l), *C. quadrangula* (C.q) y *C. diaphanus* (C.di).

INTERACCIONES DE LAS ESPECIES Y EL AMBIENTE EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES

Las especies más cercanas filogenéticamente coocurrieron con menos frecuencia que las especies separadas filogenéticamente al remover el efecto estricto del ambiente confirmando nuestra segunda hipótesis de un patrón de repulsión filogenético. En este patrón las especies de una comunidad tienen una relación filogenética menor de lo esperado por azar (Webb *et al.*, 2002, Helmus *et al.*, 2007b). Las especies más próximas comparten más caracteres similares que les lleva a competir más intensamente que sus homólogos más distantes limitando su capacidad para coexistir (Webb *et al.*, 2002, Cavender-Bares *et al.*, 2004, 2009) y eventualmente una excluirá a la otra de acuerdo al principio de exclusión competitiva (Stone & Roberts, 1992, Chave, 2011). Varios trabajos que estudiaron el ensamblaje de las comunidades con la información filogenética también describieron patrones de repulsión filogenética en las especies que se excluyeron por competencia en comunidades vegetales (Cavender-Bares *et al.*, 2004, Slingsby & Verboom, 2006, Aldana *et al.*, 2016) o animales (Helmus *et al.*, 2007b). La exclusión competitiva fue una interacción clave en las comunidades de las lagunas más pequeñas y los lagos porque sus características ambientales describen un gradiente ambiental (capítulo 3) donde las especies que pueden coexistir tienen filtros ambientales similares pero con nichos diferenciados.

En este estudio las interacciones de las especies por los factores deterministas (diferenciación de nicho o ambiente) fueron menores que por el azar (dispersión) pero sus coocurrencias observadas fueron mayores que las coocurrencias por azar. Según Peres-Neto *et al.* (2012) las comunidades locales son ensambladas por los procesos regionales, como la dispersión, que regulan la llegada de especies desde el pool regional a las diversas comunidades locales, mientras los procesos locales, como la diferenciación de nicho o factores ambientales, regulan el éxito de las especies después de su propia llegada o la llegada de otras. Adicionalmente, encontramos un grupo de interacciones distintas del azar (8%) que podrían deberse a una interacción a través de otros miembros de la comunidad o interacción indirecta (Pianka, 2000). La relevancia de las interacciones indirectas en el ensamblaje de las comunidades ha sido ampliamente discutida en diferentes ecosistemas (Anholt, 1990, Callaway & Walker, 1997, Kreutzer & Lampert, 1999, Stachowicz, 2001, Bruno *et al.*, 2003). Por ejemplo, una interacción indirecta menor de lo esperado puede darse entre dos consumidores (*C. abyssorum*/*E. vulgaris*) de una misma presa (*D. longispina*) que lleva a la especie competidora superior (*C.*

abyssorum) a desplazar a la especie competidora inferior (*E. vulgaris*) por competencia por explotación (Amarasekare, 2011). Una interacción indirecta mayor de lo esperado puede darse cuando al menos uno de los participantes se beneficia sin causarse daño el uno al otro en una interacción de facilitación (Stachowicz, 2001). En este estudio hemos encontrado que las interacciones indirectas entre las especies pueden llegar a ser tan determinantes como las interacciones directas (exclusión competitiva) en el ensamblaje de las comunidades.

EL FILTRO AMBIENTAL, EL ESPACIO Y LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES

Nuestro análisis mostró que el ensamblaje de las comunidades fue el resultado de múltiples procesos como la dispersión, el filtro ambiental e interacciones de las especies. En primer lugar una comunidad local es un subgrupo filtrado desde el pool regional de especies porque no todas pueden alcanzar el sitio (limitación de la dispersión) ni todas son capaces de establecerse en el ambiente local (filtro ambiental). Segundo, la inmigración de nuevas especies desde el pool regional es balanceada por la extinción local de especies mediante desplazamiento competitivo (Amarasekare, 2011). Igual que este estudio varios trabajos relacionaron -con distintos métodos- la ecología de la metacomunidad y la filogenia de la comunidad para valorar como la estructura filogenética de la comunidad responde tanto a gradientes ambientales como espaciales (Leibold *et al.*, 2010, Pausas & Verdú, 2010, Pillar & Duarte, 2010, Duarte *et al.*, 2012, Peres-Neto *et al.*, 2012, Cavalheri *et al.*, 2015). Otros han utilizado aproximaciones experimentales para cuantificar el efecto del ambiente y la dispersión sobre las interacciones de las especies y sus consecuencias en el ensamblaje de las comunidades (Shurin, 2000, 2001, Cottenie & De Meester, 2004), si bien estaban limitados a una escala espacial menor, sus resultados cuantificaron la importancia de las interacciones, especialmente la competencia y la depredación. La depredación entre los crustáceos esta bien documentada (Gliwicz, 1994, Wilhelm & Schindler, 1999, Ventura & Catalan, 2008) pero en este estudio nosotros no cuantificamos su efecto porque no utilizamos información de las abundancias sino de las incidencias y explorar su efecto en la comunidad es una tarea pendiente. El análisis a escala de la metacomunidad mostró que la heterogeneidad ambiental y la dinámica espacial actúan de manera independiente en el ensamblaje de las especies porque los requerimientos ecológicos y las estrategias de dispersión eran distintos entre los

taxones, mientras el análisis filogenético evidenció la exclusión de las especies cercanas filogenéticamente por el proceso ecológico de competencia.

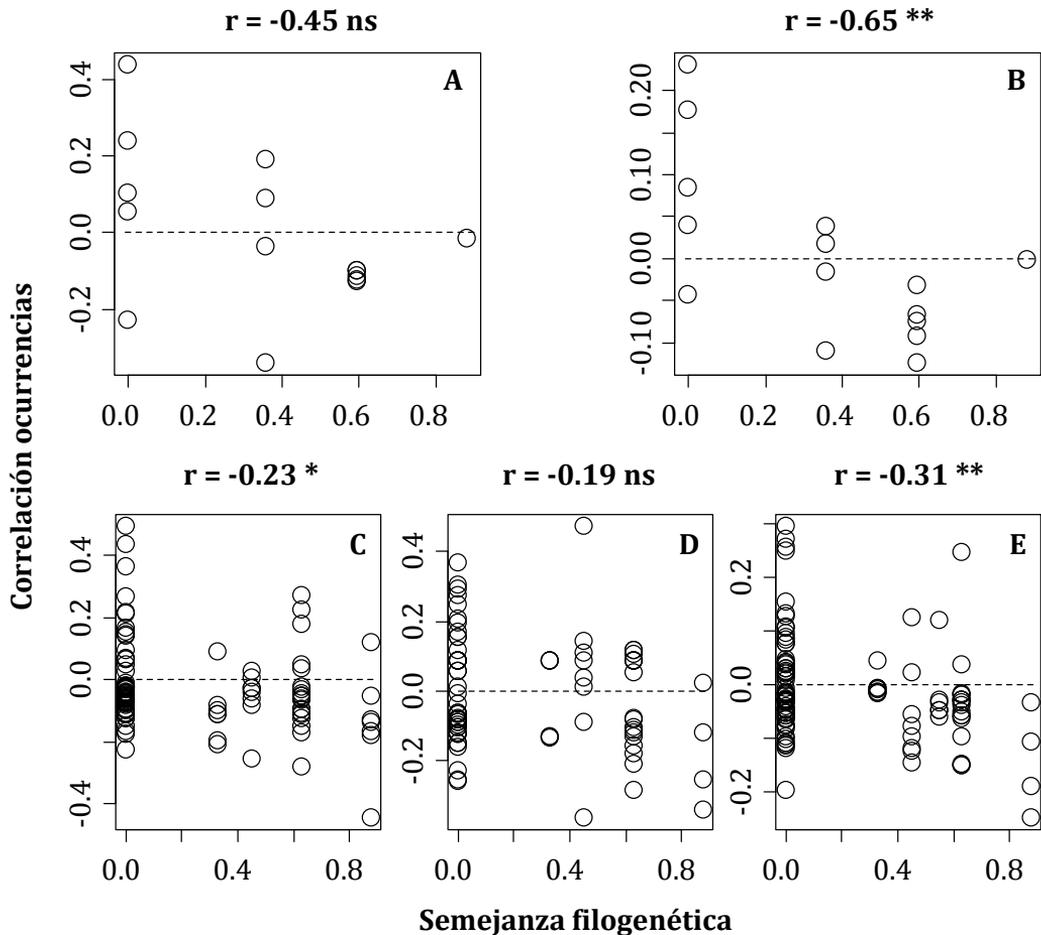


Figura 5.7: Relación de la semejanza filogenética entre las especies de crustáceos y la correlación entre sus ocurrencias: (A) la correlación fue determinada con las ocurrencias de las especies más abundantes sin excluir el efecto del ambiente, (B) la correlación fue determinada con los residuos de la regresión logística entre las ocurrencias de las especies más abundantes y las variables ambientales para excluir el efecto del ambiente. (C) la correlación fue determinada con las ocurrencias de las especies en las lagunas menor a 0.09 ha, (D) la correlación fue determinada con las ocurrencias de las especies en las lagunas entre 0.09 y 0.44 ha y (E) la correlación fue determinada con las ocurrencias de las especies en los lagos mayores a 0.44 ha Se indica el coeficiente de correlación de Pearson (r) entre la semejanza filogenética y la correlación de las ocurrencias y cuando fue significativo para: $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) o no lo fue (ns).

CAPÍTULO 6

DEPREDACIÓN, COMPETENCIA Y USO DEL
HÁBITAT DE *GAMMARUS* CF. *ALPINUS* EN
LAGOS DE ALTA MONTAÑA

6. DEPRDACIÓN, COMPETENCIA Y USO DEL HÁBITAT DE *GAMMARUS* CF. *ALPINUS* EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA

RESUMEN

Los lagos de alta montaña se caracterizan por tener pocas especies por lo que son ideales para el estudio de sus interacciones. En algunos lagos sin peces y con alta mineralización del agua se pueden encontrar anfípodos del género *Gammarus*. El papel de *Gammarus* en la red trófica es todavía una discusión abierta, porque puede comportarse como detritívoro o carnívoro y tener una distribución espacial amplia. Para determinar hasta qué punto esta especie se comporta como una especie ingeniera en el ecosistema, en este estudio estimamos la dieta de *Gammarus cf. alpinus* mediante el análisis de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en un lago profundo (Ibón Acherito), un lago poco profundo (estany d'Engorgs) y una laguna (bassa d'Engorgs), además evaluamos experimentalmente su papel en la red trófica del plancton. Utilizamos un *path analysis* para testar distintas hipótesis causales que representaron las relaciones tróficas de: depredación, competencia, depredación+competencia en el zooplancton. *Gammarus* tuvo una plasticidad en la dieta de acuerdo a su tamaño y hábitat. La estimación de la dieta de *Gammarus* mostró que en el Ibón Acherito y en el estany d'Engorgs el aporte fue mayoritariamente del plancton mientras que en la bassa d'Engorgs el aporte fue mayoritariamente del bentos, además en el ibón Acherito los *Gammarus* más grandes tuvieron un aporte casi exclusivo del plancton ($99\pm 1\%$) mientras que las tallas medianas y pequeñas el aporte del plancton fue relativamente menor (69 ± 1 y $62\pm 1\%$ respectivamente). La hipótesis de depredación de *Gammarus* y *Cyclops* sobre los consumidores (*Daphnia*, rotíferos y nauplios) describió mejor las interacciones entre las especies que las hipótesis que también incluían la competencia entre los consumidores de manera conjunta o independiente de la depredación. *Gammarus* puede depredar sobre los individuos más pequeños antes que los individuos más grandes de *D. longispina* y *C. abyssorum* y puede competir con los adultos de *C. abyssorum* en el plancton, en un ejemplo de competencia por explotación.

INTRODUCCIÓN

Existe una gran tradición en los ecólogos por estudiar las interacciones de los seres vivos en su entorno y entender la dinámica de las comunidades. Muchos han descrito la estructura de la red trófica y han tratado de comprender como esta estructura influye en la desaparición o conservación de las especies (Bascompte, 2010). En los sistemas naturales se presentan varios tipos de interacciones entre las poblaciones, de ellas la depredación, la competencia y el mutualismo son especialmente importantes (Pianka, 2000). La depredación es direccional en el sentido que un miembro (el depredador) se beneficia de la interacción mientras el otro (la presa) es afectado adversamente, por otra parte la competencia toma lugar cuando ambas especies son afectadas adversamente (Pianka, 2000). La depredación tiene un profundo impacto en el origen y mantenimiento de la diversidad y es un elemento clave en los sistemas ecológicos (Holt, 2009). La depredación va más allá del efecto directo de mortalidad sobre la presa, también puede conducir un encadenamiento de interacciones indirectas que afectan muchas otras especies, puede liberar espacio y recursos que permitirán a competidores inferiores o escasos ser más capaces de soportar la depredación para persistir (Holt, 2009). La competencia puede actuar de manera directa interfiriendo, limitando o reduciendo tanto la aptitud como el equilibrio de la densidad poblacional o ambas, en un competidor (Pianka 2000). Cuando dos especies ecológicamente equivalentes entran en competencia una eventualmente eliminará totalmente a la otra en un modelo de exclusión competitiva (Chave, 2011), pero también puede actuar de manera indirecta cuando dos o más poblaciones usan los mismos recursos y cuando los recursos son escasos, la competencia puede ocasionar que un competidor superior desplace a un competidor inferior en un modelo de competencia por explotación (Amarasekare, 2011).

Las redes tróficas de los lagos de alta montaña debido a su naturaleza oligotrófica y ambiente extremo se caracterizan por tener un número reducido de especies consumidoras (Catalan *et al.*, 2009a, Kernan *et al.*, 2009) por ello son ideales para estudiar las interacciones y relaciones tróficas entre las especies. Al igual que en otros ecosistemas, la estructura de la comunidad planctónica de agua dulce está condicionada por la presencia de diferentes tipos de depredadores (*e.g.* Gliwicz & Pijanowska, 1989, Jeppesen *et al.*, 1997). Se conoce que los organismos acuáticos tienen la habilidad de mitigar el impacto de la depredación al ajustar su fisiología, conducta, descendencia o morfología (Lampert, 1993, Gliwicz, 2002). También se

ha visto que los invertebrados acuáticos herbívoros debido a la necesidad de crecer y reproducirse o sobrevivir hasta reproducirse tienen una relación inversa entre potenciar su fecundidad o potenciar una defensa contra el depredador (Gliwicz, 1994). En lagos sin peces introducidos y con suficiente grado de mineralización del agua pueden habitar anfípodos del género *Gammarus* (Zehmer *et al.*, 2002) y llegar a ocupar el espacio pelágico, profundo o litoral (Wilhelm & Schindler, 1999, Zadereev *et al.*, 2010). *Gammarus* puede tener una dieta basada en detritus y restos vegetales (Zimmer & Bartholme, 2003, Berezina, 2007) pero también puede depredar sobre larvas de efímeras (Ephemeroptera) (Kelly *et al.*, 2002a), tricópteros (Trichoptera) (Mninishall, 1967), quironómidos (Chironomidae) (Weidman *et al.*, 2011), plecópteros (Plecoptera) (Hynes, 1954), isópodos (Culver *et al.*, 1991), anélidos (Dick, 1992), crustáceos planctónicos (Wilhelm & Schindler, 1999) y otros *Gammarus* (Dick *et al.*, 1993), por lo tanto, el papel de *Gammarus* como consumidor primario o secundario responde a un balance del costo-beneficio entre la cantidad (*e.g.* ingestión de detritus) y la calidad (*e.g.* dieta de origen animal) del alimento disponible (Kelly *et al.*, 2002b, MacNeil *et al.*, 2011)

La estructura trófica de una comunidad puede ser estudiada con el análisis isotópico de la materia orgánica (Vander Zanden & Rasmussen, 1999) porque permite capturar simultáneamente las interacciones complejas y rutas de flujos de energía a través de la comunidad ecológica (Peterson & Fry, 1987). La proporción del isótopo estable de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) de un consumidor está típicamente enriquecida en $3.4 \pm 1.1\%$ sobre su dieta (Minagawa & Wada, 1984, Vander Zanden & Rasmussen, 2001), por esto ha sido usada como un indicador de la posición trófica. La proporción del isótopo estable de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) es un indicador de las fuentes de energía primaria y proporciona información acerca de la fuente de energía de los consumidores superiores, por lo tanto, puede indicar la alimentación y rutas del flujo de carbono porque hay un fraccionamiento pequeño desde la presa al depredador y diferentes fuentes de energía pueden tener distintos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Ponsard & Averbuch, 1999, Vander Zanden & Rasmussen, 2001). No obstante, el análisis isotópico tiene el inconveniente de no poder discernir entre los distintos tipos de dieta de los consumidores (Peterson & Fry, 1987). Una alternativa interesante y complementaria para comprender las interacciones de depredación y competencia es diseñar experimentos donde la estructura trófica pueda ser manipulada pero el resto de variables ser conservadas (Bascompte, 2010). Las interacciones entre las especies del zooplancton pueden ser exploradas y confirmadas con un análisis de las hipótesis causales que prueban posibles relaciones directas e indirectas dentro de la estructura trófica del lago. Para esto es

adecuado un “*path analysis*” muy útil en estudios de ecología que buscan predecir relaciones importantes en la comunidad (*e.g.* Schemske & Horvitz, 1988, Wootton, 1994, Legendre & Legendre, 2012, Strauss *et al.*, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

El primer objetivo del estudio se realizó en tres masas de agua de distinto tamaño del Pirineo. El ibón Acherito, un lago dimíctico grande y profundo. La bassa d’Engorgs una masa de agua pequeña muy poco profunda y sin estratificación. El estany d’Engorgs un lago polimíctico mediano, poco profundo sin una estratificación permanente donde realizamos además el objetivo *ii* (Tabla 6.1). El muestreo de *Gammarus* y otros organismos del plancton, bentos y litoral del Ibón Acherito, estany y bassa d’Engorgs se realizó durante el verano del 2011. El experimento con mesocosmos fue realizado con muestreos mensuales entre julio y octubre del 2010, en agosto dos mesocosmos del tratamiento fueron encontrados ligeramente hundidos, por lo que se muestrearon, después se reiniciaron y se volvieron a muestrear.

Tabla 6.1: Descripción morfológica y química del ibón Acherito, estany y bassa d’Engorgs.

VARIABLE	IBÓN ACHERITO	ESTANY D’ ENGORGS	BASSA D’ ENGORGS
Latitud	42° 52' 46" N	42° 29' 10" N	42° 28' 59" N
Longitud	00° 42' 25" E	01° 44' 23" E	01° 44' 13" E
Altitud (m s.n.m.)	1875	2484	2540
Área (ha)	5.7	1.7	0.07
Profundidad máxima (m)	28	3	1
Cuenca total (ha)	57	157	0.4
Fósforo total (µg/L)	6	8	13
Nitrógeno total (µg/L)	245	295	249
Nitrógeno inorgánico disuelto (µg/L)	155	28	102
Fosfato (µg/L)	4.7	1.7	4.3
Clorofila- <i>a</i> (µg/L)	5.4	1.1	3.3

En los sistemas alpinos se puede encontrar *Gammarus lacustris* Sars, una especie bento-planctónica que pueden ocupar la posición trófica más alta del plancton y regular significativamente la estructura comunitaria del zooplancton (Wilhelm & Schindler, 1999, 2001, Matafonov, 2007, Zadereev *et al.*, 2010). Un análisis morfológico, genético y biogeográfico presentó divergencias para los *Gammarus* de lagos de los Alpes y propone redefinir la especie *G. lacustris* como *G. alpinus* sp. nov. en esta región (Alther *et al.*, 2016). Resultados filogenéticos preliminares de nuestro grupo emparentan los *Gammarus* del Pirineo con *G. alpinus* sp. nov., antes que *G. lacustris* (M. Ventura, comunicación personal). También es común encontrar en el plancton especies de cladóceros, copépodos y rotíferos, en el litoral son comunes las especies de macro-invertebrados y anfibios, mientras en el bentos son especialmente abundantes las etapas larvianas de quironómidos y oligoquetos. El plancton del estany y la bassa d'Engorgs está compuesto por los crustáceos: *G. cf. alpinus*, (Amphipoda) *Daphnia longispina* Müller (Cladocera) *Cyclops abyssorum* Forbes (Cyclopoida), pero en el ibón Acherito el copépodo era *Eudiaptomus vulgaris* Schmeil (Calanoida) (capítulo 3). Los rotíferos como *Keratella quadrata* Müller, *Kellicottia longispina* Kellicott, *Polyarthra vulgaris* Carlin y *Euchlanis dilatata* Hauer, entre otros son comunes en los lagos del Pirineo (Bartumeus *et al.*, 2009). Los cladóceros como *D. longispina* son conspicuos consumidores primarios del plancton, fundamentales en la cadena trófica (Vandenbosch & Santer, 1993, Wilhelm & Schindler, 1999). *C. abyssorum* es un depredador del plancton tanto en sus etapas juveniles como maduras (De Bernardi *et al.*, 1987, Ventura & Catalan, 2008), se ha observado que los copepoditos I a III pueden entrar y depredar directamente sobre los huevos de *Daphnia* (Gliwicz & Lampert, 1994), solamente los nauplios pueden considerarse estrictamente herbívoros y competir con *Daphnia* (Gliwicz & Stibor, 1993). *E. vulgaris*, como la mayoría de Calanoida, es considerado un omnívoro (Sandercock & Scudder, 1994) pero también puede depredar sobre *D. longispina* (D. Buñay observación personal). El rol de los rotíferos está vinculado a la red trófica microbiana con los niveles tróficos más altos de la cadena alimenticia pelágica (Bartumeus *et al.*, 2009). El papel ecológico de quironómidos en la comunidad aún está en discusión, se considera que la mayor parte de su etapa inmadura es bentónica (Merritt & Cummins, 1996) y pueden encontrarse en la región pelágica por la migración vertical o por deriva (Weidman *et al.*, 2011). La plasticidad de *Gammarus* para adaptarse a distintos tipos de dieta y la simplicidad de la red trófica de los lagos de alta montaña, ofrece un buen modelo para estudiar las interacciones y relaciones tróficas de sus distintos componentes, así como los procesos de depredación y competencia.

EXPERIMENTO DE EXCLUSIÓN DE *GAMMARUS*

Para conocer el papel trófico de *Gammarus* en el zooplancton realizamos un experimento con ocho mesocosmos en el estany d'Engorgs (Figura 6.1A). Los mesocosmos tuvieron un metro de diámetro y se construyeron con un aro de PVC y espuma de alta densidad como estructura de soporte y flotabilidad, como cerco utilizamos plástico transparente tubular de polietileno de 2 m de longitud útil. El volumen de los mesocosmos fue ≈ 1500 L. Los mesocosmos fueron llenados con agua del lago hundiéndolos un metro pero cubiertos con una red de $500 \mu\text{m}$ para impedir la entrada de *Gammarus* y otros crustáceos grandes. Filtramos con una red cónica de $500 \mu\text{m}$ y 60 cm de diámetro un volumen equivalente al de los mesocosmos para coleccionar zooplancton e introducirlos en los mesocosmos. En cuatro mesocosmos no pusimos *Gammarus* y sirvieron como el tratamiento (D), mientras que en los otros cuatro mesocosmos si pusimos *Gammarus* con la densidad similar al estany d'Engorgs ($21 \text{ Ind}/\text{m}^2$) y sirvieron como control (G).



Figura 6.1. (A) Mesocosmos colocados en el estany d'Engorgs. Panorámicas de las masas de agua estudiadas; (B) Estany d'Engorgs, (C) Ibón Acherito y (D) Bassa d'Engorgs. Fotos de: (A) D. Buñay y (B, C, D) A. Miró.

MUESTREO Y ANÁLISIS

Las muestras para isótopos de los crustáceos del plancton fueron colectadas con una red tipo Hensen en la zona de mayor profundidad. Para el sedimento y los quironómidos del bentos se utilizó un tubo de metacrilato de 1.5 de largo y 0.075 m de diámetro a una profundidad de 2 m. Las muestras del litoral se recogieron con una red de muestreo de litoral tipo “kick sampling” de 250 μm . Las algas de encima de las piedras (epilíton) se rasparon de la superficie de varias piedras (entre 300-1000 cm^2 por muestra) delimitada con papel de aluminio, el material se recogió en filtros GF/F. El papel de aluminio fue secado y pesado en el laboratorio y convertido a superficie por una función lineal entre la superficie y el peso de la hoja de aluminio. El material para isótopos fue secado en un horno a 60 $^{\circ}\text{C}$ durante 48 h, después fue homogenizado con un mortero. El material fue pesado (≈ 2 mg) y encapsulado en capsulas de estaño. El análisis isotópico de la materia orgánica total (*bulk*) fue realizado con un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas de flujo continuo (“*Isotope Ratio Mass Spectrometer*” IRMS) en la Universidad de Davis CA. Los resultados fueron expresados como delta (δ) definido como el tanto por mil (‰) de la desviación de un material estándar ($\delta^{13}\text{C}$ o $\delta^{15}\text{N} = ((R_{\text{muestra}}/R_{\text{estándar}}) - 1) \times 1000$), donde R es el factor entre el isótopo pesado y liviano ($R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$ o ${}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$), el estándar de referencia fue *Vienna Pee Dee Belemnite* (VPDB) para el carbono y el aire para el nitrógeno. Un resultado isotópico positivo más lejos del cero para el nitrógeno (negativo más cerca del cero para el carbono) está enriquecido isotópicamente y significa que la muestra contiene proporcionalmente más del isótopo estable pesado (${}^{13}\text{C}$ o ${}^{15}\text{N}$). Cada muestra fue analizada por triplicado para obtener un promedio (AVE) y su desviación estándar (SD). Los isótopos estables fueron analizados para las especies del plancton (*C. abyssorum*, *E. vulgaris* y *D. longispina*), del litoral (epilíton, renacuajos y adultos de anfibios y larvas de tricópteros) y del bentos (sedimento y quironómidos) en las tres masas de agua. En el estany d’Engorgs se analizaron individuos de *Gammarus* recogidos tanto en el plancton como en el litoral y el bentos, en el ibón Acherito y la bassa d’Engorgs solo se analizaron los *Gammarus* colectados en el plancton. Los *Gammarus* fueron medidos y clasificados en grandes, medianos y pequeños (Anexo 3). La composición isotópica de los quironómidos del ibón Acherito y de la bassa d’Engorgs fue estimada desde la composición isotópica del sedimento y corregida con una constante de enriquecimiento ($\delta^{13}\text{C} = 1.56\text{‰}$ y $\delta^{15}\text{N} = 0.75\text{‰}$) calculada como la diferencia entre los valores isotópicos de los quironómidos y el sedimento del estany d’Engorgs.

El muestreo cuantitativo del zooplancton (MZP) en los mesocosmos se realizó con un tubo de metacrilato de 1.5 x 0.075 m. El tubo se hundió verticalmente en cada mesocosmos dos veces y se recogió 13.25 L, de ellos, tres litros fueron filtrados con una red de 200 μm para muestras de clorofila y nutrientes, el resto fue filtrado con una red de 50 μm , ambas redes se guardaron en un bote de 50 ml con formalina azucarada para el conteo de los crustáceos y rotíferos. Simultáneamente como un segundo control (control del lago) fue colectada en la zona más profunda del estany d'Engorgs una muestra integrada de tres arrastres verticales con una red Hensen de 0.027 m^2 y 160 μm ojo de malla para crustáceos y con el tubo de metacrilato se tomó una muestra para rotíferos y nauplios siguiendo el protocolo de los mesocosmos.

La abundancia del zooplancton (Ind/m^3) se obtuvo contando un mínimo de 250 individuos por alícuota o toda la muestra si el material era escaso. El conteo del zooplancton se realizó en las muestras del estany d'Engorgs y los mesocosmos del experimento con un microscopio invertido Olympus IMT-2. La abundancia relativa del zooplancton sirvió para describir la fenología de las especies y comparar los resultados del lago con el control y el tratamiento. La biomasa de las especies fue un producto de su abundancia y su masa media. La masa media (M) fue calculada con las ecuaciones longitud-peso de Downing & Rigler (1984) , ($M = \ln w = \ln a + b \ln L$). Medimos al menos 100 individuos al azar de *D. longispina* (desde el borde superior de la cabeza hasta la base de la espina) y 50 individuos adultos de *C. abyssorum* (desde el borde del cefalotórax hasta el borde distal de la furca) para estimar el tamaño medio (L), el tamaño de los copepoditos, nauplios y rotíferos fue tomado de estudios previos en el Pirineo (M. Ventura, datos no publicados). La biomasa se expresó en $\mu\text{g C}/\text{L}$, la fracción de carbono se determinó multiplicando la biomasa (peso seco) por 0.5 (Downing & Rigler, 1984).

Los individuos de *D. longispina* fueron clasificados de acuerdo a tres criterios. Primero por estadios para describir el desarrollo estacional: *D. longispina* reproductoras (DIFr) y juveniles (DIY) se diferenciaron con el criterio morfológico de Edmondson & Litt (1982), además de *D. longispina* con huevos o embriones (DIFov), *D. longispina* con epípos (DIEf), *D. longispina* machos (DIM) y *D. longispina* adulta (DIFa) que fue la suma de los estadios maduros (DIFr+DIFov+DIEf). Segundo, utilizamos las medidas de *D. longispina* adultas (DIFa) para calcular el tamaño promedio menos una desviación estándar y establecer el tamaño de la primera reproducción ($\text{SFR}=1500 \mu\text{m}$) así separamos *D. longispina* adulta ($\text{DIFa}>1500 \mu\text{m}$) de *D. longispina* juvenil ($\text{DIY}\leq 1500 \mu\text{m}$) por el tamaño. Tercero

dividimos la biomasa total para la frecuencia relativa de las medidas de *D. longispina* en cada muestra para determinar la biomasa de *D. longispina* por tallas, las medidas fueron ordenadas desde $\leq 750 \mu\text{m}$ hasta $>2500 \mu\text{m}$ en intervalos de $250 \mu\text{m}$. Los individuos de *C. abyssorum* fueron clasificados por estadios: nauplios totales (CaN), los copepoditos fueron clasificados en cinco clases (CI a CV), los adultos en machos (CaM), hembras con huevos (CaFov) y hembras totales (CaFa) (con y sin huevos), adicionalmente los copepoditos I-II-III fueron clasificados como *C. abyssorum* pequeños y los copepoditos IV-V junto con los adultos como grandes (Cyca123 y Cyca456, respectivamente). Los huevos de *D. longispina* y *C. abyssorum* fueron contados y varios fueron medidos para calcular el volumen medio de los huevos por muestra. Determinamos la proporción de huevos de la población (*Egg ratio*) de *D. longispina* y *C. abyssorum* ($\text{Egg ratio} = \# \text{huevos} / \# \text{hembras adultas}$) y el número de huevos por hembra (*Clutch-size*) de *D. longispina*. La biomasa de los rotíferos fue clasificada como: biomasa total (Roti), biomasa de cada especie dominante (*K. quadrata*, *K. longispina*, *P. vulgaris* y *E. dilatata*) y biomasa total menos la biomasa de las especies dominantes (otros_Roti).

Los nutrientes en el agua fueron analizados con los métodos descritos en Ventura *et al.* (2000). La clorofila fue filtrada con filtros Whatman GF/F in-situ, guardados en sobres de papel de aluminio y refrigerados en el campo, después fueron congelados a $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. La extracción se realizó con acetona (5 ml al 90%) y un sonicador ultrasonido Sonopuls HD 2070 para homogenizar la muestra en frío, después fue centrifugada (10 min, 3200 rpm, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en centrífuga Selecta Macrofriger-BL). La medición de la clorofila se realizó en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2401 PL. El cálculo de la clorofila *a*, *b* y *c* se realizó con las fórmulas de Jeffrey & Humphrey (1975).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Variabilidad de los isotopos estables y modelamiento de la dieta

Aplicamos un análisis de varianza y comparaciones múltiples con el método post hoc HSD Tukey para analizar, primero la variabilidad de la composición isotópica de cada especie del plancton (*Gammarus*, *D. longispina*, *C. abyssorum* o *E. vulgaris*) y del bentos (quironómidos) con una ANOVA simple considerando como factor las masas de agua (ibón Acherito, estany y bassa d'Engorgs). Segundo analizamos la variabilidad isotópica de *Gammarus* dentro de cada masa de agua considerando como factores el hábitat (plancton, litoral y bentos en el estany d'Engorgs) y la talla

(*Gammarus*: pequeños, medianos y grandes) en el estany d'Engorgs con una ANOVA de dos factores y en el Ibón Acherito y bassa d'Engorgs únicamente la talla con una ANOVA de un factor.

Modelamos la dieta relativa de *Gammarus*, recogidos en el plancton, suponiendo que consume *D. longispina* y *C. abyssorum* (estany y bassa d'Engorgs) o *E. vulgaris* (ibón Acherito) en el plancton y quironómidos en el bentos. La dieta de *Gammarus* fue estimada con un modelo bayesiano mixto utilizando la señal isotópica transferida y calculada con la aplicación FRUITS 2.0 (Fernandes *et al.*, 2014). Este programa permite contabilizar la contribución de diferentes fracciones alimenticias hacia una señal *proxy* dietética medida en el consumidor. Como valor del fraccionamiento (*isotopic offset*) utilizamos 0.5‰ para el C y 3.4‰ para el N (Vander Zanden & Rasmussen, 1999, Ventura & Catalan, 2008), como valor de incertidumbre utilizamos una desviación estándar (SD) y *a priori* asumimos que la contribución relativa de los elementos de la dieta fue equitativa.

Experimento de exclusión de *Gammarus*

Utilizamos los resultados de cada mesocosmos (4 del control y 4 del tratamiento) de los dos últimos muestreos (septiembre y de octubre) para evaluar la variabilidad de las biomásas, la talla de las especies, la proporción de huevos, los nutrientes y la clorofila con una ANOVA de dos factores considerando como factores fijos los mesocosmos (control-tratamiento) y la temporalidad (septiembre-octubre). Los datos fueron normalizados con la función $\log_{10}(1000x+1)$. Los análisis de varianza para la composición isotópica descritos anteriormente y el experimento de exclusión de *Gammarus* fueron realizados con SPSS v19 (Corp. Released IBM, 2010).

Relaciones tróficas entre *Gammarus* y las otras especies del zooplancton

El efecto de *Gammarus* sobre la red trófica fue evaluado con un análisis del camino (*path analysis*). Este análisis puede, en primer lugar sugerir cual de muchas hipótesis causales alternativas que describen la relación entre variables es más probable a ser correcta y segundo, estima el peso relativo de las interacciones directas e indirectas entre las variables de una hipótesis causal dada, por esto puede ser utilizado como una herramienta para predecir las interacciones en la comunidad (Wootton, 1994). Los efectos directos e indirectos de la depredación en los ecosistemas acuáticos han sido confirmados con un análisis del camino (*e.g.*

Maurer *et al.*, 2014, Strauss *et al.*, 2016). Este análisis es una secuencia de regresiones múltiples y correlaciones estructuradas por una hipótesis *a priori*, por esto se rige por los supuestos inherentes a estos análisis (linealidad, homocedasticidad, residuos no correlacionados) (Legendre & Legendre 2012).

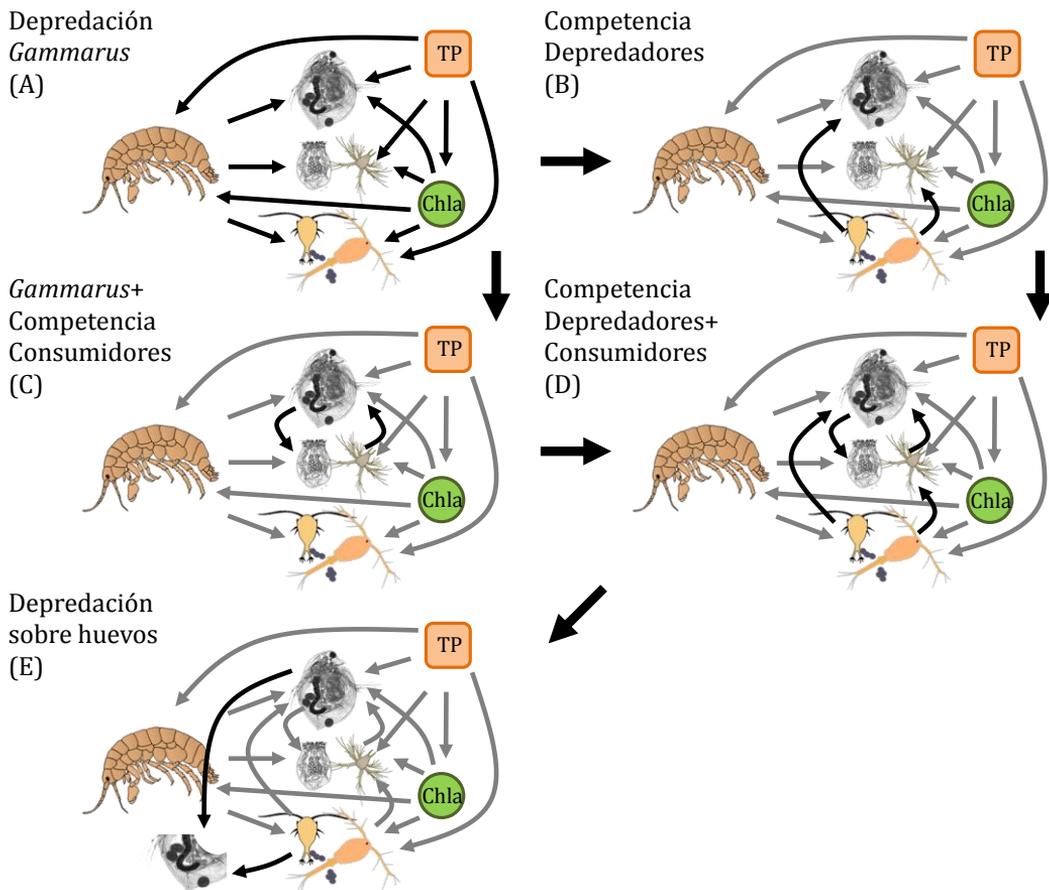


Figura 6.2: Representación de las hipótesis causales entre *Gammarus* y el zooplancton del estany d'Engorgs testadas con el análisis del camino por los modelos de: (A) depredación solo de *Gammarus*, (B) competencia entre los depredadores, (C) depredación de *Gammarus* más competencia entre los consumidores, (D) competencia entre los depredadores más la competencia entre los consumidores y (E) depredación de *C. abyssorum* sobre los huevos de *D. longispina*. Las flechas negras representan las interacciones testadas en hipótesis causal y las flechas grises representan las interacciones testadas en la hipótesis causal anterior. Las flechas entre las hipótesis causales representan el orden lógico de solución de los modelos. Imágenes de crustáceos tomadas de internet.

Las hipótesis causales planteadas fueron: i) una hipótesis que asume únicamente la depredación de *Gammarus* sobre *Cyclops*, *Daphnia* y los rotíferos sin ninguna relación entre las tres especies depredadas, ii) una hipótesis que asume la competencia entre los depredadores (*Gammarus* y *Cyclops*) por los consumidores (*Daphnia* y rotíferos más nauplios), iii) una hipótesis que incorpora la depredación de *Gammarus* y la competencia entre consumidores, iv) una hipótesis que asume la competencia entre los depredadores y la competencia entre los consumidores, finalmente v) una hipótesis que incorpora el efecto de la depredación de *Cyclops* sobre los huevos de *Daphnia* (Gliwicz & Stibor, 1993) (Figura 6.2). Los descriptores utilizados para responder las hipótesis causales fueron las biomásas de: *D. longispina* juveniles y adultas de acuerdo al tamaño (DIY \leq 1500 y DIYa $>$ 1500 respectivamente), *C. abyssorum* pequeños (Cyca123) y grandes (Cyca456), los *Gammarus* (0 para el tratamiento, 85 μ g C/L para el control), los rotíferos totales y los nauplios se reunieron en una sola categoría como herbívoros (Roti+CaN), además se incluyó en las hipótesis causales la concentración de la clorofila (Chl-a) como un *proxy* de la producción primaria y la concentración de TP. Los datos utilizados fueron los mismos con que se analizó el experimento.

La hipótesis causal está bien representada por el modelo propuesto cuando no difiere significativamente del modelo saturado (un solo camino directo entre cada una de las variables), es decir que la matriz de correlación esperada por el modelo no es significativamente distinta de la matriz de correlaciones observada del experimento (Wootton, 1994), esto se valoró con la prueba χ^2 . Los caminos entre las variables del modelo fueron eliminados cuando su efecto directo no era significativo ($p > 0.05$) hasta encontrar el mejor ajuste con el criterio de información Akaike (AIC). El efecto total ($\beta + I$), se estimó con el efecto directo (β) más el indirectos (I) de acuerdo a Legendre & Legendre (2011). El análisis del camino se computó en R con el paquete “sem” (Fox *et al.*, 2016).

RESULTADOS

COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE LAS ESPECIES

Composición isotópica de las especies entre las masas de agua

La composición isotópica entre las masas de agua fue significativamente distinta para ambos isótopos en los *Gammarus* ($\delta^{13}\text{C}$ $F_{2,33}=100$, $p < 0.001$ y $\delta^{15}\text{N}$ $F_{2,33}=5$,

p=0.007). En los copépodos ($\delta^{13}\text{C}$ $F_{2,7}=10$, p=0.009 y $\delta^{15}\text{N}$ $F_{2,7}=0.2$, p=0.8) y los quironómidos ($\delta^{13}\text{C}$ $F_{2,1}=299$, p=0.041 y $\delta^{15}\text{N}$ $F_{2,1}=40$, p=0.1) fue significativamente distinta en $\delta^{13}\text{C}$ pero no en $\delta^{15}\text{N}$. En *D. longispina* no fue significativamente distinta en $\delta^{13}\text{C}$ pero si en $\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{13}\text{C}$ $F_{2,7}=4$, p=0.076 y $\delta^{15}\text{N}$ $F_{2,7}=5$, p=0.049). *Gammarus* fue menos enriquecido en $\delta^{13}\text{C}$ en el ibón Acherito que la bassa y el estany d'Engorgs ($-26.47\pm 2.08\text{‰} < -23.80\pm 0.74\text{‰} < -20.11\pm 0.16\text{‰}$, respectivamente, post hoc HSD Tukey p<0.05) y fue más enriquecido en $\delta^{15}\text{N}$ en la bassa d'Engorgs que el estany d'Engorgs y el ibón Acherito ($3.05\pm 0.12\text{‰} > 2.95\pm 0.32\text{‰} = 2.56\pm 0.40\text{‰}$, respectivamente, post hoc HSD Tukey p<0.05). Los valores menos enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ en los copépodos y quironómidos se encontraron en la bassa d'Engorgs (-31.90 ± 0.20 y $-21.73\pm 0.10\text{‰}$, respectivamente). Los valores más enriquecidos de $\delta^{15}\text{N}$ en *D. longispina* se encontraron en la bassa d'Engorgs ($2.01\pm 0.11\text{‰}$), (Anexos 4 y 5).

Composición isotópica de las especies dentro de las masas de agua

Los *Gammarus* recogidos en el plancton, bentos y litoral del estany d'Engorgs no fueron significativamente distintos en $\delta^{13}\text{C}$ ($F_{2,13}=3$, p=0.068) ni $\delta^{15}\text{N}$ ($F_{2,13}=3$, p=0.067) pero si fueron significativamente distintos para la talla tanto en $\delta^{13}\text{C}$ ($F_{2,13}=6$, p=0.016) como en $\delta^{15}\text{N}$ ($F_{2,13}=9$, p=0.003) (Anexo 6). Los *Gammarus* más grandes fueron menos enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ y más enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ ($-20.46\pm 0.40\text{‰}$, $3.19\pm 0.26\text{‰}$, respectivamente), seguidos de los *Gammarus* medianos ($-20.16\pm 0.56\text{‰}$, $2.98\pm 0.20\text{‰}$, respectivamente) mientras que los *Gammarus* más pequeños fueron más enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ pero menos enriquecido en $\delta^{15}\text{N}$ ($-19.59\pm 0.58\text{‰}$, $2.63\pm 0.28\text{‰}$, respectivamente).

Las tallas de *Gammarus* del ibón Acherito fueron significativamente distintos en la composición isotópica en $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ ($F_{2,6}=3122$, p<0.001; $F_{2,6}=45$, p<0.001; respectivamente), los *Gammarus* más grandes fueron menos enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ y más enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ ($-29.22\pm 0.03\text{‰}$, $3.07\pm 0.11\text{‰}$, respectivamente), que los *Gammarus* medianos ($-25.40\pm 0.04\text{‰}$ y $2.35\pm 0.14\text{‰}$, respectivamente) y los *Gammarus* más pequeños ($-24.79\pm 0.12\text{‰}$, $2.25\pm 0.08\text{‰}$, respectivamente). Los *Gammarus* medianos y pequeños fueron un grupo homogéneo en $\delta^{15}\text{N}$ (post-hoc HSD Tukey, p<0.05) pero no en $\delta^{13}\text{C}$.

Las tallas de *Gammarus* de la bassa d'Engorgs fueron significativamente distintos en $\delta^{13}\text{C}$ pero no en $\delta^{15}\text{N}$ ($F_{1,4}=1392$, p<0.001; $F_{1,4}=4$, p=0.118; respectivamente). Los *Gammarus* grandes fueron menos enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ y más enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$

($-24.48 \pm 0.04\text{‰}$, $3.13 \pm 0.06\text{‰}$, respectivamente) que los *Gammarus* medianos ($-23.13 \pm 0.05\text{‰}$, $2.97 \pm 0.13\text{‰}$, respectivamente). No encontramos *Gammarus* pequeños en la bassa d'Engorgs (Anexo 7 y 8).

Red trófica de las masas de agua

El epilíton fue más enriquecido en $\delta^{13}\text{C}$ que el sedimento en todas las masas de agua, en el ibón Acherito la diferencia entre el epilíton y el sedimento fue mínima, en la bassa d'Engorgs fue mayor y en el estany d'Engorgs fue máxima (Anexo 7). El sedimento fue más enriquecido en el $\delta^{15}\text{N}$ que el epilíton en el estany y bassa d'Engorgs pero el epilíton fue más enriquecido que el sedimento en el ibón Acherito. Los quironómidos fueron los organismos más enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$ en las tres masas de agua, no obstante las diferencias entre los quironómidos y *Gammarus* fueron menores en el estany que en la bassa d'Engorgs y mayores en el ibón Acherito, especialmente en los *Gammarus* de mayor tamaño, esto refleja que quironómidos y *Gammarus* pueden compartir las mismas fuentes primarias en las masas de agua poco profundas pero no necesariamente en las masas de agua más grandes y profundas. *Copepoda* y *Daphnia* fueron los menos enriquecidos en $\delta^{13}\text{C}$, sus resultados fueron similares en las tres masas de agua, reflejando su estado planctónico al distanciarse de la señal isotópica del epilíton y el bentos. Los crustáceos más enriquecidos en $\delta^{15}\text{N}$ fueron *Copepoda* y los menos enriquecidos *Daphnia* en las tres masas de agua. Los *Gammarus* fueron más enriquecidos que los quironómidos en el Ibón Acherito y en la bassa d'Engorgs pero menos enriquecidos en el estany d'Engorgs en $\delta^{15}\text{N}$.

Estimación de la dieta de *Gammarus*

La estima de la dieta de los *Gammarus* del ibón Acherito mostró un consumo mayoritario del plancton (*Daphnia*; $82 \pm 12\%$ y copépodos $3 \pm 3\%$, AVE \pm SD) y escaso del bentos (quironómidos, $15 \pm 11\%$), los *Gammarus* más grandes tenían un aporte casi exclusivo del plancton (*Daphnia*, $99 \pm 1\%$) (Figura 6.3B), mientras que los *Gammarus* medianos y pequeños consumieron relativamente menos del plancton (*Daphnia*: $68 \pm 1\%$ y $62 \pm 1\%$, respectivamente) y más del bentos ($31 \pm 1\%$ y $38 \pm 1\%$, respectivamente) que los *Gammarus* más grandes, al juntar los *Gammarus* medianos y pequeños la contribución del plancton fue mayor (*Daphnia*: $63 \pm 4\%$) y del bentos menor (quironómidos: $36 \pm 4\%$) que los *Gammarus* más grandes (Figura 6.3C). La estimación de la dieta de *Gammarus* en el estany d'Engorgs, sin discriminar por la talla ni el hábitat, mostró un aporte mayoritario del plancton (*Daphnia*: $89 \pm 7\%$) y escaso del bentos (quironómidos, $6 \pm 6\%$) (Figura 6.3E). Al

estimar la dieta con los *Gammarus* muestreados en la zona planctónica el aporte del plancton con respecto al bentos apenas aumentó (*Daphnia*: 90 ± 6 y quironómidos $4\pm 4\%$; Figura 6.3F), y cuando estimamos la dieta discriminando las tallas, el aporte del plancton no fue menor al 90% para cada una de ellas (grande, mediana y pequeña). La estimación de la dieta de *Gammarus* en la bassa d'Engorgs mostró un aporte mayoritario del bentos con respecto al plancton tanto para los *Gammarus* grandes (70 ± 1 y $30\pm 1\%$, respectivamente) (Figura 6.3H) como para los *Gammarus* medianos (82 ± 1 y $17\pm 1\%$ respectivamente) (Figura 6.3I), al juntar ambas tallas el aporte del bentos aumento ($98\pm 2\%$) y del plancton disminuyo drásticamente (*Daphnia*, $<2\pm 2\%$) (Anexo 8).

EXPERIMENTO DE DEPREDACIÓN EN EL ESTANY D' ENGORGS

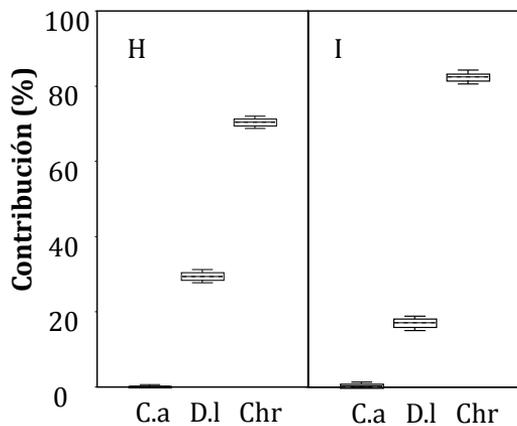
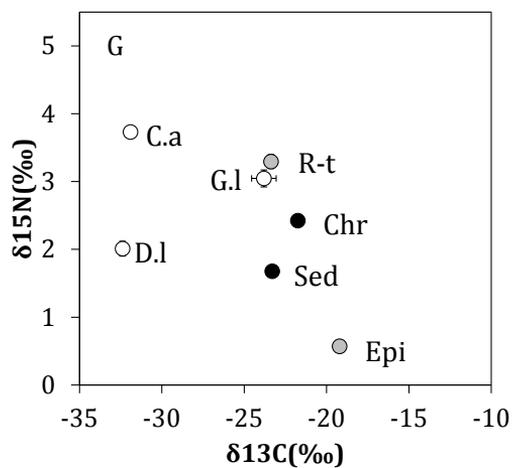
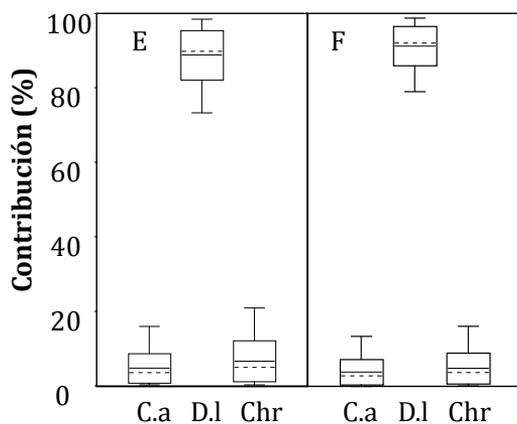
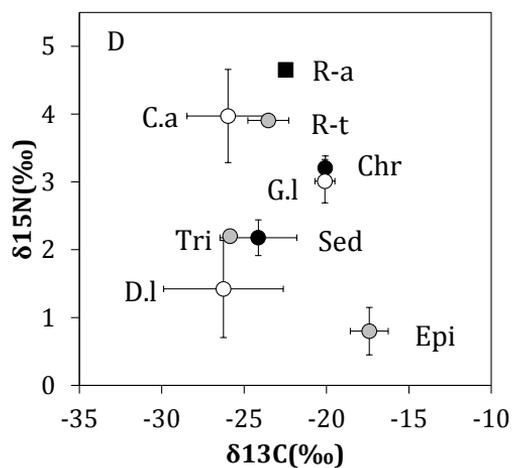
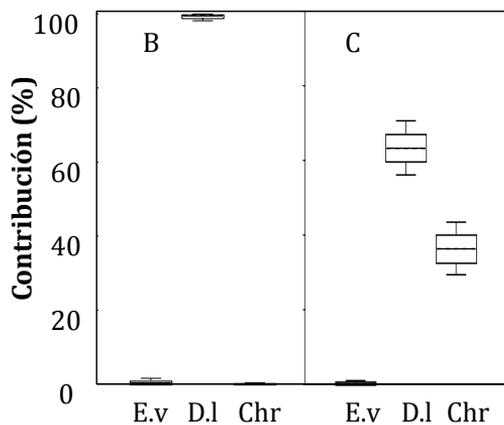
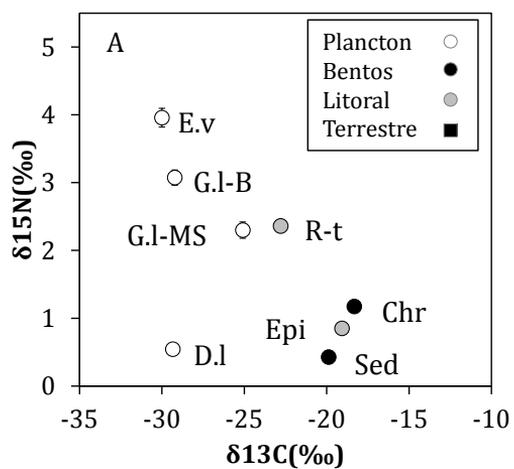
El estany d'Engorgs estuvo libre de hielo desde el 6 de junio hasta el 25 de octubre del 2010. La temperatura del aire fue de 3.2 ± 7.6 °C (AVE \pm SD) con el máximo en agosto (22.6 °C) y el mínimo en enero (-18.9 °C). Las lluvias fueron más abundantes desde mayo hasta octubre con un pico en julio (22.7 mm) (Estació Z3 Malniu 2.230 m). A finales de julio, la temperatura del lago fue de 18 °C con una estratificación débil a partir de 1.5 m de profundidad. En septiembre el lago comenzó a enfriarse y a finales de octubre la cubierta de hielo ya estuvo formada (Anexo 9). Las concentraciones de los nutrientes fueron muy estables mientras el lago estuvo libre de hielo (julio-octubre). No observamos diferencias significativas entre el tratamiento (D) y el control (G) para el TN ni el TP, sin embargo, entre el lago (L) y los mesocosmos hubieron diferencias para el TN ($F_{2,12}=7$; post-hoc HSD Tukey, D/L, $p=0.013$ y G/L, $p=0.007$) pero no para el TP ni la Chl-*a*. La temporalidad fue significativamente distinta para el TN ($F_{1,12}=27$, $p<0.001$), en septiembre fue de 300 ± 15 µgN/L (AVE \pm SE) y en octubre aumentó a 420 ± 22 µgN/L. El TP también fue distinto ($F_{1,12}=34$, $p<0.001$), en septiembre fue de 12 ± 1 µgP/L y en octubre aumentó a 27 ± 2 µgP/L. No encontramos diferencias significativas entre los mesocosmos del tratamiento y el control para la clorofila (*a*, *b* y *c*), tampoco con la temporalidad (Tabla 6.2). La clorofila en los mesocosmos fue: 3.50 ± 0.43 µg/L Chl-*a*, 0.59 ± 0.06 µg/L Chl-*b*, y 0.81 ± 0.10 µg/L Chl-*c* (Figura 6.4).

Tabla 6.2: Análisis de la varianza del experimento para: la clorofila, los nutrientes y las biomásas de las especies por estadios y tallas, considerando como factores: la temporalidad con los datos de septiembre-octubre (T), los mesocosmos del tratamiento y control (M) y la interacción entre la temporalidad y los mesocosmos (TxM). El valor de significancia para: (***) $p < 0.001$, (**) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$, (ns) $p > 0.05$ o (nd) datos insuficientes. Se indica las variables, sus abreviaciones (ABRE) y el parámetro medido (PARÁMETRO).

ESPECIE	VARIABLE	ABRE	PARÁMETRO	T	M	TxM	
Clorofila	Clorofila-a	Chl-a	Concentración	ns	ns	**	
	Clorofila -b	Chl-b	Concentración	ns	ns	*	
	Clorofila -c	Chl-c	Concentración	ns	ns	*	
Nutrientes	Nitrógeno total	TN	Concentración	***	ns	ns	
	Fósforo total	TP	Concentración	***	ns	ns	
	Ratio TN/TP	TN/TP	Concentración	**	ns	ns	
<i>Cyclops abyssorum</i>	Nauplios	CaN	Biomasa	***	**	ns	
	Copepoditos I	CI	Biomasa	***	**	*	
	Copepoditos II	CII	Biomasa	**	ns	ns	
	Copepoditos III	CIII	Biomasa	**	ns	ns	
	Copepoditos IV	CIV	Biomasa	***	ns	ns	
	Copepoditos V	CV	Biomasa	***	ns	ns	
				Biomasa	***	ns	*
	Hembras	CaFa	Talla	ns	**	ns	
			Egg ratio	***	ns	ns	
	Hembra con huevos	CaFov	Biomasa	ns	ns	ns	
			Tamaño de huevos	ns	ns	ns	
	Machos	CaM	Biomasa	**	ns	ns	
			Talla	ns	ns	ns	
Total	CaT	Biomasa	***	ns	ns		
<i>Daphnia longispina</i>			Biomasa	ns	*	ns	
	Hembras adultas	DI Fa	Talla	ns	**	**	
			Egg ratio	ns	ns	*	
	Hembras con huevos	DI Fov	Biomasa	ns	ns	ns	
			Tamaño de huevos	ns	ns	ns	
	Hembras con efiptos	DI Ef	Biomasa	ns	ns	ns	
	Hembras juveniles	DI Y	Biomasa	ns	*	ns	
		Talla	***	ns	ns		

ESPECIE	VARIABLE	ABRE	PARÁMETRO	T	M	TxM
<i>Daphnia longispina</i>	Machos	DIM	Biomasa	ns	*	ns
			Talla	***	ns	ns
	<750 µm	DI750	Biomasa	**	ns	ns
	750-1000 µm	DI1000	Biomasa	ns	**	ns
	1000-1250 µm	DI1250	Biomasa	**	*	ns
	1250-1500 µm	DI1500	Biomasa	ns	ns	ns
	1500-1750 µm	DI1750	Biomasa	ns	*	ns
	1750-2000 µm	DI2000	Biomasa	ns	*	ns
	2000-2250 µm	DI2250	Biomasa	ns	ns	ns
	2250-2500 µm	DI2500	Biomasa	ns	ns	ns
	>2500 µm	DI2500+	Biomasa	nd	nd	nd
	Total <i>D. longispina</i>	DIT	Biomasa	ns	*	ns
Rotíferos	<i>Kellicottia longispina</i>	<i>K. longispina</i>	Biomasa	nd	nd	nd
	<i>Keratella quadrata</i>	<i>K. quadrata</i>	Biomasa	ns	**	*
	<i>Polyarthra vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	Biomasa	*	*	ns
	<i>Euchlanis dilatata</i>	<i>E. dilatata</i>	Biomasa	***	**	**
	Otros Rotíferos	O.Roti	Biomasa	**	ns	ns
	Total de Rotíferos	T.Roti	Biomasa	*	ns	ns

Figura 6.3 (siguiente página): Panel izquierdo promedios y desviación estándar de los isotopos estables en la red trófica de las masas de agua, las especies son: (R-a) *Rana temporaria* adulta, (R-t) *R. temporaria* juvenil, (G.l) *Gammarus*, (G.l-B) G.l grandes, (G.l-MS) G.l medianos y pequeños, (E.v) *E. vulgaris*, (C.a) *C. abyssorum*, (D.l) *D. longispina*, (Chr) quironómidos, (Tri) Tricópteros, (Epi) Epilíton y (Sed) Sedimento. Panel derecho gráficos de cajas de la dieta estimada de *Gammarus*, las cajas representan el 68% y los bigotes el 95% del intervalo de confianza, la línea horizontal continua indica el promedio, la línea horizontal discontinua indica la mediana. Las figuras superiores corresponden al ibón Acherito; (A) red trófica, (B) estimación de la dieta de *Gammarus* grandes y (C) *Gammarus* medianos y pequeños. Figuras intermedias al estany d'Engorgs; (D) red trófica, (E) dieta estimada de *Gammarus* sin discriminar la talla ni el hábitat y (F) dieta estimada de *Gammarus* recogidos en el plancton. Figuras inferiores a la bassa d'Engorgs; (G) red trófica, (H) dieta estimada de *Gammarus* grandes, (I) dieta estimada de *Gammarus* medianos.



Fenología del zooplancton en el estany d'Engorgs

Las abundancias relativas de *C. abyssorum* en el lago fueron más altas en julio para los machos y las hembras adultas (24 y 15%, respectivamente) y los copepoditos CIII y CIV (ambos 24%), también los machos fueron más abundantes en el tratamiento y el control (D=19 y G=23%), las hembras fueron abundantes en el tratamiento pero escasas en el control (D=16 y G=8%), los copepoditos CIII fueron abundantes en el tratamiento y el control (D=29 y G=34%) y CIV fueron escasos en el tratamiento y el control (D=5 y G=6%). En agosto las hembras y machos disminuyeron drásticamente en el lago y los mesocosmos con la excepción de los machos del control que aún estaban presentes (G=23%), mientras que los nauplios fueron los más abundantes en el lago (L=63%) y los mesocosmos (D=67 y G=35%). En septiembre los nauplios y CI desaparecieron y los copepoditos CII, CIII y CIV aparecieron en el lago (20, 25 y 28%, respectivamente), mientras en los mesocosmos estos estadios aún eran escasos y los nauplios seguían siendo abundantes en el tratamiento y el control (D=58 y G=45%). Finalmente en octubre los copepoditos CIV y CV fueron más abundantes en el lago (42 y 24%, respectivamente) y en los mesocosmos del tratamiento (29 y 25%, respectivamente) y el control (23 y 37%, respectivamente). Durante este periodo las hembras con huevos no excedieron el 2% en el lago ni en los mesocosmos (Figura 6.5).

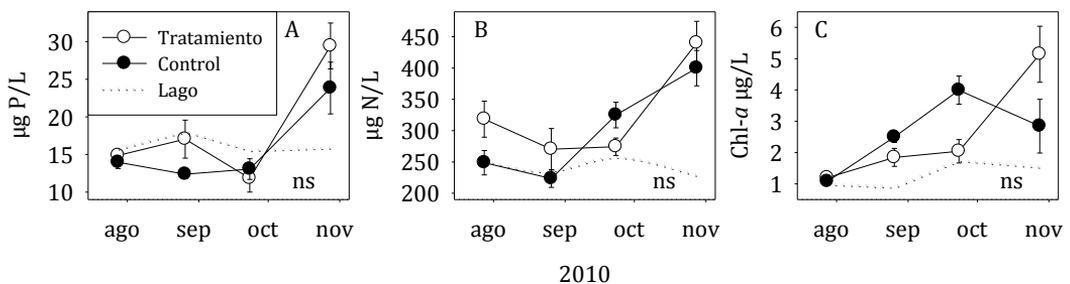


Figura 6.4: Promedios y error estándar para: (A) el fósforo total, (B) nitrógeno total y (C) clorofila-a durante el experimento. Los círculos negros representan los mesocosmos del control, los círculos blancos los mesocosmos del tratamiento y la línea punteada el estany d'Engorgs. (ns) resultado no significativo entre el tratamiento y el control entre sep-oct.

La abundancia relativa de *D. longispina* juvenil en el lago tuvo un valor alto en julio, un máximo en agosto y decreció hasta un mínimo en octubre (81, 86 y 25%, respectivamente), mientras en los mesocosmos observamos el valor máximo en julio (D=82, G=91%) decreció constantemente hasta un mínimo en octubre (D=21

y G=25%). La abundancia relativa de *D. longispina* adulta en el lago fue 15% en julio, decreció al 2% en septiembre y subió al 45% en octubre cuando un tercio tuvieron huevos, en julio el tratamiento fue similar al lago pero el control fue más bajo que el lago (D=16 y G=8%), subió durante agosto y septiembre hasta un máximo en octubre (D=40 y G=30%). Las hembras con huevos o embriones fueron bajas durante el experimento en el lago y los mesocosmos con máximos en julio (L=9, D=6 y G=4%). Las hembras con epíbios aparecieron en octubre en el lago (L=5%) mientras en los mesocosmos aparecieron desde septiembre (D=1, G=5%) y aumentaron en octubre (D=10, G=5%). Los machos de *D. longispina* aparecieron en el lago en septiembre y octubre (60 y 30%, respectivamente), mientras en los mesocosmos aparecieron desde agosto (D=12 y G=12%) con un máximo en septiembre (D=52 y G=34%) y se mantuvieron hasta octubre (D=38 y G=45%) (Figura 6.5).

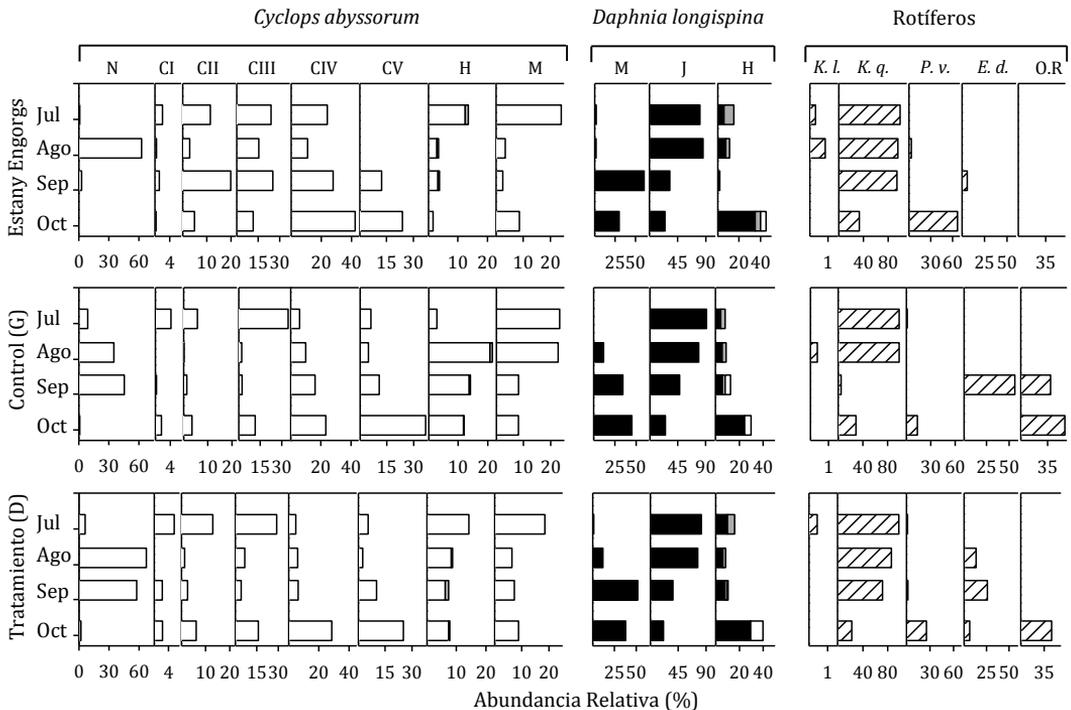


Figura 6.5: Abundancia relativa de *C. abyssorum*, *D. longispina* y los rotíferos; (K.l.) *K. longispina*, (K.q.) *K. quadrata*, (P.v.) *P. vulgaris*, (E.d.) *E. dilatata* y (O.R.) otros rotíferos indeterminados en el estany d'Engorgs y en los mesocosmos del control y tratamiento. En *C. abyssorum* la barra gris representa las hembras con huevos, en *D. longispina* representa las hembras fecundas (con huevos o embriones) y la barra blanca las hembras con epíbios. "H" hembras, "M" machos, "J" juveniles, "N" nauplios y "C" copepoditos.

Durante el experimento encontramos 14 especies de rotíferos. La abundancia relativa estuvo dominada por pocas especies, la más abundante fue *K. quadrata* en el lago (L=81%) y algo menos en los mesocosmos (D=69, G=58%), esta especie disminuyó bruscamente en octubre cuando *P. vulgaris* fue la más abundante en el lago (L=67%) pero relativamente más baja en los mesocosmos (D=25, G=14%) y *E. dilatata* fue más abundante en los mesocosmos (D=11, G=14%) que en el lago (L=1%). El resto de especies y morfo-especies fueron raras con abundancias relativas inferiores al 1% como *K. longispina* u ocurrencias anecdóticas como *Testudinella sp* (Figura 6.5).

Efecto de *Gammarus* en el zooplancton del estany d'Engorgs

La biomasa de *C. abyssorum* fue mayor en el tratamiento (D) que en el control (G) para los nauplios ($F_{1,12}=19$, $p<0.001$; $D=0.44\pm 0.16$ y $G=0.09\pm 0.02$ $\mu\text{g C/L}$, AVE \pm SE) y para los copepoditos CI ($F_{1,12}=14$, $p=0.003$; $D=0.32\pm 0.09$ y $G=0.14\pm 0.07$ $\mu\text{g C/L}$) (Figura 6.6), no hubo diferencias significativas entre el tratamiento y el control para los otros copepoditos ni los adultos de *C. abyssorum* (Tabla 6.2). La biomasa de los nauplios fue más baja en el lago (L= 0.05 ± 0.05 $\mu\text{g C/L}$) que en los mesocosmos ($F_{1,12}=25$; post-hoc HSD Tukey; L/D $p<0.001$ y L/G $p=0.007$), no hubo diferencias significativas para la biomasa de copepoditos CI entre el lago y los mesocosmos. La biomasa de las hembras totales de *C. abyssorum* no fue distinta entre el tratamiento y el control pero sí entre el lago y los mesocosmos ($F_{1,12}=11$, $p=0.002$; post-hoc HSD Tukey; L/G, $p=0.004$ y L/D, $p=0.002$) donde fue más baja en el lago que en los mesocosmos (L= 2.5 ± 2.4 , D= 8.2 ± 2.2 y G= 9.9 ± 3.8 $\mu\text{gC/L}$). No encontramos diferencias significativas para la biomasa de los machos de *C. abyssorum* entre el lago y los mesocosmos. El tamaño de las hembras de *C. abyssorum* fue mayor en el tratamiento que en el control ($F_{1,271}=9$, $p=0.003$; D= 1374 ± 10 y G= 1332 ± 8 μm , AVE \pm SE), no observamos diferencia significativas en el tamaño de los machos de *C. abyssorum*. La tasa de huevos (*egg-ratio*) de *C. abyssorum* no fue significativamente distinta entre el tratamiento y el control, pero sí lo fue para la temporalidad con un mayor número de huevos por hembra en septiembre que en octubre ($F_{1,12}=44$, $p<0.001$, sep= 11 ± 3 y oct= 1 ± 0.2 *egg-ratio*) (Figura 6.7).

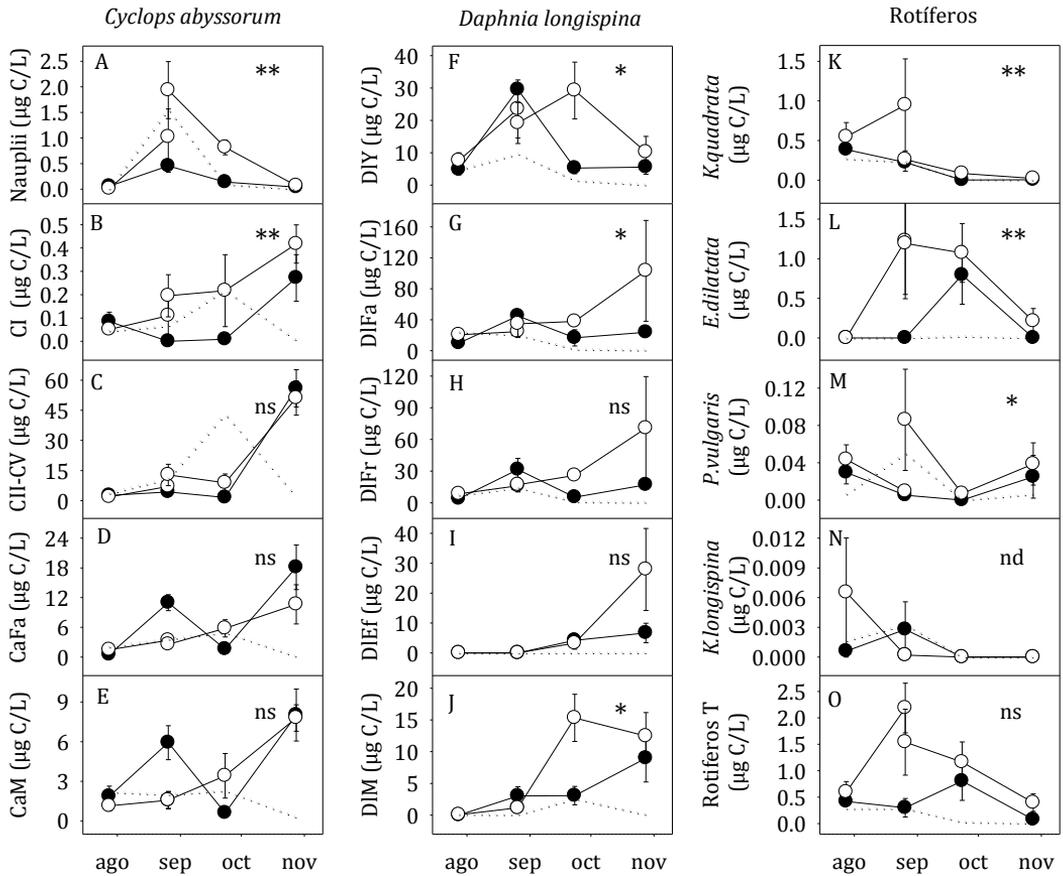


Figura 6.6: Biomásas medias y el error estándar para el estany d'Engorgs y los mesocosmos del control y el tratamiento. Panel izquierdo, *C. abyssorum*: (A) nauplios, (B) copepoditos CI, (C) copepoditos CII-CV, (D) hembras y (E) machos. Panel central, *D. longispina*: (F) juvenil, (G) hembras totales, (H) hembras reproductoras, (I) hembras con epipios y (J) machos. Panel derecho, Rotíferos: (K) *K. quadrata*, (L) *E. dilatata*, (M) *P. vulgaris*, (N) *K. longispina* y (O) rotíferos totales. Los círculos negros corresponden al control, los círculos blancos al tratamiento y las líneas punteadas al estany d'Engorgs. Los cambios entre el tratamiento y el control para el periodo septiembre-octubre se indican como significativos para () $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$, (ns) no-significativos o (nd) no pudieron ser estimados.**

La biomasa de *D. longispina* fue mayor en el tratamiento que en el control para las hembras adultas ($F_{1,12}=7.6$, $p=0.017$; $D=71\pm 33$ y $G=20\pm 5$ µg C/L), las hembras juveniles ($F_{1,12}=5.0$, $p=0.045$; $D=20\pm 6$ y $G=5\pm 1$ µg C/L) y los machos ($F_{1,12}=8.4$, $p=0.013$; $D=14\pm 2$ y $G=6\pm 2$ µg C/L), estas biomásas no variaron significativamente con la temporalidad. Las biomásas fueron más bajas en el lago que en los mesocosmos para las hembras adultas ($F_{1,12}=17$, $p < 0.001$; post-hoc HSD Tukey;

L/D $p < 0.001$ y L/G, $p = 0.004$), las hembras juveniles ($F_{1,12} = 12$, $p = 0.001$; post-hoc HSD Tukey; L/D, $p = 0.001$ y L/G, $p = 0.012$) y los machos ($F_{1,12} = 17$, $p < 0.001$; post-hoc HSD Tukey; L/D $p < 0.001$ y L/G $p = 0.005$), en el lago la biomasa de *D. longispina* adultas fue: 1 ± 0.6 , juveniles 0.7 ± 0.7 y machos 1.3 ± 1.2 $\mu\text{g C/L}$ (Figura 6.6). La biomasa por tallas de *D. longispina* fue más alta en el tratamiento que el control para las tallas intermedias (DI1000 ($F_{1,12} = 11$, $p = 0.006$; $D = 26 \pm 5$, $G = 9 \pm 2$ $\mu\text{g C/L}$), DI1250 ($F_{1,12} = 5$, $p = 0.04$; $D = 20 \pm 8$, $G = 8 \pm 3$ $\mu\text{g C/L}$), DI1750 ($F_{1,12} = 8$, $p = 0.02$; $D = 22 \pm 13$, $G = 4 \pm 1$) y DI2000 ($F_{1,12} = 6$, $p = 0.03$; $D = 10 \pm 6$, $G = 2 \pm 1$ $\mu\text{g C/L}$)) y no lo fue para las *D. longispina* más pequeñas y más grandes (menores a 750, DI1500 ni mayores a 2000 μm) (Tabla 6.2). En el lago encontramos biomasa más bajas que los mesocosmos en las mismas tallas (DI1000 ($F_{1,12} = 21$, $p < 0.001$; $L = 1.5 \pm 1.1$ $\mu\text{g C/L}$), DI1250 ($F_{1,12} = 20$, $p < 0.001$; $L = 0.19 \pm 0.15$ $\mu\text{g C/L}$), DI1750 ($F_{1,12} = 20$, $p < 0.001$; $L = 0.11 \pm 0.002$ $\mu\text{g C/L}$) y DI2000 ($F_{1,12} = 7$, $p = 0.009$; $L = 0$ $\mu\text{g C/L}$)), pero no encontramos diferencias significativas entre el lago y los mesocosmos para las *D. longispina* más pequeñas y más grandes (menor a 750 μm , DI1500 ni mayores a 2000 μm) (Anexo 10). El tamaño de *D. longispina* adulta fue mayor en el tratamiento que el control ($F_{1,305} = 8$, $p = 0.004$; $D = 1682 \pm 12$ y $G = 1617 \pm 16$ μm), pero no hubo diferencias para el tamaño de las hembras juveniles (DIY: $L = 797 \pm 13$, $D = 925 \pm 11$, $G = 843 \pm 9$ μm) ni para los machos (DIM: $L = 782 \pm 12$, $G = 855 \pm 12$, $D = 869 \pm 8$ μm). Los tamaños de septiembre fueron más pequeños que los de octubre para *D. longispina* juveniles ($F_{1,359} = 34$, $p < 0.001$; sep = 939 ± 15 , oct = 1105 ± 23 μm) y para los machos ($F_{1,457} = 410$, $p < 0.001$; sep = 802 ± 7 , oct = 1048 ± 9 μm) pero no para *D. longispina* adulta. La tasa de huevos de *D. longispina* (egg-ratio) no fue significativamente distinta entre el tratamiento y el control, tampoco para la temporalidad (Figura 6.7G).

La biomasa de rotíferos fue mayor en el tratamiento que el control para *E. dilatata* ($F_{1,12} = 20$, $p < 0.001$; $D = 0.64 \pm 0.25$, $G = 0.40 \pm 0.23$ $\mu\text{g C/L}$), *K. quadrata* ($F_{1,12} = 16$, $p = 0.002$; $D = 0.05 \pm 0.02$, $G = 0.004 \pm 0.002$ $\mu\text{g C/L}$) y *P. vulgaris* ($F_{1,12} = 6$, $p = 0.03$; $D = 0.02 \pm 0.01$, $G = 0.01 \pm 0.01$ $\mu\text{g C/L}$), no hubo diferencia significativa para: *K. longispina*, la biomasa total ni para la biomasa de especies raras o anecdóticas (Tabla 6.2). La biomasa en el tratamiento fue más alta que el lago para *E. dilatata* ($F_{1,12} = 15$; post-hoc HSD Tukey; L/D, $p = 0.002$) y para la biomasa total de rotíferos ($F_{1,12} = 7$; post-hoc HSD Tukey; L/D, $p = 0.012$) (Figura 6.6).

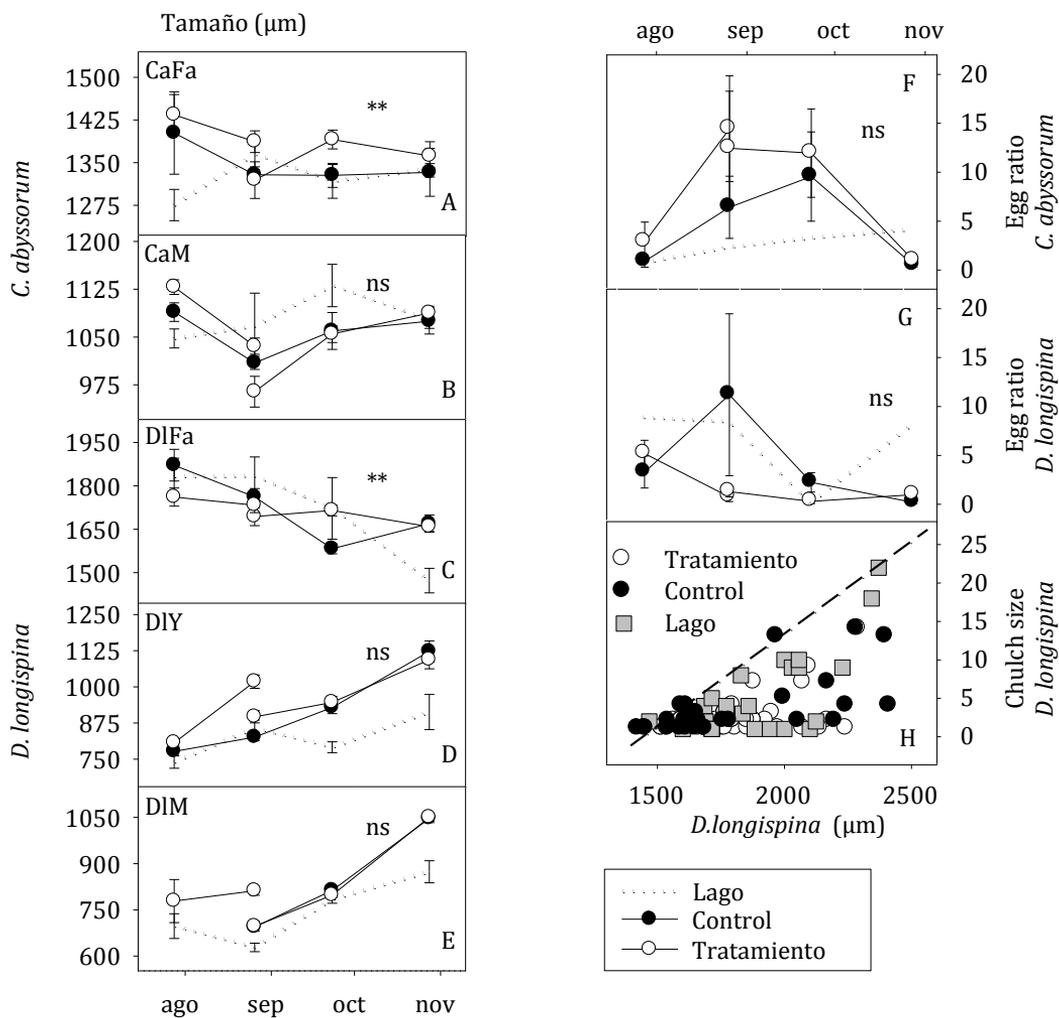


Figura 6.7: Promedios y error estándar para las tallas de los adultos de *C. abyssorum*: (A) hembras y (B) machos. *D. longispina*: (C) hembras adultas totales, (D) juveniles y (E) machos. (F) *C. abyssorum* egg-ratio, (G) *D. longispina* egg-ratio y (H) Relación entre la talla y el número de huevos por hembra (clutch size) de *D. longispina* adultas. Los círculos negros corresponde al control, los círculos blancos al tratamiento y la línea punteada al estany d'Engorgs. Los cambios entre el tratamiento y el control para el periodo sep-oct se indican como significativos para: (***) $p < 0.001$, (**) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$ y (ns) no significativos.

RELACIONES TRÓFICAS ENTRE GAMMARUS Y LAS OTRAS ESPECIES DEL ZOOPLANCTON

Los resultados del *path analysis* mostraron que *Gammarus* puede tener un efecto intenso en las distintas especies del zooplancton mientras que la clorofila y el TP pueden tener un efecto menor. La hipótesis de depredación de *Gammarus* fue un buen predictor de su efecto sobre las otras especies sin considerar los posibles efectos entre ellas, el modelo ajustado ($\chi^2_{18}= 16.8$, $p=0.5$, $AIC=52.8$), demostró que *Gammarus* tuvo un efecto directo negativo sobre: las *D. longispina* de menor tamaño ($\beta=-0.64$, $p<0.001$), los rotíferos más nauplios ($\beta=-0.50$, $p<0.001$) y los *C. abyssorum* pequeños ($\beta=-0.26$, $p=0.010$), no hubieron efectos indirectos para estas especies, además *Gammarus* tuvo un efecto total negativo ($\beta+I=-0.12$) sobre los *C. abyssorum* grandes debido a un efecto directo positivo ($\beta=0.14$, $p=0.027$) menor que el efecto indirecto negativo ($I=-0.26$). El TP tuvo un efecto total positivo ($\beta+I=0.73$) con *C. abyssorum* pequeños debido a un efecto directo positivo ($\beta=0.88$, $p<0.001$) mayor que el efecto indirecto negativo ($I=-0.15$), y con los rotíferos más nauplios solo tuvo un efecto directo negativo ($\beta=-0.72$, $p<0.001$). La clorofila solo tuvo un efecto directo negativo con los *C. abyssorum* pequeños ($\beta=-0.43$, $p<0.001$) (Figura 6.8A).

La hipótesis de competencia entre depredadores que considera un segundo depredador (*C. abyssorum*) sobre los consumidores (*D. longispina*, rotíferos y nauplios) tuvo un buen ajuste y predijo mejor el efecto de las interacciones de las especies ($\chi^2_{17}=11.6$, $p=0.82$, $AIC=49.6$) que la hipótesis de depredación solo de *Gammarus*, además el ajuste mostró un efecto directo positivo de los *C. abyssorum* pequeños sobre las *D. longispina* grandes ($\beta=0.31$, $p <0.001$) (Figura 6.8B). El modelo ajustado de la hipótesis de depredación de *Gammarus* y la competencia entre consumidores no predijo mejor el efecto de las interacciones y tuvo el mismo resultado que la hipótesis de depredación de *Gammarus* (Figura 6.8C). El modelo ajustado de la hipótesis que integra la competencia tanto entre depredadores como entre consumidores tuvo el mismo resultado que la hipótesis de competencia entre depredadores (Figura 6.8D).

El modelo final de la hipótesis de depredación de los huevos de *D. longispina* por *C. abyssorum* no tuvo un buen ajuste ($\chi^2_{24}=40.3$, $p=0.02$, $AIC=82.3$) esto refleja el hecho que bajo este hipótesis causal no hay una buena predicción del efecto de depredación sobre los huevos (Figura 6.8E). Una hipótesis causal alternativa que sí tuvo un buen ajuste ($\chi^2_{18}=24.2$, $p=0.15$, $AIC=60.2$), por lo tanto, predice la

depredación de los huevos de *D. longispina* por *C. abyssorum* pequeños ($\beta=-0.47$, $p<0.01$) fue encontrada al quitar la clorofila (Figura 6.8F), porque esta variable demostró no ser significativamente distinta durante el experimento (Tabla 6.3).

Tabla 6.3: Hipótesis causales testadas para los resultados del experimento de remoción de *Gammarus* con el análisis del camino. Los mejores ajustes representados en la figura 6.8 son indicados en FIG. 6.8

HIPÓTESIS CAUSAL	FIG. 6.8	AIC	Chi ²	GL	Pr>Chi ²
Nula inicial		68.2	12.2	8	0.14
Nula ajustada	A	52.8	16.8	18	0.54
Depredación inicial		55.1	7.1	12	0.85
Depredación ajustada	B	49.6	11.6	17	0.82
Competencia inicial		59.0	15.0	14	0.38
Competencia ajustada	C	52.8	16.8	18	0.54
Depredación+competencia inicial		62.0	6.0	8	0.65
Depredación+competencia ajustada	D	49.6	11.6	17	0.82
Depredación+Egg ratio inicial		85.5	39.5	22	0.01
Depredación+Egg ratio ajustada	E	82.3	40.3	24	0.02
Depredación+Egg ratio inicial (no Chl-a)		62.0	24.0	17	0.12
Depredación+Egg ratio ajustada (no Chl-a)	F	60.2	24.2	18	0.15

DISCUSIÓN

CONTRIBUCIÓN DEL PLANCTON Y BENTOS A LA DIETA DE *GAMMARUS*

La dieta de los *Gammarus* más grandes tuvo un aporte relativamente mayor del plancton respecto al bentos que los *Gammarus* de tallas más pequeñas en el lago profundo, pero a medida que el tamaño y profundidad de las masas de agua disminuye el aporte del plancton es más homogéneo entre las tallas. Cuando las masas de agua son pequeñas y poco profundas el aporte del bentos puede ser mayor que el plancton aun en las tallas más grandes de *Gammarus*. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *G. cf. alpinus* fueron más enriquecidos que el consumidor primario (*D. longispina*) pero menos enriquecido que los carnívoros planctónicos (adultos *C. abyssorum* o *E. vulgaris*) aunque la diferencia entre los *Gammarus* y los carnívoros planctónicos fue de 1 a 1.66‰ $\Delta\delta^{15}\text{N}$, insuficiente para separar un depredador de una presa (Minagawa & Wada, 1984, Vander Zanden & Rasmussen, 2001). Esto sugiere que las dos especies pueden depredar sobre *Daphnia* en el plancton. Otros

estudios han demostrado que *C. abyssorum* puede depredar directamente sobre *Daphnia* (Ventura & Catalan, 2008) o sobre sus huevos (Gliwicz & Lampert, 1994), mientras Wilhelm *et al.* (1999, 2000) demostraron experimentalmente que *Gammarus* (*G. lacustris*) depreda primero sobre *Daphnia* porque los copépodos pueden escapar con más facilidad. También los *Gammarus*, a excepción de las tallas más grandes en el lago profundo, tuvieron valores más enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ que los crustáceos planctónicos (*D. longispina* y los copépodos carnívoros) acercándose a los resultados de los quironómidos y el bentos, esta diferencia con las especies planctónicas puede deberse a la amplia plasticidad de *Gammarus* en las masas de agua. Otros estudios han encontrado que *G. lacustris* puede colonizar con éxito el nicho pelágico como bentónico en lagos grandes y profundos (Wilhelm & Schindler, 1999, Wilhelm *et al.*, 2000, Kelly *et al.*, 2002b, Matafonov, 2007, Zadereev *et al.*, 2010). Weidman *et al.* (2011) determinaron que los *Gammarus* (*G. lacustris*) eran depredadores de quironómidos en la red pelágica de un lago de alta montaña y observaron en pruebas in vitro que pueden consumir biomasa de quironómidos alrededor del 20% de su masa corporal por día, si bien el rol ecológico de quironómidos en la comunidad no ha sido resuelto, la mayor parte de su etapa inmadura es bentónica y solamente el primero de sus cuatro estadios larvarios puede considerarse planctónico (Merritt & Cummins, 1996) y puede encontrarse en la región pelágica por la migración vertical o por deriva (Weidman *et al.*, 2011).

PAPEL DE GAMMARUS EN LA RED TRÓFICA DE LOS LAGOS

En ausencia de *Gammarus* las biomásas de *D. longispina* (juveniles, hembras adultas y machos), los estadios más pequeños de *C. abyssorum* (nauplios, copepoditos CI) y las especies más abundantes de rotíferos (*K. quadrata*, *E. dilatata* y *P. vulgaris*) aumentaron. El efecto de *Gammarus* (*G. lacustris*) sobre las comunidades del zooplancton ha sido observada en otro lago alpino ultraoligotrófico de Alberta, Canadá (Wilhelm & Schindler, 1999), donde encontraron que *G. lacustris* depreda básicamente sobre una *Daphnia* (*D. middendorffiana*). A diferencia de nuestro experimento, Wilhelm & Schindler (1999) utilizaron diferentes densidades de *G. lacustris*, desde una concentración de 20 Ind/m², similar a la que nosotros encontramos en el lago e inoculamos en nuestro experimento (21 Ind/m²), hasta una concentración próxima a la de su lago (200-400 Ind/m²). El experimento de Wilhelm & Schindler (1999) demostró que la intensidad de la depredación de *Gammarus* era directamente proporcional a sus densidades, aunque también propuso que el hábitat del lago profundo puede mitigar la depredación al proporcionar refugio a la presa. Las diferencias de

nauplios y copepoditos CI de *C. abyssorum* entre el tratamiento y el control podrían deberse al canibalismo de los grupos más grandes de *C. abyssorum* (Vandenbosch & Santer, 1993) pero en nuestro caso esto no sería relevante porque la biomasa de los *C. abyssorum* más grandes no fue significativamente diferente entre el tratamiento y el control. La biomasa de *K. longispina* no se vio afectada por la presencia de *Gammarus*, es probable que sus características morfológicas particulares como las largas espinas eviten con más eficacia su depredación. Tanto los nauplios como *K. quadrata* y *E. dilatata* son herbívoros (Bogdan & Gilbert, 1982, Gulati *et al.*, 1993, Ventura & Catalan, 2008) y son habitualmente desplazados por competencia en presencia de *Daphnia* (Gilbert, 1988), pero no encontramos relaciones entre los cladóceros y los rotíferos, ya que, al no haber diferencias entre los nutrientes las variaciones en las biomásas parecen estar más ligadas a la depredación o competencia entre otros grupos.

El tamaño promedio de la población de *D. longispina* fue significativamente más grande en ausencia de *Gammarus* pero el cociente de huevos por hembra adultas fue significativamente mayor donde si hubo *Gammarus*. Estos dos resultados podrían parecer contradictorios, ya que, habitualmente existe una buena correlación entre el tamaño de las hembras y el número de huevos por puesta (Gliwicz, 1994). Por un lado la diferencia del tamaño poblacional de *D. longispina* entre el tratamiento y el control fue solo de 114 μm , muy baja comparada con la variación estacional (342 μm) de este parámetro y sugiere que esta diferencia estadística es biológicamente irrelevante. Tampoco encontramos diferencias entre el tratamiento y el control para la concentración de nutrientes y Chl-*a*, esto sugiere que las diferencias en el cociente de huevos por hembra no se deben a cambios en la fecundidad a causa de diferencias en la disponibilidad de recursos. En este sentido es probable que la variación del cociente cambie debido a otros factores ajenos a la biología de la especie, como la depredación de los huevos por parte de copepoditos de *C. abyssorum* cuando entran a las cámaras ovígeras de las hembras (Gliwicz, 1994, Ventura & Catalan, 2008). También observamos que un número importante de hembras tuvieron menos huevos de los que podrían tener por su tamaño (línea recta en la Figura 6.7H), este patrón se ha descrito como resultado de la depredación de copepoditos (Gliwicz, 1990, Gliwicz & Lampert, 1994). Por lo que la depredación sobre los huevos de *D. longispina* por parte de los copepoditos puede ser un fenómeno muy presente en el lago.

Además de la evidencia experimental de la función depredadora de *Gammarus* en el plancton, la hipótesis de competencia entre los depredadores (*Gammarus* y *C.*

abyssorum) sobre *D. longispina*, nauplios y rotíferos describió un mejor modelo de las interacciones entre las especies que los modelos descritos para las hipótesis de depredación exclusiva de *Gammarus*, la hipótesis de competencia entre los consumidores (*D. longispina*, rotíferos y nauplios) o la hipótesis de competencia tanto entre depredadores como consumidores. Trabajos experimentales en sistemas de agua dulce con especies de *Gammarus* concluyeron que el impacto de la depredación y competencia tiene efectos directos e indirectos que facilitan el efecto de otros depredadores (Dick *et al.*, 1993, Kelly *et al.*, 2002a, 2006). En el modelo de competencia entre depredadores, *C. abyssorum* también tuvo un efecto directo sobre *D. longispina*. La función depredadora de los copépodos Cyclopoida sobre el género *Daphnia* ha sido observada experimentalmente (Gliwicz & Lampert, 1994, Gliwicz & Umana, 1994), particularmente Ventura & Catalan (2008) encontraron que *C. abyssorum* puede tener un nivel trófico superior a *Daphnia* desde estadios tempranos como los copepoditos II. Cuando incluimos la depredación de *C. abyssorum* sobre la proporción de huevos de *D. longispina* en la hipótesis causal observamos un efecto directo negativo de los copépodos pequeños sobre la proporción de huevos, esto puede deberse a la facultad observada en los copepoditos CI a CIII para entrar en las cámara incubadora de *Daphnia* y depredar sus huevos (Gliwicz & Stibor, 1993, Gliwicz & Lampert, 1994, Hanazato & Dodson, 1995). La depredación va más allá del efecto directo de la mortalidad sobre la presa, también puede conducir un encadenamiento de interacciones indirectas que afectan muchas otras especies (Holt, 2009). Por lo tanto la función depredadora (directa) tanto de *Gammarus* como de *C. abyssorum* sobre *D. longispina* sugiere que *Gammarus* no sería el máximo depredador en el plancton sino que puede interactuar indirectamente con los *C. abyssorum* más grandes en un caso de competencia por explotación (Pianka, 2000) en el zooplancton.

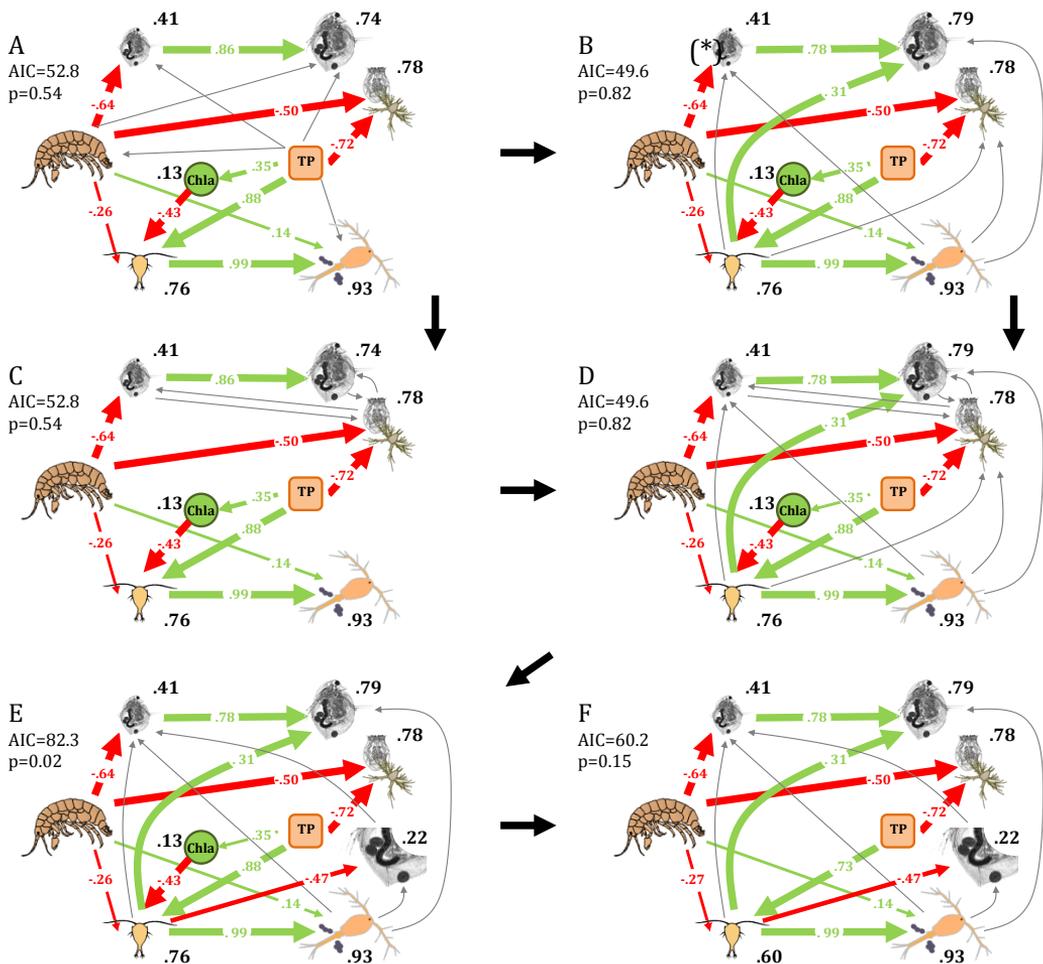


Figura 6.8: Representación de los resultados de los modelos ajustados planteados en análisis del camino para las hipótesis causales de: (A) depredación solo de *Gammarus*, (B) competencia entre los depredadores, (C) depredación de *Gammarus* más competencia entre los consumidores, (D) competencia entre los depredadores más la competencia entre los consumidores, (E) depredación sobre los huevos de *D. longispina* y (F) depredación sobre los huevos de *D. longispina* sin la clorofila. Los valores en cada flecha representan el coeficiente estandarizado. Los valores junto a cada especie representan su varianza explicada. Las flechas verdes respresentan efectos positivos, las rojas efectos negativos. El p-valor de los efectos está representado por el grosos de la flecha, así $p < 0.05$ (\longrightarrow), $p < 0.01$ (\longrightarrow) y $p < 0.001$ (\longrightarrow). Las flechas grises representan efectos no significativos excluidos en el ajuste. Las flechas negras representan el orden lógico de solución de las hipótesis. (*) Hipótesis causal con el mejor modelo ajustado.

DISCUSIÓN GENERAL

7. DISCUSIÓN GENERAL

UNA APROXIMACIÓN A NIVEL DE METACOMUNIDAD

El objetivo principal de esta tesis fue estudiar la importancia de los factores ambientales y las relaciones entre las especies que intervienen en el ensamblaje de las comunidades, utilizando como modelo los crustáceos planctónicos de los lagos y lagunas de alta montaña de los Pirineos. El análisis del ensamblaje de la comunidad proporciona una base conceptual para la comprensión de los procesos que determinan cuáles y cuántas especies viven en una localidad determinada (Chase, 2003). Una idea aceptada es que las especies de una comunidad son una consecuencia de las condiciones ambientales locales y las interacciones competitivas entre las especies (Cavender-Bares *et al.*, 2004), junto con procesos aleatorios como la dispersión (Heino *et al.*, 2014).

En un primer paso analicé diferentes elementos potencialmente importantes en el ensamblaje de las comunidades de acuerdo al marco de una metacomunidad como la heterogeneidad ambiental, los procesos de dispersión o de nicho (Leibold *et al.*, 2004). El ensamblaje de las especies fue el resultado tanto del determinismo ambiental como de los procesos de inmigración-emigración con independencia el uno del otro (**capítulo 5**). Esta dinámica responde a un modelo de metacomunidad donde la clasificación local de las especies es determinada por un gradiente ambiental independientemente de la dispersión, así como, por la migración de las especies desde un sistema-fuente, del que son excluidas al no ser competitivas, o simplemente por un exceso de individuos que emigran, hacia un sistema-captador donde pueden ser competitivas si el filtro ambiental favorece su desarrollo (*Species Sorting plus Mass Effect*, en Cottenie, 2005).

DIFERENCIAS ENTRE LAGOS Y LAGUNAS

La dinámica de la metacomunidad podría tener matices entre lagos y lagunas. Chase (2007) encontró que las lagunas están caracterizadas por un mayor grado de aleatoriedad tanto en las condiciones ambientales como bióticas. Heino *et al.* (2014) determinó que las lagunas temporales tienen un potencial mayor de estar influenciadas por la dispersión y menor de los factores bióticos y abióticos que las lagunas permanentes. Varios estudios encontraron diferencias entre las comunidades de crustáceos presentes en las lagunas permanentes respecto a otras temporales (e.g. Chase, 2007, Sahuquillo & Miracle, 2013) posiblemente por una

alta especificidad de los crustáceos que definen los diferentes tipos de lagunas (Sahuquillo & Miracle, 2013). La importancia relativa de los efectos prioritarios depende del flujo génico (a mayor flujo génico menor oportunidades que opere la adaptación local y por tanto que las especies puedan ocupar todo el espacio disponible del ecosistema) (Kawecki & Ebert, 2004). A su vez el flujo génico depende de la capacidad de dispersión de las especies, pero también de la dureza del filtro ecológico que puede seleccionar unas especies frente a otras. Para ir más allá en este aspecto sería necesario un estudio más detallado de las comunidades de las lagunas considerando su naturaleza temporal o permanente.

En las lagunas el copépodo más común fue el calanoide *D. castaneti*. Los calanoides pueden producir huevos de resistencia para persistir a condiciones ambientales adversas (Hairston & Bohonak, 1998), posiblemente esta estrategia reproductiva les permite persistir en las lagunas al contrario que *C. abyssorum*. Las diferencias ambientales entre lagos y lagunas trascienden en el ensamblaje de las comunidades (**capítulo 3**) y son un elemento clave en el aporte excepcional de las lagunas a la riqueza regional. Por ejemplo las lagunas mostraron una heterogeneidad trófica que describe una continuidad de oligotrófico a eutrófico que no observamos en los lagos. Esto repercutió en un menor requerimiento de fósforo y mayor requerimiento de nitrógeno. A su vez, también pueden tener una importante proporción del litoral con tremedales o suelos con vegetación de zonas húmedas que aportan una elevada concentración de materia orgánica disuelta, con una serie de características asociadas como bajo pH y alta concentración de nutrientes, favoreciendo algunas especies especialmente adaptadas a este tipo de ambiente, como fue el caso de *Daphnia obtusa*.

DETERMINISMO AMBIENTAL Y DISPERSIÓN

También las especies pueden responder de manera distinta a la variabilidad ambiental y espacial. Los copépodos ciclopoideos fueron más afectados por los factores ecológicos y aparentemente son más efectivos para dispersarse que los calanoides (Hairston & Bohonak, 1998, Wetzel, 2001), mientras los branquiópodos y calanoides mostraron tener una capacidad de dispersión menor. Ambos grupos tienen huevos de resistencia pero la reproducción partenogenética cíclica de los branquiópodos facilita que puedan colonizar nuevos ambientes y por consiguiente una mayor tasa de dispersión. Esto juntamente con una alta capacidad adaptativa encontrada en algunos cladóceros como *D. longispina* (Ventura *et al.*, 2014) facilita que puedan monopolizar el ambiente a través del efecto fundador (De Meester *et*

al., 2002). Esta diferencia explicaría la menor capacidad de dispersión de los copépodos calanoides respecto a los branquiópodos. Las diferencias en la capacidad de dispersión entre las especies fue otro factor relevante para el ensamblaje de las comunidades. Las comunidades biológicas son un balance entre los procesos regionales que suman especies a la comunidad a través de procesos de colonización y los procesos locales que pueden promover su extinción (Ricklefs, 1987).

RESULTADO DE APLICAR EL MODELO DE LA TEORÍA DE ISLAS

La aplicación del modelo de Mearns & Wilson (1967) basado en la teoría de islas permitió obtener las tasas de colonización y extinción de las especies con un mínimo de remuestreos (**capítulo 4**). La colonización y la extinción forman parte de la deriva ecológica que conduce las comunidades ensambladas por la dispersión (Chase, 2007). El modelo de colonización y extinción demostró que *D. longispina* y *C. abyssorum* tuvieron una mayor probabilidad de ocurrir en las masas de agua debido a que fueron las únicas especies con tasas de colonización mayores que sus tasas de extinción, esta cualidad les permite persistir localmente (Araújo & Williams, 2000) y resistir invasiones de otras especies desde el pool regional (Shurin, 2000). Pero a la vez *D. longispina* tuvo valores más bajos tanto de la tasa de colonización como de extinción que *C. abyssorum*, debido probablemente a sus diferentes estrategias reproductoras. *D. longispina* tiene una reproducción partenogenética mientras *C. abyssorum*, al igual que el resto de copépodos se reproduce sexualmente (Hairston & Bohonak, 1998). Esta última especie a pesar de su notable plasticidad alimenticia (Vandenbosch & Santer, 1993, Orfeo *et al.*, 2011) parece tener también una menor capacidad de adaptación, por ejemplo, no tienen huevos de resistencia que le permite sobrevivir a la desecación, este hecho explicaría su ausencia de la mayor parte de lagunas (ver **capítulo 5**). A pesar de estas diferencias *C. abyssorum* y *D. longispina* fueron las especies con mayor ocurrencia observada en las masas de agua y coocurrieron principalmente en los lagos de mayor tamaño (ver **capítulo 5**). *C. abyssorum* puede depredar sobre *D. longispina* (ver **capítulo 6** y Ventura & Catalan, 2008) hecho que podría sugerir una cierta interacción positiva entre las dos especies.

LA RELEVANCIA DE LAS INTERACCIONES ENTRE LAS ESPECIES

Una proporción grande de la variabilidad de los ensamblajes fue ajena al componente determinista del ambiente y al componente estocástico de la

dispersión. Cavender-Bares *et al.* (2004) subraya que las interacciones competitivas son claves en el ensamblaje de las comunidades porque pueden limitar la coexistencia a largo plazo. Por esto en un segundo paso analicé el grupo de las interacciones locales entre las especies que el marco de la metacomunidad no contempla (**capítulo 5**). Cuando excluí la variabilidad del ambiente de las coocurrencias de las especies observé que las especies con una semejanza filogenética más alta coocurrieron menos de lo esperado por azar describiendo un patrón de repulsión filogenética (Webb *et al.*, 2002, Cavender-Bares & Wilczek, 2003). Este patrón es típicamente interpretado como una evidencia de la competencia entre especie ecológicamente semejantes (Slingsby & Verboom, 2006, Helmus *et al.*, 2007b) donde eventualmente una excluirá a la otra de acuerdo al principio de exclusión competitiva (Chave, 2011). Además de las interacciones directas (exclusión competitiva), también encontré que las interacciones indirectas (competencia por explotación) (Pianka, 2000), entre las especies (e.g. *C. abyssorum*/*E. vulgaris*) pueden llegar a ser tan relevantes como las interacciones directas en el ensamblaje de las comunidades.

La depredación es una de las interacciones directas más importante en el ensamblaje de las comunidades junto con la competencia (Pianka, 2000). La depredación entre los crustáceos esta bien documentada (Gliwicz, 1994, Wilhelm & Schindler, 1999, Ventura & Catalan, 2008). El papel relevante de la depredación no pudo ser demostrado a partir de la aproximación basada en presencia-ausencias del capítulo 5. Para ello sería necesario utilizar datos de abundancia de distintas especies en una aproximación paralela a la utilizada en el capítulo 5 para determinar la relevancia de la depredación también a escala de la metacomunidad. En mi caso utilicé una aproximación experimental para poder cuantificar el impacto de las interacciones directas de depredación y competencia o posibles interacciones indirectas en la red trófica del zooplancton en un lago en particular (**capítulo 6**).

Un primer paso fue determinar que *Gammarus cf. alpinus* tuvo una gran plasticidad para ocupar tanto el plancton como el bentos en las masas de agua y puede depredar tanto organismos del plancton como del bentos. Otros estudios han encontrado resultados similares en otras especies de *Gammarus* (*G. lacustris*) en lagos grandes y profundos (Wilhelm & Schindler, 1999, Wilhelm *et al.*, 2000, Matafonov, 2007, Zadereev *et al.*, 2010). Pero la importancia relativa de cada hábitat dependió tanto de la talla del *Gammarus* como del tamaño de la masa de agua. Cuando existe una amplia zona pelágica la depredación de organismos del

plancton fue más importante. En masas de agua pequeñas y poco profundas el aporte del bentos fue mayor que en el plancton aun en las tallas más grandes de *Gammarus*. Particularmente los resultados isotópicos mostraron que *Gammarus* y el copépodo adulto comparten el nivel trófico y ambos pueden depredar sobre otros crustáceos del plancton. La importancia relativa de la depredación en la comunidad del zooplancton puede aparecer de diferentes maneras en diferentes lagos en relación a las distintas características ambientales (bióticas y abióticas) (De Bernardi *et al.*, 1987). El estudio de la red trófica en un gradiente ambiental mostró como la depredación junto con la competencia pueden promover una gran plasticidad en las especies tanto para ocupar distintos hábitats como para acceder a distintas presas.

Gammarus también puede modificar la comunidad del zooplancton porque el efecto de la depredación va más allá de la relación depredador-presa. Las interacciones directas e indirectas testadas en varias hipótesis causales en la red trófica mostraron que la competencia entre depredadores es más importante que la competencia entre consumidores o la competencia entre depredadores y consumidores. Trabajos experimentales en sistemas de agua dulce con especies de *Gammarus* concluyeron que el impacto tanto de la depredación como la competencia tiene efectos directos e indirectos que facilitan el efecto de otros depredadores (Dick *et al.*, 1993, Kelly *et al.*, 2002a, 2006). *Gammarus* puede interactuar indirectamente con estadios adultos de *Copepoda* que depredan también sobre *Cladocera* (Gliwicz, 1994), *Rotifera* (Wilhelm & Schindler, 2000) y nauplios (canibalismo) (Vandenbosch & Santer, 1993). La depredación de una especie puede dar lugar a cadenas de interacciones indirectas que afectan muchas otras especies, consecuentemente puede tener una influencia profunda en la organización de la comunidad (Holt, 2009). *Gammarus* no fue el máximo depredador, sino que interactuó indirectamente con *C. abyssorum* adultos en un ejemplo de competencia por explotación (Pianka 2000) al compartir una misma presa (*D. longispina*).

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

EL TAMAÑO DEL ECOSISTEMA DETERMINA UN GRADIENTE EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA

El tamaño del ecosistema determinó un gradiente de disponibilidad de fósforo respecto al nitrógeno en lagos y lagunas de alta montaña de los Pirineos, junto con la proporción de vegetación en la orilla y la temperatura.

Los lagos mostraron bajas concentraciones de fósforo total (TP) y nitrógeno total (TN), una característica de sistemas ultra-oligotróficos, mientras que las lagunas tenían un rango de concentración más amplio de TP y TN presentando un gradiente de continuidad trófica de oligotrófico a eutrófico.

En los sistemas pequeños el N de fuentes orgánicas fue más abundante, mientras que en los lagos predominaba el N de fuentes inorgánicas.

Las masas de agua con mayor probabilidad de estar limitadas por P tenían concentraciones significativamente menores de Chl-a que las limitadas por N según los cocientes TN/TP y DIN/TP.

La biomasa de clorófitas y criptófitas fue significativamente menor en los sistemas limitados por P que en los limitados por N.

UN MODELO DE COLONIZACIÓN-EXTINCIÓN PREDICE LA OCURRENCIA DE LOS CRUSTÁCEOS PLANCTÓNICOS DE LAGOS Y LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA DE LOS PIRINEOS

Solamente *Cyclops abyssorum* y *Daphnia longispina* tuvieron tasas de colonización mayores que las tasas de extinción y una probabilidad de ocurrencia mayor, mientras que *Diaptomus cyaneus*, *Daphnia pulicaria*, *Mixodiaptomus laciniatus*, *Holopedium gibberum*, *Diaptomus castaneti*, *Daphnia obtusa*, *Scapholeberis mucronata* y *Acantocyclops vernalis* tuvieron tasas de colonización menores que las tasas de extinción y una probabilidad de ocurrencia menor.

Las persistencias local y regional fueron altas a corto plazo y disminuyeron con el tiempo mostrando un cambio de especies a largo plazo.

Las lagunas aportaron especies significativamente a la riqueza regional de crustáceos porque las especies poco competitivas en los lagos tienen más oportunidades de persistir en las lagunas.

RELEVANCIA DEL FILTRO AMBIENTAL Y LA EXCLUSIÓN COMPETITIVA EN EL ENSAMBLAJE DE LAS COMUNIDADES DE CRUSTACEOS PLANCTÓNICOS

El filtro ambiental fue caracterizado principalmente por el tamaño de las masas de agua, el pH y la altitud.

El análisis a escala de la metacomunidad mostró que la heterogeneidad ambiental y la dinámica espacial actúan de manera independiente en el ensamblaje de las especies porque los requerimientos ecológicos y las estrategias de dispersión fueron distintos entre los taxones.

La importancia relativa del ambiente independiente del espacio fue más alta en Cyclopoida (14%), disminuyó con Branchiopoda (7%) y fue más baja en Calanoida (3%), mientras que la dispersión, explicada por la distribución en el espacio, mostró un patrón opuesto (12, 15 y 24%, respectivamente).

La mayor proporción de la varianza explicada por el ambiente puede interpretarse como una mayor dependencia de las condiciones ambientales y una mayor efectividad de dispersión, mientras una mayor proporción de varianza explicada por el espacio puede deberse a una mayor estructura espacial debido a una limitación de la dispersión.

Determinamos que las especies cercanas filogenéticamente coocurrieron con menor frecuencia de lo esperado por azar debido a la exclusión competitiva.

Encontramos que las interacciones indirectas (e.g. competencia por explotación) pueden ser tan importantes como las interacciones directas en el ensamblaje de las comunidades.

Observamos que *Daphnia longispina* y *Cyclops abyssorum* fueron las especies con ocurrencias más altas en los lagos, mientras que *Daphnia obtusa* y *Diaptomus castaneti* tendrían una mejor aptitud para ocupar las lagunas.

DEPREDACIÓN, COMPETENCIA Y USO DEL HÁBITAT DE *GAMMARUS* CF. *ALPINUS* EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA

Gammarus tiene un nicho bento-planctónico y la plasticidad para ocupar la zona pelágica o profunda de las masas de agua y puede adaptar su dieta al espacio relativo del plancton y del bentos en cada masa de agua.

La estimación de la dieta de *Gammarus* mostró que la talla de los individuos y el tamaño de la masa de agua influyen en el tipo de presa. En un lago los *Gammarus* más grandes depredan en el plancton, mientras que los más pequeños pueden consumir organismos del bentos. En una laguna donde la zona limnética es relativamente menor el aporte del bentos en la dieta de *Gammarus* es potenciado.

La hipótesis de competencia entre depredadores (*Gammarus* y *Cyclops*) por los consumidores (*Daphnia*, rotíferos y nauplios) describió mejor las interacciones entre las especies que las hipótesis que testaban la competencia entre los consumidores de manera independiente o conjunta con la competencia entre depredadores.

Gammarus puede depredar sobre los individuos más pequeños antes que los individuos más grandes de *Daphnia* y *Cyclops* y puede competir con los adultos de *Cyclops* en el plancton, en un ejemplo de competencia por explotación.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aldana, A.M., Carlucci, M.B., Fine, P.V. & Stevenson, P.R. (2016) Environmental filtering of eudicot lineages underlies phylogenetic clustering in tropical South American flooded forests. *Oecologia*, **182**(2), 327-335.
- Alonso, D., Pinyol-Gallemí, A., Alcoverro, T. & Arthur, R. (2015) Fish community reassembly after a coral mass mortality: higher trophic groups are subject to increased rates of extinction. *Ecology Letters*, **18**, 451-461.
- Alonso, M. (1996) *Crustacea: Brachiopoda*. En *Fauna Iberica*, Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid.
- Alther, R., Fišer, C. & Altermatt, F. (2016) Description of a widely distributed but overlooked amphipod species in the European Alps. *Zoological Journal of the Linnean Society*.
- Amarasekare, P. (2011) Competition and Coexistence in Animal Communities. The Princeton Guide to Ecology, Part II.6. Levin S. A., Ed.
- Anholt, B.R. (1990) An experimental separation of interference and exploitative competition in larval damselfly. *Ecology*, **71**, 1483-1493.
- Araújo, M.B. & Williams, P.H. (2000) Selecting areas for species persistence using occurrence data. *Biological Conservation*, **96**, 331-345.
- Balcells, E. (1975) Observaciones en el ciclo biológico de anfibios de alta montaña y su interés en la detección del inicio de la estación vegetativa. . *Publicaciones del Centro Pirenaico de Biología Experimental*, **7**, 55-153.
- Barnett, A. & Beisner, B.E. (2007) Zooplankton biodiversity and lake trophic state: Explanations invoking resource abundance and distribution. *Ecology*, **88**, 1675-1686.
- Bartrons, M., Camarero, L. & Catalan, J. (2010) Isotopic composition of dissolved inorganic nitrogen in high mountain lakes: variation with altitude in the Pyrenees. *Biogeosciences*, **7**, 1469-1479.
- Bartumeus, F., Ventura, M. & Catalan, J. (2009) Factors shaping diversity patterns in pelagic rotifer assemblages of high mountain lakes (Pyrenees). *Adv. Limnol*, **62**, 93-115.
- Bascompte, J. (2010) Structure and Dynamics of Ecological Networks. *Science*, **329**, 765-766.
- Beisner, B.E., Peres-Neto, P.R., Lindstrom, E.S., Barnett, A. & Longhi, M.L. (2006) The role of environmental and spatial process in structuring lake communities from bacteria to fish. *Ecology*, **87**, 2985-2991.
- Berezina, N. (2007) Food spectra and consumption rates of four amphipod species from the North-West of Russia. *Fundamental and Applied Limnology*, **168**, 317-326.
- Bergström, A.-K. (2010) The use of TN:TP and DIN:TP ratios as indicators for phytoplankton nutrient limitation in oligotrophic lakes affected by N deposition. *Aquatic Sciences*, **72**, 277-281.

- Bergström, A.-K., Blomqvist, P. & Jansson, M. (2005) Effects of Atmospheric Nitrogen Deposition on Nutrient Limitation and Phytoplankton Biomass in Unproductive Swedish Lakes. *Limnology and Oceanography*, **50**, 987-994.
- Bergström, A.-K., Faithfull, C., Karlsson, D. & Karlsson, J. (2013) Nitrogen deposition and warming - effects on phytoplankton nutrient limitation in subarctic lakes. *Global Change Biology*, **19**, 2557-2568.
- Bergström, A.-K. & Jansson, M. (2006) Atmospheric nitrogen deposition has caused nitrogen enrichment and eutrophication of lakes in the northern hemisphere. *Global Change Biology*, **12**, 635-643.
- Berman, T. & Bronk, D.A. (2003) Dissolved organic nitrogen: a dynamic participant in aquatic ecosystems *Aquatic Microbial Ecology*, **31**, 279-305.
- Bertuzzo, E., Suweis, S., Mari, L., Maritan, A., Rodríguez-Iturbe, I. & Rinaldo, A. (2011) Spatial effects on species persistence and implications for biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 4346-4351.
- Blanchet, F.G., Legendre, P. & Borcard, D. (2008a) Forward Selection of Explanatory Variables. *Ecology*, **89**, 2623-2632.
- Blanchet, F.G., Legendre, P. & Borcard, D. (2008b) Modelling directional spatial processes in ecological data. *Ecological Modelling*, **215**, 325-336.
- Boersma, M. (1995) Competition in natural populations of *Daphnia*. *Oecologia*, **103**, 309-318.
- Bogdan, K.G. & Gilbert, J.J. (1982) Seasonal patterns of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthra*, and *Bosmina*: Clearance rates, selectivities, and contributions to community grazing. *Limnology and Oceanography*, **27**, 918-934.
- Bohonak, A.J. & Jenkins, D.J. (2003) Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters*, **6**, 783-796.
- Borcard, D., Gillet, F. & Legendre, P. (2011) Numerical ecology with R. *New York: Springer*.
- Borcard, D., Legendre, P. & Drapeau, P. (1992) Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology*, **73**, 1045-1055.
- Borrego, C.M., Arellano, J.B., Abella, C.A., Gillbro, T. & Garcia-Gil, J. (1999) The molar extinction coefficient of bacteriochlorophyll e and the pigment stoichiometry in *Chlorobium phaeobacteroides*. *Photosynthesis Research*, **60**, 257-264.
- Bos, D.G. & Pellatt, M.G. (2012) The Water Chemistry of Shallow Ponds around Wapusk National Park of Canada, Hudson Bay Lowlands. *Canadian Water Resources Journal*, **37**, 163-175.
- Brahney, J., Mahowald, N., Ward, D.S., Ballantyne, A.P. & Neff, J.C. (2015) Is atmospheric phosphorus pollution altering global alpine Lake stoichiometry? *Global biogeochemical cycles*, **29**, 1369-1383.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 119-125.

- Buchaca, T. (2009) Pigments indicadors : estudi del senyal en estanys dels Pirineus i de la seva aplicació en paleolimnologia *Barcelona Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències Biològiques, 2009.*
- Buchaca, T. & Catalan, J. (2007) Factors influencing the variability of pigments in the surface sediments of mountain lakes. *Freshwater Biology*, **52**, 1365-1379.
- Buchaca, T., Felip, M. & Catalan, J. (2005) A comparison of HPLC pigment analyses and biovolume estimates of phytoplankton groups in an oligotrophic lake. *Journal of Plankton Research*, **27**, 91-101.
- Callaway, R.M. & Walker, L.R. (1997) Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology*, **78**, 1958-1965.
- Camarero, L. & Catalan, J. (2012) Atmospheric phosphorus deposition may cause lakes to revert from phosphorus limitation back to nitrogen limitation. *Nature Communications*, **3**, 1118.
- Camarero, L., Felip, M., Ventura, M., Bartumeus, F. & Catalan, J. (1999) The relative importance of the planktonic food web in the carbon cycle of an oligotrophic mountain lake in a poorly vegetated catchment (Redó, Pyrenees). *Journal of Limnology*, **58**, 203-212.
- Camarero, L., Rogora, M., Mosello, R., Anderson, N.J., Barbieri, A., Botev, I., Kernan, M., Kopacek, J., Korhola, A., Lotter, A.F., Muri, G., Postolache, C., Stuchlik, E., Thies, H. & Wright, R.F. (2009) Regionalisation of chemical variability in European mountain lakes. *Freshwater Biology*, **54**, 2452-2469.
- Casals-Carrasco, P., Ventura, M., Gond, V., Madhavan, B., Pretus, J. & Catalan, J. (2009) A spectral approach to satellite land cover classification of European remote mountain lake districts. *Advances in Limnology*, **62**, 353-365.
- Catalan, J., Ballesteros, E., Gacia, E., Palau, A. & Camarero, L. (1993) Chemical composition of disturbed and undisturbed high-mountain lakes in the Pyrenees: a reference for acidified sites. *Water Research*, **1**, 133-141.
- Catalan, J., Barbieri, M.G., Bartumeus, F., Bitusik, P., Botev, I., Brancelj, A., Cogalniceanu, D., Garcia, J., Manca, M., Marchetto, A., Ognjanova-Rumenova, N., Pla, S., Rieradevall, M., Sorvari, S., Stefkova, E., Stuchlik, E. & Ventura, M. (2009a) Ecological thresholds in European alpine lakes. *Freshwater Biology*, **54**, 2494-2517.
- Catalan, J., Camarero, L., Felip, M., Pla, S., Ventura, M., Buchaca, T., Bartumeus, F., De Mendoza, G., Miró, A., Casamayor, E.O., Medina-Sánchez, J.M., Bacardit, M., Altuna, M., Bartrons, M. & Díaz De Quijano, D. (2006) High mountain lakes: extreme habitats and witnesses of environmental changes. *Limnetica*, **25**, 551-584.
- Catalan, J., Curtis, C.J. & Kernan, M. (2009b) Remote European mountain lake ecosystems: regionalisation and ecological status. *Freshwater Biology*, **54**, 2419-2432.

- Catalan, J., Ventura, M., Vives, I. & Grimalt, J.O. (2004) The roles of food and water in the bioaccumulation of organochlorine compounds in high mountain lake fish. *Environmental Science & Technology*, **38**, 4269-4275.
- Catalan, J., Vilalta, R., Weitzman, B., Ventura, M., Comas, E., Pigem, C., Aranda, R., Ballesteros, E., Camarero, L., García Serrano, J., Pla, S., Sáez, A. & Aiguabella, P. (1997) *L'obra hidràulica en els Pirineus: Avaluació, correcció i prevenció de l'impacte mediambiental. El Parc Nacional d'Aigüestortes i estany de Sant Maurici*, La Caixa, Barcelona.
- Cavalheri, H., Both, C. & Martins, M. (2015) The Interplay between Environmental Filtering and Spatial Processes in Structuring Communities: The Case of Neotropical Snake Communities. *Plos One*, **10**, e0127959.
- Cavender-Bares, J., Kozak, K.H., Fine, P.V.A. & Kembel, S.W. (2009) The merging of community ecology and phylogenetic biology. *Ecology Letters*, **12**, 693-715.
- Cavender-Bares, J. & Wilczek, A. (2003) Integrating micro-and macroevolutionary processes in community ecology. *Ecology*, **84**, 592-597.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D., Baum, D. & Bazzaz, F. (2004) Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *The American Naturalist*, **163**, 823-843.
- Clarke, K.R. & Warwick, R.M. (1999) The taxonomic distinctness measure of biodiversity: weighting of step lengths between hierarchical levels. *Marine Ecology-Progress Series*, **184**, 21-29.
- Cohen, G.M. & Shurin, J.B. (2003) Scale-dependence and mechanisms of dispersal in freshwater zooplankton. *Oikos*, **103**, 603-617.
- Colwell, R. (2013) EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9 and earlier. User's Guide and application. viceroy.eeb.uconn.edu/estimates/index.html.
- Colwell, R.K., Mao, C.X. & Chang, J. (2004) Interpolating, Extrapolating, and Comparing Incidence-Based Species Accumulation Curves. *Ecology*, **85**, 2717-2727.
- Corp. Released Ibm (2010) IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Cottenie, K. (2005) Integrating environmental and spatial processes in ecological community dynamics. *Ecology Letters*, **8**, 1175-1182.
- Cottenie, K. & De Meester, L. (2003) Connectivity and cladoceran species richness in a metacommunity of shallow lakes. *Freshwater Biology*, **48**, 823-832.
- Cottenie, K. & De Meester, L. (2004) Metacommunity Structure: Synergy of Biotic Interactions as Selective Agents and Dispersal as Fuel. *Ecology*, **85**, 114-119.
- Cottenie, K., Michels, E., Nuytten, N. & De Meester, L. (2003) Zooplankton metacommunity structure: regional vs. local processes in highly interconnected ponds. *Ecology*, **84**, 991-1000.

- Crump, M.L. & Scott Jr, N.J. (1994) Visual encounter surveys. Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians. . *Smithsonian Institution Press, Washington, DC*.
- Csardi, G. & Nepusz, T. (2006) The igraph software package for complex network research. *InterJournal, Complex Systems*, **1695**, 1-9.
- Culver, D.C., Fong, D.W. & Jernigan, R.W. (1991) Species interactions in cave stream communities: experimental results and microdistribution effects. *American Midland Naturalist*, 364-379.
- Chase, J.M. (2003) Community assembly: when should history matter? *Oecologia*, **136**, 489-498.
- Chase, J.M. (2007) Drought mediates the importance of stochastic community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, 17430-17434.
- Chase, J.M. & Leibold, M.A. (2002) Spatial scale dictates the productivity-biodiversity relationship. *Nature*, **416**, 427-430.
- Chave, J. (2011) Competition, Neutrality and Community Organization. The Princeton Guide to Ecology, Part III.2. Levin S. A., Ed.
- Dahms, H.-U. (1995) Dormancy in the Copepoda — an overview. *Hydrobiologia*, **306**, 199-211.
- Dale, M.R.T., Dixon, P., Fortin, M.-J., Legendre, P., Myers, D.E. & Rosenberg, S. (2002) Conceptual and mathematical relationships among methods for spatial analysis. *Ecography*, **25**, 558-577.
- Dallas, T. & Drake, J.M. (2014) Relative importance of environmental, geographic, and spatial variables on zooplankton metacommunities. *Ecosphere*, **5**, art104.
- Davies, B.H. (1976) Carotenoids. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments (2nd Edition)*. Academic Press, London, **II**, 38-165.
- De'ath, G. (2002) Multivariate Regression Trees: A New Technique for Modeling Species-Environment Relationships. *Ecology*, **83**, 1105-1117.
- De'ath, G. & Fabricius, K.E. (2000) Classification and Regression Trees: A Powerful Yet Simple Technique for Ecological Data Analysis. *Ecology*, **81**, 3178-3192.
- De Bernardi, R., Giussani, G. & Manca, M. (1987) Cladocera: predators and prey. In: *Hydrobiologia*. (Ed^Eds, pp. 225-243. Springer.
- De Meester, L., Declerck, S., Stoks, R., Louette, G., Van De Meutter, F., De Bie, T., Michels, E. & Brendonck, L. (2005) Ponds and pools as model systems in conservation biology, ecology and evolutionary biology. *Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems*, **15**, 715-725.
- De Meester, L., Gómez, A., Okamura, B. & Schwenk, K. (2002) The Monopolization Hypothesis and the dispersal-gene flow paradox in aquatic organisms. *Acta Oecologica*, **23**, 121-135.
- Declerck, S.a.J., Coronel, J.S., Legendre, P. & Brendonck, L. (2011) Scale dependency of processes structuring metacommunities of cladocerans in temporary pools of High-Andes wetlands. *Ecography*, **34**, 296-305.

- Demott, W.R. & Kerfoot, W.C. (1982) Competition among Cladocerans - nature of the interaction between *Bosmina* and *Daphnia*. *Ecology*, **63**, 1949-1966.
- Diamond, J.M. (1975) The island dilemma: Lessons of modern biogeographic studies for the design of natural reserves. *Biological Conservation*, **7**, 129-146.
- Dick, J. (1992) The nature and implications of differential predation between *Gammarus pulex* and *G. duebeni celticus* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Zoology*, **227**, 171-183.
- Dick, J.T., Montgomery, I. & Elwood, R.W. (1993) Replacement of the indigenous amphipod *Gammarus duebeni celticus* by the introduced *G. pulex*: differential cannibalism and mutual predation. *Journal of Animal Ecology*, **79**, 79-88.
- Downing, J.A. (2009) Global limnology: up-scaling aquatic services and processes to planet Earth. In: *International Association of Theoretical and Applied Limnology, Vol 30, Pt 8, Proceedings: Now: International Society of Limnology*. (Ed[^]Eds J. Jones), pp. 1149-1166. International Association of Theoretical and Applied Limnology - Proceedings. E Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Downing, J.A. (2010) Emerging global role of small lakes and ponds: little things mean a lot. *Limnetica*, **29**, 9-23.
- Downing, J.A. & Mccauley, E. (1992) The Nitrogen: Phosphorus Relationship in Lakes. *Limnology and Oceanography*, **37**, 936-945.
- Downing, J.A., Prairie, Y.T., Cole, J.J., Duarte, C.M., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., Mcdowell, W.H., Kortelainen, P., Caraco, N.F., Melack, J.M. & Middelburg, J.J. (2006) The Global Abundance and Size Distribution of Lakes, Ponds, and Impoundments. *Limnology and Oceanography*, **51**, 2388-2397.
- Downing, J.A. & Rigler, F. (1984) *A manual on methods for the assesment of secondary productivity in freshwaters*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Drakare, S., Blomqvist, P., Bergström, A.-K. & Jansson, M. (2002) Primary production and phytoplankton composition in relation to DOC input and bacterioplankton production in humic Lake Örträsket. *Freshwater Biology*, **47**, 41-52.
- Dray, S. (2010) Spacemaker: Spatial modelling. R package version 0.0-5/r101.
- Dray, S., Legendre, P. & Blanchet, F. (2011) Packfor: forward selection with permutation, R package version 0.0-8.
- Dray, S., Legendre, P. & Peres-Neto, P.R. (2006) Spatial modelling: a comprehensive framework for principal coordinate analysis of neighbour matrices (PCNM). *Ecological Modelling*, **196**, 483-493.
- Dray, S., Pélissier, R., Couteron, P., Fortin, M.-J., Legendre, P., Peres-Neto, P., Bellier, E., Bivand, R., Blanchet, F.G. & De Cáceres, M. (2012) Community ecology in the age of multivariate multiscale spatial analysis. *Ecological Monographs*, **82**, 257-275.

- Duarte, L.D.S., Prieto, P.V. & Pillar, V.D. (2012) Assessing spatial and environmental drivers of phylogenetic structure in Brazilian Araucaria forests. *Ecography*, **35**, 952-960.
- Dufrene, M. & Legendre, P. (1997) Species assemblages and indicator species: The need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs*, **67**, 345-366.
- Durand, P., Breuer, L., Johnes, P.J., Billen, G., Butturini, A., Pinay, G., Van Grinsven, H., Garnier, J., Rivett, M. & Reay, D.S. (2011) Nitrogen processes in aquatic ecosystems. *The European Nitrogen Assessment*, ed. Mark A. Sutton, Clare M. Howard, Jan Willem Erisman, Gilles Billen, Albert Bleeker, Peringe Grennfelt, Hans van Grinsven and Bruna Grizzetti. Published by Cambridge University Press. Cambridge University Press 2011, with sections authors/European Union.
- Edmondson, W.T. & Litt, A.H. (1982) *Daphnia* in Lake Washington. *Limnology and Oceanography*, **27**, 272-293.
- Elser, J.J., Andersen, T., Baron, J.S., Bergstrom, A.K., Jansson, M., Kyle, M., Nydick, K.R., Steger, L. & Hessen, D.O. (2009) Shifts in Lake N:P Stoichiometry and Nutrient Limitation Driven by Atmospheric Nitrogen Deposition. *Science*, **326**, 835-837.
- Elton, C.S. (1927) *Animal ecology*, University of Chicago Press.
- Esri (2011) ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.
- Felip, M., Bartumeus, F., Halac, S. & Catalan, J. (1999) Microbial plankton assemblages, composition and biomass, during two ice-free periods in a deep high mountain lake (Estany Redó, Pyrenees). *Journal of Limnology*, **58**, 193-202.
- Fernandes, R., Millard, A.R., Brabec, M., Nadeau, M.-J. & Grootes, P. (2014) Food Reconstruction Using Isotopic Transferred Signals (FRUITS): A Bayesian Model for Diet Reconstruction. *Plos One*, **9**, e87436.
- Fox, J., Nie, Z., Byrnes, J., Culbertson, M., Debroy, S., Friendly, M., Goodrich, B., Jones, R.H., Kramer, A., Monette, G. & R-Core (2016) SEM: Structural Equation Models. R package version 3.1-7.
- Frisch, D., Cottenie, K., Badosa, A., Green, A. & Siepielski, A. (2012) Strong Spatial Influence on Colonization Rates in a Pioneer Zooplankton Metacommunity. *Plos One*, **7**, e40205.
- Gacia, E., Ballesteros, E., Camarero, L., Delgado, O., Palau, A., Riera, J.L. & Catalan, J. (1994) Macrophytes from lakes in the eastern Pyrenees: community composition and ordination in relation to environmental factors. *Fresh.Biol.*, **32**, 73-81.
- Gascón, S., Arranz, I., Cañedo-Argüelles, M., Nebra, A., Ruhí, A., Rieradevall, M., Caiola, N., Sala, J., Ibáñez, C. & Quintana, X.D. (2016) Environmental filtering determines metacommunity structure in wetland microcrustaceans. *Oecologia*, **181**, 193-205.

- Gilbert, J.J. (1988) Suppression of rotifer populations by *Daphnia*: review of the evidence, the mechanisms, and the effects on zooplankton community structure. *Limnology and Oceanography*, **33**, 1286-1303.
- Gliwicz, Z.M. (1990) Food thresholds and body size in cladocerans. *Nature*, **343**, 638-640.
- Gliwicz, Z.M. (1994) Retarded growth of cladoceran zooplankton in the presence of a copepod predator. *Oecologia*, **97**, 458-461.
- Gliwicz, Z.M. (2002) On the different nature of top-down and bottom-up effects in pelagic food webs. *Freshwater Biology*, **47**, 2296-2312.
- Gliwicz, Z.M. & Lampert, W. (1994) Clutch-size variability in *Daphnia*: Body-size related effects of egg predation by cyclopoid copepods. *Limnology and Oceanography*, **39**, 479-485.
- Gliwicz, Z.M. & Pijanowska, J. (1989) The role of predation in zooplankton succession. U. Sommer), pp. 253-296. Springer-Verlag.
- Gliwicz, Z.M., Slusarczyk, A. & Slusarczyk, M. (2001) Life history synchronization in a long-lifespan single-cohort *Daphnia* population in a fishless alpine lake. *Oecologia*, **128**, 368-378.
- Gliwicz, Z.M. & Stibor, H. (1993) Egg predation by copepods in *Daphnia* brood cavities. *Oecologia*, **95**, 295-298.
- Gliwicz, Z.M. & Umana, G. (1994) Cladoceran body size and vulnerability to copepod predation. *Limnology and Oceanography*, **39**, 419-424.
- Griffith, D., Veech, J. & Marsh, C. (2014) Probabilistic Species Co-occurrence Analysis in R. Version.
- Grinnell, J. (1917) Field tests of theories concerning distributional control. *American Naturalist*, **51**, 115-128.
- Grönroos, M., Heino, J., Siqueira, T., Landeiro, V.L., Kotanen, J. & Bini, L.M. (2013) Metacommunity structuring in stream networks: roles of dispersal mode, distance type, and regional environmental context. *Ecology and Evolution*, **3**, 4473-4487.
- Grossman, G.D. (1982) Dynamics and Organization of a Rocky Intertidal Fish Assemblage: The Persistence and Resilience of Taxocene Structure. *The American Naturalist*, **119**, 611-637.
- Guisande, C., Bartumeus, F., Ventura, M. & Catalan, J. (2003) Role of food partitioning in structuring the zooplankton community in mountain lakes. *Oecologia*, **136**, 627-634.
- Gulati, R.D., Ejsmontkarabin, J. & Postema, G. (1993) Feeding in *Euchlanis dilatata lucksiana* Hauer on filamentous cyanobacteria and a prochlorophyte. *Hydrobiologia*, **255**, 269-274.
- Hairston, N.G. & Bohonak, A.J. (1998) Copepod reproductive strategies: life-history theory, phylogenetic pattern and invasion of inland waters. *Journal of Marine Systems*, **15**, 23-34.
- Hairston, N.G. & Munns, W.R. (1984) The timing of copepod diapause as an evolutionarily stable strategy. *American Naturalist*, **123**, 733-751.

- Hairston, N.G., Smith, F.E. & Slobodkin, L.B. (1960) Community structure, population control, and competition. *The American Naturalist*, **94**, 421-425.
- Hairston, N.G. & Walton, W.E. (1986) Rapid evolution of a life-history trait. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **83**, 4831-4833.
- Hanazato, T. & Dodson, S.I. (1995) Morphological defenses of *Daphnia* against Copepod predation on eggs. *Archiv fur Hydrobiologie*, **133**, 49-59.
- Hanski, I. (1999) Habitat connectivity, habitat continuity, and metapopulations in dynamic landscapes. *Oikos*, 209-219.
- Hardin, G. (1960) The Competitive Exclusion Principle. *Science*, **131**, 1292-1297.
- Havel, J.E. & Shurin, J.B. (2004) Mechanisms, effects, and scales of dispersal in freshwater zooplankton. *Limnology and Oceanography*, **49**, 1229-1238.
- Havel, J.E., Shurin, J.B. & Jones, J.R. (2002) Estimating dispersal from patterns of spread: spatial and local control of lake invasions. *Ecology*, **83**, 3306-3318.
- Heino, J., Melo, A.S., Siqueira, T., Soininen, J., Valanko, S. & Bini, L.M. (2014) Metacommunity organisation, spatial extent and dispersal in aquatic systems: patterns, processes and prospects. *Freshwater Biology*, n/a-n/a.
- Helmus, M.R., Bland, T.J., Williams, C.K. & Ives, A.R. (2007a) Phylogenetic measures of biodiversity. *The American Naturalist*, **169**, E68-E83.
- Helmus, M.R., Keller, W.B., Paterson, M.J., Yan, N.D., Cannon, C.H. & Rusak, J.A. (2010) Communities contain closely related species during ecosystem disturbance. *Ecology Letters*, **13**, 162-174.
- Helmus, M.R., Savage, K., Diebel, M.W., Maxted, J.T. & Ives, A.R. (2007b) Separating the determinants of phylogenetic community structure. *Ecology Letters*, **10**, 917-925.
- Holt, R.D. (2009) Predation and community organization. The Princeton Guide to Ecology, Part III.3. Levin S. A., Ed., 274-281.
- Hou, Z.G., Fu, J.H. & Li, S.Q. (2007) A molecular phylogeny of the genus *Gammarus* (Crustacea : Amphipoda) based on mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **45**, 596-611.
- Hutchinson, G.E. (1958) Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **22**: 415-427.
- Hutchinson, G.E. (1959) Homage to Santa Rosalia or Why Are There So Many Kinds of Animals? *The American Naturalist*, **93**, 145-159.
- Hynes, H. (1954) The ecology of *Gammarus duebeni* Lilljeborg and its occurrence in fresh water in western Britain. *The Journal of Animal Ecology*, 38-84.
- Jacobson, B. & Peres-Neto, P.R. (2010) Quantifying and disentangling dispersal in metacommunities: how close have we come? How far is there to go? *Landscape Ecology*, **25**, 495-507.
- Jeffrey, S.W. & Humphrey, G.F. (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzem*, **167**, 191-194.

- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. & Wright, S.W. (1997) Phytoplankton pigments in oceanography: Guidelines to modern methods. *UNESCO, Paris*, **631**.
- Jensen, J., Jeppesen, E., Orlík, K. & Kristensen, P. (1994) Impact of nutrients and physical factors on the shift from cyanobacterial to chlorophyte dominance in shallow Danish lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **51**, 1692-1699.
- Jeppesen, E., Jensen, J.P., Søndergaard, M., Lauridsen, T., Pedersen, L.J. & Jensen, L. (1997) Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. *Hydrobiologia*, **342/343**, 151-164.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Jensen, J.P., Havens, K.E., Anneville, O., Carvalho, L., Coveney, M.F., Deneke, R., Dokulil, M.T., Foy, B.O.B., Gerdeaux, D., Hampton, S.E., Hilt, S., Kangur, K., Köhler, J.a.N., Lammens, E.H.H.R., Lauridsen, T.L., Manca, M., Miracle, M.R., Moss, B., Nöges, P., Persson, G., Phillips, G., Portielje, R.O.B., Romo, S., Schelske, C.L., Straile, D., Tatrai, I., Willén, E.V.A. & Winder, M. (2005) Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology*, **50**, 1747-1771.
- Jimenez, V. & Alonso, D. (2016) island: Stochastic Island Biogeography Theory Made Easy. R package version, 0.1.2.
- Kawecki, T.J. & Ebert, D. (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, **7**, 1225-1241.
- Keitt, T.H., Bjørnstad, O.N., Dixon, P.M. & Citron-Pousty, S. (2002) Accounting for spatial pattern when modeling organismenvironment interactions. *Ecography*, **25**, 616-625.
- Kelly, B., Dempson, J.B. & Power, M. (2006) The effects of preservation on fish tissue stable isotope signatures. *Journal of Fish Biology*, **69**, 1595-1611.
- Kelly, D.W., Dick, J.T.A. & Montgomery, I. (2002a) Predation on mayfly nymph, *Baetis rhodani*, by native and introduced *Gammarus*: direct effects and the facilitation of predation by salmonids. *Freshwater Biology*, **47**, 1257-1268.
- Kelly, D.W., Dick, J.T.A. & Montgomery, W.I. (2002b) The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators, or both? *Hydrobiologia*, **485**, 199-203.
- Kembel, S., Cowan, P., Helmus, M., Cornwell, W., Morlon, H., Ackerly, D., Blomberg, S. & Webb, C. (2010) Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics*, **26**, 1463-1464.
- Kernan, M., Ventura, M., Brancelj, A., Clarke, G., Raddum, G., Stuchlík, E. & Catalan, J. (2009) Regionalisation of remote European mountain lake ecosystems according to their biota: environmental versus geographical patterns. *Freshwater Biology*, **54**, 2470-2493.
- Knapp, R.A., Matthews, K.R. & Sarnelle, O. (2001) Resistance and resilience of alpine lake fauna to fish introductions. *Ecological Monographs*, **71**, 401-421.

- Kneitel, J.M. & Chase, J.M. (2004) Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecology Letters*, **7**, 69-80.
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Norton, S.A. & Stuchlík, E. (2015) Effects of Acidic Deposition on in-Lake Phosphorus Availability: A Lesson from Lakes Recovering from Acidification. *Environmental Science & Technology*, **49**, 2895-2903.
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Vrba, J. & Stuchlík, E. (2011) Phosphorus loading of mountain lakes: Terrestrial export and atmospheric deposition. *Limnology and Oceanography*, **56**, 1343-1354.
- Kopáček, J., Procházková, L., Stuchlík, E. & Blažka, P. (1995) The nitrogen-phosphorus relationship in mountain lakes - Influence of atmospheric input, watershed, and pH. *Limnology and Oceanography*, **40**, 930-937.
- Kopáček, J., Stuchlík, E., Straškrabová, V. & Pšenáková, P. (2000) Factors governing nutrient status of mountain lakes in the Tatra Mountains. *Freshwater Biology*, **43**, 369-383.
- Kraft, N.J., Adler, P.B., Godoy, O., James, E.C., Fuller, S. & Levine, J.M. (2015) Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Functional Ecology*, **29**, 592-599.
- Krajíček, M., Fott, J., Miracle, M.R., Ventura, M., Sommaruga, R., Kirschner, P. & Černý, M. (2016) The genus Cyclops (Copepoda, Cyclopoida) in Europe. *Zoologica Scripta*.
- Kreutzer, C. & Lampert, W. (1999) Exploitative competition in differently sized *Daphnia* species: a mechanistic explanation. *Ecology*, **80**, 2348-2357.
- Lampert, W. (1993) Phenotypic plasticity of the size at 1st reproduction in *Daphnia* - the Importance of maternal size. *Ecology*, **74**, 1455-1466.
- Landeiro, V.L., Magnusson, W.E., Melo, A.S., Espírito-Santo, H. & Bini, L.M. (2011) Spatial eigenfunction analyses in stream networks: do watercourse and overland distances produce different results? *Freshwater Biology*, **56**, 1184-1192.
- Legendre, P. (1993) Spatial autocorrelation: Trouble or new paradigm? *Ecology*, **74**, 1659-1673.
- Legendre, P. & Legendre, L.F. (2012) *Numerical ecology*, Elsevier.
- Leibold, M.A., Economo, E.P. & Peres-Neto, P. (2010) Metacommunity phylogenetics: separating the roles of environmental filters and historical biogeography. *Ecology Letters*, **13**, 1290-1299.
- Leibold, M.A., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, J.M., Hoopes, M.F., Holt, R.D., Shurin, J.B., Law, R., Tilman, D., Loreau, M. & Gonzalez, A. (2004) The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecology Letters*, **7**, 601-613.
- Levin, S. (1992) The Problem of Pattern and Scale in Ecology: The Robert H. MacArthur Award Lecture. *Ecology*, **73**, 1943-1967.
- Levine, S.N. & Schindler, D.W. (1999) Influence of nitrogen to phosphorus supply ratios and physicochemical conditions on cyanobacteria and phytoplankton

- species composition in the Experimental Lakes Area, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **56**, 451-466.
- Lewis, W.M. & Wurtsbaugh, W.A. (2008) Control of Lacustrine Phytoplankton by Nutrients: Erosion of the Phosphorus Paradigm. *International Review of Hydrobiology*, **93**, 446-465.
- Lim, D.S. & Douglas, M.S. (2003) Limnological characteristics of 22 lakes and ponds in the Houghton Crater region of Devon Island, Nunavut, Canadian High Arctic. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **35**, 509-519.
- Lim, D.S., Douglas, M.S. & Smol, J.P. (2005) Limnology of 46 lakes and ponds on Banks Island, NWT, Canadian Arctic archipelago. *Hydrobiologia*, **545**, 11-32.
- Lim, D.S., Douglas, M.S., Smol, J.P. & Lean, D.R. (2001) Physical and chemical limnological characteristics of 38 lakes and ponds on Bathurst Island, Nunavut, Canadian High Arctic. *International Review of Hydrobiology*, **86**, 1-22.
- Llewellyn, C. & Mantoura, R. (1997) A UV absorbing compound in HPLC pigment chromatograms obtained from Icelandic Basin phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, **158**, 283-287.
- Macarthur, R. & Levins, R. (1967) The Limiting Similarity, Convergence, and Divergence of Coexisting Species. *The American Naturalist*, **101**, 377-385.
- Macarthur, R.H. & Wilson, E.O. (1967) *Theory of Island Biogeography*, Princeton University Press.
- Mackey, M.D., Mackey, D.J., Higgins, H.W. & Wright, S.W. (1996) CHEMTAX - a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, **144**, 265-283.
- Macneil, C., Dick, J.T.A., Platvoet, D. & Briffa, M. (2011) Direct and indirect effects of species displacements: an invading freshwater amphipod can disrupt leaf-litter processing and shredder efficiency. *Journal of the North American Benthological Society*, **30**, 38-48.
- Margalef, R. (1983) *Limnología*, Ediciones Omega, Barcelona.
- Matafonov, D.V. (2007) Ecology of *Gammarus lacustris* Sars (Crustacea : Amphipoda) in Transbaikalian water bodies. *Biology Bulletin*, **34**, 148-155.
- Maurer, K.M., Stewart, T.W. & Lorenz, F.O. (2014) Direct and Indirect Effects of Fish on Invertebrates and Tiger Salamanders in Prairie Pothole Wetlands. *Wetlands*, **34**, 735-745.
- Mcgrath, C.C. & Matthews, R.A. (2000) Cellulase activity in the freshwater amphipod *Gammarus lacustris*. *Journal of the North American Benthological Society*, **19**, 298-307.
- McMaster, N.L. & Schindler, D.W. (2005) Planktonic and epipelagic algal communities and their relationship to physical and chemical variables in alpine ponds in Banff National Park, Canada. *Arctic Antarctic and Alpine Research*, **37**, 337-347.

- Medeiros, A.S., Biastoch, R.G., Luszczek, C.E., Wang, X.A., Muir, D.C.G. & Quinlan, R. (2012) Patterns in the limnology of lakes and ponds across multiple local and regional environmental gradients in the eastern Canadian Arctic. *Inland Waters*, **2**, 59-76.
- Meffe, G.K. & Minckley, W.L. (1987) Persistence and Stability of Fish and Invertebrate Assemblages in a Repeatedly Disturbed Sonoran Desert Stream. *American Midland Naturalist*, **117**, 177-191.
- Mehner, T., Emmrich, M. & Hartwig, S. (2014) Spatial predictors of fish species composition in European lowland lakes. *Ecography*, **37**, 73-79.
- Mergeay, J., De Meester, L., Eggermont, H. & Verschuren, D. (2011) Priority effects and species sorting in a long paleoecological record of repeated community assembly through time. *Ecology*, **92**, 2267-2275.
- Merritt, R.W. & Cummins, K.W. (1996) *An Introduction to the Aquatic Insects of North America*, Kendall/Hunt Publishing Company.
- Michelutti, N., Douglas, M.S., Lean, D.R. & Smol, J.P. (2002) Physical and chemical limnology of 34 ultra-oligotrophic lakes and ponds near Wynniatt Bay, Victoria Island, Arctic Canada. *Hydrobiologia*, **482**, 1-13.
- Minagawa, M. & Wada, E. (1984) Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **48**, 1135-1140.
- Miracle, M.R. (1978) Composición específica de las comunidades zooplanctónicas de 153 lagos de los Pirineos y su interés biogeográfico. *Oecologia Aquatica*, **3**, 167-191.
- Miró, A. & Ventura, M. (2013) Historical use, fishing management and lake characteristics explain the presence of non-native trout in Pyrenean lakes: Implications for conservation. *Biological Conservation*, **167**, 17-24.
- Miró, A. & Ventura, M. (2015) Evidence of exotic trout mediated minnow invasion in Pyrenean high mountain lakes. *Biological Invasions*, **17**, 791-803.
- Mischler, J.A., Taylor, P.G. & Townsend, A.R. (2014) Nitrogen Limitation of Pond Ecosystems on the Plains of Eastern Colorado. *Plos One*, **9**.
- Mittelbach, G.G. & Schemske, D.W. (2015) Ecological and evolutionary perspectives on community assembly. *Trends in Ecology & Evolution*, **30**, 241-247.
- Mninchall, G.W. (1967) Role of allochthonous detritus in the trophic structure of a woodland springbrook community. *Ecology*, **48**, 139-149.
- Moreno, C. & Halfpeter, G. (2001) Spatial and temporal analysis of α , β and γ diversities of bats in a fragmented landscape. *Biodiversity & Conservation*, **10**, 367-382.
- Mouquet, N. & Loreau, M. (2002) Coexistence in metacommunities: the regional similarity hypothesis. *The American Naturalist*, **159**, 420-426.
- Ng, I.S., Carr, C.M. & Cottenie, K. (2009) Hierarchical zooplankton metacommunities: distinguishing between high and limiting dispersal mechanisms. *Hydrobiologia*, **619**, 133-143.

- Nilssen, J.P. & Elgmork, K. (1977) *Cyclops abyssorum* - Life cycle dynamics and habitat selection. *Memorie dell'Instituto Italiano di Idrobiologia*, **34**, 197-238.
- Oertli, B., Cereghino, R., Hull, A. & Miracle, R. (2009) Pond conservation: from science to practice. *Hydrobiologia*, **634**, 1-9.
- Oksanen, J., Kindt, R., Legendre, P. & O'hara, B. (2013) The vegan package.
- Olden, J.D., Jackson, D.A. & Peres-Neto, P.R. (2001) Spatial isolation and fish communities in drainage lakes. *Oecologia*, **127**, 572-585.
- Olmo, C., Armengol, X. & Ortells, R. (2012) Re-establishment of zooplankton communities in temporary ponds after autumn flooding: Does restoration age matter? *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, **42**, 310-319.
- Orfeo, M., Ventura, M., Tartarotti, B. & Sommaruga, R. (2011) Body distribution and source of mycosporine-like amino acids in the cyclopoid copepod *Cyclops abyssorum taticus*. *Journal of Plankton Research*, **33**, 1430-1444.
- Ouellette, M. & Legendre, P. (2012) MVPARTwrap: additional functionalities for package mvpart. R package version 0.1-9.
- Ouellette, M.H., Legendre, P. & Borcard, D. (2012) Cascade multivariate regression tree: a novel approach for modelling nested explanatory sets. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 234-244.
- Pausas, J.G. & Verdú, M. (2010) The Jungle of Methods for Evaluating Phenotypic and Phylogenetic Structure of Communities. *Bioscience*, **60**, 614-625.
- Peres-Neto, P.R. & Legendre, P. (2010) Estimating and controlling for spatial structure in the study of ecological communities. *Global Ecology and Biogeography*, **19**, 174-184.
- Peres-Neto, P.R., Legendre, P., Dray, S. & Borcard, D. (2006) Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology*, **87**, 2614-2625.
- Peres-Neto, P.R., Leibold, M.A. & Dray, S. (2012) Assessing the effects of spatial contingency and environmental filtering on metacommunity phylogenetics. *Ecology*, **93**, S14-S30.
- Peterson, B.J. & Fry, B. (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 293-320.
- Phillips, G., Lyche-Solheim, A., Skjelbred, B., Mischke, U., Drakare, S., Free, G., Järvinen, M., De Hoyos, C., Morabito, G., Poikane, S. & Carvalho, L. (2013) A phytoplankton trophic index to assess the status of lakes for the Water Framework Directive. *Hydrobiologia*, **704**, 75-95.
- Phillips, G., Pietiläinen, O.-P., Carvalho, L., Solimini, A., Solheim, A.L. & Cardoso, A. (2008) Chlorophyll-nutrient relationships of different lake types using a large European dataset. *Aquatic Ecology*, **42**, 213-226.
- Pianka, E.R. (2000) *Evolutionary Ecology*, The University of Texas at Austin.
- Pillar, V.D. & Duarte, L.D.S. (2010) A framework for metacommunity analysis of phylogenetic structure. *Ecology Letters*, **13**, 587-596.

- Pinel-Alloul, B., Niyonsenga, T. & Legendre, P. (1995) Spatial and environmental components of fresh-water zooplankton structure. *Ecoscience*, **2**, 1-19.
- Pinel Alloul, B., Andre, A., Legendre, P., Cardille, J., Patalas, K., André, A. & Salki, A. (2013) Large-scale geographic patterns of diversity and community structure of pelagic crustacean zooplankton in Canadian lakes. *Global Ecology and Biogeography*, **22**, 784-795.
- Pinel Alloul, B. & Mimouni, E.-A. (2013) Are cladoceran diversity and community structure linked to spatial heterogeneity in urban landscapes and pond environments? *Hydrobiologia*, **715**, 195-212.
- Ponsard, S. & Averbuch, P. (1999) Should growing and adult animals fed on the same diet show different $\delta^{15}\text{N}$ values? *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **13**, 1305-1310.
- Proteau, P., Gerwick, W., Garcia-Pichel, F. & Castenholz, R. (1993) The structure of scytonemin, an ultraviolet sunscreen pigment from the sheaths of cyanobacteria. *Experientia*, **49**, 825-829.
- Pulliam, H.R. (1988) Sources, Sinks, and Population Regulation. *The american Naturalist*, **132**, 652-661.
- R Development Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rahel, F.J. (1990) The Hierarchical Nature of Community Persistence: A Problem of Scale. *The american Naturalist*, **136**, 328-344.
- Ricklefs, R.E. (1987) Community Diversity: Relative Roles of Local and Regional Processes. *Science*, **235**, 167-171.
- Roberts, D. (2007) labdsv: Ordination and multivariate analysis for ecology. *R package version*, **1.6**.
- Rowan, K.S. (1989) *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press., CUP Archive.
- Rozdilsky, I.D., Stone, L. & Solow, A. (2004) The effects of interaction compartments on stability for competitive systems. *Journal of Theoretical Biology*, **227**, 277-282.
- Sahuquillo, M. & Miracle, M.R. (2013) The role of historic and climatic factors in the distribution of crustacean communities in Iberian Mediterranean ponds. *Freshwater Biology*, **58**, 1251-1266.
- Sahuquillo, M., Miracle, M.R., Morata, S.M. & Vicente, E. (2012) Nutrient dynamics in water and sediment of Mediterranean ponds across a wide hydroperiod gradient. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, **42**, 282-290.
- Sandercock, G.A. & Scudder, G.G.E. (1994) An introduction and key to the freshwater Calanoid Copepods (Crustacea) of British Columbia.
- Santer, B. (1998) Life cycle strategies of free-living copepods in fresh waters. *Journal of Marine Systems*, **15**, 327-336.

- Sattler, T., Borcard, D., Arlettaz, R., Bontadina, F., Legendre, P., Obrist, M.K. & Moretti, M. (2010) Spider, bee, and bird communities in cities are shaped by environmental control and high stochasticity. *Ecology*, **91**, 3343-3353.
- Schemske, D.W. & Horvitz, C.C. (1988) Plant-Animal Interactions And Fruit Production In A Neotropical Herb: A Path Analysis. *Ecology*, **69**, 1128-1137.
- Schindler, D.W. (1977) Evolution of Phosphorus Limitation in Lakes. *Science*, **195**, 260-262.
- Schwartz, S.S. & Hebert, P.D.N. (1989) The Effect of Hydra on the Outcome of Competition Between Daphnia and Simocephalus. *Biological Bulletin*, **176**, 147-154.
- Seekell, D.A. & Pace, M.L. (2011) Does the Pareto distribution adequately describe the size-distribution of lakes? *Limnology and Oceanography*, **56**, 350-356.
- Shmida, A. & Wilson, M.V. (1985) Biological Determinants of Species Diversity. *Journal of Biogeography*, **12**, 1-20.
- Shurin, J.B. (2000) Dispersal limitation, invasion resistance, and the structure of pond zooplankton communities. *Ecology*, **81**, 3074-3086.
- Shurin, J.B. & Allen, E.G. (2001) Effects of competition, predation, and dispersal on species richness at local and regional scales. *The American Naturalist*, **158**, 624-637.
- Shurin, J.B., Havel, J.E., Leibold, M.A. & Pinel-Alloul, B. (2000) Local and regional zooplankton species richness: A scale-independent test for saturation. *Ecology*, **81**, 3062-3073.
- Slingsby, J.A. & Verboom, G.A. (2006) Phylogenetic relatedness limits co-occurrence at fine spatial scales: evidence from the Schoenoid sedges (Cyperaceae: Schoeneae) of the Cape Floristic Region, South Africa. *The American Naturalist*, **168**, 14-27.
- Smith, V.H. (1983) Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*, **221**, 669-671.
- Smith, V.H. (1990) Nitrogen, phosphorus, and nitrogen fixation in lacustrine and estuarine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, **35**, 1852-1859.
- Soininen, J. (2014) A quantitative analysis of species sorting across organisms and ecosystems. *Ecology*, **95**, 3284-3292.
- Sondergaard, M., Jeppesen, E. & Jensen, J.P. (2005) Pond or lake: does it make any difference? *Archiv fur Hydrobiologie*, **162**, 143-165.
- Sorrell, B.K., Hawes, I. & Safi, K. (2013) Nitrogen and carbon limitation of planktonic primary production and phytoplankton? bacterioplankton coupling in ponds on the McMurdo Ice Shelf, Antarctica. *Environmental Research Letters*, **8**, 035043.
- Stachowicz, J.J. (2001) Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities by reducing physical or biotic stresses in existing habitats and by creating new habitats on which many species depend. *Bioscience*, **51**, 235-246.

- Stone, L. & Roberts, A. (1992) Competitive exclusion, or species aggregation? *Oecologia*, **91**, 419-424.
- Stouffer, D. & Bascompte, J. (2011) Compartmentalization increases food-web persistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 3648-3652.
- Strauss, A.T., Shocket, M.S., Civitello, D.J., Hite, J.L., Penczykowski, R.M., Duffy, M.A., Cáceres, C.E. & Hall, S.R. (2016) Habitat, predators, and hosts regulate disease in *Daphnia* through direct and indirect pathways. *Ecological Monographs*, **86**, 393-411.
- Suweis, S., Bertuzzo, E., Mari, L., Rodriguez-Iturbe, I., Maritan, A. & Rinaldo, A. (2012) On species persistence-time distributions. *Journal of Theoretical Biology*, **303**, 15-24.
- Therneau, T. & Atkinson, B. (2014) An Introduction to Recursive Partitioning Using the RPART Routines. Mayo Foundation.
- Therneau, T., Atkinson, B., Ripley, B., Oksanen, J. & De'ath, G. (2004) The mvpart package. *Multivariate partitioning*.
- Thompson, R., Ventura, M. & Camarero, L. (2009) On the climate and weather of mountain and sub-arctic lakes in Europe and their susceptibility to future climate change. *Freshwater Biology*, **54**, 2433-2451.
- Tiberti, R., Von Hardenberg, A. & Bogliani, G. (2014) Ecological impact of introduced fish in high altitude lakes: a case of study from the European Alps. *Hydrobiologia*, **724**, 1-19.
- Tilman, D. (1994) Competition and Biodiversity in Spatially Structured Habitats. *Ecology*, **75**, 2-16.
- Tranvik, L.J., Downing, J.A., Cotner, J.B., Loiselle, S.A., Striegl, R.G., Ballatore, T.J., Dillon, P., Finlay, K., Fortino, K., Knoll, L.B., Kortelainen, P.L., Kutser, T., Larsen, S., Laurion, I., Leech, D.M., Mccallister, S.L., Mcknight, D.M., Melack, J.M., Overholt, E., Porter, J.A., Prairie, Y., Renwick, W.H., Roland, F., Sherman, B.S., Schindler, D.W., Sobek, S., Tremblay, A., Vanni, M.J., Verschoor, A.M., Von Wachenfeldt, E. & Weyhenmeyer, G.A. (2009) Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *Limnology and Oceanography*, **54**, 2298-2314.
- Vainio, J.K. & Väinölä, R. (2003) Refugial races and postglacial colonization history of the freshwater amphipod *Gammarus lacustris* in Northern Europe. *Biological Journal of the Linnean Society*, **79**, 523-542.
- Väinölä, R., Witt, J., Grabowski, M., Bradbury, J., Jazdzewski, K. & Sket, B. (2008) Global diversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**, 241-255.
- Vandenbosch, F. & Santer, B. (1993) Cannibalism in *Cyclops abyssorum*. *Oikos*, **67**, 19-28.
- Vander Zanden, M.J. & Rasmussen, J.B. (1999) Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, **80**, 1395-1404.

- Vander Zanden, M.J. & Rasmussen, J.B. (2001) Variation in d15N and d13C trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, **46**, 2061-2066.
- Vanni, M.J. (1986) Competition in zooplankton communities: Suppression of small species by *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*, **31**, 1039-1056.
- Veech, J.A. (2013) A probabilistic model for analysing species co-occurrence. *Global Ecology and Biogeography*, **22**, 252-260.
- Ventura, M. (2005) *Crustacean zooplankton dynamics in Lake Redon: a stoichiometric, biochemical and isotopic approach*, University of Barcelona, Barcelona.
- Ventura, M., Camarero, L., Buchaca, T., Bartumeus, F., Livingstone, D.M. & Catalan, J. (2000) The main features of seasonal variability in the external forcing and dynamics of a deep mountain lake (Redó, Pyrenees). *Journal of Limnology*, **59**, 97-108.
- Ventura, M. & Catalan, J. (2005) Reproduction as one of the main causes of temporal variability in the elemental composition of zooplankton. *Limnology and Oceanography*, **50**, 2043-2056.
- Ventura, M. & Catalan, J. (2008) Incorporating life histories and diet quality in stable isotope interpretations of crustacean zooplankton. *Freshwater Biology*, **53**, 1453-1469.
- Ventura, M., Petrusek, A., Miró, A., Hamrová, E., Buñay, D., De Meester, L. & Mergeay, J. (2014) Local and regional founder effects in lake zooplankton persist after thousands of years despite high dispersal potential. *Molecular Ecology*, **23**, 1014-1027.
- Vrede, T., Ballantyne, A., Mille-Lindblom, C., Algesten, G., Gudasz, C., Lindahl, S. & Brunberg, A.K. (2009) Effects of N:P loading ratios on phytoplankton community composition, primary production and N fixation in a eutrophic lake. *Freshwater Biology*, **54**, 331-344.
- Webb, C.O. (2000) Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees. *The American Naturalist*, **156**, 145-155.
- Webb, C.O., Ackerly, D.D., McPeck, M.A. & Donoghue, M.J. (2002) Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **33**, 475-505.
- Weidman, P.R., Schindler, D.W. & Vinebrooke, R.D. (2011) Pelagic food web interactions among benthic invertebrates and trout in mountain lakes. *Freshwater Biology*, **56**, 1081-1094.
- Wetzel, R.G. (2001) *Limnology. Lake and river ecosystems*, Academic Press, San Diego, California, USA.
- Wickham, H. & Chang, W. (2014) ggplot2: An Implementation of the Grammar of Graphics. Comprehensive R Archive Network. 2014.
- Wilhelm, F.M., Hudson, J.J. & Schindler, D.W. (1999) Contribution of *Gammarus lacustris* to phosphorus recycling in a fishless alpine lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **56**, 1679-1686.

- Wilhelm, F.M. & Schindler, D.W. (1999) Effects of *Gammarus lacustris* (Crustacea : Amphipoda) on plankton community structure in an alpine lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **56**, 1401-1408.
- Wilhelm, F.M. & Schindler, D.W. (2000) Reproductive strategies of *Gammarus lacustris* (Crustacea : Amphipoda) along an elevation gradient. *Functional Ecology*, **14**, 413-422.
- Wilhelm, F.M. & Schindler, D.W. (2001) *Gammarus lacustris* (Crustacea : Amphipoda) zooplankton predation in a Canadian Rocky Mountain lake. *International Association of Theoretical and Applied Limnology, Vol 27, Pt 2, Proceedings*, **27**, 783-784.
- Wilhelm, F.M., Schindler, D.W. & Mcnaught, A.S. (2000) The influence of experimental scale on estimating the predation rate of *Gammarus lacustris* (Crustacea : Amphipoda) on *Daphnia* in an alpine lake. *Journal of Plankton Research*, **22**, 1719-1734.
- Wilson, D.S. (1992) Complex Interactions in Metacommunities, with Implications for Biodiversity and Higher Levels of Selection. *Ecology*, **73**, 1984-2000.
- Williams, P., Whitfield, M., Biggs, J., Bray, S., Fox, G., Nicolet, P. & Sear, D. (2004) Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England. *Biological Conservation*, **115**, 329-341.
- Woodward, G.U.Y., Jones, J.I. & Hildrew, A.G. (2002) Community persistence in Broadstone Stream (U.K.) over three decades. *Freshwater Biology*, **47**, 1419-1435.
- Wootton, J.T. (1994) Predicting Direct and Indirect Effects: An Integrated Approach Using Experiments and Path Analysis. *Ecology*, **75**, 151-165.
- Yant, P.R., Karr, J.R. & Angermeier, P.L. (1984) Stochasticity in Stream Fish Communities: An Alternative Interpretation. *The American Naturalist*, **124**, 573-582.
- Yoshida, T., Jones, L.E., Ellner, S.P., Fussmann, G.F. & Hairston, N.G. (2003) Rapid evolution drives ecological dynamics in a predator-prey system. *Nature*, **424**, 303-306.
- Zadereev, E.S., Tolomeyev, A.P., Drobotov, A.V., Emeliyanova, A.Y. & Gubanov, M.V. (2010) The vertical distribution and abundance of *Gammarus lacustris* in the pelagic zone of the meromictic lakes Shira and Shunet (Khakassia, Russia). *Aquatic Ecology*, **44**, 531-539.
- Zehmer, J.K., Mahon, S.A. & Capelli, G.M. (2002) Calcium as a limiting factor in the distribution of the amphipod *Gammarus pseudolimnaeus*. *American Midland Naturalist*, **148**, 350-362.
- Zimmer, M. & Bartholme, S. (2003) Bacterial endosymbionts in *Asellus aquaticus* (Isopoda) and *Gammarus pulex* (Amphipoda) and their contribution to digestion. *Limnology and Oceanography*, **48**, 2208-2213.

GLOSARIO

GLOSARIO

Atracción filogenética: es el patrón de una comunidad cuando está más relacionada filogenéticamente que lo esperado por azar (Webb et al., 2002). En este caso las especies emparentadas coocurren con más frecuencia de lo esperado por azar (Pausas & Verdú 2010).

Clutch-size: o tamaño de la puesta, número de huevos por hembra. Se aplicó para *D. longispina*.

Competencia por explotación: tipo de interacción indirecta, entre dos consumidores que comparten una presa común pudiendo competir indirectamente (Pianka 2000).

Comunidad: conjunto de especies que coocurren en el tiempo y el espacio y que tienen el potencial de interactuar.

Deriva ecológica: dentro de la teoría neutra, factores estocásticos como el nacimiento, la muerte, la colonización y la extinción de las especies que influyen en la pérdida de la diversidad y composición de las especies en una localidad independientemente de su nicho (Chave 2011).

Diapausa: detención del desarrollo temporal en el individuo desencadenado por factores ambientales (Dahms 1995)

Egg ratio: tasa de huevos de la población. Estimada como: *número total de huevos en una muestra (ind m⁻³) / número de hembras adultas (ind m⁻³)*. Se aplicó para *D. longispina* y *C. abyssorum*

Exclusión competitiva: proceso que conduce a la exclusión de especies ecológicamente similares y a la coexistencia de especies con características diferentes para evitar competencia de nicho (Pausas & Verdú 2010).

Filtro ambiental sensu stricto: conjunto de variables abióticas que determinan la composición de las especies en la comunidad (Kraft et al., 2015).

Hábitat del litoral: zona bajo el agua no mayor a 2 m de profundidad en las masas de agua.

Hábitat de la orilla: zona terrestre próxima a una masa de agua. Con fines prácticos consideramos el área comprendida a 2 m desde la orilla de la masa de agua.

Heterogeneidad abiótica local: influencia del filtro ambiental *sensu stricto* que puede contribuir a la coexistencia de las especies si difieren en sus respuestas a las condiciones abióticas dentro de la comunidad (Kraft et al., 2015).

Incidencia: presencia/ausencia de las especies en una muestra.

Interacción directa: enfoque tradicional de la interacción de poblaciones, donde dos poblaciones pueden o no afectarse la una a la otra. La afectación puede ser beneficiosa o adversa para uno o ambas poblaciones. Las interacciones de depredación o de competencia son ejemplos de interacciones directas (Pianka 2000).

Interacción indirecta: es la interacción medida a través de otros miembros de la comunidad. La interacción de competencia por explotación es un ejemplo de interacción indirecta (Pianka 2000).

Metacomunidad: es el conjunto de comunidades locales conectadas por la dispersión de múltiples especies (Hubbell 2001).

Limitación de la dispersión: algunas especies son impedidas de ocurrir en localidades adecuadas debido a que los sitios a ocupar más cercanos están demasiado lejos. La limitación de la dispersión impide que las especies más adecuadas ambientalmente ocurran porque no pueden alcanzar todas las localidades ambientalmente adecuadas (Heino et al., 2014).

Ocurrencia: número de masas de agua ocupadas por una especie o probabilidad de estar presente en un lago dado.

Persistencia: es la capacidad de una especie o de una comunidad de mantenerse constante en el tiempo y el espacio particularmente durante una fase de perturbación (Araújo & Williams, 2000).

Perspectiva control local (*Species Sorting*): una perspectiva que enfatiza que los gradientes de recursos (ambiente) causan diferencias suficientemente fuertes en la demografía local de las especies y en las interacciones de las especies locales para que la calidad del hábitat y la dispersión afecten conjuntamente a la composición de la comunidad local. Esta perspectiva enfatiza, la separación espacial de nicho más allá de la dinámica espacial (Leibold et al., 2004). La dispersión está integrada y sometida sin independencia de la heterogeneidad ambiental, es decir las comunidades reflejaran la estructura espacial del ambiente.

Perspectiva efecto en masa (*Mass Effects*): una perspectiva que se enfoca en el efecto de la inmigración y emigración sobre las dinámicas de las poblaciones locales. (Leibold et al., 2004). Las especies pueden migrar (dispersarse) desde un sistema-fuente, del que son excluidas al no ser competitivas, hacia un sistema-captador donde pueden ser competitivas (Cottenie 2005).

Perspectiva control local más efecto en masa (SS+ME): en esta perspectiva el ensamblaje de las especies es el resultado tanto del determinismo ambiental como de los procesos de inmigración-emigración con independencia el uno del otro (Cottenie 2005).

Pool regional de especies: conjunto de especies que podrían potencialmente colonizar un sitio local o comunidad en una escala de tiempo ecológica (Mittelbach & Schemske 2015)

Repulsión filogenética: es el patrón de una comunidad local donde las especies están menos relacionada filogenéticamente que lo esperado por azar (Webb et al., 2002). En este caso las especies emparentadas coocurren con menos frecuencia de lo esperado por azar (Pausas & Verdú 2010).

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1: Descripción de los tipos de litología de acuerdo a Casals-Carasco *et al.*, (2009)

Código	Litología	Tipo de roca
01Granit	Granito	Ígnea
02ConGS	Contacto de Granito y esquisto	Ígnea-metamórfica
04BSlate	Esquisto a material pizarroso	Metamórfica
05LimSla	Caliza y pizarra alternando	Sedimentaria-metamórfica
06ConGLS	Contacto entre granitoides y áreas de caliza y pizarra alternando	Ígnea-sedimentaria-Metamórfica
07Limest	Caliza	Sedimentaria
08SandRS	Piedra arenisca y lutitas rojas	Sedimentaria
09Qschis10Bschis	Esquisto cuarcita combinado con filitas	Metamórfica

Anexo 2 Especies de crustáceos ordenadas por su nicho y tamaño (promedio y error estándar en milímetros)

NICHO	CÓDIGO	ESPECIES	AVE ± SE (mm)
Depredador	Zoo.D	<i>G. lacustris</i> , <i>A. vernalis</i> , <i>C. abyssorum</i> , <i>E. serrulatus</i> , <i>P. pediculus</i>	1.8 ± 1.0
Herbívoro	Zoo.H	<i>E. lamellatus</i> , <i>C. quadrangula</i> , <i>D. longispina</i> , <i>D. obtusa</i> , <i>D. parvula</i> , <i>D. pulicaria</i> , <i>M. hirsuticornis</i> , <i>S. mucronata</i> , <i>S. vetulus</i> , <i>Aloninae</i> , <i>C. sphaericus</i> , <i>P. truncatus</i>	1.2 ± 0.2
Omnívoro	Zoo.O	<i>Calanoidea</i> , <i>D. castaneti</i> , <i>D. cyaneus</i> , <i>E. vulgaris</i>	1.2 ± 0.2

Anexo 3: Promedio (AVE) y desviación estandar (SD) de las tallas de *Gammarus*. Los valores del estany d'Engorgs son consolidados con los individuos colectados en todas las zona del lago, los *Gammarus* del ibón Acherito y de la bassa d'Engorgs corresponden a los individuos colectados en el plancton.

LAGO	TALLA	TAMAÑO (mm)	
		AVE	SD
Ibón Acherito	Pequeño	10.84	-
	Medio	13.26	1.58
	Grande	20.65	0.67
Estany d' Engorgs	Pequeño	8.68	1.54
	Medio	11.98	1.75
	Grande	15.96	1.84
Bassa d' Engorgs	Medio	13.33	0.81
	Grande	17.51	0.66

Anexo 4: Resumen de ANOVAs de un factor (talla o lagos) para la composición isotópica de las especies

ANOVA SIMPLE	FUENTE	FACTOR	ESPECIE	VARIABLE	GL	F	P-VALOR
Entre las masas de agua	Plancton	lagos	<i>Gammarus</i>	$\delta^{13}\text{C}$	2,33	100	<0.001
	Plancton	lagos	<i>Gammarus</i>	$\delta^{15}\text{N}$	2,33	5	0.007
	Plancton	lagos	<i>D longispina</i>	$\delta^{13}\text{C}$	2,7	4	0.076
	Plancton	lagos	<i>D longispina</i>	$\delta^{15}\text{N}$	2,7	5	0.050
	Plancton	lagos	Copepoda	$\delta^{13}\text{C}$	2,7	10	0.009
	Plancton	lagos	Copepoda	$\delta^{15}\text{N}$	2,7	0.2	0.812
	Plancton	lagos	Chironomidae	$\delta^{13}\text{C}$	2,1	299	0.041
	Plancton	lagos	Chironomidae	$\delta^{15}\text{N}$	2,1	40	0.111
Dentro de las masas de agua	Ibón Acherito	talla	<i>Gammarus</i>	$\delta^{13}\text{C}$	2,6	3122	<0.001
	Ibón Acherito	talla	<i>Gammarus</i>	$\delta^{15}\text{N}$	2,6	45	<0.001
	Bassa d' Engorgs	talla	<i>Gammarus</i>	$\delta^{13}\text{C}$	1,4	1392	<0.001
	Bassa d' Engorgs	talla	<i>Gammarus</i>	$\delta^{15}\text{N}$	1,4	4	0.118

Anexo 5: Composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para las especies en cada masa de agua. El valor para *G. cf. alpinus* unifica todas las tallas y todas las zona del lago. Los quironómidos fueron colectados en el bentos y el resto de especies del plancton. (*) El copépodo en el estany y bassa d'Engorgs fue *C. abyssorum* y en el ibón Acherito fue *E. vulgaris*. Los resultados de la prueba pos hoc HSD Tukey (PHOC) se indican con letras donde fueron significativamente distintos.

ESPECIE	LAGO	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)			$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
		AVE	SD	PHOC	AVE	SD	PHOC
Chironomidae	Ibón Acherito	-18.31	0.10	-	1.17	0.18	-
	Estany d'Engorgs	-20.07	0.10	-	3.20	0.18	-
	Bassa d'Engorgs	-21.73	0.10	-	2.42	0.18	-
Copepoda*	Ibón Acherito	-30.00	0.08	ab	3.96	0.14	-
	Estany d'Engorgs	-25.97	2.49	a	3.97	0.69	-
	Bassa d'Engorgs	-31.90	0.20	b	3.73	0.07	-
<i>D. longispina</i>	Ibón Acherito	-29.33	0.07	-	0.54	0.06	a
	Estany d'Engorgs	-26.25	3.63	-	1.42	0.72	ab
	Bassa d'Engorgs	-32.38	0.08	-	2.01	0.11	b
<i>G. lacustris</i>	Ibón Acherito	-26.47	2.08	a	2.56	0.40	a
	Estany d'Engorgs	-20.11	0.16	b	2.97	0.18	b
	Bassa d'Engorgs	-23.80	0.74	c	3.05	0.12	b

Anexo 6: ANOVA de dos factores (talla y zona del lago) para la composición isotópica de los *Gammarus* del estany d'Engorgs

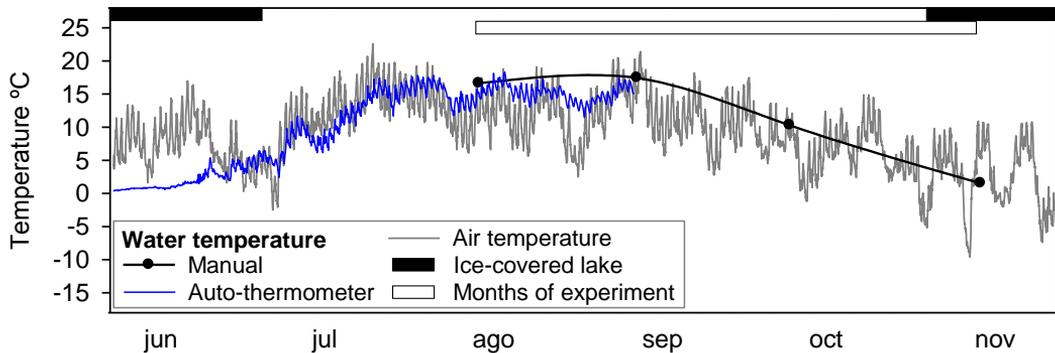
ESPECIE	VARIABLE	FACTOR	GL	F	P-VALOR
Gammarus (Estany d' Engorgs)	$\delta^{13}\text{C}$	Zona	2	3	0.068
		Talla	2	6	0.016
		zona*talla	3	1	0.573
		Error	13		
	$\delta^{15}\text{N}$	Zona	2	3	0.067
		Talla	2	9	0.003
		zona*talla	3	0.2	0.924
		Error	13		

Anexo 7: Composición isotópica de las especies evaluadas en las distintas zonas de las masas de agua. Se indica el número de muestras (N), su media (MED) y desviación estándar (SD). Los *Gammarus* fueron evaluados por tamaños, grandes (G), medianos (M), pequeños (P), medianos y pequeños (M+P) y todas las tallas juntas (T).

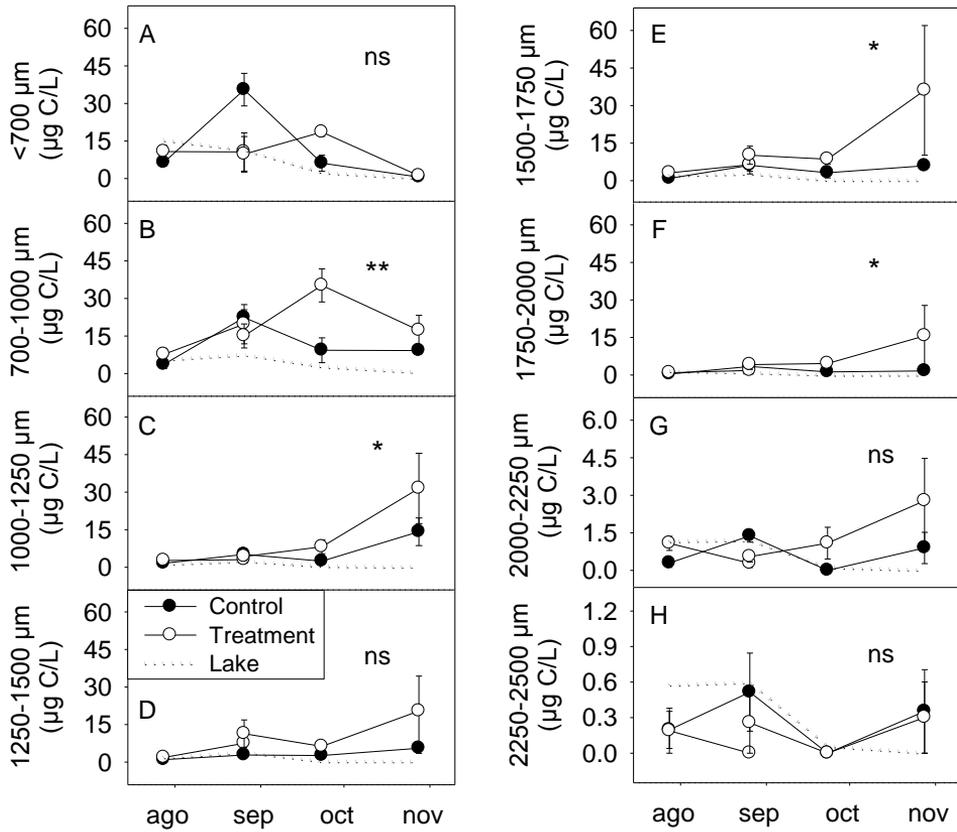
ESPECIE	IBÓN ACHERITO					BASSA D' ENGORGS					ESTANY D' ENGORGS				
	N	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$		N	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$		N	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$	
		MED	SD	MED	SD		MED	SD	MED	SD		MED	SD	MED	SD
<i>Gammarus</i> (G)	3	-29.22	0.03	3.07	0.11	3	-24.48	0.04	3.13	0.06	7	-20.46	0.40	3.19	0.26
<i>Gammarus</i> (M)	3	-25.40	0.04	2.35	0.14	3	-23.13	0.05	2.97	0.13	8	-20.16	0.56	2.98	0.19
<i>Gammarus</i> (P)	3	-24.79	0.12	2.25	0.08						6	-19.58	0.58	2.63	0.28
<i>Gammarus</i> (M+P)	6	-25.09	0.35	2.30	0.12										
<i>Gammarus</i> (T)	9	-26.47	2.08	2.56	0.40	6	-23.80	0.74	3.05	0.12	21	-20.10	0.61	2.95	0.32
<i>C. abyssorum</i>						3	-31.90	0.20	3.73	0.07	5	-25.97	2.49	3.97	0.69
<i>D. longispina</i>	3	-29.33	0.07	0.54	0.06	2	-32.38	0.08	2.01	0.11	5	-26.25	3.63	1.42	0.72
<i>E. vulgaris</i>	2	-30.00	0.08	3.96	0.14										
Epilítion	1	-19.07		0.85		1	-19.21		0.57		5	-17.40	1.15	0.80	0.35
Renacuajos	3	-22.79	0.05	2.36	0.08	3	-23.37	0.12	3.29	0.10	3	-23.53	1.24	3.91	0.04
Trichoptera											3	-25.86	0.01	2.20	0.06
Chironomidae		-18.31	0.10	1.17	0.18		-21.73	0.10	2.42	0.18	2	-20.07	0.10	3.20	0.18
Sedimento	1	-19.87		0.42		1	-23.29		1.67		5	-24.14	2.33	2.18	0.26
Rana											1	-22.48		4.65	

Anexo 8: Composición estimada de la dieta de *Gammarus*. Un resultado general para cada masas de agua es presentado sin discriminar entre las tallas. A continuación se muestra las estimaciones considerando cada talla. Para el ibón Acherito se muestra las estimaciones para los *Gammarus* grandes y otra para los *Gammarus* medianos y pequeños conjuntamente. (*) El copépodo del ibón Acherito fue *E. vulgaris*, mientras que en el estany y bassa d' Engorgs fue *C. abyssorum*. Los valores son expresados en tanto por ciento.

LAGOS	PLANCTON				BENTOS	
	%COPÉPODA*		%D. LONGISPINA		%CHIRONOMIDAE	
	AVE	SD	AVE	SD	AVE	SD
Ibón Acherito concatenado	3	3	82	12	15	11
grande	1	1	99	1	0	0
med+pequeños	0	0	63	4	36	4
Estany d'Engorgs concatenado	5	4	89	7	6	6
grande	5	5	88	7	7	6
mediano	4	4	91	5	5	4
pequeño	4	4	92	5	5	4
Bassa d'Engorgs concatenado	1	1	2	2	98	2
grande	0	0	30	1	70	1
mediano	0	0	17	1	82	1



Anexo 9: Variabilidad de la temperatura del agua en el estany d'Engorgs durante el año 2010.



Anexo 10: Promedio y error estándar de la biomasa de *D. longispina* de acuerdo al rango de las tallas. Los círculos negros corresponde al control, los círculos blancos al tratamiento y la línea punteada al estany d'Engorgs. Los valores significativos entre el control y el tratamiento se determinaron para los resultados entre septiembre y octubre: (*) $p < 0.001$, (**) $p < 0.01$, (*) $p < 0.05$ y (ns) no significativo.**