

Ecología de los crustáceos dominantes en los lagos de la Antártida marítima

María Eugenia Diazmacip Barroso

Tesis Doctoral
2015



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva
Programa de doctorado de *Biodiversidad y Biología Evolutiva*

**Ecología de los crustáceos dominantes en los lagos de la
Antártida marítima**

María Eugenia Diazmacip Barroso

Tesis doctoral

2015

Directores:

Dr. Antonio Camacho González
Dr. José Antonio Gil-Delgado Alberti
Dr. Carlos Rochera Cordellat

Tesis presentada por MARÍA EUGENIA DIAZMACIP BARROSO para optar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas por la Universidad de Valencia, con el título

“Ecología de los crustáceos dominantes en los lagos de la Antártida marítima”

Firmado: María Eugenia Diazmacip Barroso

Tesis dirigida por los Doctores en Ciencias Biológicas,

ANTONIO CAMACHO GONZÁLEZ,

JOSÉ ANTONIO GIL-DELGADO ALBERTI y

CARLOS ROCHERA CORDELLAT.

Antonio Camacho
Prof. Titular en Ecología
Universidad de Valencia

José A. Gil-Delgado
Prof. Titular en Ecología
Universidad de Valencia

Carlos Rochera
Investigador Doctor
Universidad de Valencia

Este trabajo ha sido financiado por una beca CONACYT del gobierno de México, concedida a María Eugenia Diazmacip (número de registro 197252), y por un proyecto de investigación (Ref. CGL2005-06549-002/ANT) del Ministerio de Ciencia y Tecnología (Gobierno de España).

A mi familia con todo mi cariño

Agradecimientos

Mis años en la Universidad de Valencia, con experiencias positivas y negativas con circunstancias de toda índole permiten a uno aprender día a día a enfrentar esos retos, pero lo más importante son las personas que te rodean y en ese sentido me considero una privilegiada de tenerlos a todos ustedes dejando huella en mi caótica vida, sin las cuales no hubiese sido posible aguantar y salir adelante. A todos ustedes muchas gracias, no puedo nombrar a todos ni llevar un orden de agradecimientos, gracias por su apoyo.

Lo primero es que quiero dar las gracias a mis padres por todo su amor, apoyo y ejemplo incondicional que me brindaron en todo momento, muchas gracias sobre todo por no dejar de confiar en mí y hacerme sentir especial a pesar de la lejanía, tengo muchas ganas de verlos y abrazarnos!

Quiero agradecer a mis directores Antonio Camacho, José A. Gil-Delgado y Carlos Rochera, su apoyo y guía durante estos nueve años realizando dos trabajos totalmente diferentes y sobretodo agradecerles la paciencia, respeto y ayuda que mostraron incluso cuando he tenido que suspender la tesis por diversas circunstancias, muchas gracias. Toni, José Antonio y Charly mil gracias por su amistad y por esos buenos momentos que hemos vivido durante estos años, por haberme brindado esta oportunidad, primero con el DEA y después con la tesis, gracias por su paciencia, ya veremos ahora que marca el destino pero tiempo para una buena cervecita seguro encontraremos. Gracias Toni por los momentos dentro y fuera de la universidad, siempre recordaré la estancia en Byers, gracias José Antonio por adoptarme desde que me conociste, haciéndome parte de tu grupo y por esas innumerables visitas a Sagunto, gracias Charly por implicarte de una forma extraordinaria en este trabajo.

De manera muy especial quiero dar las gracias a mi chamaco, a ti David, por formar parte de mi familia y por hacerme tan feliz. Al final hasta te involucraste en el proyecto llamado tesis, siempre interesado, apoyándome y animándome, no dejándome caer, eternamente gracias, vamos por más y mejor.

A mis hermanos, José y Yolanda, quienes a pesar de estar lejos y lo diferentes que somos, siempre estuvieron conmigo haciéndose presentes para sacarle una sonrisa al día, los quiero montón!

A toda mi *familia mexicana*, *primos* y *tíos*, no puedo nombrar a cada uno de ustedes, ya que todos ocupan un lugar muy especial en mi vida y de hacerlo acabaría escribiendo otro capítulo de la tesis, saben que valoro mucho sus porras, visitas, palabras y mil detalles conmigo. Gracias por sus buenos deseos de una vida nueva, su cariño fue clave para mí. A mi familia valenciana, Campos Cuerda, gracias por aceptarme y apoyarme en este proceso.

A mis amigos de lejos por ser mi ejemplo de lucha diaria por lo que uno quiere, Micha, Raúl, Carmina, Mariel, Mariana, Mary Tere, Pau, Mariana, Margot, Iyali, Jeanette, Naty, Fabián, Moni, mi gente UDLAP, gracias!

Charly Brown, en especial a ti, amigo y compañero antártico, estaré eternamente agradecida por tu amistad y tu entrega para sacar la tesis adelante, gracias por tu apoyo (i.e. incondicional) te debo mucho! Eres mi ejemplo y una gran persona, gràcies amic!

Mi trio calavera, con los años fuimos creciendo Vicente, Lucia, Luis, Esther, Pepa que les voy a decir que no haya dicho ya, gracias por adoptarme sosteniéndome con un “cuando puedas”.

Mis dos intocables, Sari y Nayeli, amigas gracias por ser mi familia española tan sólo conocerme, me han cuidado, protegido, animado y un sin fin de cosas que nunca acabaré de agradecerles, son lo máximo para mí. Mi Sari ¿será que ahora si es el final?

Por supuesto a mi núcleo duro de amigos por estar al pie del cañón, para lo bueno y para lo malo, unos cerca y otros lejos, pero créanme que sin ustedes mi rumbo no sería este, con el pacto Rafaella y las largas noches de trabajo, junto a mis cartones para dormir en el Cavanilles con tal de acabar el DEA, momentos para no olvidar. M. Sasa, sin ti, imposible, gracias. A mis grandes María, Carla, Laia, Oli, Elena, Virginia, Óscar, Ana, Diego, Luis, Eugenio, Raquel, Xavi, Gabriela, Juan A., Antonio P., Andreu, Jota, Cristina, Pablo, Molina, Sonia, San, mis telecos, Nese, Zerif, Charo. También agradecer a mis

compañeros de departamento Carmen, Olga, Pepín, Alex, Javi, María S, María B., Fátima, Mike, María P., M. Loli, Alessandro, Ana, Ma. Mercedes, Lidia, Javi.

A mis martes de Younes, la locura de Cristin, a Paco y Loló gracias xiquets, son parte de mi felicidad.

Jesús, en especial a ti, gracias por iniciarme en el mundo científico, con tus consejos y amistad, Gema y Jesús, se les quiere mucho. Agradecer a mis amigos de México, los cuales a pesar de la distancia no pasa un rato que ya me están dando ánimos, eso le llena a uno el corazón, a mi gente UDLAP. Que decir de mis amigos en España, Chile, Costa Rica, USA y del mundo mostrando interés por mi cultura y aguantándome, muchas gracias por esas porras y ánimos.

Al grupo de los Antárticos, ya que gracias al Año Polar Internacional, tuvimos la oportunidad de conocer gente bellísima, gracias. El tercer capítulo de la tesis está dedicado a Luigi, quién colaboró conmigo en el desarrollo. D.E.P.

A Dan y Cristobo, los recuerdo con mucho gusto, es hora de reencontrarnos.

Quiero agradecer en especial a Rosa y Eduardo por permitirme formar parte del grupo, así como agradecer a Paco, Antonio, Juan, Javi, Raquel, Emilio, Javi G., Carmen R. sus conversaciones y múltiples consejos. A los revisores de la tesis Rosa M., Julia T., Eugenio R., Javi A., María A. y María S. Muchas Gracias!

Quiero agradecer al Ministerio de Educación y Ciencia el cual colaboró financiando el proyecto del cual sale la tesis (CGL2005-06549-CO02/ANT). Así como la colaboración a todo el equipo del proyecto Limnopolar, y a los técnicos Hilo y Arkaitz, a la Unidad de Tecnología Marina (UTM-CSIC), a la tripulación del buque Las Palmas y al Comité Polar Español.

Agradecer al equipo de Torre de la Sal, en especial a J.C. Navarro, a Miguel y a Rafa por el apoyo brindado.

Finalmente un agradecimiento especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) del Gobierno de México quien me otorgó una beca para realizar esta tesis en el extranjero, muchas gracias. Vamos México.

ÍNDICE

Resumen

| | |
|--|-----|
| Capítulo 1: Introducción general..... | 1 |
| Capítulo 2: Material y Métodos..... | 13 |
| Capítulo 3: Tamaño de puesta y estrategia reproductiva de <i>Branchinecta gaini</i> Daday (Crustacea: Anostraca) en un lago somero de la Península Byers, Antártida marítima..... | 29 |
| Capítulo 4: Respuesta de las tasas de respiración y excreción de nutrientes en <i>Branchinecta gaini</i> Daday (Crustacea: Anostraca) y <i>Boeckella poppei</i> Mrázek (Copepoda: Calanoida) al aumento de la temperatura..... | 49 |
| Capítulo 5: Dominancia de las diatomeas en la dieta de <i>Branchinecta gaini</i> (Crustacea: Anostraca) y su perfil de ácidos grasos en un lago de la Península Byers, Isla Livingston, Antártida marítima..... | 69 |
| Capítulo 6: Análisis conductual del anostráceo <i>Branchinecta gaini</i> (Crustacea: Anostraca) frente a la disponibilidad de alimento y fraccionamiento isotópico de la red trófica en un lago de la Antártida marítima..... | 97 |
| Capítulo 7: Migración vertical diaria y distribución horizontal del copépodo <i>Boeckella poppei</i> (Copepoda: Calanoida) en un lago oligotrófico (Península Byers, Antártida)..... | 117 |
| Conclusiones..... | 155 |
| Referencias..... | 161 |

Resumen

La presente tesis aborda el estudio ecológico de los dos crustáceos más abundantes en los lagos de La Península Byers (Islas Shetland del Sur, Antártida), el anostráceo *Branchinecta gaini* y el copépodo *Boeckella poppei*. Esta región es considerada una de las zonas con mayor interés desde el punto de vista limnológico dentro del continente antártico. Los estudios realizados en los sistemas acuáticos de esta región son relativamente recientes aunque amplios, no obstante existe todavía un sesgo de carencia en lo que respecta al conocimiento de la ecología de estos crustáceos.

Las condiciones climáticas de la Antártida marítima, menos severas que las de la región continental, conllevan la existencia de un ciclo hidrológico más dinámico, con un periodo estival durante el cual el aumento de las temperaturas produce el deshielo de los lagos, lo que desencadena distintos procesos que favorecen una mayor disponibilidad de luz y nutrientes, que a su vez hacen incrementar su productividad. Es durante estos periodos en los que se centran los estudios de la tesis, en particular en los lagos Somero y Limnopolar. Ambos lagos muestran características distintivas, aunque con un nexo común como es la presencia de redes tróficas sencillas con un notable dominio de la componente microbiana, en los que ambas especies de crustáceos constituyen el nivel trófico superior. Ambos lagos comparten también un claro carácter oligotrófico, algo menos acentuado en el caso del Lago Somero debido a sus características morfológicas. Este lago presenta una profundidad máxima en torno a 0,5 m, con una zona perimetral en el que predominan biofilms y tapetes microbianos. Debido a su poca profundidad, se encuentra más expuesto a la remoción del sedimento por el efecto del viento, lo que facilita la movilización del material detrítico depositado en el lecho y con ello un cierto incremento de la disponibilidad de nutrientes. Por su parte, en el Lago Limnopolar, el cual presenta una profundidad máxima en su cubeta central en torno a 5 m, el bentos

se compone predominantemente del musgo *Drepanocladus longifolius* en la zona de la cubeta, estando sin embargo el talud desprovisto de vegetación.

La tesis aborda tanto aspectos fisiológicos (respiración y excreción de nutrientes), tróficos (estudio taxonómico de la dieta, perfil de ácidos grasos y fraccionamiento isotópico), reproductivos (tamaño y periodo de puesta), como comportamentales (movimientos migratorios y conducta de forrajeo) de estas especies, con un enfoque tanto descriptivo como experimental. Nuestras observaciones muestran como la reproducción de *Branchinecta gaini* se ajusta a un patrón temporal claramente acoplado al ciclo hidrológico, dando inicio en noviembre con el aumento de la temperatura y la mayor presencia de agua líquida, periodo en el cual se observa el inicio de las eclosiones. La presencia de hembras con huevos se extiende durante todo el verano austral, alcanzando tamaños de puesta promedio de 39 huevos, siendo estos máximos a mitad del verano cuando la producción en los lagos se incrementa.

Los experimentos del efecto de la temperatura en las tasas de respiración de *Branchinecta gaini* mostraron que esta especie exhibe una respuesta bimodal, en la cual, en una primera fase dentro del rango óptimo fisiológico, muestra un incremento a 4°C en el consumo de oxígeno hasta $13,4 \pm 4,7 \mu\text{IO}_2/\text{ind}/\text{h}$. Sin embargo, estas mismas tasas disminuyeron a 8°C. Finalmente, el rango de estrés máximo se observa entre 12° y 16°C, produciéndose incluso la muerte de algunos individuos. La excreción de nutrientes (i.e. fósforo y amonio) muestran el mismo patrón bimodal que las tasas de respiración.

En el caso concreto del anostráceo *Branchinecta gaini*, y en el Lago Somero en particular, se llevó a cabo un estudio de su ecología trófica por medio del análisis taxonómico de la composición de su dieta y el de su perfil de ácidos grasos. Los resultados mostraron una dieta compuesta de microalgas, ciliados y partículas detríticas disponibles en el lago, destacando una alta

presencia de diatomeas (73% de ítems ingeridos), seguido de las algas clorofíceas con un 18%. De las 23 especies de diatomeas observadas en el lago, 15 de ellas fueron observadas en el tracto digestivo, siendo las más consumidas las pertenecientes a los géneros *Navicula* sp., *Nitzschia* sp. *Pinnularia* sp. y *Gomphonema* sp., todas ellas con una morfología similar (i.e., alargadas y relativamente simétricas), pero siendo además los géneros más abundantes en el lago (excepto *Gomphonema* sp.), lo que sugiere que su consumo responde principalmente a la probabilidad de ser encontradas y no a una clara preferencia por determinadas morfologías. El índice de diversidad de Shannon para las especies de diatomeas observadas en el contenido del tracto digestivo mostró un ligero aumento a lo largo del verano austral, siendo máximo (2,42) y mostrando una saturación a finales de enero, durante el periodo en que las condiciones climáticas son más propensas para aumentar la producción primaria.

Un análisis complementario al anterior consistió en la caracterización del perfil de ácidos grasos de ejemplares de *Branchinecta gaini*, en este caso provenientes de ambos lagos (Somero y Limnopolar). Los ácidos grasos más abundantes fueron el palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, α -linoleico y el eicosapentaenoico (EPA). Estadísticamente, no se observaron diferencias significativas en la composición de ácidos grasos entre machos provenientes de ambos lagos, aun así los ejemplares provenientes del Lago Somero mostraron en términos porcentuales una mayor cantidad de ácido palmitoleico (26,5%), característico de diatomeas, en comparación con ejemplares provenientes del Lago Limnopolar (9,27% respectivamente), corroborando lo observado en el estudio taxonómico del contenido del tracto digestivo. No obstante, la mayor diferencia en cuanto a la composición de ácidos grasos se observó entre las hembras ovígeras y no ovígeras del Lago Somero, lo que respondería a una estrategia de reserva energética en hembras grávidas. En este caso las primeras mostraron mayor acumulación de ácidos

grasos, destacando la acumulación del ácido linoleico, mucho mayor también que la observada en los machos.

Con la intención de profundizar en estos aspectos de la ecología trófica de *Branchinecta gaini* se llevó a cabo un experimento consistente en describir y parametrizar el comportamiento del anostráceo frente a diferentes fuentes de alimentación, aisladas unas de otras, las cuales ya sea de forma recurrente u ocasional se encuentran disponibles en el lago. Nuestras observaciones sugieren que el patrón de conducta de *Branchinecta gaini* podría asemejarse a lo que se conoce como vuelos de Lévy (Lévy flights o Lévy walks en sus acepciones inglesas), consistentes en la realización de movimientos basados en desplazamientos cortos alternados con relocalizaciones aleatorias mediante desplazamientos más largos y menos frecuentes, lo que considerando las características de esta especie y la distribución parcheada del alimento podría resultar una estrategia óptima en la búsqueda de recursos. Este tipo de movimientos tienden a mostrar una distribución uniforme en el espacio, no obstante *B. gaini* muestra cierta tendencia a permanecer más tiempo en tres tipos de alimento: biofilms, algas filamentosas y tapetes microbianos, siendo en todos ellos, principalmente en los primeros, abundantes las diatomeas, lo cual concuerda con los resultados de las otras dos aproximaciones metodológicas. El comportamiento de forrajeo en lo referente al tipo de alimento seleccionado fue similar en ambos sexos, no observándose diferencias significativas al respecto, aunque otros resultados, como son los del fraccionamiento isotópico ($\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$), indican no obstante una mayor actividad de las hembras en la ingestión de alimento.

El estudio de la composición isotópica de la red trófica del Lago Somero a partir de muestras ambientales discriminó de forma clara a los productores primarios de los crustáceos, sugiriendo más claramente en el caso de *B. gaini* una relación trófica directa con las comunidades betónicas del lago, particularmente con los biofilms. Las variaciones en las composiciones

isotópicas de los anostráceos tras ser experimentalmente expuestos a distintas fuentes de alimento apuntaron en este mismo sentido, siendo además más marcadas en el caso de las hembras, debido probablemente a una mayor ingesta de alimento como se menciona anteriormente.

Con respecto al copépodo *Boeckella poppei*, nuestras observaciones sobre su comportamiento migratorio son el resultado de tres series de muestreos en el Lago Limnopolar, en donde se estudió la distribución vertical y horizontal durante el ciclo diario, complementado con la instalación en la columna de agua de trampas para capturar a los copépodos durante sus desplazamientos. *Boeckella poppei* exhibió un comportamiento migratorio a través de la columna de agua, tanto al inicio como al final del verano, es decir, con el lago cubierto por hielo y deshelado. Nuestros resultados muestran que son los estadios más tempranos, los copepoditos, los que presentan un comportamiento de migración vertical más intenso en comparación con los adultos. A pesar de lo anterior el ciclo de migración de los copépodos en el Lago Limnopolar es de menor intensidad, es decir, no se observa a toda la población de copépodos migrando de la superficie al fondo o viceversa, lo que sugiere que a falta de la existencia de motivaciones ecológicas que expliquen estos movimientos estos responderían a factores genéticos de la especie, ya que dicho comportamiento resulta efectivo en otras áreas de distribución. Así, ninguna de las hipótesis que más comúnmente explican la migración vertical como son la alimentación, la depredación, y el escape de la radiación ultravioleta parecen tener justificación en este lago. Por otra parte, cuando el lago permanece libre de hielo, el viento juega un papel importante en la distribución horizontal de los copépodos, ya que dependiendo del muestreo, las máximas abundancias se localizaron en el sotavento, con porcentajes entre el 30 y 60% de la población. Por otra parte, las trampas de migración muestran una mayor densidad de copépodos durante el bajada, dependiendo de la hora, en comparación con los que subían, lo que parece responder a la existencia de un descenso pasivo, mientras que el ascenso

se produce de forma activa, lo que permite al copépodo esquivar en mayor medida las trampas. A su vez, las inmersiones llevadas a cabo en el Lago Limnopolar confirman nuestras observaciones con respecto tanto a la composición del bentos como a la distribución de *Boeckella poppei* en la columna de agua. Así, el musgo *Drepanocladus longifolius* presenta una cobertura de la cubeta central de entorno al 90%. Por su parte los copépodos muestran una mayor acumulación en la proximidad del fondo del lago, donde en base a lo sugerido por otros estudios parece concentrarse la mayor producción en el lago.

En síntesis, el interés de la presente tesis reside en el hecho de que la región de la Antártida marítima constituye una de las zonas del planeta más sensibles al cambio climático, y una en la que con mayor rapidez se aprecian sus consecuencias. En este sentido, la tesis aporta conocimiento acerca de aspectos tanto fisiológicos, tróficos, reproductivos, como de conducta de las dos especies de crustáceos más abundantes en los lagos de la región, siendo estos últimos además particularmente sensibles al calentamiento global. Considerando la importancia que ambas especies tienen en el funcionamiento de las cadenas tróficas de estos lagos, el conocimiento que se aporta acerca de su ecología y fisiología resulta valioso para comprender el alcance que un cambio en el régimen climático de la región podría llegar a tener en las comunidades acuáticas en su conjunto, teniendo en cuenta además, y como así demuestra nuestro estudio, el claro efecto, ya sea directo o indirecto, que el incremento de las temperaturas tiene sobre la biología de estas especies, claves en esta región del planeta.

Capítulo 1

Introducción general

1.1. Limnología en el continente antártico

La Antártida es la región más inalterada del planeta, en la que además los procesos biológicos están notablemente controlados por la dureza del clima. Algunos de los factores que principalmente determinan la distribución y supervivencia de las especies son la temperatura y la disponibilidad de recursos. Bajo estas circunstancias, los organismos pueden desarrollar estrategias y dinámicas de supervivencia para sobrevivir.

La Antártida y las islas peri-antárticas se pueden catalogar en tres zonas según el clima (Holdgate, 1977). Una primera región está formada por las islas subantárticas, constituida por las Islas del Príncipe Eduardo, Kerguelen, Islas Heard, Isla de Macquarie y las Islas Georgia del Sur. El segundo conjunto lo compone el oeste de la Península Antártica, en el cual se incluye la Península Byers (Fig. 1), área de estudio de la presente tesis. La Península Byers se encuentra ubicada en las islas Shetland del Sur, que junto con el grupo de islas del Arco de Escocia y Bouvetøya, componen la región conocida como la Antártida marítima. Finalmente, el tercer conjunto corresponde a la Antártida continental, la cual en términos generales incluye la parte más interior del continente (Gibson *et al.*, 2006).

En la Antártida marítima, el clima es más benigno en comparación de la Antártida continental, por lo tanto posee mayor diversidad de flora y fauna, la cual la mayoría de las especies que habitan en los lagos de esta zona, tienen su origen en América del Sur, como se comentó previamente debido a las características, tanto geográficas como ambientales. La biodiversidad en los lagos antárticos se debe al resultado de la interacción de varias características tales como ubicación, salinidad, temperatura, luz, concentración de nutrientes y disponibilidad de alimentos y por supuesto la naturaleza de las especies de

individuos o poblaciones que habitan en estos lagos (Gibson *et al.*, 2006) cuyos componentes son principalmente de origen neotropical.

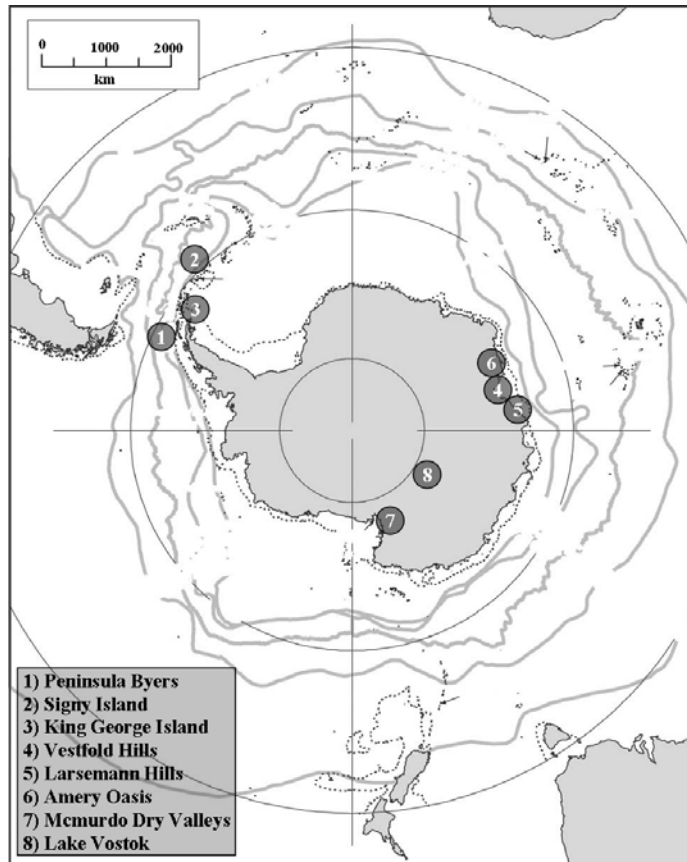


Figura 1. Mapa del continente antártico en el que se muestran distintas áreas con interés limnológico, entre las que figura la Península Byers, lugar dónde se han llevado a cabo los estudios de la tesis. Modificado a partir de Trathan *et al.* (2007).

1.2. Relevancia de los crustáceos en lagos antárticos

Las condiciones climáticas de la Antártida marítima, menos severas que las de la región continental, conllevan la existencia de un ciclo hidrológico más dinámico, con un periodo estival durante el cual el aumento de las temperaturas

produce el deshielo de los lagos, lo que desencadena distintos procesos que favorecen una mayor disponibilidad de luz y nutrientes, que a su vez hacen incrementar su productividad. Esto provoca por ejemplo, que la presencia de crustáceos en los sistemas acuáticos antárticos este muy restringida a la región marítima. Así, mientras por ejemplo la observación de copépodos es un hecho esporádico en lagos del área de McMurdo (Roberts *et al.*, 2004), especies de copépodos (*Boeckella poppei* y *Parabroteas sarsi*), anostráceos (*Branchinecta gaini*), e incluso insectos (los dípteros *Parochlus steinenii* y *Belgica antarctica*) presentan poblaciones estables en lagos de la región marítima (Convey y Block, 1996). En condiciones convencionales este tipo de organismos representan el eslabón que conecta la base de la red trófica (p.ej. fitoplancton y protozoos) con los niveles tróficos superiores, no obstante, y debido a la sencillez de las cadenas tróficas antárticas, son los crustáceos como los copépodos y los anostráceos los que representan el nivel superior como consumidores.

La importancia que se le otorga a algunos de estos crustáceos en el funcionamiento de los sistemas acuáticos antárticos es evidente (Camacho, 2006), y existen a este respecto estudios de su ecología, los cuales no obstante dejan sin resolver algunos aspectos de la misma, particularmente los relacionados con su ecología trófica. Por ejemplo, Björck *et al.* (1996a) sugieren una asociación del anostráceo *Branchinecta gaini* con la presencia de tapetes microbianos dominados por cianobacterias en lagos de la Isla James Ross, aunque esto no siempre ocurra debido probablemente a las características de dicho tapete. Igualmente, el anostráceo puede aparecer asociado a sedimentos orgánicos ricos en detritus. En cambio, Nedzarek y Pocięcha (2010) en su estudio llevado a cabo en diferentes lagos de la Isla Rey Jorge, asocian la presencia del anostráceo a una mayor presencia de diatomeas. Por otra parte, Pocięcha y Dumont (2008) especulan sobre la posibilidad de que tanto *B. gaini* como el copépodo *B. poppei* presenten un determinado solapamiento de nicho y

que compitan por el alimento, pero que también cabe la posibilidad de que el anostráceo se alimente de estadios juveniles de *B. poppei*.

1.3. Interacciones bióticas en lagos Antárticos

La estructura trófica de las comunidades de los lagos antárticos, como se ha comentado anteriormente, se caracteriza por su sencillez, estando funcionalmente dominadas por microorganismos. Cabe en este sentido cuestionarse la relativa importancia de los factores abióticos y bióticos como reguladores del funcionamiento de estos ecosistemas sometidos a un fuerte control físico. Distintas interacciones bióticas, como la depredación o reciclado de nutrientes, ejercidas por los crustáceos, podrían tener un efecto estructurador, a pesar del fuerte control físico que supuestamente aleja a estas comunidades del equilibrio (Camacho, 2006). En este sentido, estos sistemas constituyen un marco adecuado en el cual evaluar estos aspectos ecológicos. Igualmente, su vulnerabilidad permite considerarlos buenos candidatos para desarrollar estudios de respuesta ante la variación ambiental en la Antártida marítima (Camacho, 2012). En particular en la Península Byers, zona de alto interés limnológico (Quesada *et al.*, 2009) y en dónde se desarrollan los trabajos de esta tesis, se ha observado como un cambio en la duración de los periodos de deshielo puede llevar asociados cambios en los patrones de producción de los lagos y, previsiblemente, en las interacciones biológicas que albergan (Rochera *et al.*, 2010), afectando por ejemplo a las poblaciones de crustáceos presentes en ellos.

1.4. Aspectos de la ecología del anostráceo *Branchinecta gaini*

El anostráceo *Branchinecta gaini* (Daday, 1910) es la única especie de anostráceo (Fig. 2) presente en la Antártida marítima (Paggi, 1987), con una distribución que abarca América del Sur hasta la mitad de la Península Antártica

(Hawes, 2009; Fig. 4). Los estudios referentes su biología y ecología dentro del continente antártico son escasos comparado con los estudios de otras especies de en ambientes templados. El tamaño de esta especie, si se atiende a descripciones llevadas a cabo en poblaciones presentes en la Isla Rey Jorge (Jurasz *et al.*, 1983; Pociecha, 2007), varía de rango con una longitud máxima de en torno a 20 mm. Las etapas de desarrollo de *B. gaini* son nauplio, metanauplio, adultos (machos y hembras). El tamaño de puesta (i.e., número de huevos) oscila entre 11 y 46 huevos (Jurasz *et al.*, 1983), existiendo no obstante primeros registros de hembras portando hasta 200 huevos (Linder, 1941). *B. gaini* es una especie de anostráceo que habita en sistemas acuáticos con bajas conductividades. Por ejemplo, en los alrededores de la ciudad de Punta Arenas (Chile) se observó su presencia en lagunas con valores no superiores a 550 $\mu\text{S}/\text{cm}$, además de encontrarse también en sistemas oligotróficos y no afectados por contaminación (De los Ríos *et al.*, 2008). En el continente antártico, en la cala Potter en particular, en un estudio limnológico extensivo de la zona, su distribución se ha visto vinculada a la presencia de vegetación acuática más que ligeras diferencias en la salinidad (Paggi, 1987).



Figura 2. Fotografía de *Branchinecta gaini*, la única especie de anostráceo presente en la Antártida marítima.



Figura 3. Fotografía de un adulto de *Boeckella poppei*, copépodo presente en numerosos lagos de la región marítima de la Antártida.

El ciclo reproductivo en organismos acuáticos puede implicar la existencia de una fase de puesta de huevos de resistencia conocidos como quistes, que soportan periodos de estrés ambiental como la desecación y la congelación (Eriksen y Belk, 1999; Dumont y Ali, 2004). La fase de latencia de *B. gaini* podría prolongarse de junio a octubre, periodo en el que no se observan anostráceos vivos (Jurasz *et al.*, 1983), periodo durante el cual la población sobrevive por medio de la formación de estos quistes. En los trabajos citados por Jurasz *et al.* (1983) ya queda constancia de que los huevos de los anostráceos necesitan pasar por un periodo de desecación y bajas temperaturas para su desarrollo. Gibson y Bayly (2007) sugieren que *B. gaini* colonizó los lagos de la Antártida marítima después de la glaciación del Holoceno, logrando permanecer en un medio hostil por medio de la formación de estos quistes. Así, estos mismos autores comentan la presencia de huevos de esta especie en sedimentos de lacustres con una antigüedad de 5500 años en la Isla Signy (Jones *et al.*, 2000), ubicada en el mismo archipiélago que la Península Byers. Otros autores por su parte atribuyen precisamente a la capacidad dispersiva de estos quistes la distribución que presenta esta especie en el continente (Hawes, 2009; Fig. 4).

En cuanto a su ecología trófica, las pocas observaciones al respecto, lo describen como un filtrador, con un comportamiento detritívoro y herbívoro, alimentándose de sedimentos orgánicos y comunidades del fondo (Paggi, 1996). A su vez, esta especie muestra capacidad para manipular los alimentos con sus apéndices abdominales (Hawes, 2008) descomponiendo diferentes tipos y tamaños de comida (detritus, algas, cadáveres de anostráceos).

1.5. Aspectos de la ecología del copépodo *Boeckella poppei*

El copépodo calanoide *Boeckella poppei* (Fig. 3), que anteriormente presentaba la clasificación taxonómica de *Pseudoboeckella silvestri* (Bayly, 1992), ha sido

objeto de un mayor número de investigaciones en comparación con el anostráceo *B. gaini*. El copépodo se encuentra presente en lagos de la Península Antártica, Isla Signy, América del Sur y Amery Oasis en el este de la Península Antártica (De los Ríos-Escalante y Carreño, 2012; Bayly *et al.*, 2003). Dicha especie se encuentra en un amplio rango de condiciones de temperatura, oxígeno y pH (Pociecha y Dumont, 2008), siendo capaz de también de mostrar resistencia a la radiación ultravioleta mediante la acumulación de compuestos fotoprotectores (Rautio y Tartarotti, 2010). No obstante, dentro del rango biogeográfico de distribución, puede mostrar diferencias notables entre distintas poblaciones. En este sentido, al este de la Península Antártica, los ejemplares de *B. poppei* presentan un tamaño reducido, mostrando una modificación en la quinta pata del macho, probablemente por las condiciones extremadamente oligotróficas de los lagos; en comparación los individuos que se encuentran en otras zonas de la Península Antártica y América del Sur, los cuales presentan un mayor tamaño.

Las etapas de desarrollo de *B. poppei* se constituyen de seis estadios de nauplios, cinco de copepoditos y una de adultos (macho y hembra). Se trata de una especie que ha sido capaz de colonizar diferentes tipos de ambientes, por medio de la producción de huevos de resistencia, pigmentación por carotenoides como protección ante la radiación ultravioleta (Jiang *et al.*, 2012). *Boeckella poppei* se considera una especie filtradora, la cual no es capaz de seleccionar partículas de alimento del plancton (Weller, 1977; Almada *et al.*, 2004); sin embargo, estudios recientes han estudiado diferentes fracciones del plancton sobre las cuales *B. gaini* se alimenta según las características del lago mostrando un comportamiento planctónico o bentónico (Hansson y Tranvik, 2003; Almada *et al.*, 2004; Butler *et al.*, 2005).

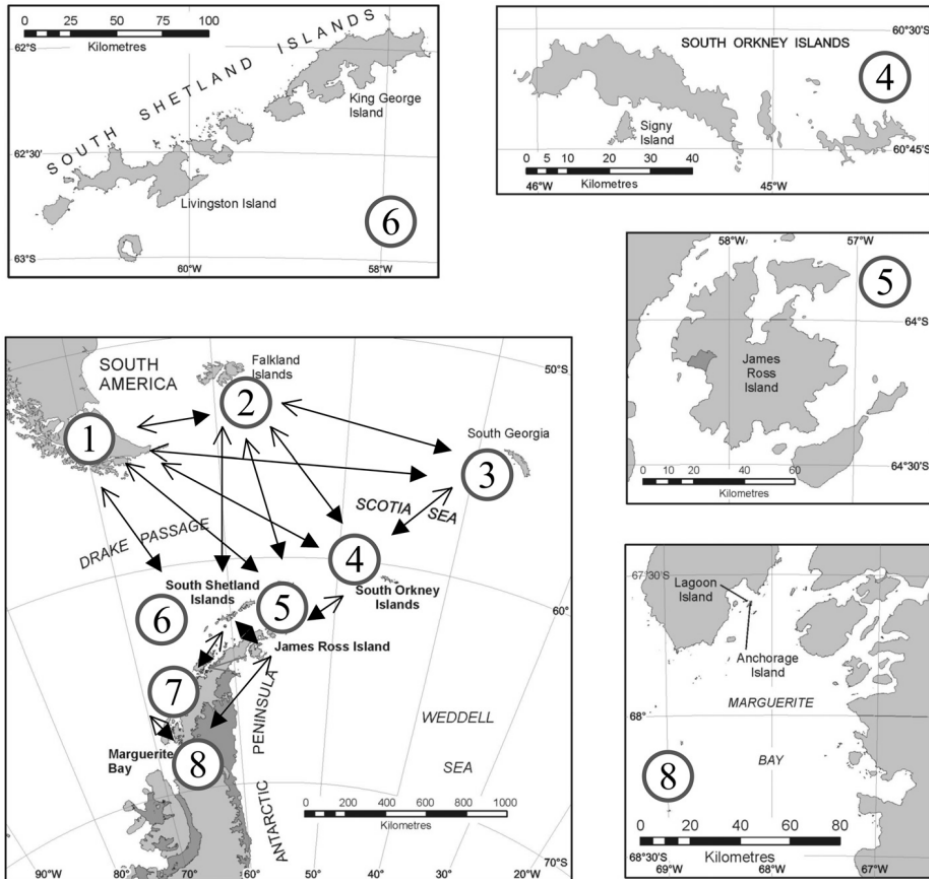


Figura 4. Distribución y origen de *Branchinecta gaini* propuesta por Hawes, (2009). Lugares en dónde se cita su presencia: (1) Chile, (2) Islas Falkland, (3) Georgia Sur, (4) Islas Orkney Sur, (5) Isla James Ross, (6) Islas Shetland del Sur, (7) Palmer Land, (8) Bahía Margarita. Extraído de Hawes (2009).

1.6. Objetivos y estructura de la tesis

Los objetivos de la tesis son: 1) Estudiar los principales aspectos de la ecología de las especies de crustáceos dominantes en algunos lagos de la Península Byers (*Branchinecta gaini* y *Boeckella poppei*), y por extensión de toda la región marítima de la Antártida; 2) Determinar las interacciones de ambas especies con el resto de componentes de la cadena trófica, comprobando que recursos utilizan

como fuente de alimento y mediante qué mecanismos; 3) Determinar el tamaño de la puesta (i.e., número de huevos por hembra) y comprobar si hay cambios durante el período reproductor, es decir, determinar si hay variación estacional en el tamaño de la puesta; 4) Estudiar la respuesta fisiológica de ambas especies frente a un aumento de la temperatura; 5) Estudiar aspectos de su comportamiento como pueden ser conductas migratorias o de selección de alimento.

La tesis se encuentra estructurada en 7 capítulos. En el **Capítulo 1 (Introducción)** se presenta el marco conceptual e hipótesis de partida, así como una revisión sobre los antecedentes de las dos especies en las cuales se enfoca la tesis: el anostráceo *B. gaini* y el copépodo *B. poppei*. El **Capítulo 2 (Métodos)** incluye la metodología en común de los capítulos de la tesis. La metodología particular utilizada en cada caso se encontrará en el capítulo correspondiente. El área de estudio y las características de la Península Byers se narran en este capítulo, destacando los dos lagos en los cuales se centra la tesis: Lago Somero y Lago Limnopolar. El **Capítulo 3 (Puesta de huevos de *B. gaini*)** se enfoca en *B. gaini*, estudiando una parte de su ciclo de vida como es el número de huevos por puesta y su variación estacional según las características ambientales y la dinámica del lago durante el verano austral, se pretende discutir en qué medida este ciclo está acoplado a las dinámicas productivas de estos lagos, sometidos como están en parte a efectos estocásticos. El **Capítulo 4 (Metabolismo de *B. gaini* y *B. poppei*)**: se pretende valorar la respuesta fisiológica de ambas especies a un incremento de la temperatura, tratando con ello de prever su posible respuesta a un cambio del régimen climático de la zona. El estudio consiste en la medición del consumo de oxígeno por parte de *B. gaini* y *B. poppei* así como la cantidad de nutrientes que liberan al medio en respuesta a un aumento experimental de la temperatura. El **Capítulo 5 (Dieta y perfil de ácidos grasos de *B. gaini*)** incluye una primera parte del estudio de la dieta del anostráceo, basado en el análisis taxonómico del contenido de su tracto

digestivo y perfil de ácidos grasos. El **Capítulo 6 (Comportamiento y composición isotópica de *B. gaini*)**, constituye una continuación del anterior, en el cual se explora el comportamiento de forrajeo mediante un estudio experimental consistente en la exposición del anostráceo a diferentes recursos alimenticios. El capítulo incluye el estudio de la red trófica mediante el uso de isótopos estables. Finalmente, el **Capítulo 7 (Migración vertical y distribución horizontal de *B. poppei*)** consiste en estudiar el comportamiento migratorio y distribución horizontal de *B. poppei* en el Lago Limnopolar en dos situaciones: con el lago deshelado y con cobertura de hielo en la superficie, analizando la influencia de distintos factores sobre estos patrones de distribución.

Capítulo 2

Material y métodos

Este capítulo recopila la información referente los contextos climáticos y geológicos del área de estudio, así como la información relativa a los distintos procedimientos analíticos llevados a cabo con las muestras de agua y biológicas. Las metodologías de muestreo y/o experimentales específicas de cada estudio realizado en la tesis se encuentran detalladas en sus respectivos capítulos.

2.1. Área de estudio

La Península Byers (latitud 62°34 S, longitud 61°13' O) está situada en el oeste de la Isla Livingston, perteneciente al conjunto de Islas Shetland del Sur en la Antártida marítima (Fig. 1). La superficie de Byers es de aproximadamente 60,6 km² estando buena parte de esta extensión libre de hielo durante el verano austral. Byers está catalogada como un Área de Especial Protección Antártica (ASPA 126), así como un sitio de especial interés científico (SSSI) por su valor ecológico, geológico, histórico y arqueológico. De acuerdo a la cronología de desglaciación expuesta por Björck *et al.*, (1996b), el retroceso del glaciar sobre la superficie de la Península Byers se inició hace 4500 años, con una parte considerable de la región libre de hielo tan sólo 500 después de este inicio. Este proceso de desglaciación y la topografía asociada al mismo ha permitido la formación de numerosos lagos en la zona (Quesada *et al.*, 2009). La mayoría de los cuerpos de agua en la península por lo general tienen niveles bajos de conductividad (20-105 µS/cm) y nutrientes (Toro *et al.*, 2007).

El área central de la Península Byers está constituida por una meseta con elevaciones que oscilan entre 80 y 265 metros. La costa, con una longitud aproximada de 71 km, es en parte irregular y accidentada con elevaciones

rocosas, precipicios, pero también grandes extensiones de playas de arena. En algunas zonas de la Península Byers, a causa de los procesos periglaciares (López-Martínez *et al.*, 1996), las rocas han sido fragmentadas mediante erosión geomórfica asociada a procesos de congelamiento, los que da lugar a la presencia de numerosos detritos, gravilla y arena (Fig. 2).

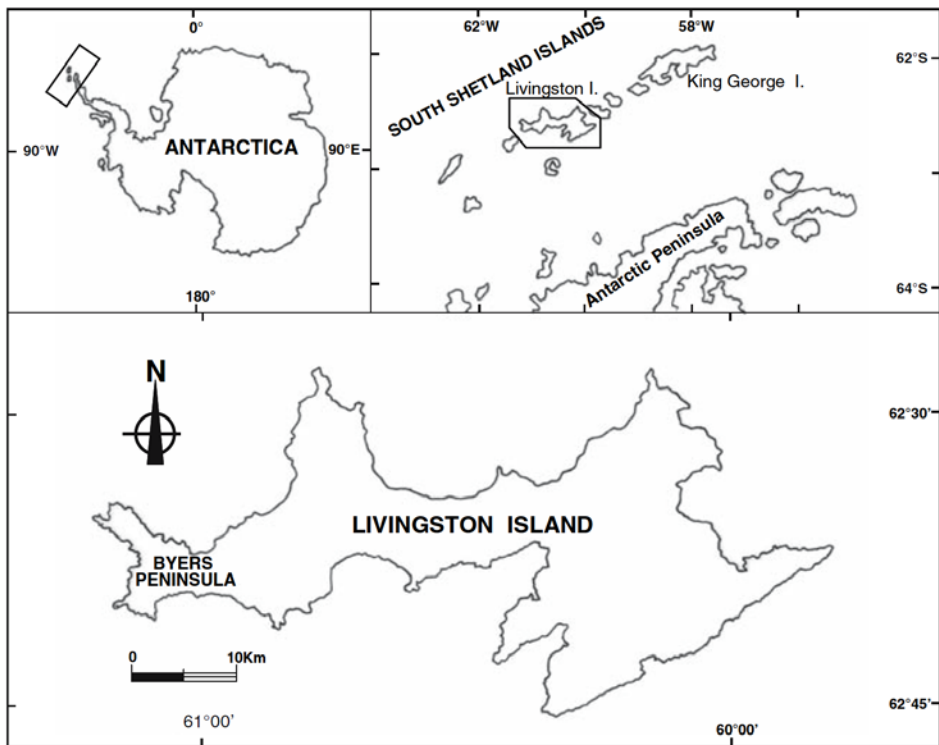


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio dentro del continente antártico. La Península Byers se encuentra al este de la Isla Livingston, la cual a su vez forma parte del archipiélago islas Shetland del Sur ubicado a algo más de 100 km al norte de las costas de la Península Antártica.

Desde un punto de vista climático, y debido a su ubicación en la región marítima de la Antártida, la Península Byers se caracteriza por presentar temperaturas más elevadas en comparación con la Antártida continental. Así, en el verano la temperatura media oscila entre 1-3°C, con mínimas y máximas

diarias de en torno a -10°C y 10°C respectivamente. No obstante, en el invierno las temperaturas pueden alcanzar valores mínimos de hasta -32°C (Toro *et al.*, 2007). La precipitación anual media, concentrada principalmente durante el verano austral, cuando incluso es común que se produzcan en forma de agua líquida, oscila entre 700 y 1000 mm (Bañón, 2001).

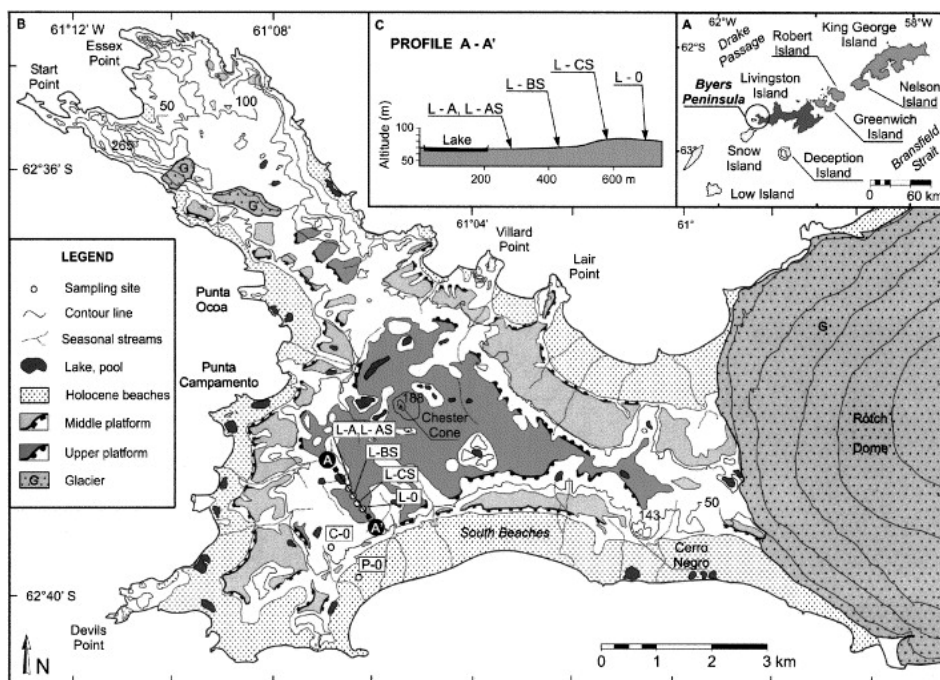


Figure 2. Mapa geomorfológico de la Península Byers en el que se muestra la naturaleza de los diferentes depósitos geológicos. Extraído de Navas *et al.* (2005).

Un estudio limnológico íntegro de los principales sistemas acuáticos de la Península Byers se encuentra compilado en la tesis “Ecología funcional de las comunidades microbianas de los sistemas acuáticos epicontinentales de la Península Byers (Isla Livingston, Antártida)” realizada previamente por el Dr. Carlos Rochera en el contexto del mismo grupo de investigación en el que se ha

desarrollado la presente tesis. Los trabajos de la presente tesis se centran en el estudio de las poblaciones de *Branchinecta gaini* y *Boeckella poppei* presentes en dos lagos representativos de esta área, los lagos Somero y Limnopolar (Fig. 3), ambos ubicados en la zona de la meseta de la península (Fig. 4). El Lago Somero tiene una profundidad máxima de 0,7 m y la conductividad específica no supera por lo general valores de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$. El lago es oligotrófico y el bentos está compuesto por biofilms de diatomeas y cianobacterias (Toro *et al.*, 2007; Rochera *et al.*, 2010, 2013). El Lago Limnopolar es algo más profundo (5 m) y con una superficie también superior (22.172 m²). A diferencia del Lago Somero, el fondo de este último se encuentra cubierto por el musgo acuático *Drepanocladus longifolius*. La separación entre ambos cuerpos de agua es de 200 metros aproximadamente, y entre ellos corre un pequeño arroyo que los conecta (Fig. 5) en donde el flujo del caudal va del Lago Somero hacia el Lago Limnopolar (Toro *et al.*, 2007; Rochera *et al.*, 2010).



Figura 3. Imágenes de los dos lagos, Somero (arriba) y Limnopolar (abajo) en dónde se han llevado a cabo los trabajos de esta tesis. Ambos son representativos de la tipología de lagos presentes en La Península Byers, una de las áreas más ricas desde el punto de vista limnológico de la región de la Antártida Marítima.

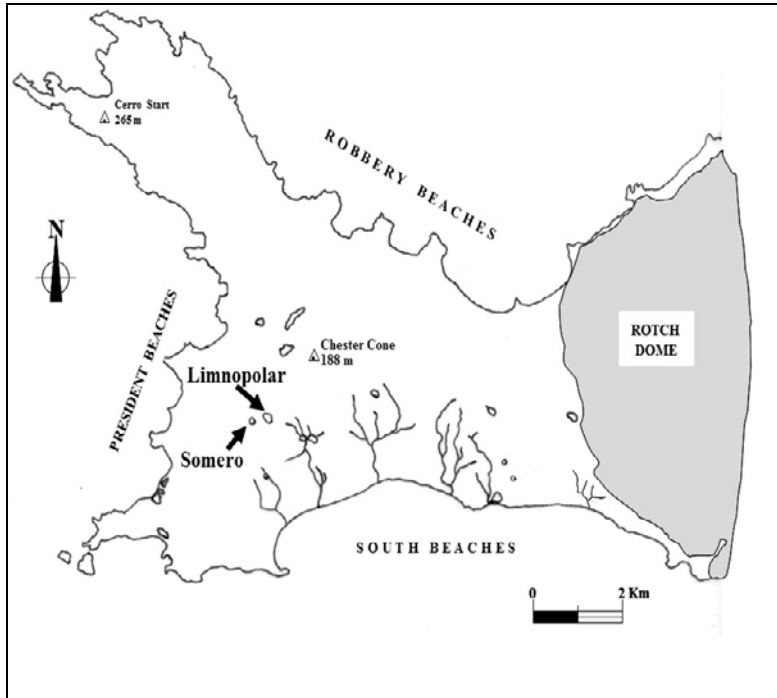


Figura 4. Localización en la meseta central de la Península Byers de los lagos Somero y Limnopolar.

2.2. Obtención de datos meteorológicos

Los datos meteorológicos fueron obtenidos a partir del registro en continuo de una estación meteorológica instalada entre los dos lagos de estudio (Fig. 6). Los parámetros ambientales adquiridos de la estación fueron la temperatura del aire, luz (PAR y radiación global), velocidad y dirección del viento, y humedad relativa. El registro de la temperatura del aire se llevó a cabo en dos alturas. Un primer sensor modelo HMP45C se instaló a 1,7 m de altura, mientras que otro (modelo: 107 Probe), destinado al registro de la temperatura cerca del suelo, se instaló a 10 cm de la superficie. El sensor de humedad (modelo: Vaisala Humicap 180) fue instalado también a 1,7 m de altura y protegido de la radiación solar, junto con la primera de las sondas de temperatura. Los registros

de la velocidad (m/s) y dirección (grados) del viento se realizaron con un anemómetro (modelo Young 05103) instalado a 2,5 m del suelo a unos metros de distancia del resto de sensores. Finalmente, el sensor de radiación solar (modelo: CM5) se instaló a 1,9 m, y realizó registros integrados (30 min) de la radiación global medida como kilojulio por metro cuadrado. Todos los registros se realizaron en intervalos de 30 min, incluyendo valores promedio, máximos y mínimos durante ese periodo, excepto en el caso de la radiación global, que consistió en el valor integrado de radiación recibida durante ese periodo de 30 minutos. Adicionalmente, la proximidad de la estación a lago Somero permitió la instalación de dos sondas sumergidas en el mismo que permitieron el registro continuo de la temperatura y conductividad del agua (modelo: CS547).



Figura 5. Arroyo que une los lagos de estudio, en donde la dirección del caudal fluye del Lago Somero hacia el Lago Limnopolar.



Figura 6. Estación meteorológica ubicada entre los lagos Somero y Limnopolar.

2.3. Parámetros físico-químicos *in situ* de las masas de agua

Los parámetros físico-químicos *in situ* fueron medidos utilizando una sonda multiparamétrica (modelo 556 MPS) de Yellow Springs Instrument (YSI®), equipada con sondas de temperatura, pH, y conductividad. Las mediciones de la radiación fotosintéticamente activa (PAR; 400-700 nm) en la columna de agua se llevaron a cabo con una sonda plana (sensor 2π) modelo Li-1925 conectada a data logger (modelo LI-1000, Li-Cor®). Las unidades de irradiancia se expresan como $\mu\text{moles}/\text{m}^2\text{s}$.

Concentración de nitrato y nitrito en agua

El análisis se llevó a cabo con muestras de agua previamente filtradas por filtros GF/F (Whatman). El análisis consistió en la reacción cuantitativa de reducción de nitrato a nitrito (APHA, 1992). Para conseguir esta reducción se hace pasar la muestra tamponada (pH=8) con solución alcalina de cloruro amónico (pH=8)

a través de una columna reductora de cadmio. Los primeros 50 ml de la muestra se utilizan como lavado y se desechan, los siguientes 25 ml se utilizan para el análisis. Para medir los nitritos presentes en la muestra se añadió en primer lugar sulfanilamida, la cual forma una sal diazónica, y posteriormente se añadió N-(1-naftil)-etilendiamina, la cual se une cuantitativamente a la amina aromática y genera una coloración rojo-púrpura. La Absorbancia de las muestras fue posteriormente medida a una longitud de onda de 543 nm con un espectrofotómetro (Beckman DU-7). Las concentraciones se obtuvieron interpolando las absorbancias obtenidas, después de sustraer el blanco, con una recta de calibrado obtenida con distintas concentraciones de patrón (NaNO_3). Las concentraciones obtenidas representan la suma de las de nitrato y nitrito presentes en la muestra.

Concentración de fósforo reactivo soluble en agua

El análisis del fósforo reactivo soluble se llevó a cabo con muestras de agua previamente filtradas por filtros GF/F (Whatman) siguiendo el método de reducción con ácido ascórbico (APHA, 1998; RISCC, 2002). Los iones fosfato en medio ácido reaccionan con el molibdato para dar ácidos compuestos como el fosfomolibdico, de color amarillo, el cual, por acción de agentes reductores apropiados, se convierten en compuestos de color azul, que según las condiciones de trabajo se puede hacer específico para el ion fosfato. El procedimiento analítico consistió en añadir en una proporción 1:5 (reactivo: muestra) una mezcla de molibdato amónico ($\text{Mo}_7(\text{NH}_4)_6$), ácido sulfúrico diluido (H_2SO_4), tartrato de antimonio y potasio ($(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_2\text{SbK}$) y ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$). Después de 15 minutos se midió la densidad óptica a una absorbancia de 882 nm. Las concentraciones se obtuvieron interpolando las absorbancias obtenidas, después de sustraer el blanco, con una recta de calibrado obtenida con distintas concentraciones de patrón (KH_2PO_4).

Concentración de amonio en agua

La medición de la concentración de amonio (NH_4) se llevó a cabo con muestras de agua previamente filtradas por filtros GF/F (Whatman) siguiendo el método de azul de indofenol modificado de Mackereth *et al.* (1978). El método se basa en la formación del compuesto azul de indofenol mediante la reacción del amoniaco con fenol junto con hipoclorito bajo la presencia de nitroprusiato, el cual actúa como catalizador. Una vez finalizada la reacción se midieron las absorbancias a una longitud de onda de 635 nm. Las concentraciones se obtuvieron interpolando las absorbancias obtenidas, después de sustraer el blanco, con una recta de calibrado obtenida con distintas concentraciones de patrón (KH_2PO_4).

Análisis del fraccionamiento isotópico de C y N en muestras biológicas

Las relaciones isotópicas de carbono y nitrógeno a partir de las muestras biológicas fueron obtenidas mediante espectrometría de masas (IRMS) siguiendo el método descrito por Fry *et al.* (1992) con un espectrómetro de masas (ICP-MS NexION; Perkin-Elmer) de los servicios de la Universidad Autónoma de Madrid. Las proporciones relativas de los isótopos se expresan como valores delta (δ), que muestran estas proporciones como la desviación en partes por mil de una muestra relativa a un patrón. Los patrones de referencia utilizados en el caso carbono y el nitrógeno fueron el V-PDB (Pee Dee Belemnite Carbonate) y el nitrógeno atmosférico respectivamente.

Las fórmulas utilizadas para el cálculo fueron las siguientes:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{muestra}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} \right)_{\text{VPDB}}} - 1 \right] \cdot 1000$$

$$\delta^{15}\text{N} = \left[\frac{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{muestra}}}{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{Aire}}} - 1 \right] \cdot 1000$$

2.4. Análisis del perfil de ácidos grasos de *Branchinecta gaini*

La extracción de lípidos y el análisis de ácidos grasos se llevó a cabo a partir de muestras liofilizadas siguiendo el método descrito por Navarro *et al.*, (1992), cuyo proceso de análisis se divide en cuatro partes principales, utilizando solventes de grado analítico (Merck). Inicialmente se llevó a cabo una extracción y conservación de los lípidos totales con cloroformo metanol (ratio 2:1 v/v), añadiendo 0,01% de concentración final de butilhidroxitolueno (BHT) para que actuase como antioxidante. Posteriormente, y tras la adición de ácido graso nonadecanoico (19:0) de una pureza del 99% (Sigma Chemical) que actúa como referencia interna para la validación del proceso, se realizó la transesterificación de los ácidos grasos presentes en el extracto durante toda una noche. Transcurrido este tiempo, se llevó a cabo la extracción de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) obtenidos utilizando hexano/dietil éter (ratio 1/1 v/v). Finalmente, se llevó a cabo el análisis de la composición de lípidos mediante cromatografía de gases con un cromatógrafo Fisons Instruments GC 8000 (Thermo Electron) equipado con una columna TR-WAX

(Teknokroma) utilizando helio como gas transportador y un horno con un gradiente de temperatura de 50 a 220°C.

2.5. Identificación y recuento de algas al microscopio

Las muestras de algas se fijaron con lugol (ml lugol cada 100 ml de muestra). Para el análisis de las muestras utilizamos el método de Uthermöhl (1958) para la sedimentación. La longitud de las torres de sedimentación varió en función del volumen empleado entre 50 y 100 ml, prolongando el periodo de sedimentación sobre las cubetas entre 24 o 48 horas respectivamente. El recuento de los organismos se llevó a cabo con un microscopio invertido (DIC) contando el número de células por campo. Por lo general, los resultados se refieren a un volumen determinado, en el caso concreto del estudio de la dieta del anostráceo *Branchinecta gaini* se realizó el análisis del tracto digestivo de cada anostráceo, por lo que los resultados se expresaran células por individuo.

2.6. Análisis al microscopio de *Boeckella poppei* y *Branchinecta gaini*

Las muestras de zooplancton se colectaron durante las campañas antárticas antes mencionadas. Para la colecta del zooplancton se emplearon redes de arrastre (20 y 30 μm), según el tipo de muestreo, cuantitativo o cualitativo, se tomaron muestras tanto a lo largo de la columna de agua como de manera horizontal.

Las muestras se conservaron en formol al con una concentración final de 4% (muestras para recuentos cuantitativos, cualitativos, estudios de biometría, contenido del tracto digestivo, migración de zooplancton). En otros casos, los individuos se transportaban por medio de botes de plástico, para su transporte al campamento debido a que algunos experimentos requerían de ejemplares vivos. Las exploraciones de los ejemplares de zooplancton (i.e.,

disección del tracto digestivo, tamaño, recuentos, identificación de estadio) se llevaron a cabo con un microscopio binocular (Nikon® modelo TMS) y un microscopio estereoscopio (Nikon® eclipse TE2000-S), utilizando un aumento 4x para realizar las medidas corporales y 10x para la identificación de los estadios de desarrollo. La observación del saco ovígero de una hembra de *Boeckella poppei* se realizó con microscopía electrónica de barrido (SEM) siguiendo la metodología descrita por Hernández-Orts *et al.* (2012) con la finalidad de observar su morfología.

El análisis del contenido del tracto digestivo de *Branchinecta gaini* se realizó por medio de la disección de los individuos para la obtención del contenido de su tracto digestivo se realizó por medio de estiletos bajo su inspección a través de un microscopio estereoscopio previamente detallado. Los ejemplares se lavaron previamente con agua Milli-Q para eliminar cualquier elemento ajeno al interior del tracto digestivo. Una vez obtenido el contenido del tracto, las muestras fueron homogeneizadas y concentradas utilizando torres de sedimentación de 50 ml con cámaras de fondo transparente siguiendo el método propuesto por Utermöhl (1958) para hacer el recuento del fitoplancton del interior del tracto digestivo. Posteriormente, se llevó a cabo la identificación taxonómica del fitoplancton, en donde en el caso de las diatomeas, se llegó a nivel de especie cuando fue posible, por medio del uso de claves (Ettl, 1978; Förster, 1982; Kopalova, 2009; Kopalova y Van de Vijver, 2013).



Figura 7. Crustáceos dominantes en la Península Byers, el anostráceo *Branchinecta gaini* (arriba) y el copépodo *Boeckella poppei* (abajo).

Capítulo 3

Tamaño de puesta y estrategia reproductiva de *Branchinecta gaini* Daday, 1910, (Crustacea: Anostraca) en un lago somero de la Península Byers, Antártida marítima

3.1. Introducción

En toda la extensión de la Antártida marítima los organismos están expuestos a continuos cambios ambientales como son la variación en la temperatura del aire y del agua, patrón de luz, flujo de nutrientes, salinidad, viento y conductividad entre otros. Estos cambios influyen en la dinámica y estrategias de supervivencia de los organismos, como son por ejemplo modificaciones en las reservas de grasa, aprovechamiento de diferentes fuentes de alimentación y formación de huevos de resistencia, entre otros (Laybourn-Parry, 2002; Benvenuto *et al.*, 2015). En los ambientes en los que el agua es un recurso limitado, como en sistemas temporales o en lagos antárticos algunos, de ellos presentan un periodo de congelación, el cual afecta principalmente a la superficie de los mismos. Bajo estas circunstancias, los organismos tienen estrategias para garantizar la continuidad de la especie asegurando el éxito reproductivo, ya sea en ese momento o en el siguiente ciclo reproductor. La puesta de huevos por parte de los organismos que pueden ser de desarrollo inmediato o bien huevos de resistencia conocidos como quistes, soportan largos periodos de estrés ambiental como la desecación y la congelación (Eriksen y Belk, 1999; Dumont y Ali, 2004). Existe un amplio registro de organismos de diferentes clases que realizan una puesta o varias puestas con un número de huevos variable. Esta variabilidad ocurre tanto en organismos que tienen capacidad de producir una puesta única por temporada reproductora como en aquellos en que los beneficios proceden tanto del número de descendientes por puesta como del número de intentos por temporada reproductora, asegurando la supervivencia en un futuro (Paggi, 1987; Crick *et al.*, 1983; Gil-Delgado *et al.*, 2005; Sanz-Brau *et al.*, 2010).

Independientemente de si los organismos presentan puestas simples o múltiples, existen varios factores que podrían explicar las variaciones en cuanto al número y tamaño de huevos que producen. Estos son por ejemplo, el tamaño

de la madre, la cantidad de recursos disponibles para la descendencia o determinadas variables ambientales (Peck, 2004; O'Sullivan y Reynolds, 2004; Dumont y Ali, 2004; Dadarat *et al.*, 2011). Es de interés explorar si estas variaciones ocurren también en ambientes caracterizados por condiciones extremas pero también variables a lo largo de un ciclo anual como son algunas regiones polares. Así por ejemplo, Roberts *et al.* (2004) observaron que en el Lago Hoare (Taylor Valley, Antártida), permanentemente cubierto de hielo y con un hipolimnion anóxico (cerca de los 28 m), los ciliados son capaces de formar quistes en lo que denominan periodo de sequía (cold dry period) del lago y eclosionar cuando las condiciones son favorables, incluso, se ha observado como a pesar de la existencia de agua líquida por debajo de la cubierta de hielo que garantice la continuidad del ciclo, se produce igual el fenómeno de diapausa (Brendonck *et al.*, 1996).

La mayor parte de la información sobre la variación en el tamaño de la puesta en animales procede de estudios sobre aves de las regiones templadas (Crick *et al.* 1993; Dhondt *et al.*, 2002; Gil-Delgado *et al.*, 2005), pero entre los crustáceos se conocen también varios ejemplos en los cuales el número de huevos varía en función de distintos factores como periodos de sequía, baja o alta temperatura, bajos niveles de oxígeno, limitación de recursos alimenticios, depredación, competencia, entre otros (Brendonck y De Meester, 2003; Bayly *et al.*, 2003; Sanz-Brau *et al.*, 2010; Dararat *et al.*, 2011). Respecto al anostráceo *Branchinecta gaini*, existe muy poco conocimiento acerca de su capacidad de ajustarse a patrones estacionales y la variación en el número de huevos por hembra durante la temporada reproductora. Como ocurre con otros invertebrados antárticos, el número de estudios con respecto a la biología de este anostráceo es relativamente reducido, y en particular en la Península de Byers estos se limitan a descripciones poco profundas de su distribución en la zona (Toro *et al.*, 2007).

Los anostráceos son por lo general ovíparos (liberan el embrión en forma de quiste), aunque algunas especies de *Artemia* pueden mostrar ambos comportamientos reproductivos, oviparidad y ovoviviparidad. Después de la cópula los huevos son fertilizados dentro de la hembra dando inicio al desarrollo embrionario. El embrión permanece envuelto por varias membranas (membrana del embrión, cutícula embrionaria y envoltura terciaria con varias capas y texturas) las cuales le aíslan permitiendo únicamente el paso de pequeñas moléculas como gases, de modo que las capas superiores le brindan aislamiento térmico y protección mecánica (Belk, 1987; Dumont y Negrea, 2002). El tiempo en el que el embrión queda protegido dentro del quiste con el desarrollo suspendido se conoce como periodo de diapausa (Eriksen & Belk, 1999). El tamaño de puesta es específico para cada especie, por ejemplo en especies del género *Streptocephalus* las hembras ponen entre 100 y 600 huevos realizando varias puestas durante su ciclo (Brendonck *et al.*, 1996; Dumont y Negrea, 2002).

Algunos autores sugieren que los anostráceos dan inicio a su etapa reproductora cuando perciben un cambio en la conductividad del agua (Bayly *et al.*, 2003; Brendonck y De Meester, 2003; Gibson y Bayly, 2007; Pocięcha y Dumont, 2008). Los quistes por lo general caen al sedimento (Dumont y Negrea, 2002) y permanecen en un periodo de diapausa como es el caso de los copépodos calanoides (Wetzel, 2001; O'Sullivan y Reynolds, 2004). Dichos huevos o quistes eclosionan cuando las condiciones vuelven a ser óptimas, lo que generalmente se atribuye a cambios en la humedad y/o la temperatura como factores desencadenantes, (Brendonck *et al.*, 1996) así como algunos autores lo atribuyen a un aumento en la temperatura del agua, aumento en la conductividad y concentraciones altas de O₂ en el medio, contacto con el agua o bien un aumento en la intensidad lumínica (Eriksen y Belk, 1999; Dumont y Negrea, 2002; Peck, 2004; Thiel y Watling, 2013). Por otra parte, algunos autores sugieren que la disponibilidad de alimento influye directamente en el

tamaño de puesta y que la temperatura determina la tasa de producción de huevos (Wetzel, 2001; O'Sullivan y Reynolds, 2004).

El objetivo del presente capítulo es determinar distintos aspectos del ciclo de vida de *B. gaini*, como son la variabilidad asociada a el número de huevos por puesta y cuáles pueden ser los factores desencadenantes de la eclosión, observando su dinámica y posible relación con factores ambientales y/o tamaño corporal de las hembras. Estos aspectos del ciclo de vida pueden aportar conocimiento sobre los factores que justifican su distribución en el continente antártico, así como predecir posibles variaciones de la misma como consecuencia de un cambio del clima en la región.

3.2. Material y métodos

Obtención de muestras y estudio morfológico de Branchinecta gaini

Para explorar las variaciones estacionales en el tamaño de puesta, se llevó a cabo una captura de hembras ovígeras de *B. gaini* con una cadencia aproximadamente quincenal desde el 27 diciembre de 2008 el 9 febrero de 2009 en el Lago Somero. El número de ejemplares capturados en cada uno de los muestreos varió generalmente entre 6 y 10, obteniéndose finalmente un total de 33 hembras en estado de gravidez. Las hembras recolectadas se conservaron en viales de forma independiente con formol (4% concentración final) y se mantuvieron refrigeradas hasta su análisis. Adicionalmente al estudio del saco ovígero, se realizaron distintas medidas de las hembras según las propuestas por Hontoria y Amat (1992). En nuestro caso se seleccionaron tres en particular, siendo estas la longitud total sin considerar los cercópodos finales, longitud considerando la furca (longitud total de la cabeza, tórax y abdomen), y distancia entre los ojos (Fig. 1).

Adicionalmente, el 12 de febrero del 2007, se llevó a cabo un muestreo más intensivo con la intención de explorar ciertos aspectos morfológicos de la especie. En este caso, se seleccionaron 70 ejemplares para examinar las posibles diferencias existentes en el tamaño de los individuos según su sexo (35 machos y 35 hembras). Procedentes de este mismo muestreo, 100 hembras ovígeras se utilizaron verificar la existencia de una posible relación entre el tamaño de puesta y el tamaño de la hembra. En este caso, la procedencia de las muestras de una misma fecha permitió explorar esta relación evitando interacciones ambientales y fenológicas. La conservación de estas muestras se realizó del mismo modo que para el estudio estacional.

Análisis estadístico

Para determinar la tendencia estacional del número de huevos por muestra se exploró el mejor ajuste entre los modelos lineales y polinómicos. En el caso particular de las ecuaciones de segundo orden (esto es, ajustes polinómicos) son las que permiten detectar las tendencias en las que un incremento inicial del número en el número de huevos precede a la declinación del número de huevos por puesta y lo que configura un patrón según el cual el mayor número de huevos tiende a situarse en el segundo tercio de la estación reproductora (Crick *et al.*, 1993). Para el análisis de la variación estacional se utilizaron los días del año juliano considerando el primer día como el 1 de noviembre de 2008, considerando esta fecha como el inicio de la etapa de deshielo y por lo tanto, un incremento en la disponibilidad de agua líquida. Para analizar las relaciones entre las diferentes medidas corporales se utilizaron correlaciones de Pearson. Para determinar las relaciones entre el tamaño de la hembra y el número de huevos se utilizaron regresiones lineales en donde el tamaño de la hembra se consideró la variable independiente. En ausencia de normalidad en la distribución de los datos se recurrió al test no paramétrico de Mann-Whitney de muestras independientes.

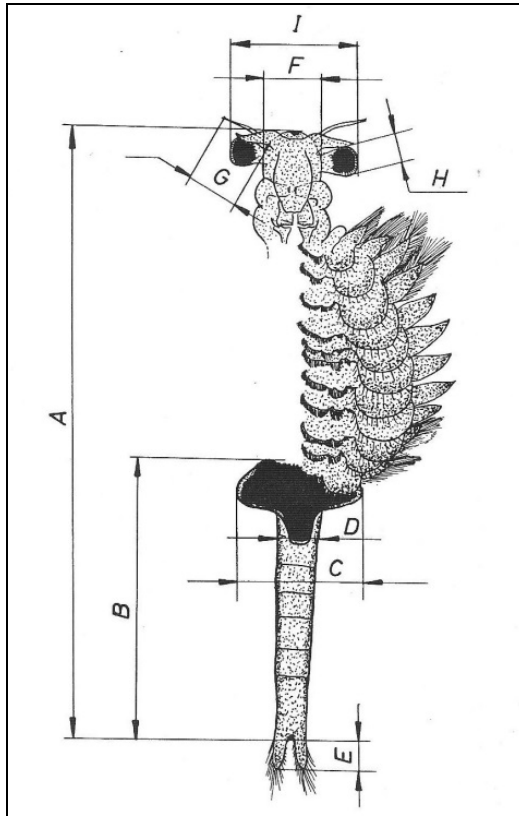


Figura 1. Ilustración esquemática de una hembra adulta de *Artemia*, de la cual se seleccionaron las medidas corporales para el presente estudio. Las medidas seleccionadas fueron: (A) longitud sin considerar la furca, (A+E) longitud total considerando la furca así como la (I) distancia entre los ojos compuestos. Imagen extraída de Hontoria y Amat (1992).

3.3. Resultados

Variación de las condiciones ambientales en el Lago Somero

En relación a las variaciones ambientales en el Lago Somero en el verano austral 2008/09, y en particular a posibles factores desencadenantes del ciclo reproductivo de *B. gaini*, el periodo de deshielo se inició a finales de noviembre (Fig. 2). Es a partir de este periodo cuando empezaron a observarse oscilaciones diarias en la temperatura, ya en promedio superiores a los 0°C, y se inicia el registro de la conductividad dentro del agua, siendo esta última medida, solo posible en agua líquida (Fig. 2), lo cual indica la fecha de deshielo. El aumento de la temperatura del agua durante este periodo inicial fue ligeramente más acusado, hasta alcanzarse valores promedio de en torno a 7°C a finales de diciembre (Fig. 2a). Posteriormente las temperaturas mostraron bastante más estabilidad en cuanto a la tendencia temporal, aunque mostraron una relativa oscilación diaria.

De forma general, los valores de conductividad fueron ligeramente altos si se comparan con los registros llevados a cabo con sondas multiparamétricas en superficie (Fig. 2b), lo que podría deberse a una mayor afectación sobre la sonda de la re-suspensión del sedimento del lago debido a su instalación sobre el lecho del mismo. No obstante, y en relación a la dinámica del lago, la evolución temporal de estos valores reveló un aumento de la concentración de iones disueltos en el agua, que durante una fase inicial fue paralela al incremento de la temperatura. Posteriormente, a partir de mediados de diciembre, se observó un aumento más acusado y sostenido de la conductividad, mostrando valores máximos (~350 $\mu\text{S}/\text{cm}$) a principios de enero. Este aumento de la conductividad fue incluso consecutivo al incremento de la temperatura, la cual ya se había estabilizado unas semanas antes. Tras este periodo, a pesar de

registrarse un cierto descenso, los valores de conductividad se mantuvieron en niveles siempre superiores a 200 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

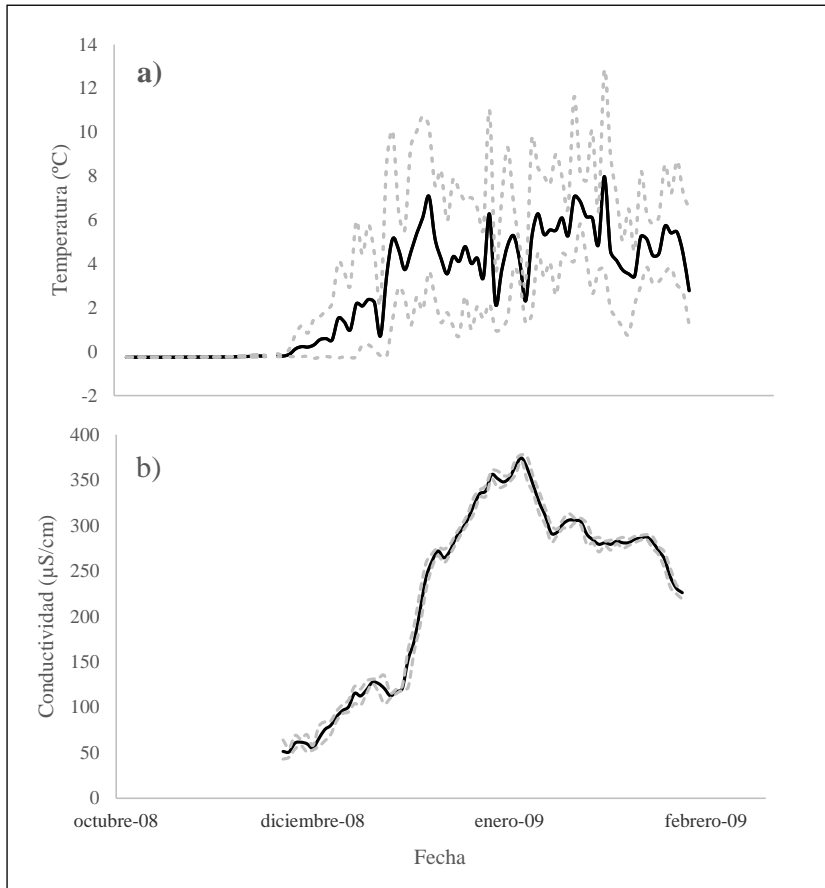


Figura 2. a) Valores promedio diarios (línea continua), máximos y mínimos (líneas discontinuas) de la temperatura del agua y b) conductividad en el Lago Somero durante el periodo de estudio.

Estudio morfológico, dinámica y tamaño de puesta de B. gaini

En las hembras capturadas entre el 27 de Diciembre de 2008 y el 9 de febrero de 2009 el número de huevos por hembra varió entre 1 y 39 (media= 9,52; s.d.= 8,59; n= 25), mientras que en las capturadas el 12 de febrero de 2007 el número

de huevos varió entre 1-12 (media= 6,2; s.d.= 2,99; n= 100). Los menores números de huevos por hembra presentes en el saco ovífero (Fig. 3) se observaron tanto al principio como al final del periodo de estudio, mientras que los valores máximos se observaron en periodos intermedios, obteniéndose con ello un ajuste estadísticamente significativo ($R^2= 0,458$; $F_{(2,22)}= 9,82$; p-valor= 0,001) a una función cuadrática (N° de huevos= $-0,0304$ (FECHA) $^2+4,865$ (FECHA) $^2-176,6$), la cual predice las puestas de mayor tamaño entre el 9 y 25 de enero (Fig. 4).

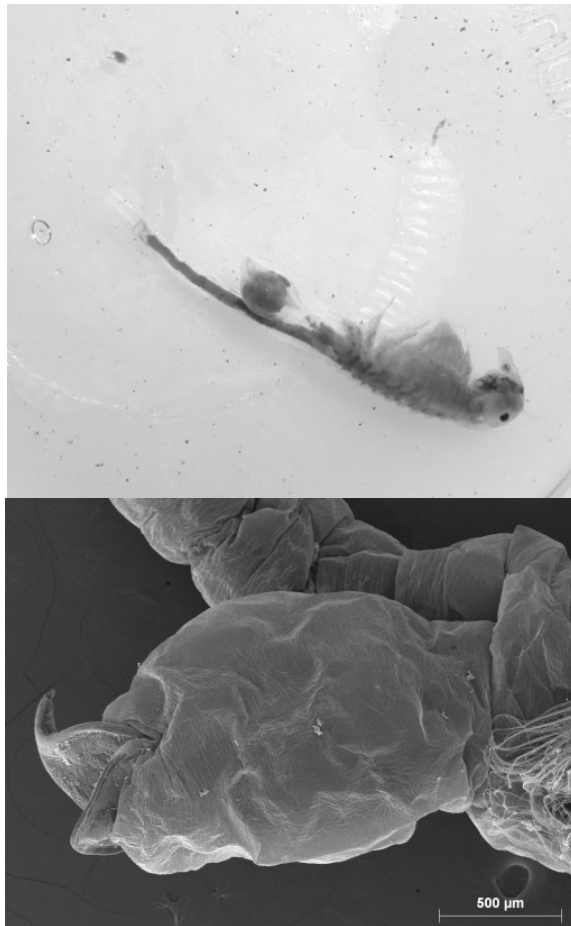


Figura 3. Hembra de *B. gaini* y detalle del saco ovífero obtenida con el microscopio electrónico de barrido.

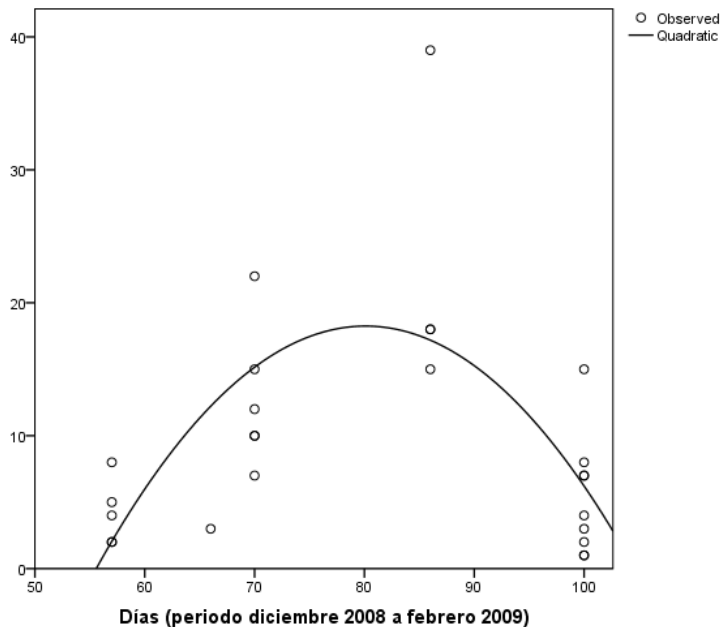


Figura 4. Variación estacional en el número de huevos de *B. gaini* durante el verano austral (2008-2009).

En relación a la proporcionalidad entre distintas medidas corporales, se observó una relación significativamente positiva (Pearson= 0,708; p-valor= 0,001; n=21) entre el ancho de la cabeza (delimitado por la distancia entre los ojos) y la longitud total del individuo (Fig. 5). Utilizando el ancho de la cabeza como aproximación al tamaño de la hembra, se observó a lo largo del verano austral, un incremento en el tamaño corporal de estas hembras. La relación entre el tamaño corporal y el momento de captura mostró tanto ajustes estadísticamente significativos cuadrático ($r= 0,610$; $R^2 = 0,372$; $F_{2,22} = 6,513$; p-valor= 0,006) como lineal ($r= 0,590$; $R^2 = 0,348$; $F_{1,23} = 12,296$; p-valor= 0,002), siendo ligeramente mejor el primer ajuste (Fig. 6). De acuerdo a estos resultados, cabría esperar un aumento del tamaño de puesta paralelo a este

incremento corporal, no obstante no se pudo demostrar una relación estadísticamente significativa al 95% ($r = 0,43$; $R^2 = 0,184$; $F_{1, 19} = 4,296$; $p\text{-valor} = 0,052$) en el caso de las hembras capturadas a lo largo del verano austral. Los tamaños de estas hembras en este caso variaron entre 12,7 y 17,1 mm (media= 15,3; s.d.= 1,22; $N = 21$). Esta misma prueba llevada a cabo con las hembras capturadas en un mismo día, lo que en cualquier caso eliminaría el efecto temporal, ofreció incluso resultados estadísticamente más insuficientes ($r = 0,101$; $F_{1, 97} = 1,012$; $p\text{-valor} = 0,317$). En este caso los tamaños de las hembras variaron entre 10,1 y 17,2 mm (media= 13,4; s.d. = 1,59; $N = 100$), siendo significativamente ($t\text{-Student} = 5,117$; $p\text{-valor} = 0,001$) inferiores al grupo de hembras anterior. En relación a la comparación de tamaños entre machos y hembras, aunque los primeros mostraron en promedio un tamaño algo superior (19,9 mm) si se compara con las hembras (15,6 mm), no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($U = 463,5$, $p\text{-valor} = 0,08$).

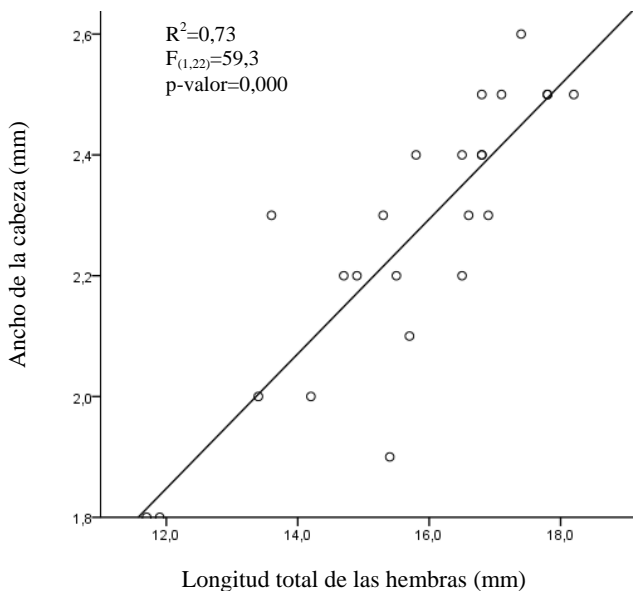


Figura 5. Relación proporcional entre el tamaño de la hembra utilizando la longitud total (mm) y el ancho de la cabeza, delimitado por la distancia entre los ojos (mm).

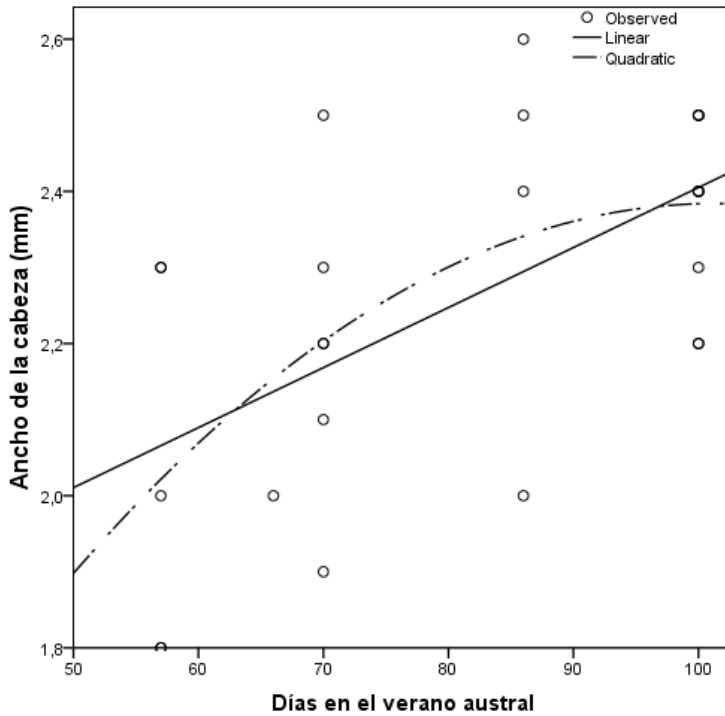


Figura 6. Relación proporcional entre la longitud total de las hembras (mm) y el ancho de la cabeza (distancia entre los ojos en mm). Los días de muestreo corresponden al periodo entre los meses de diciembre 2008 y febrero 2009.

3.4. Discusión

Las condiciones ambientales en la región de la Antártida marítima tienen una fuerte influencia en el desarrollo de las comunidades biológicas que habitan los lagos (Camacho, 2006). *B. gaini* utiliza una estrategia reproductiva que consiste en la formación de quistes capaces de soportar largos periodos de congelación y ausencia de agua líquida para completar su ciclo de vida. En la Península Byers la eclosión coincide con el deshielo del lago pudiéndose verse impulsada por los cambios que esto conlleva, como son el aumento de la temperatura, luz y disponibilidad de alimento (fitobentos). Nuestras observaciones muestran en este sentido un incremento de la temperatura ambiental (entre 1° y 4°C) y conductividad (en torno a 353 $\mu\text{S}/\text{cm}$) en el lago, coincidiendo con la puesta de huevos por parte de las primeras hembras ovígeras, produciéndose posteriormente el tamaño de puesta máximo en coincidencia con los valores máximos de conductividad (Fig. 2).

Con respecto al tamaño de puesta, nuestro estudio coincide en parte con lo observado en la región por otros autores en la misma especie. En nuestro estudio, el número de huevos por hembra varió entre 1 y 39. En el caso de Jurasz *et al.*, (1983) las capturas se llevaron a cabo en King George, isla ubicada en el mismo archipiélago que Byers, y consistieron de una muestra de 206 hembras (capturadas entre noviembre y marzo) en las que el número de huevos por saco ovígero varió entre 1 y 19, ciertamente inferior a lo observado en Byers. El tamaño de las hembras analizadas por Jurasz *et al.*, (1983) varió además entre 9 y 17 mm, intervalo muy similar al observado en Byers (10,1-17,2 mm). No obstante, en la Isla 25 de Mayo, ubicada también en el mismo archipiélago, Paggi (1987) describe tamaños de puesta con valores máximos de en torno a 46 huevos por hembra, más próximos a los observados en el presente estudio. En cualquier caso, todos estos valores contrastan con los tamaños de puesta observados en ambientes, también temporales, pero templados, en los

que las puestas promedio pueden ser próximas a 100 huevos por hembra como en *Branchinella thailandensis* en masas de agua efímeras de Tailandia (Plodsomboon *et al.*, 2012).

Aunque nuestros resultados no son definitivos en este sentido, sí parecen indicar un estrategia de *B. gaini* basada en la realización de la puesta de huevos la cual se maximiza cuando las condiciones son favorables. Estos huevos quedan depositados en el sedimento para formar parte del banco de huevos, los cuales pasarán por el periodo de diapausa para eclosionar cuando las condiciones de nuevo propicias (Brendonck *et al.*, 1996; Brendonck y De Meester, 2003), lo que en condiciones normales se produciría en el siguiente periodo estival. Parece además que no existe una eclosión coordinada de todo el banco de huevos como indican distintos autores (Simovich y Hathaway, 1997; Brendonck *et al.*, 1996), sino que en algunos huevos se produce un retraso, soportando hasta incluso 10 temporadas consecutivas de sequía (Brendonck *et al.*, 1996). De ser este el caso de *B. gaini*, esto supone una estrategia propicia tratándose de un ambiente extremo.

La mayor amplitud temporal del estudio de Jurasz *et al.* (1983) permite observar patrones más claros a este respecto, siendo posible reconocer una dinámica coincidente con nuestro estudio. El patrón observado consiste en patrón la aparición de los primeros anostráceos (nauplios y metanauplios) tras el deshielo del lago, generalmente en noviembre. En particular en *B. gaini* se especifican valores de temperatura de entre 0 y 10 °C como desencadenantes de la eclosión de quistes en *B. gaini* (Peck, 2004). No obstante, en otras especies de anostráceos se señala también la necesidad de suficientes concentraciones de oxígeno en el agua para que esto ocurra (Eriksen y Belk, 1999). Es posible también, como ocurre con *Artemia*, que para que los quistes pierdan la cápsula, prerequisite este para que eclosionen, necesiten rehidratarse para recuperar su forma esférica (Brendonck *et al.*, 1996). Algunas de estas circunstancias, en

particular la disponibilidad de agua líquida, pueden producirse en épocas tempranas, incluso cuando el lago no ha perdido totalmente su capa superficial de hielo, como es el caso de la Península Byers, en donde por debajo de la capa de hielo hay agua líquida a partir de septiembre y octubre con valores de conductividad muy bajos (20 y 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$) incrementando continuamente en donde a principios de noviembre los valores son en torno a 357 $\mu\text{S}/\text{cm}$. En relación a esto último, por debajo de esta cubierta de hielo parece ser posible el desarrollo, aunque algo aletargado, de este tipo de crustáceos como se ha observado en otras especies de *Branchinecta* (Rogers y Fugate, 2001). No obstante, es posible que la disponibilidad de suficiente oxígeno precise que el deshielo se encuentre en una fase más avanzada, circunstancia que en la Península Byers, en base a observaciones realizadas en distintos años, suele ocurrir más bien entre los meses de noviembre y diciembre (Bañón *et al.*, 2013).

Tras el proceso inicial de eclosión, los primeros adultos se observaron a finales de diciembre, y las primeras hembras con huevos aparecen, según Jurasz *et al.*, (1983), ya iniciado enero. Cabe destacar no obstante un ligero adelanto en la primera aparición de estas hembras grávidas en nuestro caso, debido probablemente a que 2008 fue un año particularmente menos frío en Byers si se observa el registro de esa misma década (Bañón *et al.*, 2013). También en el caso de Jurasz *et al.*, (1983), el número de hembras ovígeras se incrementa paulatinamente entre enero y marzo, con un declive entre marzo y mayo, período en el que todas las hembras desaparecen. Parece por tanto que el tamaño de puesta de *B. gaini* se maximiza dentro de una ventana temporal, pudiendo existir sin embargo determinados estímulos externos que condicionen en que momento exacto se produce. Así, en nuestro caso este incremento, también algo más temprano que el observado en King George, coincide con un aumento de los valores temperatura y conductividad en el Lago Somero, siendo estos causa y efecto respectivamente del aumento las interacciones entre el lago y su entorno, lo que a su vez desencadena el incremento de la actividad

biológica en este tipo de ecosistemas (Camacho y Fernández-Valiente, 2005; Rochera *et al.*, 2010).

Es posible que esta anticipación en los valores máximos del número de huevos por individuo se produzca en hembras que no han alcanzado todavía su tamaño máximo. Este hecho explicaría que, a diferencia de lo observado en Byers, Jurasz *et al.*, (1983) sí detectó una clara dependencia entre el número de huevos y el tamaño de la hembra ($r = 0,902$; $F_{1,17} = 30,64$; $p\text{-valor} = 0,0008$). Por otro lado, si bien Jurasz *et al.*, (1983) observaron una nueva aparición de etapas larvarias (nauplio y metanauplio) en marzo, justo después de finalizar el verano austral, esta parece más bien una eclosión temprana o tardía de quistes como consecuencia de un cambio circunstancial de las condiciones ambientales más que debido a la aparición de una nueva generación, la cual en condiciones normales no se produciría hasta el siguiente periodo estival, debido a que los huevos de resistencia deben pasar un periodo de diapausa y una fase inactiva (*Diapausing and quiescent fraction*), en donde para eclosionar los quistes necesitan ser activados, mientras que la fracción estática tiene que ser desencadenada por las condiciones ambientales apropiadas como se ha observado en los quistes de la especie de anostráceo *Streptocephalus proboscideus* (Brendonck *et al.*, 1996). Asumiendo ciertas variaciones en el patrón general debido a la variabilidad meteorológica interanual, esta estrategia reproductiva de *B. gaini* es también coincidente con lo observado en otras zonas de la región (Pociecha y Dumont, 2008).

En relación a lo expuesto anteriormente, resulta también interesante establecer comparaciones de este patrón supuestamente común a toda la región marítima con otras áreas más alejadas del continente antártico. Así, a pesar de las diferencias más bien sutiles que puedan existir en estas localizaciones próximas a Byers de la Antártida marítima, la estrategia de ciclo de vida observada en estos casos contrastan de forma muy clara con la situación que

Laybourn-Parry (2002) describe para crustáceos de lagos de la Antártida continental, sometidos a condiciones ambientales más severas con fecundidades notablemente más bajas. Estas circunstancias se justifican por la mayor brevedad del periodo estival y la oligotrofia de los lagos, que perjudican el desarrollo completo del ciclo reproductivo de este tipo de crustáceos así como el establecimiento en los lagos de cadenas tróficas complejas (Camacho, 2006).

En conclusión, a diferencia de otras regiones del continente, en la región marítima, de la cual la Península de Byers representa un excelente ejemplo, *B. gaini* parece mostrar una estrategia de supervivencia basada en un buen acoplamiento de su ciclo reproductivo con el proceso de deshielo asociado al inicio del verano austral. Este proceso de deshielo favorece la resuspensión del sedimento, y con ello la disponibilidad de nutrientes, y aumenta la penetración de la luz, todo lo cual a su vez fomenta la producción primaria del sistema, la cual dota de recursos alimenticios a la población de anostráceos.

Capítulo 4

Respuesta de las tasas de respiración y excreción de nutrientes en *Branchinecta gaini* Daday (Crustacea: Anostraca) y *Boeckella poppei* Mrázek (Copepoda: Calanoida) al aumento de la temperatura

4.1. Introducción

La distribución geográfica e importancia en términos de abundancia de las especies ectotermas depende de forma determinante de su rango de tolerancia a la temperatura del medio. En ecosistemas extremos como la Antártida, la temperatura juega un papel fundamental en el ciclo de vida de los organismos ectotermos debido a su influencia las tasas metabólicas, ciclo reproductivo y supervivencia. Los aspectos fisiológicos afectados por la temperatura pueden conllevar a su vez cambios en la ecología de los organismos y en sus interrelaciones con su ecosistema circundante (Dell *et al.*, 2011). En los sistemas acuáticos, dos ejemplos de actividades que pueden verse influidas, que tienen implicaciones ecológicas importantes, y son relativamente fáciles de cuantificar, son las tasas de respiración y las de excreción de nutrientes (i.e., nitrógeno y fósforo).

Una modificación de las tasas de consumo de oxígeno por ejemplo, debido a un incremento de la temperatura, contribuiría a modificar el balance entre fotosíntesis y respiración del ecosistema, de tal modo que el metabolismo del sistema derivaría hacia un carácter heterotrófico. En relación a los nutrientes, el zooplancton requiere de ellos para su crecimiento y desarrollo de funciones metabólicas, así, parte de la ingesta es asimilada pero otra parte se defeca. Este último aspecto, el de la excreción, resulta importante ya que posibilita la recirculación de estos nutrientes y la fertilización con ellos de la producción primaria (Alcaraz *et al.*, 2013). En ecosistemas como los antárticos, donde las cantidades de nutrientes asociadas al flujo de los mismos, son por lo general limitadas, esta excreción puede llegar a tener un efecto apreciable en los ciclos biogeoquímicos.

Existen claras evidencias del incremento de la temperatura en determinadas áreas de la Antártida debido al cambio climático, siendo la

Península Antártica una región particularmente afectada por este fenómeno (Rogers *et al.*, 2012), con incrementos en algunas áreas durante la segunda mitad del siglo pasado de en torno a 3°C (p.ej. Meredith y King, 2005). Estos hallazgos han motivado la aparición de estudios enfocados a conocer los posibles efectos que estos cambios pueden tener sobre distintas comunidades biológicas del continente. Aunque en este sentido ha sido mayor el interés mostrado por las de hábitats marinos y terrestres (p.ej. Meredith y King, 2005; Ducklow *et al.*, 2007), recientemente se ha incrementado también el interés por las consecuencias de este calentamiento en los cuerpos de agua dulce de la región de la Antártida marítima (p.ej. Pociecha, 2007; Rochera *et al.*, 2010; Camacho *et al.*, 2012), de la que tanto la Península Antártica como el archipiélago al que se circunscribe la Península Byers forman parte.

En gran parte de los lagos de la Península Byers, el anostráceo *Branchinecta gaini* y el copépodo *Boeckella poppei* ocupan una posición clave en la red trófica durante la época más productiva (i.e., verano austral). De acuerdo con lo anterior cabe cuestionarse su papel en la recirculación de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno en estos lagos, los cuales por otro lado se han revelado como significativos en otras especies de crustáceos en ambientes marinos en otras regiones polares (Alcaraz *et al.*, 2013). Los resultados derivados de nuestro estudio, además de resultar inéditos para ambas especies en esta ubicación, permitirían así mismo establecer comparaciones con otros estudios fisiológicos llevados a cabo en otras zonas de la Antártida marítima, en particular en el caso de *B. gaini* (Peck, 2004; Pociecha, 2007), pudiendo con ello establecer la existencia o no de analogías en áreas próximas de distribución de la especie. El objetivo del presente capítulo es analizar la respuesta por parte estas dos especies ante un incremento de la temperatura, analizando sus tasas de respiración y la excreción de los nutrientes mayoritarios.

4.2. Material y métodos

Área de estudio y captura de ejemplares

La recolección de muestras se llevó a cabo en el Lago Somero el 29 de enero de 2009, estando la superficie del mismo totalmente deshelada durante esas fechas. Los ejemplares de *Branchinecta gaini* (160 individuos) y *Boeckella poppei* (570 individuos) se capturaron realizando transectos a lo largo del lago utilizando una red de 250 μm y de 30 μm respectivamente. Una vez en el laboratorio del campamento se procedió al recuento de ejemplares y, en el caso de *B. gaini*, a la diferenciación de sexos para procurar una distribución de ambos lo más equitativa posible en las incubaciones que se describen a continuación (Fig. 1). En el caso de *Boeckella poppei*, debido a las condiciones de manipulación de ejemplares debido al tamaño, no se realizó la separación por sexos, de este modo también se evita someter a los ejemplares a un mayor estrés.

Diseño experimental: Tasas de respiración vs. temperatura

La finalidad del experimento fue determinar la variación en el consumo de oxígeno en ambas especies de crustáceos en respuesta al aumento de la temperatura. Las incubaciones se realizaron el 30 de enero de 2009 en el caso de los anostráceos y entre los días 30 y 31 en el caso de los copépodos. Para llevar a cabo las dos series de experimentos, una con cada especie, se utilizaron botellas tipo Winkler (Schott Suprax, Boro 4:1) de un volumen de 250 ml (Fig. 2) rellenas con agua sin filtrar del Lago Somero, en las cuales se introdujeron los ejemplares de anostráceos siguiendo el siguiente protocolo: en el caso de *Branchinecta gaini* se introdujeron 10 individuos (4 hembras + 6 machos) y posteriormente estas fueron incubadas por triplicado en baños termostatzados (Fig. 2) en cinco temperaturas: 0, 4, 8, 12 y 16 °C. En el caso de los copépodos,

el número de individuos por botella fue mayor debido a su menor biomasa individual. En este caso las incubaciones se llevaron a cabo con 180 individuos por botella, circunstancia que comprometió su disponibilidad y por lo que se tuvo que realizar los experimentos únicamente a las temperaturas de 0, 4 y 8°C y sin réplicas. En este caso, y también a diferencia del experimento con los anostráceos, el agua del lago utilizada fue previamente filtrada por 30 μm para evitar la presencia no controlada de copépodos. Todas las incubaciones se realizaron con luz natural. El tiempo de incubación necesario para obtener tasas de consumo de oxígeno representativas fue establecido a partir de pruebas previas llevadas a cabo a temperatura ambiente, fijándose ambos tiempos en 4 y 14,5 horas para anostráceos y copépodos respectivamente. La concentración de oxígeno disuelto dentro de las botellas fue medida tanto al inicio como al final de las incubaciones con un oxímetro WTW modelo Oxi-91. Para establecer un control respecto al consumo de oxígeno por parte del zooplancton, y poder así sustraer las posibles variaciones no debidas al mismo en las concentraciones de oxígeno, se colocaron tres botellas sin individuos a las distintas temperaturas de incubación, cuyas variaciones en la concentración de oxígeno entre las botellas con individuos y sin ellas, se consideró el consumo de oxígeno por parte de los ejemplares. Los cálculos de las tasas de respiración realizados a partir de los resultados obtenidos se detallan en el siguiente apartado.

Cálculo de las tasas de respiración y factores Q_{10}

La tasa de respiración se calculó de acuerdo con la fórmula propuesta por Pocięcha (2007), en donde la tasa de respiración se expresa en función del oxígeno consumido, volumen de muestra y el tiempo de incubación. La fórmula para calcular la tasa de respiración es la siguiente:

$$R = \frac{(V \cdot O_2 \cdot 1,429)}{T \cdot n}$$

dónde R= consumo de oxígeno ($\mu\text{IO}_2/\text{ind}/\text{h}$); valor: $1,429 \text{ kg}/\text{m}^3$ = densidad del oxígeno; V= volumen de las botellas (ml); O_2 = Oxígeno consumido (mg/l) tras sustraerle las variaciones en los controles; T= tiempo en horas; n= número de individuos.

Para estandarizar las medidas obtenidas y estimar la sensibilidad de las tasas de respiración al incremento de la temperatura se calculó el coeficiente Q_{10} para ambas especies, el cual determina el aumento en la tasa de una reacción o actividad metabólica como respuesta a un incremento de la temperatura en 10°C . Valores de este índice iguales 1 indican que la reacción o tasa medida es independiente de la temperatura, siendo por tanto más elevados cuanto mayor es el aumento de dicha tasa con el incremento de la temperatura. Las temperaturas no tienen que ser exactamente de 10°C únicamente pero sí conservar las mismas unidades. La ecuación utilizada para el cálculo de este coeficiente fue:

$$Q_{10} = \left(\frac{R_2}{R_1} \right)^{\left[\frac{10}{T_2 - T_1} \right]}$$

dónde Q_{10} : factor en el cual la tasa de reacción incrementa cuando la temperatura aumenta diez grados; R_1 : medida de la reacción en la temperatura 1; R_2 : medida de la reacción en la temperatura 2; T_1 : temperatura en la cual es medida la primera reacción (R_1) donde ($T_1 < T_2$); T_2 : temperatura en la cual es medida la segunda reacción (R_2) ($T_2 > T_1$).

Diseño experimental: Tasas de excreción de nutrientes vs. temperatura

De forma análoga a los ensayos de respirometría, se llevaron a cabo incubaciones con la intención de valorar la variación, en este caso de las tasas de excreción de nutrientes mayoritarios, como respuesta también al aumento de la temperatura. El número de individuos, réplicas, temperaturas ensayadas y tiempos de incubación fueron los mismos que los descritos anteriormente para ambas especies. Las concentraciones de fósforo, amonio y nitrato+nitrito fueron determinadas tanto al inicio como al final de las incubaciones a partir de la correspondiente agua de ensayo (~100 ml) previamente filtrada por filtros GF/F (Whatman). Las muestras fueron conservadas a -20°C hasta su análisis, el cual se realizó siguiendo los protocolos descritos en el capítulo 2 (Material y métodos). Las tasas de excreción se calcularon expresando la diferencia entre las concentraciones de nutrientes al final e inicio de las incubaciones y refiriéndolas posteriormente en individuo y hora. En paralelo a las incubaciones con individuos de ambas especies, se realizaron igualmente incubaciones con agua del lago sin la presencia de ejemplares para controlar las variaciones en la concentración de nutrientes no atribuibles a la actividad de ambas especies de crustáceos, y poder con ello sustraerlas de los cálculos.

Análisis estadísticos

La posible existencia de diferencias significativas como función de la temperatura entre las distintas determinaciones llevadas a cabo, ya sea concentraciones o tasas metabólicas, fueron testadas mediante análisis de la varianza (ANOVA), estableciendo el nivel de significatividad en el 95%. En caso de observarse estas diferencias, los consiguientes subgrupos de muestras fueron determinados mediante análisis *post-hoc* (Duncan). En ausencia de normalidad en la distribución de los datos, la cual fue definida utilizando la

prueba de Shapiro-Wilk, los subgrupos fueron determinados de forma análoga mediante pruebas no paramétricas. Las pruebas estadísticas se realizaron con los programas PASW Statistics 18 y Past 3.09.



Figura 1. Ejemplares de anostráceo *B. gaini* (a) hembra, (b) macho, (c) ambos sexos, así como (d) ejemplares del copépodo *B. poppei* en donde se pueden observar (e) hembras ovígeras.



Figura 2. Lago y material de muestreo con que se realizaron los experimentos: (a) Lago Somero, (b) detalle de la orilla del Lago Somero, (c) baños con agua a diferente temperatura preparados para las incubaciones, (d) material para procesar las muestras para el análisis de los nutrientes, (e) botellas de DBO con ejemplares de anostráceos y (f) ejemplares de anostráceos (botella 1) y copépodos (botellas 2 y 3).

4.4. Resultados

Consumo de oxígeno por parte de *B. gaini* y *B. poppei*

Las tasas de respiración por individuo, tanto los anostráceos (*Branchinecta gaini*) como los copépodos (*Boeckella poppei*), mostraron un patrón bimodal, en donde se observó un incremento en las tasas de respiración en respuesta al aumento de la temperatura dentro de un rango fisiológico óptimo entre 0 y 6-7°C (Tabla 2; Fig. 3). La supervivencia de ambas especies a la finalización del experimento fue satisfactoria, siendo del 100% en el caso de *B. poppei* y del 98% en el caso de *B. gaini*. Las muertes que se observaron en los anostráceos corresponden a dos hembras en la incubación de 16°C, temperatura crítica en la cual el estrés es máximo en los anostráceos. Las incubaciones a 0°C mostraron una tasa de consumo de oxígeno dentro de su óptimo fisiológico para esta especie, posteriormente se dio un incremento repentino en el consumo de oxígeno debido al aumento de la temperatura (4°C) incrementando la actividad de los anostráceos, dado que es posible que estos estuviesen intentando osmoregular su cuerpo. Cuando la temperatura llegó a 8°C los anostráceos mostraron un ligero descenso en la tasa de respiración siendo de $9,82 \pm 3,57$. Sin embargo, inmediatamente después incrementaron el consumo de oxígeno entrando en un periodo de estrés crítico, en donde las tasas de respiración a 12° y 16°C fueron muy altas con valores en torno a $13,69 \pm 4,92$ y $17,86 \pm 4,47$ $\mu\text{LO}_2/\text{ind}/\text{h}$ respectivamente, siendo semejantes la de 4° y 12°C en donde se observó el aumento repentino en el consumo de oxígeno. Los valores de Q_{10} para *B. gaini* y *B. poppei* fueron 1,54 y 2,81, éste último valor para *B. poppei* debe interpretarse con precaución por la falta de réplicas en el experimento.

Tabla 2. Tasas de respiración de *B. poppei* y *B. gaini* a diferentes temperaturas.

| <i>B. gaini</i> | | <i>B. poppei</i> | |
|-----------------|--|------------------|---|
| T (°C) | R= ($\mu\text{I}\text{O}_2/\text{ind}/\text{h}$) | T (°C) | R=($\mu\text{I}\text{O}_2/\text{ind}/\text{h}$) |
| 0 | 8,93 \pm 1,79 | 0 | 0,07 |
| 4 | 13,40 \pm 4,73 | 4 | 0,12 |
| 8 | 9,82 \pm 3,57 | 8 | 0,16 |
| 12 | 13,69 \pm 4,92 | | |
| 16 | 17,86 \pm 4,47 | | |

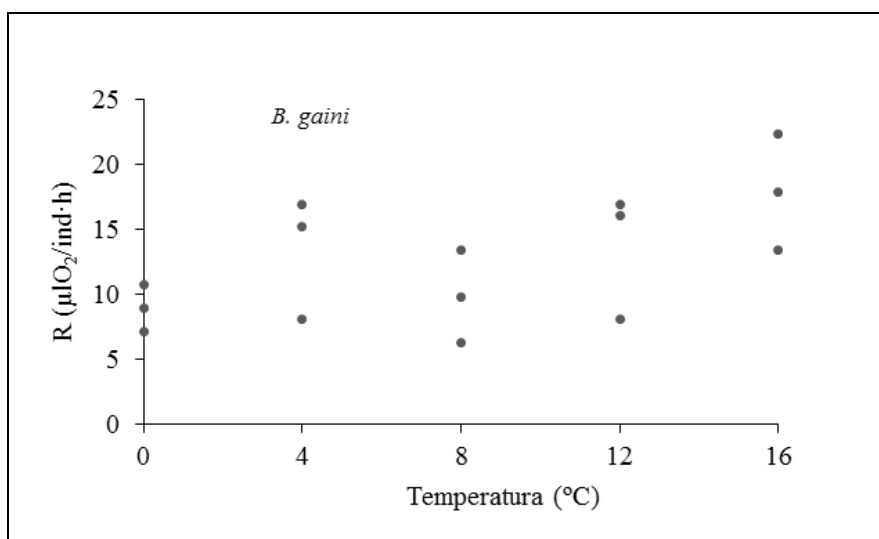


Figura 3. Tasas de respiracion de *B. gaini* en función de la temperatura (0, 4, 8, 12 y 16°C).

Por lo que respecta a las tasas de excreción de nutrientes, y en el caso particular de *B. gaini*, se observó un patrón semejante al de las tasas de respiración, en donde a 0°C los valores de fósforo y amonio (9,4 \pm 2,0 nmoles-P/ind·h y 87,0 \pm 4,3 nmoles-N/ind·h respectivamente) fueron ya perceptibles. Cuando se dio el incrementó de la temperatura de 0°C a 4°C se observó un incrementó en la excreción de los mismos (15,22 \pm 0,84 nmoles-N/ind·h y 110.12 \pm 25.41 nmoles-N/ind·h), sin embargo, estos niveles disminuyeron

ligeramente a 8° y 12°C y aumentaron a 16°C (Fig. 4). No fue así en cambio en la suma de las formas más oxidadas de nitrógeno (i.e., nitrato y nitrito), donde hubo una aparente falta de respuesta al aumento de la temperatura, con valores que oscilaron en torno a $2,7 \pm 1,0$ nmoles-N/ind·h. En el caso del fósforo, la acentuación de las tasas en respuesta a la temperatura generó una tasa promedio máxima a 16°C de $26,0 \pm 7,6$ nmoles-P/ind·h, siendo esta significativamente más elevada que las obtenidas en el resto de temperaturas ensayadas a causa de la descompensación metabólica de los anostráceos en condiciones de estrés máximo. Las tasas de excreción de amonio, cuyo incremento en respuesta a la temperatura fue ligeramente más acentuado que en el caso del fósforo (Fig. 4), mostraron también tras la incubación de los anostráceos a 16°C, valores máximos significativamente superiores a los del resto de temperaturas, alcanzando en este caso valores promedio de $162,3 \pm 27,1$ nmoles-N/ind·h.

Los valores de Q_{10} obtenidos fueron por ende ligeramente más elevados en el caso del amonio (1,60) si se comparan con los obtenidos en el caso del fósforo (1,39). No obstante, el aumento más o menos uniforme de las tasas de excreción de ambos nutrientes produjo que el ratio molar entre la suma de las formas inorgánicas de nitrógeno (DIN) y el fósforo reactivo soluble (PRS) no variase de forma significativa en el rango de temperaturas estudiadas (Fig. 5), manteniéndose en valores relativamente bajos con un ratio $8,0 \pm 2,5$, esto es, ligeramente enriquecidos en fósforo con respecto al nitrógeno.

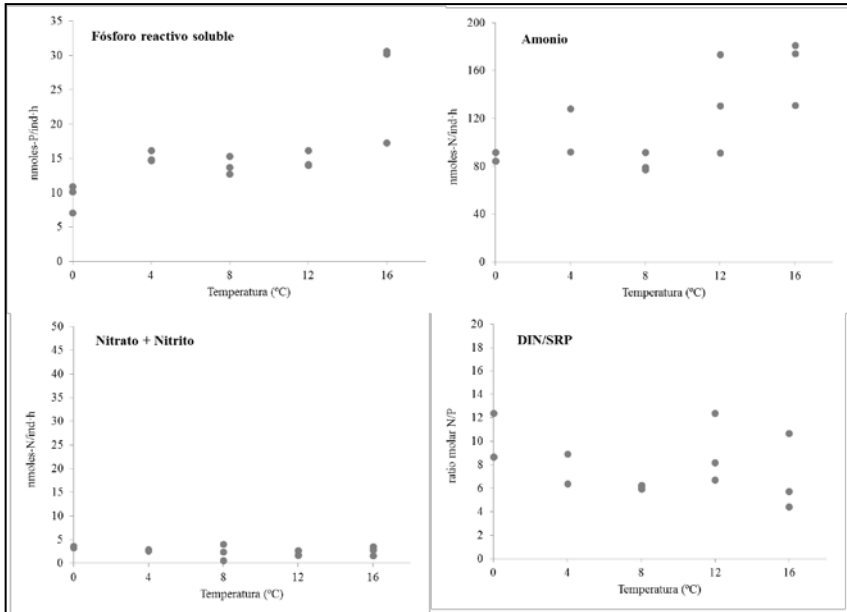


Figura 4. Relación entre las tasas de excreción de nutrientes por parte de *Branchinecta gaini* ante un aumento de la temperatura.

En el caso de *B. poppei* la falta de réplicas en el experimento no nos permite indagar más sobre los resultados, en donde las tasas de excreción de fósforo y amonio, fueron notablemente más bajas que en los anostráceos, debido al menor tamaño de los copépodos, dichas tasas se vieron afectadas, por la temperatura (0 y 8°C) incrementando su concentración (Tabla 2).

Al igual que lo observado en el caso de *B. gaini*, merece señalarse el hecho de que las tasas de excreción basales, esto es, las observadas a la temperatura mínima de incubación (0°C), fueron de por sí apreciables en el caso del fósforo y el amonio (Fig. 4), considerando los valores posteriormente alcanzados a temperaturas más elevadas. En este caso, estas tasas mínimas fueron de 0,14 nmoles-P/ind·h y 0,82 nmoles-N/ind·h respectivamente, mientras que las de la suma de nitrato y nitrito fueron más de un orden de magnitud inferior.

Tabla 6. Relación entre las tasas de excreción de nutrientes por parte de *Boeckella poppei* y el aumento de temperatura (0, 4 y 8°C, sin réplicas). Los valores se expresan como nmoles de P o N por individuo y hora.

| Temperatura (°C) | Fósforo reactivo soluble | Amonio | Nitrito+Nitrato |
|------------------|--------------------------|--------|-----------------|
| 0 | 0,141 | 0,824 | 0,024 |
| 4 | 0,181 | 0,792 | 0,056 |
| 8 | 0,181 | 0,985 | 0,040 |

4.5. Discusión

Nuestros resultados aportan evidencias sobre cuál sería la respuesta bimodal de dos organismos ectotermos, con un papel fundamental en la red trófica de los lagos antárticos, ante un hipotético incremento de la temperatura en la región marítima del continente. Igualmente, contribuyen también a un mejor entendimiento de la biogeografía de ambos crustáceos. En términos generales, la manipulación experimental y el sometimiento de los especímenes a los rangos de temperatura ensayados, 0-16°C para el anostráceo *Branchinecta gaini* y 0-8°C para el copépodo *Boeckella poppei*, suponiendo para *B. gaini* una situación de estrés extremo superando su óptimo normal. En el caso de *B. poppei* no resultaron letales en ninguna de las tres temperaturas ensayadas, en esta especie la escases de réplicas no permite indagar más en los resultados puesto que no son del todo fiables, a pesar de observar que las tasas de respiración se incrementaron, probablemente por el estrés fisiológico y de confinamiento a un sitio relativamente limitado.

El patrón completo y general de respuesta de un proceso metabólico frente a un aumento de la temperatura implica un incremento del mismo, hasta alcanzar valores óptimos, por encima de los cuales la actividad decrece (Somero, 2000); sin embargo, en el caso de *B. gaini* en nuestros ensayos mostró dos periodos en los cuales intentó buscar una estabilidad para sobrevivir pero bajo estas condiciones de estrés, siendo su rango letal (16°C), algunos autores indican que el límite fisiológico en el caso de *Branchinecta gaini* podría estar en torno a los 15°C (Peck, 2004). Sin embargo, este rango de temperatura (15-16°C) es poco probable se observe en los lagos de la Antártida marítima. No obstante, tratándose la Antártida marítima de una región particularmente sensible al calentamiento global (Rogers *et al.*, 2012) los anostráceos mostraron altas tasas de supervivencia, a pesar del estrés fisiológico, entre 0 y 12°C, lo que

podría indicar que dicha especie sea con el paso del tiempo capaz de adaptarse al medio, ante un suave ascenso de la temperatura.

La aparentemente amplia tolerancia térmica de *Branchinecta gaini* no explicaría en parte su distribución geográfica, que se extiende desde el sur de la Patagonia hasta la Península Antártica (Hawes, 2009; Paggi, 1996), siendo este un rango biogeográfico en el cual *B. gaini* ha ido colonizando los lagos de la Antártida marítima después de la glaciación del Holoceno (Gibson y Bayly, 2007) logrando permanecer en un medio con temperaturas muy bajas, las cuales también ejercen influencia el ciclo de vida de *B. gaini* como se observó en el capítulo anterior.

La distribución geográfica antes mencionada para esta especie implica también una adaptación a fluctuaciones térmicas más o menos amplias, lo que se corresponde con los resultados obtenidos en nuestro estudio. El copépodo *Boeckella poppei* presenta una distribución geográfica similar en lo que respecta al eje Patagonia-Península Antártica, siendo incluso más amplia, ya que ha sido descrita su presencia también en áreas más profundas del continente antártico como son los lagos de la zona de Amery Oasis (Bayly *et al.*, 2003). El estrecho rango de temperaturas ensayado y la falta de réplicas en nuestro caso con *B. poppei* no permite ser tan concluyente con respecto a la amplitud de su nicho térmico.

Lo que sí es posible observar en ambas especies es como la menor actividad metabólica, particularmente las de consumo de oxígeno, se producen de forma significativa a la temperatura de ensayo más baja, esto es, a 0°C. Esta mengua de la actividad metabólica constituye una adaptación fisiológica de organismos ectotermos y endotermos ante cambios en la temperatura, los cuales tienen una temperatura ideal con límites letales (i.e. altos y bajos) (Begon *et al.*, 2006), considerando que durante los periodos previos al deshielo, en los que la temperatura del agua líquida está próxima a estos valores, la iluminación es

reducida y la disponibilidad de alimento (i.e. fitoplancton y fitobentos) para estos crustáceos puede ser limitada, puede por tanto ser contraproducente tener un consumo energético excesivo. A diferencia de otras regiones del planeta, esta respuesta fisiológica puede resultar determinante en zonas polares, y particularmente en la región de la Antártida marítima, en dónde se encuentra la Península Byers, sitios en los cuales existe una correlación muy fuerte entre la temperatura ambiente y el desarrollo de los organismos, ante un futuro incremento de la temperatura, así como los cambios físicos y químicos que se puedan dar, induciendo a los organismos a un periodo prolongado de estrés, incluso llegando a ser letal.

Los valores de Q_{10} obtenidos para *B. gaini* fueron de 1,54, lo que en términos numéricos significa que *B. gaini* aumentaría en un factor de 1,54 sus tasas de respiración con un aumento de 10°C en la temperatura. En el caso de *B. gaini* se percibe incluso como moderadamente bajo si se compara con los valores que los procesos biológicos presentan generalmente (2-4), y más particularmente si se comparan con observaciones hechas para la misma especie en la región, dónde los valores varían entre 2,03 (Peck, 2004) y 2,74 (Pociecha, 2007). No hay que obviar sin embargo la posibilidad de que estas diferencias respondan en parte a discrepancias en las metodologías utilizadas en cada estudio. En este sentido, cabe hacer notar, por ejemplo, que el rango de temperaturas ensayado por Pocięcha (2007), es inferior al del presente estudio quien muestra el valor más elevado de Q_{10} a 0,5°C-10°C. En cualquier caso, nuestros valores del rango fisiológico (12° y 16°C) fueron bajos.

Al igual que lo observado para el consumo de oxígeno, las tasas de excreción de nutrientes inorgánicos, particularmente fósforo y amonio, aumentaron en ambas especies conforme lo hace la temperatura hasta 4°C, en donde se observó una disminución del contenido de estos nutrientes (8°C), los cuales incrementaron notablemente, coincidiendo con la etapa de máximo estrés

fisiológico de esta especie. Independientemente de este incremento de las tasas de excreción de nutrientes, resulta destacable el hecho de que los valores basales, es decir, los observados a la temperatura mínima de incubación (0°C), sean de por sí ya significativos, particularmente de amonio, cuyas tasas, por ejemplo, en el caso de *B. gaini* ($87,0 \pm 4,3$ nmoles-N/ind·h) representaron ya la mitad de los máximos valores a la temperatura superior, lo que a su vez explicaría los valores observados en su rango fisiológico letal (12° y 16°C).

Una idea interesante a explorar en este tipo de estudios metabólicos es ver que efecto tienen, tras verse alterados por el incremento de la temperatura, en el balance de los procesos de producción primaria y secundaria en el sistema, particularmente considerando la existencia de estudios experimentales que muestran como el metabolismo respiratorio presenta una mayor sensibilidad al aumento de la temperatura que la fotosíntesis (Vaquer-Sunyer *et al.*, 2010). El presente estudio, que se limita a explorar el efecto directo de la temperatura, sin embargo, no permite ver el resultado de este balance, ya que pueden existir ciertamente otros factores implicados como pueden ser cambios en la dieta ingerida (Saba *et al.*, 2009). Con todo, sí es posible hacer deducciones sobre la estequiometría de nutrientes resultante de la actividad de estos crustáceos, la cual podría afectar a la disponibilidad relativa de nutrientes para el fitoplancton (Alcaraz *et al.*, 2013) y con ello modificar este balance. En este sentido, nuestros resultados sugieren que el hipotético aumento de las tasas de excreción debido a un incremento de la temperatura no produciría un desequilibrio, al menos no mayor del ya existente, en las relaciones estequiométricas entre el nitrógeno y el fósforo, ya que en ambos casos las tasas aumentaron de forma equivalente.

En resumen, nuestros resultados sobre la respuesta bimodal de *B. gaini* ante un incremento en la temperatura, tienen interés en la medida que aportan evidencias empíricas de cuál podría ser la respuesta del zooplancton dominante

en estos lagos ante un cambio del régimen térmico en la región, lo que puede resultar de utilidad en futuros estudios considerando la percepción que se tiene de este tipo de ecosistemas como magníficos modelos para llevar a cabo estudios evolutivos y de biogeografía (p. ej. Pearce y Laybourn-Parry, 2012). Los resultados tienen también interés desde el punto de vista de la ecología funcional, ya que estas dos especies de crustáceos juegan un papel clave en las redes tróficas de estos lagos antárticos, por lo que cabe esperar que cualquier cambio producido en ellas a nivel fisiológico, consecuencia de una descompensación fisiológica, ante el calentamiento, tenga implicaciones significativas en el funcionamiento y estructura de las comunidades de estos lagos.

Capítulo 5

Dominancia de las diatomeas en la dieta de *Branchinecta gaini* (Crustacea: Anostraca) y su perfil de ácidos grasos en un lago de la Península Byers, Isla Livingston, Antártida marítima

5.1. Introducción

La información sobre los hábitos alimenticios de los crustáceos sirve para entender aspectos relacionados con las interacciones tróficas y el flujo de nutrientes en los sistemas acuáticos (Ali, 1996; Dumont y Ali, 2004; Camacho, 2006). Estos estudios pueden estar motivados por el interés que algunas especies tienen para la acuicultura (Ali, 1995), pero también en estudios de ecología trófica no necesariamente orientados en aspectos productivos y/o industriales. Una aproximación consiste en estudiar la composición de la dieta de diferentes especies de crustáceos basándose en la disponibilidad de alimento y/o su predilección por un tamaño o tipo de presa (Savage y Knott, 1998; Dumont y Ali, 2004).

En el área marítima de la Antártida los lagos permanecen libres de hielo entre cuatro y cinco meses cada año en el tiempo correspondiente con el verano austral (tres meses) (Hawes *et al.*, 2008; Rochera *et al.*, 2010). En estos sistemas extremos las redes tróficas son relativamente sencillas (Rochera *et al.*, 2013). En la península Byers los lagos carecen de peces por lo que en el extremo de la red trófica, como consumidores secundarios, encontramos crustáceos como el anostráceo *Branchinecta gaini* y el copépodo *Boeckella poppei* (Pociecha, 2007; Rochera *et al.*, 2011). No obstante, en estos lagos es posible observar ocasionalmente a determinadas aves como el charrán antártico *Sterna vitatta* y el skua *Catharacta lonnbergi* consumiendo anostráceos. El anostráceo *B. gaini* fue descrito originalmente por Daday (1910), existiendo una revisión posterior de Linder (1941). En relación a los aspectos morfológicos de la especie, ambas descripciones difieren en el tamaño del individuo y en la capacidad del saco ovífero (i.e., número de huevos), siendo mayor el descrito por Linder. Distintos autores catalogan a diferentes especies de anostráceos como filtradores no selectivos (Savage y Knott, 1998; Paggi, 1986; Pociecha, 2007).

El estudio de la composición de ácidos grasos es de gran utilidad en muchos aspectos de la biología de los organismos. Estos actúan en funciones fisiológicas básicas, ya que forman parte de los fosfolípidos y glicolípidos que forman las membranas biológicas (Cohen *et al.*, 1999), pero además se encuentran estrechamente relacionados con el estudio de la red trófica p.ej. el transporte de materia cuando algunos ácidos grasos son metabolizados por parte del zooplancton (Brett *et al.*, 2009). Existen numerosos estudios sobre la composición de ácidos grasos de algunos crustáceos en particular (Greve, 1993; Cripps y Hill, 1998; Ju y Harvey, 2004), ya que algunos de estos organismos se utilizan en acuicultura como fuente de alimento (Mura *et al.*, 1997; Cutts, 2001). Sin embargo, en estudios de ecología trófica su importancia reside en la información que aportan para comprender aspectos relacionados con la ecología trófica de los organismos como puede ser la dieta, ya que la composición de los ácidos grasos en el organismo viene en parte determinada por su alimentación (Alfaro *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2007; Brett *et al.*, 2009). De este modo, se pueden hacer inferencias de la dieta de un organismo a partir de su composición de lípidos, pudiéndose abordar estudios a distintas escalas temporales, ya sea de semanas o meses (Greve *et al.*, 1993; Peters *et al.*, 2004). Todo esto finalmente, junto con el uso de otros tipos de análisis, puede permitir inferir la posición de este organismo en la red trófica y, por ende, su papel en el flujo de nutrientes (Tavernier *et al.*, 2012; Graeve *et al.*, 2005).

El objetivo del presente capítulo es determinar la dieta de *B. gaini* a partir del análisis del contenido en el tracto digestivo, analizando el alimento que mejor se conserva en el mismo (principalmente las diatomeas) y explorar si la dieta muestra variaciones durante el verano austral, así como conocer su perfil de ácidos grasos y explorar que información de hábitos tróficos puede aportar este último. En relación a esto último, este estudio aborda por primera vez el análisis del perfil de ácidos grasos de *B. gaini* en un medio extremo como

es la Antártida, lo que aportará información adicional sobre aspectos de la biología de este crustáceo en esta región del planeta.

5.2. Materiales y métodos.

Área de estudio

Los lagos se encuentran en la Península Byers (Islas Shetland del Sur, Antártida), tanto el Lago Somero como el Limnopolar fueron descritos en el capítulo de material y métodos (Cap. 2) Este estudio se llevó a cabo con especímenes de *Branchinecta gaini* recolectados en ambos lagos situados muy próximos uno del otro en la meseta central de la Península Byers.

Captura de individuos de *B. gaini* en los Lagos Somero y Limnopolar

Los especímenes se recolectaron durante el verano austral, periodo en el cual los lagos permanecen libres de hielo, en particular entre noviembre y febrero de las campañas antárticas 2001-2002, 2002-2003, 2006-2007. La Península Byers es un área de protección especial (ASPA 126) con lo cual el número de capturas de anostráceos fue limitado. Debido a las características de los lagos (profundidad) los métodos de captura en cada lago fueron diferentes. En el lago Somero (0,5 m) las capturas de individuos se realizaron empleando una red de zooplancton mientras se caminaba a través del lago debido a la relativa facilidad para capturar individuos de *B. gaini*, en cambio las capturas en el Lago Limnopolar (5 m) se llevaron a cabo desde el punto central de la cubeta del lago con una red de 250 micras sumergida hasta la parte más profunda para poder capturar a los anostráceos, los cuales por lo general tienen un comportamiento bentónico. Los individuos capturados se separaron por sexo (machos y hembras) para los análisis correspondientes. Para determinar el tamaño del individuo se consideró la medida (mm) desde la cabeza hasta el final del abdomen (telson) sin tener en cuenta la furca caudal. Los ejemplares para el

análisis de la dieta se conservaron en formol y se mantuvieron refrigerados hasta su posterior análisis en los laboratorios de la Universidad de Valencia.

Con las muestras destinadas al análisis de ácidos grasos también se llevó a cabo una discriminación en función del sexo. En el caso de las hembras se segregaron las ovígeras de las no ovígeras. Los ejemplares del lago Limnopolar fueron recolectados en la campaña 2003-2004 mientras que los pertenecientes al Lago Somero fueron obtenidos en la campaña 2006-2007. En todos los casos, los ejemplares capturados se conservaron a -20°C hasta su análisis. La metodología para el análisis del contenido del tracto digestivo así como del análisis de ácidos grasos se puede consultar en el capítulo 2 (material y métodos).

Variación estacional en la dieta de *B. gaini* en relación al contenido de diatomeas

La dieta de *Branchinecta gaini* se analizó en función del consumo de diatomeas, debido a que se cómo se comentó previamente, se conservan muy bien y no se degradan con facilidad como puede suceder con otros recursos que consume *B. gaini*. Para el estudio de la dieta es importante conocer la disponibilidad de las diatomeas en el medio con la finalidad de conocer que especies está consumiendo y si presenta preferencia por algunas. La composición de la comunidad de diatomeas se estudió para ambos lagos, tanto del Lago Somero como del Lago Limnopolar, utilizando los datos de recuentos de especies de diatomeas y expresados como el porcentaje de abundancia relativa, estos recuentos fueron proporcionados por Kopalova y Van de Vijver (2013). Para los análisis de diversidad de diatomeas en los lagos utilizamos datos cualitativos (ausencia-presencia) de cada especie.

La biodiversidad intrínseca de cada lago (alfa-diversidad) se calculó por medio del índice de Simpson. El cambio entre especies en los dos lagos (beta-

diversidad) se calculó con el índice de similitud de Sorensen: $\beta=2c/(S1+S2)$, donde, c = especies en común, S1= número de especies del Lago Somero, S2= número de especies del Lago Limnopolar y finalmente la gamma-diversidad que integra las dos anteriores (alfa y beta) estimando la variedad de especies en ambos lagos se calculó según Schluter y Ricklefs (1993): Gamma= diversidad alfa promedio · diversidad beta · dimensión de la muestra, donde, la dimensión de la muestra corresponde a nuestros dos lagos de estudio.

Con la finalidad de analizar si *Branchinecta gaini* tiene o no preferencia por algún género de diatomeas, se analizaron los datos de aparición acumulada de cada género de diatomeas por individuo de *B. gaini*, tomando en cuenta la fecha de captura de cada ejemplar (día de captura en año juliano) y representado la aparición de géneros nuevos de diatomeas durante el verano austral.

Análisis del contenido de ácidos grasos de *Branchinecta gaini*

La extracción y obtención de los perfiles de ácidos grasos se llevó a cabo en el Instituto de Acuicultura de Torre la Sal (CSIC), España. Para el análisis los ejemplares de *B. gaini* fueron previamente liofilizados y pesados. La extracción de lípidos y el análisis de ácidos grasos se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Navarro *et al.* (1992) (Ver cap. 2).

Análisis estadísticos

Los datos sobre la composición de ácidos grasos incluyen los análisis de normalidad de datos y prueba t para muestras relacionadas (dos variables cuantitativas), así como los análisis de regresión y componentes principales. Los programas utilizados en estos análisis fueron el PASW Statistics 18 y MVSP 3.13 (Kovach Computing Services, 1985-2006). El índice de diversidad de Shannon, calculado con los géneros de diatomeas presentes en la dieta y tanto de forma conjunta como individual para cada uno de los anostráceos

examinados. Los cálculos se realizaron empleando el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001).

5.3. Resultados

Disponibilidad de diatomeas en la dieta de *B. gaini* en los lagos Somero y Limnopolar.

De acuerdo al listado de Kopalova y Van de Vijver (2013) el número de especies de diatomeas en el lago Limnopolar fue mayor (38) que en el lago Somero (17) coincidiendo en 14 especies. Sin embargo, en el contenido del tracto digestivo observamos 6 especies que no pertenecen a este listado (*Achnantheidium exiguum*, *Nitzschia pusilla*, *Staurosirella* sp., *Placoneis australis*, *Chamaepinnularia krookiiformis* y *Pinnularia australadivergens*).

Debido a la cercanía entre los lagos de estudio (~200m) existan especies de diatomeas en común y especies diferentes. La alfa-diversidad, es decir, la composición de la comunidad de diatomeas en cada lago de acuerdo a el número de especies (riqueza) de diatomeas, en donde la comunidad del Limnopolar fue mayor (S=38) que la del Lago Somero (S=17) mostró un índice de Simpson de 0,94 y 0,87 respectivamente. La beta-diversidad, es decir, la diferencia en la composición de diatomeas empleando el índice de Whittaker en los dos lagos fue $\beta=0,49$ y la gamma-diversidad que integra las componentes anteriores (alfa y beta), estimando la variedad de especies en ambos lagos, fue $\gamma = 27$ siendo este último valor una aproximación al número total de especies registradas en los dos lagos. La abundancia relativa de cada especie de diatomea se puede consultar en la tabla 1.

Respecto a la ingesta de diatomeas por parte de *B. gaini* observamos que consumió 15 especies de diatomeas como alimento de un total de 23 especies observadas en el Lago Somero, tomando en cuenta tanto las del listado (Tabla 1) como las 6 especies observadas en el contenido del tracto digestivo de *B. gaini*, ausentes en dicho listado (Tabla 2). Nuestros resultados mostraron que

del total de especies de diatomeas que se observaron en el tracto digestivo de *B. gaini*, 11 fueron las especies de mayor consumo, las cuales se nombran a continuación: *Nitzschia perminuta-complex*, *Nitzschia hamburgensis*, *Nitzschia pusilla*, *Nitzschia palacea*, *Chamaepinnularia krookiiformis*, *Pinnularia australmicrostauron*, *Pinnularia australdivergens*, *Pinnularia microsaturoides*, *Pinnularia subantartica* var. *elongata*, *Gomphonema* spp., *Navicula cremeri*. Considerando únicamente las especies de diatomeas observadas por Kopalova y Van de Vijver (2013) para el Lago Somero encontramos que *B. gaini* consumió 10 de las 17 especies de diatomeas, descartando el resto. En conclusión, *B. gaini* muestra preferencia por cuatro géneros de diatomeas: *Nitzschia* sp., *Pinnularia* sp., *Gomphonema* sp. y *Navicula* sp.

Tabla 1. Especies de diatomeas presentes en el Lago Somero y Limnopolar. Los datos se muestran a nivel cuantitativo por medio de abundancias relativas y a nivel cualitativo por medio de presencia-ausencia, así como las especies en común entre lagos (última columna). Los recuentos fueron proporcionados por Kopalova y Van de Vijver (2013).

| Especie de diatomea | Abundancia relativa (%) | | Presencia y ausencia | | Especies en común |
|--|-------------------------|-------------|----------------------|-------------|-------------------|
| | Lago Limnopolar | Lago Somero | Lago Limnopolar | Lago Somero | |
| <i>Achnanthyidium</i> aff. <i>minutissimum</i> | 0,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Adlafia submuscora</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Amphora veneta</i> | 4,25 | 0,50 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Brachysira minor</i> | 5,00 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Caloneis bacillum</i> | 2,00 | 0,75 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Chamaepinnularia australomediocris</i> | 0,00 | 6,50 | 0 | 1 | |
| <i>Diademesis arcuata</i> | 5,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Diademesis australis</i> | 4,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Diademesis inconspicua</i> | 9,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Diademesis non-comperei</i> | 0,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Diademesis non-ingeae</i> | 0,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Fragilaria capucina</i> | 0,75 | 2,50 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Gomphonema</i> spp. | 4,75 | 1,00 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Hippodonta hungarica</i> | 0,75 | 0,75 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Luticola truncata</i> | 0,50 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Luticola vermeulenii</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Mayamaea permissis</i> | 0,50 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Navicula australoshetlandica</i> | 4,00 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Navicula cremeri</i> | 0,50 | 21,75 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Navicula dobrinatenskivae</i> | 1,75 | 0,50 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Navicula gregaria</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Nitzschia gracilis</i> | 0,25 | 3,25 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Nitzschia homburgensis</i> | 0,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Nitzschia inconspicua</i> | 1,50 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Nitzschia paleacea</i> | 1,50 | 11,25 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Nitzschia perminuta-complex</i> | 11,25 | 12,75 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Pinnularia australoglobiceps</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Pinnularia australomicrotauron</i> | 1,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Pinnularia microstauroides</i> | 0,00 | 0,75 | 0 | 1 | |
| <i>Pinnularia subantarctica</i> var. <i>elongata</i> | 1,00 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Planothidium australe</i> | 7,25 | 3,00 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Planothidium frequentissimum</i> | 1,50 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Planothidium rostro/lanceolatum</i> | 2,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Psammothidium abundans</i> | 2,75 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Psammothidium germainii</i> | 0,50 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Psammothidium papilio</i> | 10,25 | 2,00 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Sellaphora seminulum</i> | 2,50 | 18,00 | 1 | 1 | 1 |
| <i>Stauriforma exiguiformis</i> | 0,00 | 2,00 | 0 | 1 | |
| <i>Stauroneis latistauros</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Stauroneis pseudoschimanskii</i> | 0,25 | 0,00 | 1 | 0 | |
| <i>Staurosira pinnata</i> | 7,75 | 12,75 | 1 | 1 | 1 |

Contenido del tracto digestivo de *B. gaini* en el Lago Somero

La longitud de los 23 especímenes de *Branchinecta gaini* utilizados para el estudio, 5 hembras y 18 machos, varió entre 8,9 y 16,5 mm, mostrando un promedio de $13,29 \pm 2,07$ mm. En el contenido del tracto digestivo del total de individuos analizados se identificaron 32 taxones distintos, compuestos principalmente de microalgas y ciliados, los cuales se clasificaron hasta el nivel de especie cuando fue posible (Tabla 2). En el contenido del tracto digestivo se observó la presencia de detritus en diferentes proporciones dependiendo del individuo, en el cual no fue posible en ningún caso asignar el origen taxonómico de los restos observados. Ocasionalmente se observaron también dos huevos no identificados, un grano de polen, y restos del musgo *Drepanocladus longifolius* (Mitt), cuyo crecimiento se limita al bentos del Lago Limnopolar. En general, no pareció existir una relación entre el tamaño del anostráceo y el tipo y/o cantidad de dieta ingerida. Así, únicamente en el caso del ciliado *Balanium planctonicum* se observó una ligera correlación negativa (coeficiente de Pearson $r = -0,395$), aunque estadísticamente significativa (p -valor = 0,041), entre el tamaño del individuo y la cantidad de ciliados ingerida (Tabla 2).

El conjunto de algas que se observaron en la dieta pertenecieron a los grupos *Bacillariophyceae*, *Chlorophyceae*, *Conjugatophyceae* y *Xantophyceae*, cuyas abundancias relativas y clasificación a nivel de género y/o especie se muestran en la tabla 2. Debido a la ambigüedad encontrada en algunos casos, dentro de las *Bacillariophyceae*, en la distinción de determinadas especies durante los recuentos, la abundancia de algunas de estas diatomeas se representó de forma conjunta como se muestra en la tabla 2, por ejemplo para las diatomeas del género de *Nitzschia* se agruparon tres especies: *N. perminuta-complex*, *N. hamburgensis* Lange-Bertalot y *N. pusilla* Grunow. El grupo taxonómico de mayor abundancia en el tracto digestivo y riqueza, con un

73,07% y un total de 16 géneros respectivamente, fueron las diatomeas (*Bacillariophyceae*), de las que fue posible llegar a la identificación de 22 especies. Las diatomeas más representativas en la dieta fueron aquellas pertenecientes a los géneros *Gomphonema*, *Achnantheidium*, *Nitzschia*, *Navicula*, *Chamaepinnularia*, *Pinnularia* y *Diadesmis*. Los géneros menos abundantes por su parte fueron los siguientes: *Amphora*, *Stauroneis*, *Sellaphora*, *Stauroforma*, *Placoneis*, *Caloneis*. Las clorofíceas representaron en torno al 18% de los ítems observados, debido principalmente a la presencia de *Chlamydomonas* sp. y otras microalgas unicelulares como *Oocystis* sp. Las algas conjugadas, con un porcentaje menor próximo al 4% estuvieron representadas por dos especies del género *Cosmarium*, mientras que la presencia de la xantofícea *Ophiocytium* sp. fue testimonial (<0,2%). Finalmente, los dos ciliados euplanctónicos observados en las muestras, los cuales representaron un 4,51% del total de ítems distinguidos, correspondieron a los géneros *Balanion planctonicum* Foissner y *Cyclidium glaucoma* Müller, siendo ligeramente más habitual la presencia del primero.

Tabla 2. Contenido del tracto digestivo de *Branchinecta gaini* en el Lago Somero.

| Grupo | % de abundancia | Especies | Frecuencia de aparición* | | |
|--------------------------|-----------------|---|--------------------------|--------------------------|----|
| Bacillariophyceae | 73,07 | <i>Gomphonema</i> sp. | 18 | | |
| | | <i>Achnanthyidium exiguum</i> (Grunow) D.B. Czamecki | 15 | | |
| | | <i>Nitzschia perminuta</i> -complex, <i>N. hamburgensis</i> Lange-Bertalot y <i>N. pusilla</i> Grunow | 15 | | |
| | | <i>Navicula cremeri</i> Van de Vijver & Zidarova | 15 | | |
| | | <i>Chamaepinnularia krookiiformis</i> (krammer), <i>Pinnularia australomicrostauron</i> Zidarova et al., <i>Pinnularia australadivergens</i> Zidarova et al., <i>Pinnularia microstauroides</i> Zidarova et al., <i>Pinnularia subantarctica</i> var. <i>elongata</i> (Manguin) Van de Vijver & Le Cohu | 14 | | |
| | | <i>Diademsis</i> cf. <i>arcuata</i> (Heiden) Lange-Bertalot, <i>Diademsis australis</i> Van de Vijver & Sabbe | 14 | | |
| | | <i>Achnanthyidium</i> cf. <i>minutissimum</i> (Hustedt) Czamecki | 13 | | |
| | | <i>Nitzschia palacea</i> Grunow | 12 | | |
| | | <i>Staurosirella</i> sp. | 12 | | |
| | | <i>Stauriforma exiguiiformis</i> (Lange-Bertalot) Flower | 8 | | |
| | | <i>Planothidium austral</i> , <i>P.</i> cf. <i>lanceolatum</i> (Brèbisson)Round & Bukhtiyarova | 8 | | |
| | | <i>Fragilaria capucina</i> Desmazières | 6 | | |
| | | <i>Stauroneis latistauros</i> Van de Vijver & Lange-Bertalot | 4 | | |
| | | <i>Sellaphora seminulum</i> (Grunow) Mann | 4 | | |
| | | <i>Placoneis australis</i> Van de Vijver & Zidarova | 4 | | |
| | | <i>Caloneis</i> cf. <i>bacillum</i> (Grunow) Cleve | 4 | | |
| | | <i>Amphora</i> cf. <i>veneta</i> Kützing | 3 | | |
| | | Chlorophyceae | 18,36 | <i>Chlamydomonas</i> sp. | 12 |
| | | | | <i>Oocystis</i> sp. | 6 |
| | | | | <i>Binuclearia</i> sp. | 2 |
| Zygnematophyceae | 3,94 | <i>Cosmarium</i> sp. 1 (~80 µm de ancho) | 8 | | |
| | | <i>Cosmarium</i> sp. 2 (~65 µm de ancho) | 2 | | |
| Xanthophyceae | 0,12 | <i>Ophiocytium</i> sp. | 1 | | |
| Ciliados | 4,51 | <i>Balanion planctonicum</i> Foissner et al. | 8 | | |
| | | <i>Cyclidium glaucoma</i> Müller | 6 | | |

*Número de veces que el taxón aparece en un total de 23 anostráceos analizados.

En relación a la variación estacional en la dieta, y como se observa en la curva de rarefacción de la figura 1, la incorporación de nuevas especies se saturó a los 48 días de estudio de los 75 en los que se llevó a cabo la recolección de anostráceos, coincidiendo con la fase ya completa de deshielo y periodo de máxima productividad en los lagos. En este mismo sentido, el índice de diversidad de Shannon, calculado con los géneros presentes en la dieta y de forma individual para cada uno de los anostráceos, mostró un ligero aumento a lo largo del verano (Figura 2), haciéndose máximo a finales de enero y principios de febrero, cuando las condiciones climáticas son más propensas para aumentar la producción primaria en los lagos. A su vez, calculado con el total de muestras analizadas (N=23), el índice de diversidad de Shannon fue de 2,42.

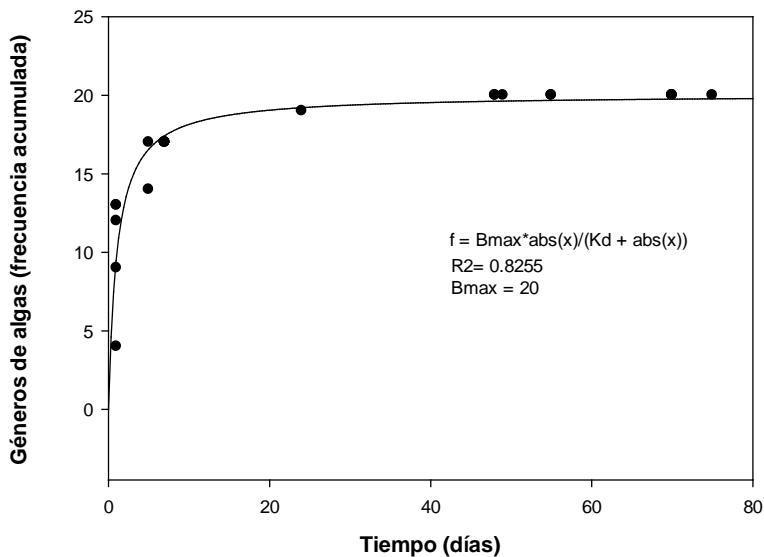


Figura 1. Curva de rarefacción en la que se muestra la aparición acumulada de géneros en la dieta de *Branchinecta gaini*. El eje de las abscisas muestra ordenados los 75 días en los que se llevó a cabo la recolección de anostráceos, siendo el inicial el 28/11/2006 y el final el 6/02/2007.

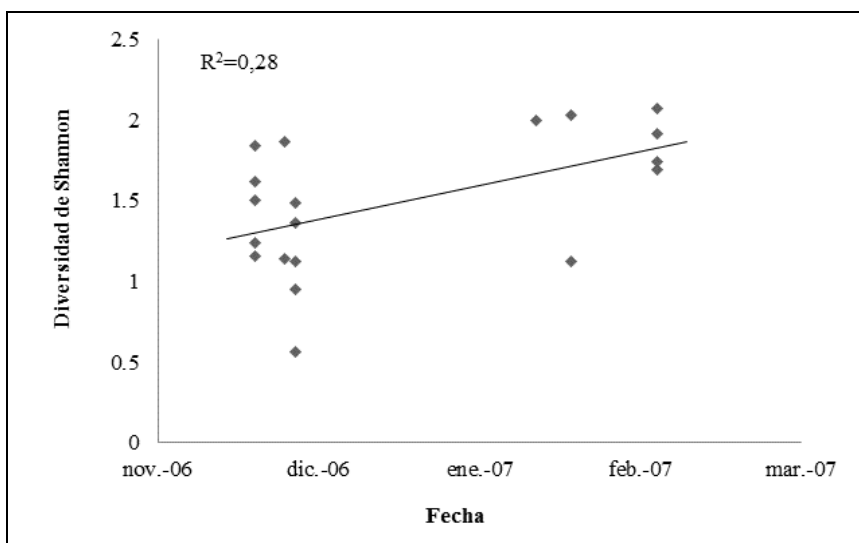


Figura 2. Evolución, durante el verano austral, del índice de Shannon calculado con los géneros de diatomeas aparecidos en la dieta de los distintos individuos de *B. gaini* analizados durante la campaña antártica 2006/2007.

En este mismo sentido, en algunos géneros de diatomeas se observaron tendencias estacionales positivas según avanzó el periodo estival (Tabla 3), obteniéndose un ajuste lineal estadísticamente significativo en los casos de *Nitzschia*, *Pinnularia*, *Gomphonema*, *Navicula* y *Cosmarium*. Por el contrario, en el caso de *Chlamydomonas* su consumo decreció linealmente de forma significativa según avanzó el periodo de estudio. Únicamente dos géneros, *Achnantidium* y *Diadesmis*, mostraron un mejor ajuste en el patrón de consumo con un modelo cuadrático (Tabla 3), debido a su mayor presencia en el tracto digestivo durante periodos intermedios de la ventana temporal estudiada. Finalmente, en el caso de los ciliados, no se observó ninguna tendencia significativa, aunque sí cierto aumento en el consumo hacia final del periodo de estudio.

Tabla 3. Periodo de observación de mayor consumo de los grupos taxónomicos encontrados en el tracto de *B. gaini* en el tiempo de estudio y su tendencia. El periodo de máximo consumo hace mención a los meses en los que la aparición del género en el tracto digestivo se maximiza, indicándose los meses (noviembre, diciembre, enero y febrero) con su letra inicial. La tendencia indica si el ajuste de la función, en caso de ser significativo, es positivo (+) o negativo (-) durante todo el periodo, o si se ajusta a una función cuadrática con valores máximos de presencia en periodos intermedios (\pm). En los casos en los que no se obtuvo un ajuste con un p-valor igual o inferior a 0,05 se indica como no significativo (n.s.).

| Género | Periodo de máximo consumo | Tendencia | R ² | p-valor |
|----------------------|---------------------------|-----------|----------------|---------|
| <i>Achnantidium</i> | E-F | \pm | 0,370 | 0,010 |
| <i>Nitzschia</i> | E-F | + | 0,299 | 0,007 |
| <i>Fragilaria</i> | E-F | + | 0,019 | n.s. |
| <i>Pinnularia</i> | E-F | + | 0,264 | 0,012 |
| <i>Gomphonema</i> | N-D-E-F | + | 0,227 | 0,022 |
| <i>Navicula</i> | E-F | + | 0,260 | 0,013 |
| <i>Amphora</i> | | | | n.s. |
| <i>Diadesmis</i> | E-F | \pm | 0,521 | 0,001 |
| <i>Stauroneis</i> | | | | n.s. |
| <i>Staurosinella</i> | | | | n.s. |
| <i>Selaphora</i> | | | | n.s. |
| <i>Sturinoforma</i> | | | | n.s. |
| <i>Pleuconeis</i> | | | | n.s. |
| <i>Plancthidium</i> | | | | n.s. |
| <i>Caloneis</i> | | | | n.s. |
| <i>Cosmarium</i> | E-F | + | 0,194 | 0,036 |
| <i>Binuclearia</i> | | | | n.s. |
| <i>Oocystis</i> | | | | n.s. |
| <i>Ophiocytium</i> | | | | n.s. |
| <i>Chlamydomonas</i> | N-D | - | 0,209 | 0,028 |

Perfil de ácidos grasos de *Branchinecta gaini* en los Lagos Somero y Limnopolar

La distribución de ácidos grasos en función de su tipología en *Branchinecta gaini* para los distintos tipos de muestra analizados (lago, sexo, estado de gravidez) se muestra en la tabla 4, representados en algunos casos tanto en términos de individuo como de biomasa. La composición de ácidos grasos de cada individuo analizado, tanto del Lago Somero como del Lago Limnopolar, así como para las hembras ovígeras y no ovígeras mostraron cada uno diferente proporción de los ácidos grasos que contienen ($p < 0,05$). Estadísticamente, los datos de la composición de ácidos grasos en los machos de *B. gaini* a nivel individual, entre el ejemplar del Lago Limnopolar y el ejemplar del Lago Somero mostraron una distribución normal (Shapiro-Wilk, $p < 0,05$) y no se observaron diferencias en cuanto a su composición de ácidos grasos entre individuos en ambos lagos ($t_{(18)} = 1,44$, $p = 0,887$). Los ácidos grasos más abundantes fueron los saturados y los monoenoos, seguidos por los poliinsaturados y en menor medida los n-3, n-6 y los HUFA. Por otra parte, los perfiles detallados de ácidos grasos para las mismas muestras se muestran en la tabla 5, en donde los ácidos grasos más abundantes en términos de porcentaje de área del cromatograma fueron el palmítico (16:0), palmitoleico (16:1n-7), esteárico (18:0), oleico (18:1n-9), 18:1n-7, linoleico (18:2n-6), α -linoleico (18:3n-3) y el EPA 20:5n-3.

En relación a las diferencias observadas en función del origen de los anostráceos, los ejemplares capturados en el Lago Somero mostraron una mayor proporción de ácido palmitoleico (16:1n-7), característico de las diatomeas, si se compara con los proveninetes del Lago Limnopolar, probablemente por la diferencia en la dieta, debido a la diferencia en la composición del bentos de cada lago, ya que el Lago Somero contiene más tapetes microbianos y está sometido a mayor resuspensión del sedimento (rico en detritus), a diferencia del

Lago Limnopolar en el cual el bentos está compuesto por el musgo acuático *D. longifolius*, proporcionando porcentajes del 26,55% y 39,36% en términos de individuo y biomasa respectivamente en el Lago Somero. Por su parte, en el Lago Limnopolar, los porcentajes para este mismo compuesto fueron respectivamente del 9,27% y 8,03%. Igualmente, el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), también característico de las diatomeas, mostró porcentajes más elevados (6,34% y 9,06%) en el Lago Somero en comparación con el Lago Limnopolar. Por el contrario, el ácido esteárico (18:00) exhibió valores algo más elevados en los individuos procedentes del Lago Limnopolar, con porcentajes del 8,81% y 7,43% en términos de individuo y biomasa respectivamente, a diferencia del Lago Somero con 5,97% y 3,31%.

Tabla 4. Resumen de los tipos de ácidos grasos observados en los distintos ejemplares de *Branchinecta gaini* capturados y algunas relaciones entre ellos. Los valores indican porcentaje de área sobre el total del área del cromatograma.

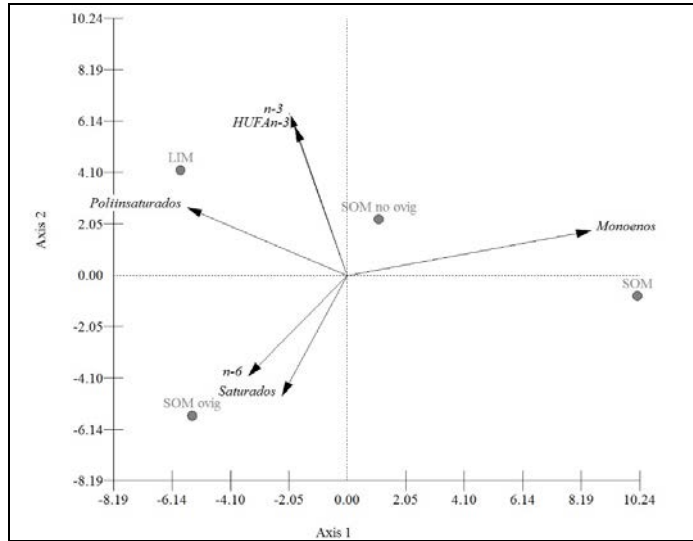
| Ácidos grasos | Somero | | | Limnopolar |
|-----------------------------------|--------|--------------|-----------------|------------|
| | ♂ | ♀ ovígera | ♀ no ovígera | ♂ |
| Total | 93,84 | 93,77 | 96,58 | 91,67 |
| Saturados (SAFA) | 31,17 | 40,53 | 33,48 | 32,94 |
| Monoenos (MUFA) | 51,07 | 29,95 | 41,47 | 31,51 |
| Poliinsaturados (PUFA) | 11,6 | 23,29 | 21,63 | 27,22 |
| n-3 | 8,06 | 8,23 | 13,92 | 17,98 |
| n-6 | 2,96 | 14,26 | 6,34 | 8,32 |
| Altamente insaturados (HUFA) n-3 | 4,63 | 4,71 | 10,08 | 13,56 |
| Altamente insaturados (HUFA) n-6 | 1,42 | 1,44 | 3,95 | 3,38 |
| Ratio 16:0/16:1 | 0,65 | 1,59 | 1,57 | 2,60 |
| Ratio 22:6n-3 (DHA)/22:6n-3 (EPA) | 0,04 | 0,05 | 0,04 | 0,06 |

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos de *Branchinecta gaini* en los Lagos Somero y Limnopolar representado como el porcentaje del área total del cromatograma.

| Ácido graso | Lago Somero | | | Lago Limnopolar |
|---------------|-------------|-----------|--------------|-----------------|
| | ♂ | ♀ ovígera | ♀ no ovígera | ♂ |
| 14:0 | 1,06 | 2,06 | 0,73 | 1,99 |
| 15:0 | 0,36 | 2,60 | 0,27 | 0,27 |
| 16:0 | 25,70 | 20,10 | 24,89 | 20,86 |
| 16:1n-7 | 32,95 | 12,63 | 15,85 | 8,03 |
| 16:2 | 0,16 | 0,74 | 1,09 | 1,18 |
| 17:0 | 0,45 | 0,85 | 0,44 | 1,84 |
| 16:3 | 0,33 | 0,74 | 0,28 | - |
| 18:0 (SAFA) | 3,31 | 13,84 | 6,54 | 7,43 |
| 18:1n-9 | 11,09 | 14,58 | 20,65 | 22,58 |
| 18:1n-7 | - | 1,94 | 4,58 | - |
| 18:2n-6 | 1,54 | 12,14 | 2,39 | 4,68 |
| 18:3n-3 (LNA) | 2,86 | 3,00 | 3,30 | 2,43 |
| 18:4n-3 | 0,57 | 0,52 | 0,54 | 1,99 |
| 20:0 | 0,16 | 0,76 | 0,35 | 0,31 |
| 20:1n-9 | 0,28 | 0,54 | 0,20 | 0,17 |
| 20:3n-6 | 0,78 | 0,27 | 2,72 | 2,18 |
| 20:4n-6 (ARA) | 0,59 | 0,55 | 1,23 | 1,07 |
| 20:5n-3 (EPA) | 4,30 | 4,50 | 9,71 | 12,6 |
| 22:0 | 0,13 | 0,32 | 0,26 | 0,24 |
| 22:1n-11 | 0,10 | 0,26 | 0,19 | 0,29 |
| 22:6n-3 (DHA) | 0,19 | 0,21 | 0,37 | 0,71 |

Respecto al estado de gravidez de las hembras recolectadas en el Lago Somero, las hembras ovígeras presentaron en general mayor acumulación de ácidos grasos (Tabla 5), destacando en este caso el ácido linoleico (18:2n-6), el cuál llegó a superar en aproximadamente 5 veces el porcentaje observado a nivel individual (1,54%). Igualmente, estas hembras mostraron un aumento del ácido esteárico, el cual casi duplicó (13,84%) el valor observado en las hembras no ovígeras (6,54). Por el contrario, el ácido palmitoleico (16:1n-7), que fue generalmente alto en las todas las hembras, mostró no obstante valores algo más elevados en las hembras no ovígeras.

a)



b)

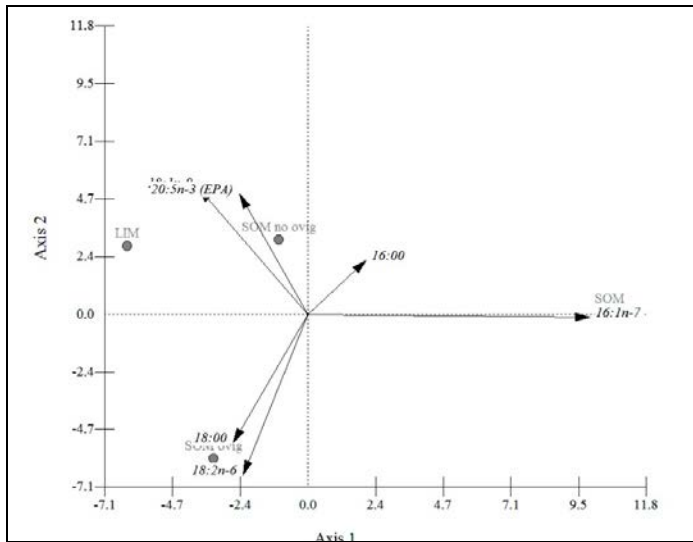


Figura 4. Análisis de componentes principales de los perfiles de ácidos grasos obtenidos en las cuatro categorías de individuos de *B. gaini* discriminadas en el estudio: machos del Lago Somero (SOM), hembras ovígeras del Lago Somero (SOM ovig), hembras no ovígeras del Lago Somero (SOM no ovig) y machos del Lago Limnopolar (a) con los porcentajes de las tipologías de ácidos grasos y (b) con el perfil detallado de los ácidos grasos. Las escalas de los vectores son respectivamente de 11,38 y 11,59.

De acuerdo con estas diferencias observadas, y con el objetivo de visualizar mejor estas interrelaciones existentes entre el perfil de ácidos grasos y los distintos tipos de anostráceos capturados, se llevaron a cabo dos análisis de componentes principales (ACP), tanto con los porcentajes de las tipologías de ácidos grasos (Tabla 4) (ACP 1; Figura 4) como con el perfil detallado de estos (Tabla 5) (ACP 2; Figura 4). En función de la explicación de la varianza, ambas ACPs mostraron valores similares, siendo estos respectivamente del 74,9% y 73,40% en el primer componente, y de 24,4% y 23,5% en el segundo componente (Fig. 3). Para facilitar la visibilidad de los resultados, en las ACPs únicamente se mostraron los vectores con una longitud superior al 10% de la longitud del eje, siendo por tanto estas variables las más explicativas en cada uno de los componentes.

5.4. Discusión

Los resultados obtenidos en el análisis de la dieta y el contenido de ácidos grasos en *Branchinecta gaini*, en el área de la región de la Antártida marítima muestra una dieta compuesta de microalgas, ciliados y partículas detríticas disponibles en el lago. Nuestro estudio constituye también la primera aproximación al perfil de ácidos grasos de esta especie en lagos de la Antártida marítima. En el caso particular de un lago poco profundo de la Península de Byers, las diatomeas bentónicas representan su principal fuente de alimento. No obstante, es posible también encontrar diferencias tanto en función del origen y sexo del anostráceo. Estudios previos sobre los hábitos alimentarios de *B. gaini* describen a este anostráceo como detritívoro, herbívoro y filtrador, exhibiendo esencialmente un comportamiento de forrajeo sobre sedimentos orgánicos (Butler *et al.*, 2005), y cuyos principales recursos serían algas y detritus (Jurasz *et al.*, 1983). No obstante, diferentes autores coinciden en que este anostráceo podría presentar una alimentación más generalista dependiendo de la disponibilidad de alimento (Jurasz *et al.*, 1983; Paggi, 1996). *B. gaini* utilizó como fuente de alimentación la mayoría de las especies de diatomeas presentes en el Lago Somero, destacando el consumo de algunas especies (11) lo que parece indicar que si presenta una preferencia por cierto tipo de diatomeas, tanto por abundancia como por la forma de las mismas. Llama la atención que de los géneros preferidos por *B. gaini*, las diatomeas tienen una morfología específica según la clasificación de Spaulding (2013) para diatomeas antárticas; en donde los géneros de mayor consumo tienen forma naviculoide, cymbeloide y nitzschoide, con tres características en común, son alargadas, con simetría bilateral y el rafe bien desarrollado, quizás debido a esta forma de las diatomeas es más factible su consumo a la hora de buscar alimento.

Nuestro estudio confirma que las algas mayoritariamente consumidas por *B. gaini* son diatomeas y clorófitas, siendo no obstante las primeras junto

con las cianobacterias las que mayoritariamente componen el bentos del Lago Somero (Toro *et al.*, 2007). Una dieta rica en diatomeas se da también en otras especies de crustáceos de ecosistemas polares como es el caso de los amphipodos *Apherusa glacialis*, *Gammarus wilkitzkii* y *Omisimus cf. caricus* en el Ártico (Scott *et al.*, 1999). Esta preferencia por las diatomeas, en menor medida por la clorófitas, y el rechazo al consumo las cianobacterias a pesar de su notable presencia, se corresponde además de forma provechosa con la calidad nutricional de estos grupos algales, lo que a su vez está positivamente relacionado con su mayor contenido de HUFA (Brett *et al.*, 1997). Si bien la estrategia de *B. gaini* podría ser bastante generalista, obviando el claro rechazo por las cianobacterias debido a su bajo valor nutricional, sí parece existir una mayor incidencia de determinados géneros de diatomeas en la dieta como son *Gomphonema*, *Achnantidium*, *Navicula* y *Pinularia*, aunque esto podría ser debido a una mayor probabilidad de captura según su abundancia en el lago. En este mismo sentido, los cambios estacionales principalmente observados en el consumo de algunas diatomeas sugieren que estos son en respuesta a cambios en la composición de la comunidad del lago a lo largo del verano austral, por lo que una mayor o menor presencia de un alga en el tracto digestivo parece responder a su mayor o menor presencia en el lago más que a una preferencia particular de *B. gaini* por su consumo. Siguiendo esta argumentación, parece también lógico que los valores máximos de diversidad de ítems observados en el tracto digestivo concuerden con el periodo de mayores temperaturas, disponibilidad de luz y nutrientes (Toro *et al.*, 2007; Rochera *et al.*, 2010), momento en el que estos valores de diversidad se maximizan también en los propios lagos. Esta idea de un consumo generalista de *B. gaini* sobre la comunidad de diatomeas bentónicas (i.e., pennadas) parece tener apoyo en los exhaustivos estudios taxonómicos que se han llevado a cabo en la zona. Así, de los 14 géneros de diatomeas que Kopalova y Van de Vijver (2013) describen en el Lago Somero, en el presente estudio hemos encontrado hasta 11 de ellos en el tracto digestivo, a excepción de algunos géneros menos característicos

Hippodonta, *Psammothidium* y *Staurosira*. Por otra parte, algunas de las especies correspondientes a los géneros observados en la dieta (*Achnantheidium*, *Diadesmis*, *Placoneis*, *Stauroneis* y *Staurosirella*) no fueron registrados por Kopalova y Van de Vijver, lo que probablemente se deba a cambios en la composición de la comunidad.

Los ácidos grasos tienen una gran utilidad como biomarcadores en estudios de ecología (De Carvalho y Caramujo, 2014), por ejemplo, se pueden emplear en el análisis de la dieta y la composición energética del zooplankton, en muchas ocasiones buscando su aplicación en la acuicultura (Ruiz, 2008; Koussoroplis *et al.*, 2014). No obstante, este tipo de aproximaciones analíticas han tenido un uso limitado hasta la fecha en estudios de ecología trófica en ambientes polares. Los distintos perfiles de ácidos grasos obtenidos en el presente estudio para *B. gaini* coincide a grandes rasgos con algunos de los publicados previamente para otras especies de anostráceos como *Artemia* sp. (Watanabe, 1978). Las proporciones de ácido linolénico (LNA; 18:3n-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5n-3), esto es, un alto y bajo contenido de LNA y EPA respectivamente, corresponden a organismos de agua dulce (Watanabe, 1978). La composición de ácidos grasos obtenida es también característica de una dieta omnívora si atendemos a lo que valores que proponen Graeve *et al.* (1994) para tres especies de copépodos antárticos basándose en la presencia de los ácidos grasos 18:1n-9, 14:0, 16:0. No obstante, sigue siendo notable en el caso de nuestro estudio la presencia legible de marcadores de herbivoría como los ácidos palmitoleico (16:1n-7) y eicosapentaenoico (20:5n-3), propios asimismo de la presencia de diatomeas en la dieta. La presencia también en nuestro caso de los ácidos 16:0, 18:3n-3 (Ac. Linolénico) coincide igualmente con dietas principalmente basadas en el consumo de algas (Desvilettes *et al.*, 1994).

En coherencia con lo observado en el estudio del tracto digestivo, y además de evidenciar el carácter predominantemente hervíboro de la dieta, estos resultados señalan el consumo prioritario de diatomeas. Existen autores que cuestionan la utilidad como marcador trófico de alguno de estos lípidos ya que forman parte de las membranas celulares de todos los organismos (Hagen *et al.*, 1995; Peters *et al.*, 2004). Sin embargo, nuestro enfoque metodológico, que incluye también la exploración del tracto digestivo, da validez a esta importancia de las diatomeas en la dieta de este anostráceo, particularmente en el Lago Somero, dónde la presencia de diatomeas bentónicas es más importante si se compara con el Lago Limnopolar, el cual es más profundo, dónde los biofilms dominados por diatomeas no son el constituyente más importante del bentos. Adicionalmente, la conectividad existente entre ambos lagos explicaría por ejemplo la presencia ocasional en el tracto digestivo de alguno de los ejemplares del Lago Somero del musgo *Drepanocladus longifolius*, dominante solo en el bentos del Lago Limnopolar. Pero lo que parece evidente es que, basándonos en las diferencias observadas en los perfiles de ácidos grasos entre ambos lagos, parecen existir diferencias en la dieta de *B. gaini* en función del lago de origen, lo que permite especular sobre su posible plasticidad a la hora de obtener recursos y completar su ciclo de vida, ya que en ambos lagos existen poblaciones estables de este anostráceo. En otro orden de cosas, una dieta carnívora por lo general da como resultado altas proporciones de los ácidos grasos 20:1n-9 y 22:1n-11 (Graeve *et al.*, 2005), ambos ausentes en las algas. Su presencia en nuestro caso en individuos de ambos lagos, aunque en bajas proporciones, demostraría el carácter omnívoro de *B. gaini*, principalmente mediante el consumo de ciliados como demuestra el estudio del tracto digestivo, redundando esto en la potencial plasticidad trófica que este anostráceo parece mostrar y que facilitaría su distribución en distintos ambientes bentónicos de la región.

Un estudio de los hábitos alimenticios del anostráceo *Streptocephalus proboscideus* durante todo su ciclo de vida sugiere que en las etapas tempranas este tipo de crustáceos podrían basar en buena parte su obtención de recursos del consumo de bacterias además de fitoplancton (Jawahar *et al.*, 1996). Si nos basamos en los marcadores propuestos por Carvalho y Caramujo (2014), observamos la existencia de marcadores bacterianos también en nuestras muestras, tanto de bacterias Gram negativas (18:1n7, 17:0) como de Gram positivas (15:0 y 17:0). No obstante, no es posible en nuestro caso discernir si se trata de una fuente de alimento, o es más bien que estas bacterias formen parte del tracto digestivo como consecuencia de una relación de simbiosis, posibilidad esta última sugerida también por algunos autores (Ampe y Thiéry, 1998).

En relación a las diferencias observadas entre sexos en el perfil de ácidos grasos, básicamente estos responderían a una acumulación diferencial de los mismos y a que las hembras los utilizan como reserva energética para la producción de huevos, en los que una buena parte de estos lípidos se acumulan. Uno de los ácidos grasos que mayor enriquecimiento muestra en nuestro caso en las hembras ovígeras es el ácido graso saturado 18:0, de forma similar a lo observado por Ederington *et al.*, (1995) en el copépodo marina *Acartia tonsa*, quien además describe esta acumulación tanto en el tejido somático como en los huevos. Por otra parte, Mura *et al.* (2000), en un estudio similar llevado a con el anostráceo *Chirocephalus kerkyrensis* en zonas inundadas del Parque Nacional de Circeo (Italia Central), observaron no solo diferencias en el perfil de ácidos grasos entre sexos, si no también en función del estado del gravidez de las hembras, de forma similar a lo observado en el presente estudio. No obstante, estas diferencias parecen no limitarse a aspectos metabólicos, también podrían ser por diferencias comportamentales, ya que estos mismos autores observaron una mayor actividad de forrajeo en las hembras, probablemente por la necesidad de obtener más recursos para la mencionada producción de descendencia.

Estas diferencias entre la alimentación de machos y hembras podrían ser también cualitativas como sugieren algunos autores (Mertens *et al.*, 1991), debido a las diferencias existentes en el aparato bucal de ambos sexos. Nuestro estudio del contenido del tracto digestivo no permite testar esta última hipótesis, ya que no se realizó una discriminación sistemática entre sexos. No obstante, las diferencias observadas en los perfiles de ácidos grasos, además de aspectos energéticos asociados a la producción de huevos, podrían responder de igual modo a la existencia de diferencias cualitativas en la dieta. En este sentido, es conocida la divergencia existente en la composición relativa de diferentes ácidos grasos clave de distintos grupos algales (Brett y Müller-Navarra, 1997). Por ejemplo, las diatomeas poseen una mayor cantidad de EPA (20:5n-3) y DHA en relación a los ácidos linoleico y linolénico (LNA; 18:3n-3). Por el contrario, las clorófitas presentan más bien trazas de los primeros y una mayor proporción en cambio de LNA. Estas diferencias entre grupos algales podrían ser la explicación de las diferencias observadas entre machos y hembras analizados en el Lago Somero y, en particular, en el caso de las hembras ovígeras sugieren como hipótesis un mayor consumo de clorófitas. De acuerdo a lo observado en el estudio del tracto digestivo, este mayor consumo de clorófitas debería recaer mayoritariamente en *Cosmarium* sp. que, aunque en términos relativos presente una menor abundancia que las diatomeas, en términos de biomasa podría ser un componente importante de la dieta. Esta mayor dominancia en términos numéricos de las diatomeas en la dieta de *B. gaini* pero menor en términos de biomasa en comparación con otros grupos algales ha sido ya advertida por otros autores (Paggi, 1996). Por el contrario, los bajos porcentajes observados de los ácidos 22:6n-3 y el 18:4n-3, característicos de dinoflagelados, sugieren la escasa o nula presencia de estos en la dieta del anostráceo, idea que coincide con lo observado en el estudio del tracto digestivo y que se correspondería con la poca abundancia de este grupo algal en ecosistemas acuáticos del área de estudio (Rochea *et al.*, 2013b).

En definitiva, nuestro estudio demuestra que *B. gaini* es una especie omnívora, la cual se alimenta de la mayoría de las especies de la comunidad de diatomeas presentes en el Lago Somero, destacando el consumo en cuatro géneros con una morfología concreta; del mismo modo que nuestra información que se corrobora con los resultados de la composición de los ácidos grasos para esta especie respecto al alto consumo de diatomeas. Finalmente, nuestro estudio es importante puesto que además de estudiar aspectos de la ecología trófica de una especie en un medio extremo como es la Antártida y su adaptación a los recursos disponibles también es la primera vez que se obtiene el perfil de ácidos grasos para *Branchinecta gaini*.

Capítulo 6

Análisis conductual del anostráceo *Branchinecta gaini* frente a la disponibilidad de alimento y fraccionamiento isotópico de la red trófica en un lago de la Antártida marítima

6.1. Introducción

El estudio del comportamiento de forrajeo en los animales trata de explicar diversos aspectos relacionados con el hallazgo, preferencia y consumo de alimentos, abordando aspectos como los mecanismos, consecuencias ecológicas y evolución de dicho comportamiento (Balseiro *et al.*, 2001; Caraco, 2012). De forma general, pero particularmente en ambientes polares, la disponibilidad de los recursos puede estar limitada o fraccionada, lo que implica que se produzcan una serie de interacciones entre los organismos y el ambiente que condicionan su conducta alimentaria (Doyle *et al.*, 2012). La optimización de la supervivencia y éxito reproductivo de las especies a través de sus pautas alimentarias se estudia a través de lo que se conoce como la teoría del forrajeo óptimo (*Optimal foraging theory*). Esta teoría contempla la existencia de un balance entre el gasto energético asociado a la obtención de alimento y la ganancia adquirida tras su ingestión, debiendo ser mayor, en términos generales, esta ganancia para que mantener una determinada conducta sea beneficiosa para el organismo. Esta teoría asume por tanto que la selección natural moldea comportamientos que directamente controlan la adquisición de energía por parte de los animales (Caraco, 2012). Pero además de estos mecanismos conductuales relacionados con la optimización del balance energético, hay que tener en cuenta aspectos mecánicos y/o metabólicos, algunos de ellos ya tratados en el capítulo anterior, y que imponen límites en la dieta de los organismos, haciendo que estos sean generalistas o selectivos, existiendo no obstante un continuo entre ambos extremos.

En el caso de un consumidor no estrictamente selectivo que recurre a distintas fuentes de alimento, como puede ser el caso de *Branchinecta gaini*, el patrón de conducta durante el forrajeo cabría esperar que se ajustase a lo que se conoce como un modelo de umbral simple (Leger, 1992), el cual predice que la permanencia en un determinado lugar depende de la tasa de obtención de

alimento, existiendo un umbral por debajo del cual resulta beneficioso abandonarlo. En términos energéticos, esto significa que existe una cantidad de energía mínima que el animal debe consumir en un determinado tiempo para que le resulte ventajosa su permanencia en dicho lugar. Una simple comprobación empírica de esta idea puede ser la de someter al animal a distintas fuentes de alimento potencialmente beneficiosas para el mismo, equiparando experimentalmente la probabilidad de encuentro de las mismas, y observando el régimen de permanencia del animal en cada una de ellas. En este sentido, durante una exposición lo suficientemente prolongada del animal a los distintos recursos, cabe esperar que la probabilidad de ser encontrado en cada uno de ellos se ajuste de forma proporcional al beneficio obtenido de ellos.

Otra aproximación metodológica recurrente en estudios de ecología trófica, y que complementa el análisis anterior, es la basada en el uso de isótopos estables (Van der Zanden *et al.*, 2001). En particular, la observación de su fraccionamiento dentro de los elementos de una cadena trófica, lo que en último término responde a la discriminación que los sistemas biológicos realizan sobre los isótopos pesados. Este hecho permite trazar el recorrido que sigue la energía mediante la identificación de los distintos sustratos o fuentes de alimento (dieta) y consumidores. A diferencia de la observación directa del comportamiento o de incluso el contenido estomacal, los cuales reproducen las interacciones tróficas a una escala temporal más inmediata, el método isotópico, aunque menos resolutivo con respecto a la identidad del alimento, integra la dieta en función del tiempo, lo que en estudios de ecología trófica permite considerarlo un diagnóstico complementario a los citados anteriormente.

Los resultados del capítulo anterior muestran una dieta en el caso de *B. gaini* compuesta por microalgas de las que solo en parte es posible conjeturar su origen. Aunque en menor medida, en esta dieta aparecen también protistas heterotróficos, lo que de algún modo implica una conexión entre la cadena

trófica microbiana y la más clásica, esta última basada en el binomio algas-crustáceos. El objetivo de este capítulo es aportar más evidencias en la ecología trófica de este anostráceo, caracterizando su comportamiento de forrajeo en términos de selección de dieta y complementando con ello los resultados obtenidos en el capítulo anterior. Este estudio se completa con el trazado de la cadena trófica mediante el análisis de las fracciones isotópicas del carbono y nitrógeno de sus distintos componentes, tanto a partir de muestras ambientales como de otras manipuladas experimentalmente, tratando con ello de dar mayor consistencia al análisis de la estructura de la red trófica de este tipo de lagos antárticos en los que *B. gaini* juega un papel clave.

6.2. Metodología

Área de estudio y obtención de muestras

Las características principales de los lagos de estudio, Lago Somero y Lago Limnopolar, se pueden consultar en el capítulo 2 (material y métodos). Durante la visita al lago para llevar a cabo el muestreo (27 de enero de 2009) este se encontraba totalmente deshelado, mostrando un bentos parcialmente heterogéneo, con el lecho de la zona perimetral compuesto por biofilms de algas o tapetes microbianos con una mayor estructura vertical en partes más expuestas a la desecación. También distribuidas por el área perimetral, aunque menos abundantes que las comunidades anteriores, se observaron algas epilíticas creciendo sobre la superficie del material pétreo. Por el contrario, la parte más interior del lago, más profunda y expuesta a la turbulencia, mostró un sedimento de naturaleza más inorgánica, con presencia únicamente de un detritus heterogéneo. Durante estos periodos de deshielo, parte de los aportes alóctonos al lago, además de fragmentos de tapetes microbianos no propios de la laguna, lo constituyen restos de musgos terrestres provenientes de áreas circundantes, y ocasionalmente, restos del musgo acuático *Drepanocladus longifolius* que cubre

el bentos del Lago Limnopolar. También como aportes alóctonos, asimismo ocasionales, fue posible observar algas filamentosas que crecen sujetas al sustrato del arroyo próximo, el cual permite la conexión entre los lagos Somero y Limnopolar. Por su parte, la comunidad de crustáceos estuvo compuesta por el anostráceo *Branchinecta gaini* y el copépodo *Boeckella poppei*. En el caso de *B. gaini*, sobre quien se centra el presente estudio, se recolectaron individuos mediante la realización de transectos a lo largo del lago con una red de 250 micras. En el caso de los copépodos se procedió de un modo similar con una red de 30 micras. El resto de elementos mencionados anteriormente (algas epilíticas, biofilms, algas filamentosas, tapete microbiano, musgo terrestre, musgo acuático, anostráceos muertos y sedimento) fueron recolectados de forma discreta en sus áreas de mayor presencia. Las fracciones de seston fueron obtenidas por filtración seriada a través de mallas de 125 μm y 30 μm respectivamente, obteniéndose con ello dos fracciones de tamaño, una superior a 125 μm y otra comprendida entre 30 μm y 125 μm . Todas las muestras biológicas fueron posteriormente transportadas frescas al campamento (ubicado a ~2 km del lago) dónde se iniciaron los experimentos descritos a continuación.

Análisis del fraccionamiento isotópico de los componentes de la cadena trófica

Una fracción de todos los tipos de material biológico descritos anteriormente fue conservada a -20°C y transportada al laboratorio para realizar su análisis isotópico. Para iniciar este, las muestras fueron secadas a 60°C durante una noche y homogeneizadas. Las fracciones isotópicas de carbono y nitrógeno fueron entonces analizadas en un espectrómetro de masas (ICP-MS NexION Perkin-Elmer) de los servicios de la Universidad Autónoma de Madrid como se detalla en el capítulo 2 de metodología analítica. Los resultados, tanto de las

muestras de fuentes de alimento como de los individuos de *B. gaini* se expresaron de acuerdo al contenido de $\delta^{15}\text{C}$ y $\delta^{13}\text{N}$ por individuo.

Experimento de comportamiento de forrajeo por parte de B. gaini frente a distintas fuentes de alimento

La intención del presente experimento fue reconocer la selección óptima del terreno de forrajeo por parte de la especie *B. gaini* una vez expuesta a distintas fuentes de alimento (Fig. 1). Estas fuentes consistieron en muestras de algas epilíticas, biofilms, algas filamentosas, tapete microbiano, musgo terrestre, musgo acuático, anostráceos muertos y sedimento. El diseño experimental consistió en exponer a 19 individuos de *B. gaini* (7 hembras y 12 machos) a las distintas fuentes y estudiar su conducta frente a los mismos mediante observaciones sistemáticas. Las distintas fuentes de alimento se colocaron en un recipiente rectangular (26 x 17 cm) de forma aislada unos de otros mediante una separación física (9 x 5,5 x 3,5 cm). Toda esta estructura fue a su vez introducida en un receptáculo de mayores dimensiones y relleno con agua del Lago Somero para que los anostráceos, que fueron añadidos posteriormente, pudieran moverse libremente y tener la misma posibilidad de acceso a todas las fuentes de alimento. El examen conductual de los anostráceos presentes en el recipiente se llevó a cabo entre el 27 y 31 de enero mediante dos tipos de observaciones, por observación directa y mediante la obtención de videos, con un total de 30 y 26 observaciones respectivamente. En el caso de las observaciones directas se llevó a cabo la distinción entre machos y hembras. Los periodos transcurridos entre las observaciones, ya fuesen directas o registradas en video, no fueron totalmente regulares debido a la necesidad de tener que coordinar este experimento con otras actividades llevadas a cabo durante la campaña, en cualquier caso este osciló entre 1 y 2 horas durante las horas del día. La obtención de videos permitió que los análisis conductuales pudiesen ser llevados a cabo siempre por el mismo observador. En este sentido,

la idea original del estudio era tratar ambas fuentes de datos, las grabaciones y la inspección directa, de forma conjunta. No obstante, la imposibilidad de distinguir sin ambigüedad el sexo del anostráceo en las grabaciones, lo cual requiere un examen más minucioso, condujo a tratar ambos conjuntos de datos por separado. Con respecto a la parametrización de los resultados, estos se muestran tanto en términos absolutos como porcentuales. A su vez, los porcentajes se calcularon tanto para el tiempo total del experimento como por día.

Variación de la composición isotópica de B. gaini tras su exposición a distintas fuentes de alimento

Para analizar la variación de la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de *Branchinecta gaini* después de ser expuesto a distintas fuentes de alimentación se siguió un procedimiento experimental similar al descrito anteriormente. En este caso se colocaron 15 ejemplares de *B. gaini* (5 hembras y 10 machos) durante 5 días en recipientes de 10 x 10 cm y una profundidad de 6 cm. En cada uno de estos recipientes se colocó un tipo de alimentación: algas filamentosas, biofilm, tapete microbiano, epilíton, musgo terrestre, sedimento, musgo acuático (*D. longifolius*), ejemplares muertos de anostráceos muertos o restos de ellos (Fig. 2). Adicionalmente, en otro recipiente de mayores dimensiones que los compartimentados, se colocaron de forma conjunta todas las fuentes de alimento anteriormente descritas junto con 21 anostráceos (8 hembras y 13 machos) con la finalidad de obtener su composición isotópica en presencia de todas las fuentes de alimento. A la finalización del experimento el material biológico fue congelado y conservado hasta su análisis isotópico siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Análisis estadísticos

A los datos, tanto de selección de dieta como de composición isotópica, se les aplicó la prueba de normalidad Shapiro-wilk debido a que en todos los casos fueron menos de 50 muestras. Los datos con una distribución no normal se analizaron empleando pruebas no paramétricas como la prueba de Wilcoxon, Friedman, ANOVA de Friedman; así como los datos con distribución normal se analizaron con la prueba t para muestras relacionadas. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 23.



| | | |
|-------------------|-----------------|---------------------|
| algas epilíticas | biofilms | algas filamentosas |
| tapete microbiano | musgo terrestre | anostráceos muertos |
| sedimento | todo junto* | musgo acuático |

Figura 1. Material para el experimento de comportamiento de forrajeo de *B. gaini* frente a diferentes fuentes de alimento, las cuales se muestran en la figura (abajo) la cual se corresponde con la foto (arriba). * El compartimento que especifica “todo junto” no se consideró en los análisis.

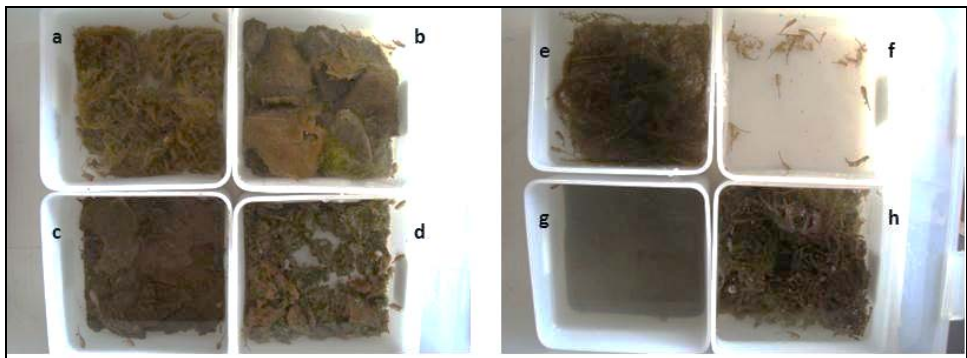


Figura 2. Diseño utilizado para analizar la composición isotópica ($\delta^{15}\text{C}$ y $\delta^{13}\text{N}$) de *Branchinecta gaini* cuando se expone a varias fuentes de alimentación, donde (a) Algas filamentosas, (b) algas epilíticas, (c) biofilms, (d) tapete microbiano, (e) musgo acuático *Drepanocladus longifolius*, (f) anostráceos muertos, (g) sedimento y (h) musgo terrestre.

6.3. Resultados

En el experimento de comportamiento de forrajeo del total de 19 anostráceos introducidos en el acuario, y durante los recuentos mediante observación directa, aproximadamente la mitad fueron percibidos asociados a algún tipo de alimento, mientras que el resto se encontraban transitando la zona libre de alimento. En términos generales *Branchinecta gaini* no mostró una preferencia marcada por ningún tipo de alimento de entre los disponibles, no observándose al respecto diferencias estadísticamente significativas (Friedman $X^2= 11,3$, p-valor= 0,181). No obstante, su forrajeo fue más recurrente en las fuentes de alimento compuestas únicamente por el biofilm, algas filamentosas, tapetes microbianos, anostráceos muertos y sedimento (Fig. 1), este comportamiento varió no obstante conforme avanzó el experimento. Así, el primer día mostraron una distribución más equitativa entre todas las fuentes de alimentación, destacando su presencia en los tapetes microbianos (22,7%) y algas bentónicas (22,2%), situación contraria a lo observado el último día, cuando estas fuentes de alimento fueron las menos visitadas (~5% cada uno) probablemente debido a un cambio de dieta en función del alimento disponible, agotando los recursos iniciales. De forma inversa, el interés por las algas filamentosas aumentó de forma progresiva durante el experimento. Así, durante el primer día la presencia de estas no resultó un incentivo para los anostráceos, sin embargo, durante el segundo y tercer día las visitas aumentaron en un 17,1% y 37,5 respectivamente, para posteriormente disminuir de nuevo hacia la finalización del experimento, de forma similar a lo observado en las primeras fuentes de alimento citadas. Por el contrario la presencia de los anostráceos, durante el último día, se incrementó en las muestras compuestas por anostráceos muertos (27,7%), sedimento (22,2%) y el musgo acuático proveniente del Lago Limnopolar (22,2%) (Fig. 3). Igualmente, durante el segundo día la presencia en el sedimento fue la que predominó sobre el resto (31,4%). Los datos de machos y hembras mostraron una distribución normal en ambos sexos (Shapiro-Wilk p

< 0.05), donde las diferencias entre machos y hembras con respecto a la selección de dieta no fueron significativas ($t_{(29)} = -0,720$, $p = 0,4779$) (Fig. 4).

En las grabaciones realizadas de forma paralela a las observaciones descritas anteriormente no fue posible distinguir el sexo, sin embargo, estas sí permitieron observar con más detalle su comportamiento, más allá de constatar su presencia o no en cada uno de los compartimentos. Así, en estos videos se observó un comportamiento consistente en realizar itinerarios por las partes externas del recipiente que no contenían alimento (Fig. 5), accediendo ocasionalmente a los apartados con las fuentes de alimento. En ocasiones, se constató también la particular atención que los anostráceos manifestaban por las paredes externas del recipiente. Esta parcial desatención por el alimento aumentó con el progreso del experimento, observándose un descenso significativo (Wilcoxon, $Z = -2,670$, $p\text{-valor} = 0,008$) en el número de visitas a los mismos en la fase final del experimento, hecho este ya observado en el recuento de observaciones directas aunque no de forma tan manifiesta (Fig. 6). En general, los resultados obtenidos con las grabaciones muestran el mismo patrón descrito anteriormente, esto es, un comportamiento generalista aunque con una cierta preferencia por determinados recursos. Así, los ítems más visitados en este caso fueron también las algas filamentosas, algas bentónicas, tapetes microbianos, sedimento y restos de anostráceos muertos.

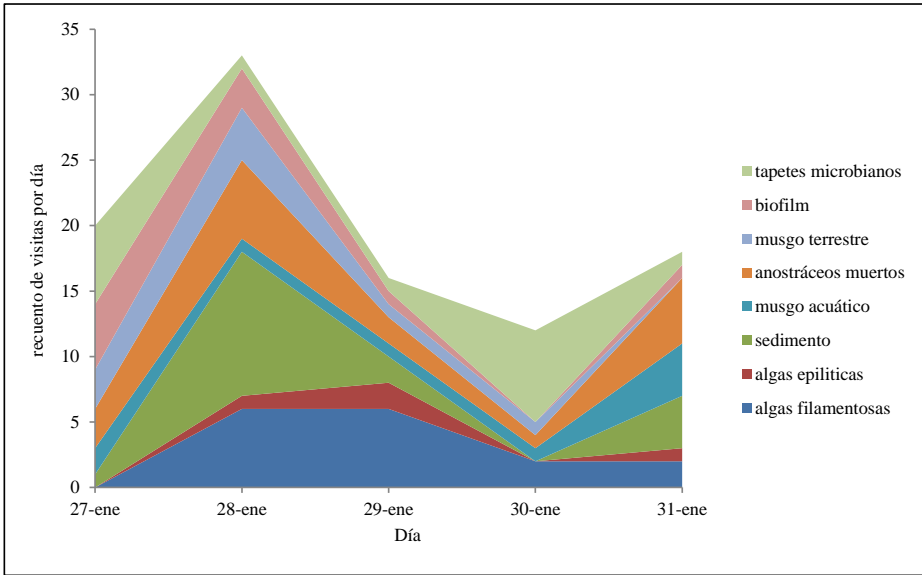


Figura 3. Recuento mediante observaciones directas de las presencias contabilizadas por día de *Branchinecta gaini* en las distintas fuentes de alimento durante el periodo del experimento.

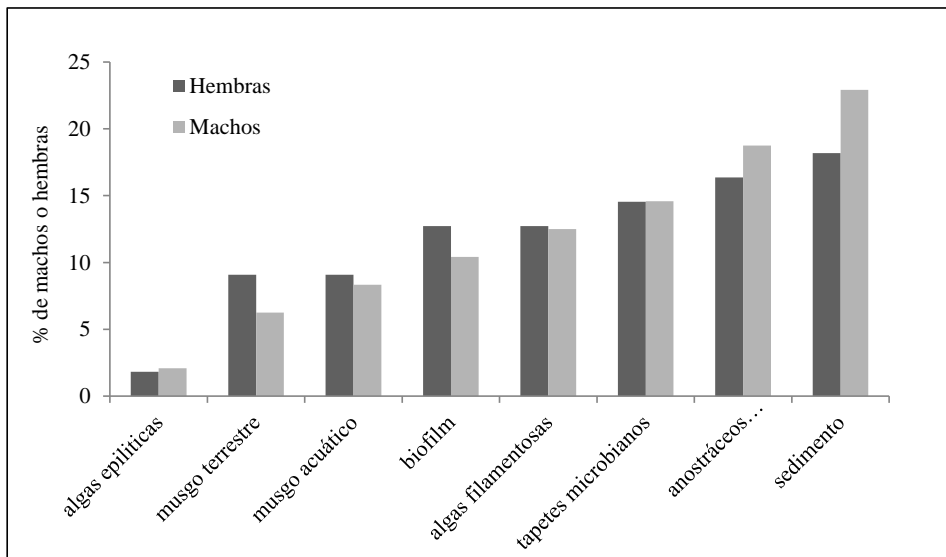


Figura 4. Porcentajes, obtenidos mediante observaciones directas, de las presencia totales de hembras y machos de *Branchinecta gaini* en las distintas fuentes de alimento durante el periodo del experimento.



Figura 5. Fotografía durante el transcurso del experimento de selección de dieta por parte de *Branchinecta gaini* en donde se observa la distribución de los anostráceos presentes (círculo amarillo) o no (círculos rojos) en las distintas fuentes de alimento.

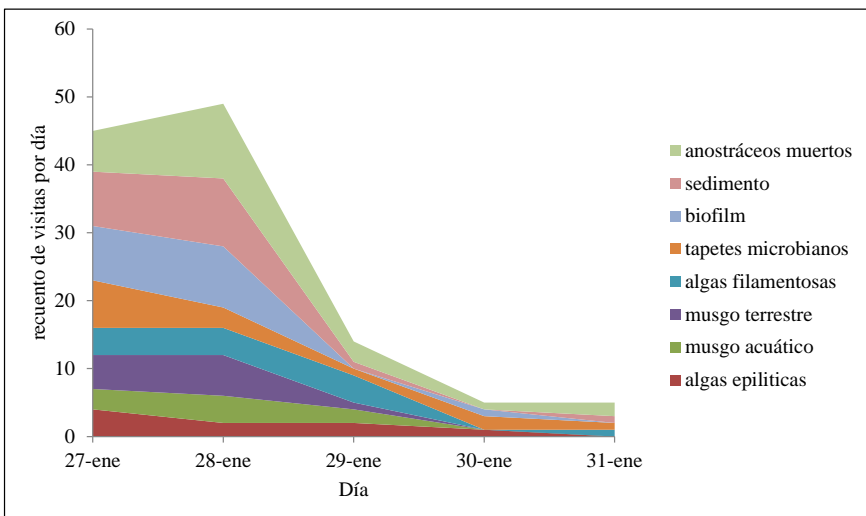


Figura 6. Recuento mediante observación de las grabaciones de las presencias contabilizadas por día de *Branchinecta gaini* en las distintas fuentes de alimento durante el periodo del experimento.

Fraccionamiento isotópico de la cadena trófica del Lago Somero

La relación entre los fraccionamientos isotópicos del carbono y nitrógeno en distintos compartimentos y elementos de la cadena trófica del Lago Somero se muestra en la figura 7. El eje de valores $\delta^{15}\text{N}$ separó de forma clara los productores primarios de los crustáceos. En este sentido, las muestras más empobrecidas en el isótopo pesado ($\delta^{15}\text{N} < -1\text{‰}$) fueron las compuestas por el musgo acuático (*D. longifolius*) y los distintos tipos de algas bentónicas, filamentosas y epilíticas, estando algo menos empobrecidos el biofilm y tapete microbiano (entre -1 y -0,5‰), así como los restos de musgo terrestre que, al igual que las algas filamentosas, provienen de la cuenca circundante. Las fracciones del seston, particularmente la comprendida en el rango 30-125 μm , mostraron un mayor enriquecimiento de ^{15}N ($\delta^{15}\text{N} = -0,01\text{‰}$) con respecto a las muestras anteriores. Por su parte, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ más elevados se observaron en ambos crustáceos, particularmente en *Branchinecta gaini* (2,2‰), así como en la muestra heterogénea de sedimento de la laguna (1,4‰). Con respecto al $\delta^{13}\text{C}$, las diferencias más notables se observaron entre los productores primarios, lo que en buena medida se debe a la presencia de diversos metabolismos fotosintéticos que generan fraccionamientos distintos. Así, el material con los valores notablemente más negativos de $\delta^{13}\text{C}$ entre estos productores primarios, y por tanto más empobrecidos en el isótopo pesado, fue el observado en el musgo acuático *D. longifolius* (-27,2‰) y las algas filamentosas (-23,2), siendo algo menos negativo aunque también empobrecido con respecto al resto de productores primarios el observado en los restos de origen alóctono del musgo terrestre (16,8‰). Por su parte, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados en el biofilm, tapete microbiano y algas epilíticas, todos propios de la comunidad autótrofa del lago, mostraron valores que oscilaron entre -10,1‰ y -12,5‰, inferiores al observado en el sedimento (14,3‰), el cual se caracteriza por la ausencia de comunidades fotosintéticas y una mayor presencia de detritus. Entre los crustáceos, *B. poppei* mostró un valor más enriquecido (-

14,4‰) si se compara con *B. gaini* (-12,5‰). Si estos datos se comparan a su vez con las posibles fuentes de alimento de ambos crustáceos, los valores de *B. gaini* mostraron un incremento entre 1 y 2 ‰ con respecto a distintos tipos de material bentónico, siendo no obstante inferior la diferencia observada con los valores del tapete microbiano. Por su parte *B. poppei* mostró este mismo enriquecimiento, concretamente del 1‰, con respecto al seston comprendido en el rango 30-125 μm .

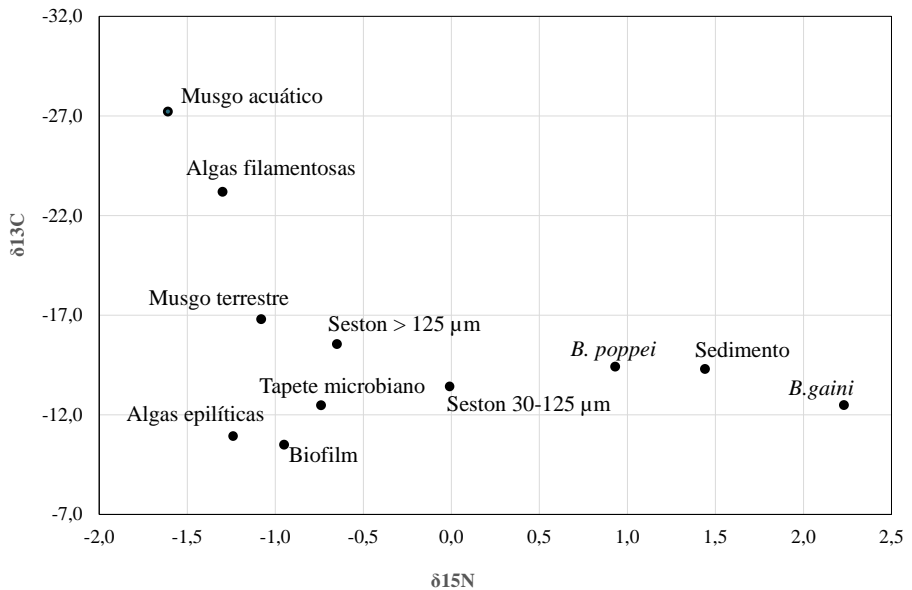


Figura 7. Fraccionamiento isotópico del carbono y nitrógeno en distintos componentes de la red trófica del Lago Somero.

En general, las mayores variaciones en la composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *B. gaini* tras ser expuesto a distintas fuentes de alimento fueron observadas en las hembras (Fig. 8), lo que sugiere una mayor actividad en estas con respecto a la ingestión de alimento. Asumiendo que en términos generales existe para ambos elementos (C y N) un enriquecimiento del isótopo pesado, de magnitud no obstante variable, en los consumidores con respecto a su dieta, la ingestión continuada de una única fuente de alimento debería derivar en una aproximación de la composición isotópica del consumidor a la de dicha fuente pero mostrando siempre valores algo más enriquecidos en ambos isótopos. En el caso de las hembras, aparentemente más activas, los mayores incrementos de los valores delta en el caso del nitrógeno ($\Delta \delta^{15}\text{N}=0,6$) se observaron en las algas epilíticas, siendo menor en aquellos anostráceos expuestos únicamente al biofilm fotosintético, copépodos, o cadáveres de su propia especie. En el caso de los machos este incremento, de 0,4 ‰, se observó únicamente tras la exposición al biofilm, mientras que aquellos expuestos a otras fuentes mostraron por lo general un empobrecimiento en el isótopo pesado, no siendo superior al 0,4 ‰, es decir, una variación de la misma magnitud que el enriquecimiento observado bajo la presencia del biofilm. Con respecto a las variaciones observadas en el caso del ^{13}C y para las hembras, en todos los casos se observó alguna variación, siendo particularmente notable el empobrecimiento observado en ^{13}C en los anostráceos expuestos únicamente a las algas filamentosas alóctonas. Los machos mostraron un patrón similar pero con variaciones por lo general menores, a excepción de los anostráceos expuestos al biofilm, donde se observó un mayor incremento de los valores de $\delta^{13}\text{C}$.

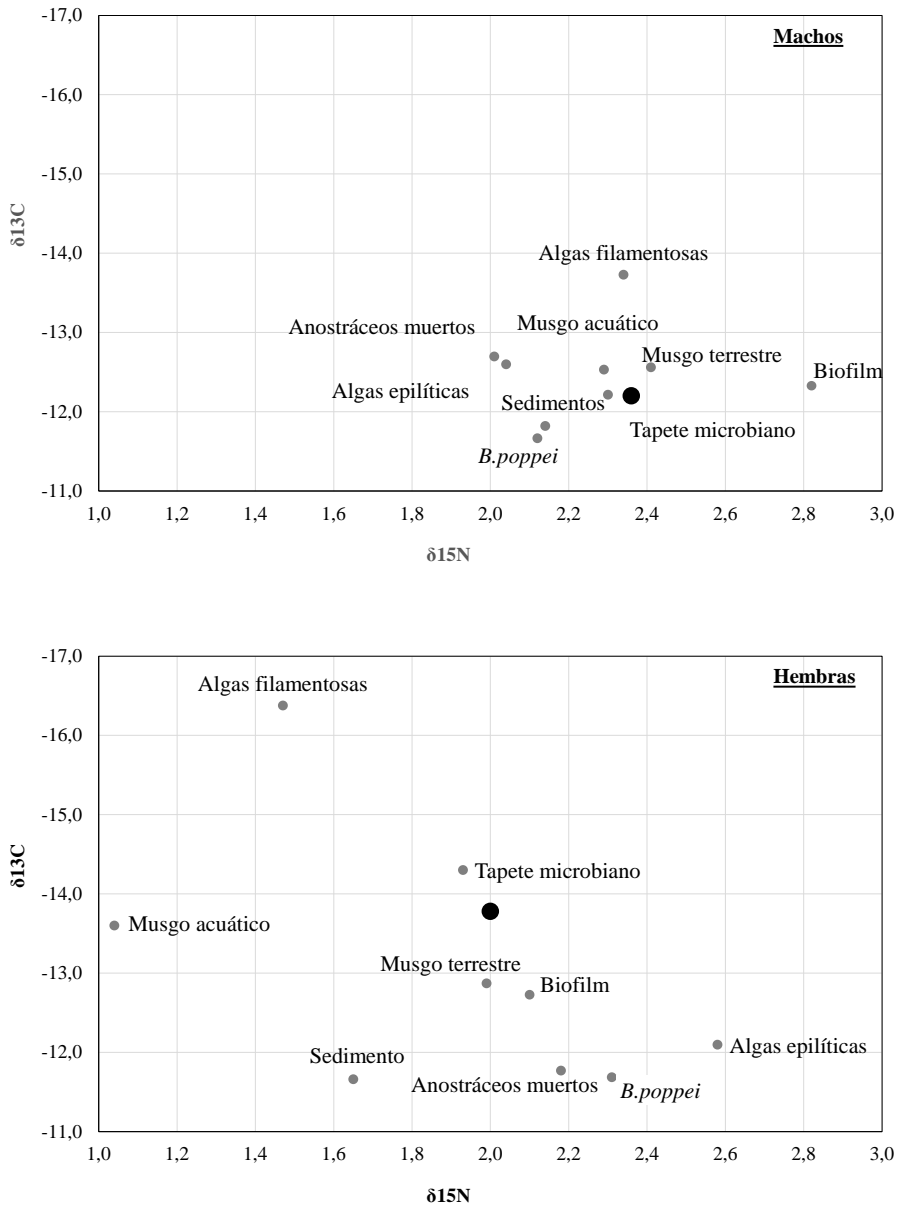


Figura 8. Variación de la composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en machos y hembras de *Branchinecta gaini* experimentalmente expuestos a distintas fuentes de alimento (círculos grises) en comparación a la composición isotópica del anostráceo en condiciones normales (círculo negro). Las etiquetas indican el tipo de alimento suministrado de forma individualizada a los anostráceos.

6.4. Discusión

El estudio llevado a cabo en el presente capítulo aborda aspectos conductuales del anostráceo *Branchinecta gaini* frente a la potencial disponibilidad de alimento en un lago antártico, al igual que pretende explorar las relaciones existentes en la cadena trófica del mismo mediante el uso de la técnica del fraccionamiento isotópico. Los resultados del capítulo anterior evidencian el carácter omnívoro de este anostráceo, con una particular preferencia por las diatomeas bentónicas. Tanto el estudio de la conducta como el fraccionamiento isotópico abordados en el presente capítulo apuntan a la existencia de distintas fuentes a partir de las cuales el anostráceo podría satisfacer esta dieta. Así, a pesar de mostrar un comportamiento bastante generalista, particularmente durante las fases iniciales del experimento, se percibe una mayor tendencia al forrajeo sobre comunidades bentónicas propias del lago, existiendo también una cierta inclinación a permanecer en el material alóctono, como son las algas filamentosas que ocasionalmente pueden llegar hasta el lago provenientes del arroyo adyacente. En particular en este último caso, es posible que el anostráceo no consuma directamente las algas filamentosas, sino la comunidad epifítica, más propia de su dieta, adherida a ellas. Respecto al bentos autótrofo propio del lago, su naturaleza es variable y distribución parcheada, pudiendo consistir tanto de biofilms epilíticos, lo que en el presente capítulo hemos denominado como algas epilíticas, como de biofilms adheridos de forma menos compacta al lecho del lago, los cuales son probablemente más fáciles de manipular por parte del anostráceo y en cualquier caso más abundantes que los primeros.

Estudios taxonómicos llevados a cabo con biofilms de este mismo lago o de otras zonas de Byers muestran una comunidad fotosintética caracterizada por una notable presencia de diatomeas (Kopalova y Van de Vijver, 2013; Rochera *et al.*, 2013a), lo que concuerda con el análisis de la dieta expuesto en el capítulo anterior. Por el contrario, existen factores que sugieren que los

tapetes microbianos podrían no tener el mismo valor nutritivo para *B. gaini*. Esto no solo respondería a la menor abundancia de diatomeas en favor de las cianobacterias que en ellos ocurre, viendo como *B. gaini* deshecha estas cianobacterias de su dieta, sino porque estas comunidades, y más concretamente su estrato superior, al que en principio el anostráceo tiene acceso, presentan ciertas características como por ejemplo un alto contenido en sustancias exopoliméricas (Fernández-Valiente *et al.*, 2007; Rochera *et al.*, 2013b), lo que les confiere una mayor resistencia al desgaste ejercido durante el forrajeo.

En el ámbito de la biología teórica existen estudios que exploran lo que se conoce como vuelos de Lévy (*Lévy flights* o *Lévy walks*) con aplicaciones en campos muy diversos (Viswanathan *et al.*, 1999). Este concepto describe el mecanismo estocástico consistente en la realización por parte del organismo de numerosos movimientos basados en desplazamientos cortos alternados con relocalizaciones aleatorias mediante desplazamientos más largos y menos frecuentes, habiéndose descrito como una estrategia óptima en la búsqueda de recursos en distintas comunidades biológicas (Humphries *et al.*, 2014). En un ambiente como el Lago Somero, dónde los recursos disponibles para *B. gaini* muestran una distribución parcialmente parcheada, y considerando que se trata de un animal con una capacidad sensorial limitada, un comportamiento como el descrito por estos vuelos de Lévy optimizaría la probabilidad de encontrar alimento. Suponiendo que este fuese el caso de *B. gaini*, lo que cabría observar en un espacio limitado como el de nuestro experimento es una distribución tendente a la uniformidad, como de hecho así ocurre, con parte de los individuos en tránsito entre las distintas zonas de alimento. En nuestro caso, esta uniformidad se ve sesgada por la mayor persistencia del anostráceo en aquellas fuentes de alimento que le resultan más beneficiosas y en las que le retiene el tiempo de forrajeo. Esto podría explicar que el resultado del análisis isotópico sea más concluyente en lo que respecta a la selección de determinados alimentos, mientras que la inclinación por determinados alimentos,

particularmente los biofilms fotosintéticos, se vea solo parcialmente reflejada en el estudio conductual.

Ciertamente, el estudio conductual no muestra en nuestro caso una diferencia significativa entre la tendencia del anostráceo a ser encontrado en el tapete en comparación con el tiempo que permanecen en los biofilms, en los que aparentemente tiene acceso más fácil al alimento, lo que en parte podría responder a una conducta basada en los vuelos de Lévy descrita anteriormente. Sin embargo, el análisis isotópico llevado a cabo en los anostráceos tras haber sido expuestos de forma individual a cada uno de estos sustratos muestra en ambos sexos, aunque de forma más clara en las hembras, una mayor desviación de los ratios isotópicos en aquellos alimentados únicamente con el biofilm, lo que puede entenderse como una mayor ingesta de alimento. Esto último, asumiendo que la probabilidad de encuentro de los distintos tipos de sustrato no es un factor variable en este caso, implica una mayor eficacia en la manipulación de este tipo de sustrato. No obstante, cabe recordar que entre los costes que computan en el balance energético descrito por la teoría del forrajeo óptimo deben considerarse tanto el tiempo de manipulación como el de búsqueda. En este sentido, es posible que el alimento que de forma efectiva se obtiene mediante la manipulación de los tapetes sea menor en comparación a otros sustratos como por ejemplo las comunidades epilíticas o incluso las epífitas que crecen sobre las algas filamentosas. Sin embargo, la probabilidad de encuentro de estos últimos, particularmente el material que tiene un origen alóctono, es mucho menor que el de los tapetes microbianos, los cuales tienen una mayor extensión en parte del perímetro del lago (Fernández-Valiente *et al.*, 2007).

Capítulo 7

Migración vertical diaria y distribución horizontal del copépodo *Boeckella poppei* (Crustacea: Copepoda) en un lago oligotrófico (Península Byers, Antártida)

7.1. Introducción

La distribución espacial y temporal del zooplancton, y los cambios de esta asociados a ritmos circadianos, han sido un tema ampliamente estudiado con la finalidad de conocer su significado adaptativo y ecológico. La importancia de la migración vertical diaria (MVD) del zooplancton reside en su estrecha relación con el funcionamiento del ecosistema. La intensidad y características de dicho comportamiento pueden estar condicionadas por el nivel y fragmentación espacial de la productividad del sistema (Hays, 2003, Kübar *et al.*, 2005), pero también por la ubicación geográfica (Hansson *et al.*, 2007; Convey *et al.*, 2014), de tal modo que puede producirse un relajamiento de estos movimientos conforme aumenta la latitud. Igualmente, pueden depender también de parámetros poblacionales como la edad y/o el sexo (Lampert *et al.*, 2003).

Existen diferentes tipos de MVD en relación a como se produzcan los movimientos durante el ciclo diario. La más habitual es la migración nocturna, en la cual el ascenso se produce por la noche en condiciones de baja iluminación, siendo este tipo de migración la que se considera más común (p. ej. Fortier *et al.*, 2001). Otro tipo es la migración crepuscular, dónde como su nombre indica el desplazamiento se produce al atardecer (Wetzel, 2001). Finalmente, la migración inversa ocurre cuando la población se acumula en las capas superficiales durante el día y migra a capas profundas durante la noche (Cunningham, 1972; Hays, 2003). Son muchos los estudios que enumeran que factores son los que afectan o determinan la migración, encontrándose no obstante opiniones variadas según el ecosistema de estudio. En un trabajo comparativo llevado a cabo en distintas latitudes Hansson *et al.* (2007) estimaron que los factores físicos como la luz y biológicos como la depredación son los que principalmente motivan la MVD, pudiéndose añadir a estos el régimen térmico de la columna de agua (Hudcovicová y Vranovský, 2006) o, como mencionan otros autores, la disponibilidad de recursos, el oxígeno disuelto y el pH (Bruks *et al.*, 2002). No obstante, la importancia de estos

factores puede no ser la misma. Así, Fernández de Puellas *et al.*, (1996) proponen una clasificación de factores externos que actúan sobre la migración vertical en función de si son primarios o secundarios. Los primeros corresponderían a la luz, disponibilidad de alimento y el geotropismo, mientras que los secundarios podrían ser la temperatura, el pH, la densidad del agua o el oxígeno. La idea importante que plantean Fernández de Puellas y colaboradores es que los primeros factores determinan el comportamiento migratorio mientras que los segundos lo modifican, pudiendo por tanto existir causas comunes pero una notable variabilidad en la intensidad de estos movimientos dependiendo de las condiciones locales (Armengol-Díaz *et al.*, 1993).

Independientemente de sus causas originales, debe tenerse en cuenta que este tipo de movimientos migratorios tienen costes energéticos (Lampert *et al.*, 2003; Lampert, 2005), por lo que en términos evolutivos su práctica debería ofrecer ventajas al organismo que compensen este dispendio. Esta relación coste-beneficio en el zooplancton puede venir determinada por una mayor disponibilidad de alimento en determinados estratos de la columna de agua (Conover y Huntley, 1991; Zadereev y Tolomeyev, 2007; Saad *et al.*, 2013), la evasión de depredadores (Kremer y Kremer, 1988; Lampert, 1993; Hays, 2003) o la evitación de radiaciones nocivas como la ultravioleta (Zagarese *et al.*, 1997; Rautio y Tartarotti, 2010). En los lagos antárticos, la limitación de recursos hace verosímil considerar el primer motivo (alimentación). Por el contrario, la virtual ausencia de organismos acuáticos que depreden sobre los crustáceos permite eludir este segundo factor (depredación). Por su parte, la letalidad de la radiación ultravioleta, siquiera viéndose aumentada en esta región del planeta por la disminución de la capa de ozono, estaría no obstante supeditada a las condiciones climáticas locales y a la presencia de cobertura de hielo y/o nieve en el lago. En este último sentido, el zooplancton puede presentar otras estrategias como la presencia de pigmentos fotoprotectores que reduzcan la

nocividad de la radiación ultravioleta (Helbling *et al.*, 2002; Rautio *et al.*, 2009; Rautio y Tartarotti, 2010).

Pueden existir, además de la MVD descrita anteriormente, otros movimientos consistentes en desplazamientos de la población hacia zonas litorales, que en caso de presentar un ritmo circadiano se denomina migración horizontal diaria (MHD). Al igual que la MVD, este tipo de migración puede estar motivada por distintos factores como una mayor disponibilidad de alimento o la ausencia de depredadores (Lauridsen *et al.*, 1996; Lauridsen *et al.*, 1998; Burks *et al.*, 2002), siendo más frecuente el primer estímulo. No obstante, el movimiento horizontal del zooplancton puede estar en muchos casos asociado a la MVD (Hays, 2003) y no ser independiente de esta. Por otra parte, en ausencia de una MHD activa, una distribución horizontal heterogénea del zooplancton en el sistema puede deberse a desplazamientos pasivos motivados por el efecto del viento causado sobre la superficie cuando el lago está deshelado y no a un desplazamiento activo de la población motivado por alguno de los factores descritos anteriormente.

El objetivo de este capítulo es estudiar la distribución vertical y horizontal del copépodo *Boeckella poppei* en el Lago Limnopolar, observando sus variaciones a lo largo de un ciclo diario y tratando de reconocer sus causas e implicaciones ecológicas. Debido a lo determinante que la presencia de la cobertura de hielo resulta para las condiciones físicas, químicas y biológicas del mismo (Rochera *et al.*, 2010), y considerando estas como posibles factores reguladores de la migración, el estudio se llevó a cabo tanto en periodos en los que el lago presentó o no su cobertura helada. Considerando la ubicuidad de esta especie de copépodo en la región Marítima del continente Antártico adquirir conocimiento sobre el comportamiento migratorio de esta especie puede resultar crítico para entender el funcionamiento de la cadena trófica de este tipo de lagos, máxime atendiendo al hecho del posible relajamiento de estos movimientos en latitudes elevadas.

7.2. Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se realizó en el lago Limnopolar situado en la Península Byers (Antártida). La descripción general del lago se realizó en el capítulo 2 de Material y Métodos. Sin embargo, es importante recordar algunas características de este para la comprensión del capítulo. El Lago Limnopolar es un lago poco profundo (5 m), oligotrófico y monomítico de clima frío (Villaescusa *et al.*, 2013). El lago muestra una estratificación inversa durante el periodo invernal, la cual desaparece durante el deshielo estival (Rochera *et al.*, 2010). La homogeneidad físico-química de la columna de agua, típica del periodo estival, contrasta con la heterogeneidad espacial de la productividad del sistema, siendo esta mucho mayor en las capas profundas debido a la presencia de un manto de musgos bentónicos (*Drepanocladus longifolius*) que cubren gran parte del lecho y a las comunidades acuáticas asociadas a ellos.

Datos meteorológicos

Los datos meteorológicos se obtuvieron de la estación meteorológica automática ubicada entre los lagos Somero y Limnopolar (65 m.s.n.m.). Las especificaciones técnicas de los sensores, los cuales siguen los estándares de la Organización Meteorológica Mundial (Bañón *et al.*, 2013), se muestran en el capítulo de material y métodos. De la estación se extrajeron, en particular, datos de temperatura, humedad, viento, PAR y radiación global, registrados durante los días en los que se llevaron a cabo los muestreos. En particular durante los estudios realizados en la campaña 2006 no fue posible obtener registros de la velocidad y dirección del viento debido a la rotura del anemómetro.

Estudio de los ciclos migratorios y reconocimiento del lecho del Lago
Limnopolar

El procedimiento de obtención de muestras (Fig. 2), común en todos los ciclos, consistió en la recolección de 15 litros de agua de forma discreta en cada profundidad y su posterior filtración a través de una malla de 30 micras. Los ejemplares retenidos en la malla se colocaron posteriormente en viales sumergidos en una solución de formol 4% (concentración final) y se conservaron refrigerados hasta su análisis. Los intervalos temporales y profundidades muestreadas en cada ciclo migratorio se detallan en la tabla 1. En términos generales, el primer ciclo llevado a cabo en diciembre de 2003, debido a su carácter más bien exploratorio para detectar la posible presencia de movimientos, se llevó a cabo con una resolución espacial y temporal inferior a los dos posteriores.

Tabla 1. Resumen de la metodología de muestreo llevada a cabo en los tres ciclos migratorios estudiados en el Lago Limnopolar.

| | Ciclo 30-31/12/2003 | Ciclo 25-26/11/2006 | Ciclo 1-2/02/2009 |
|---------------------------|------------------------|------------------------|----------------------|
| Duración (horas) | 26,5 | 25 | 30 |
| Hora inicial | 12:30 pm | 12:00 pm | 8:00 am |
| Hora final | 15:00 pm | 13:00 pm | 14:00 pm |
| Profundidades (m) | 1-5 | 1-2-3-4-5 | 0,5-1,5-2,5-3,5 |
| Intervalo de muestreo (h) | 12 | 5-7 | 6 |

De forma complementaria al muestreo de la columna de agua, en todos los ciclos se instalaron trampas orientadas en ambos sentidos del eje vertical (Fig. 2) para capturar los copépodos tanto en fase de descenso como de ascenso. El muestreo de estas trampas se llevó a cabo siguiendo intervalos temporales similares a los muestreos de la columna de agua, de modo que integraron los

copéodos capturados entre dos eventos de muestreo. En el ciclo de 2003 estas trampas se instalaron a una única profundidad (3 m), ubicada entre las dos profundidades de muestreo y fueron muestreadas en intervalos de tiempo de 12 h, en consonancia con la obtención del resto de muestras. En el ciclo de 2006, éstas fueron ubicadas en la parte norte y sur del lago, también a media profundidad, y muestreadas entre 5 y 7 horas. Finalmente, en el ciclo llevado a cabo en 2009, las trampas se ubicaron únicamente en el punto central del lago pero a dos profundidades (1 y 3 m), y fueron muestreadas en intervalos de 6 horas.

En el muestreo llevado a cabo en diciembre de 2003 los copéodos se agruparon en 4 clases, esto es, nauplios, copepoditos de las clases entre I y III, copepoditos de las clases entre IV y VI, y adultos. En los ciclos de 2006 y 2009, se distinguieron los seis estadios naupliares (Nauplios I-VI), cinco estadios de copepoditos (CI, CII, CIII, CIV y CV) y dos estadios adultos correspondientes a hembras y machos (Fig. 3). Para analizar la medida del tamaño de los individuos se consideró la longitud total en el caso de los nauplios, mientras que en todos los estadios posteriores, incluido adultos, se determinó desde el inicio del prosoma y el urosoma sin considerar la furca.

Actividad de buceo

Como complemento al presente estudio de migración, y a otras actividades referentes al Año Polar Internacional, durante la campaña de 2009 se llevaron a cabo inmersiones de reconocimiento en el Lago Limnopolar destinadas a identificar las características de su lecho (Fig. 5). Para estos trabajos se contó con la ayuda de los investigadores Dr. Javier Cristobo, del centro oceanográfico de Gijón y el Dr. Daniel Dietrich, de la Universidad de Konstanz (Alemania). En lo referente al presente estudio las inmersiones se llevaron a cabo entre las 12 y las 14 horas locales. Las fotografías en el interior del lago fueron tomadas

con una cámara de 35 mm sumergible (QuickSnap, Marine) equipada con una película SUPERIA 800.

Análisis estadísticos

Para analizar las diferencias del tamaño entre nauplios, copepoditos y adultos se empleó la media aritmética de cada grupo y la dispersión se calculó usando la desviación estándar. Los datos no cumplieron los requisitos de las pruebas paramétricas ya que no siguieron una distribución normal, por lo cual se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para observar la diferencia entre estadios. Para analizar las diferencias de tamaño dentro de cada grupo de estadios (nauplios NI a NVI, copepoditos CI a CV y adultos (H y M) se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney. Los datos de los ciclos de migración vertical y distribución horizontal se analizaron empleando las pruebas de normalidad de datos Shapiro-Wilk, y posteriormente con la ANOVA de Friedman y prueba t para muestras relacionadas. Los cálculos se realizaron con el programa PASW statistics 18.

7.3. Resultados

Factores ambientales en el Lago Limnopolar

La mayor diferencia durante los muestreos respecto al lago la constituyó la presencia de una cubierta de hielo en los ciclos de 2003 y 2006, a diferencia de lo observado en el ciclo de 2009, cuando el deshielo del lago fue completo. Las precipitaciones durante los veranos de 2003 y 2009 fueron más elevadas. No obstante, en estos casos la acumulación de nieve solo se produjo en el primer caso debido a la existencia de la cubierta de hielo, provocando con ello que tan solo un 3% de la luz incidente alcanzase la parte más profunda del lago. En particular en el año 2009, una de las tormentas de nieve se produjo concretamente durante la madrugada del 2 de febrero, periodo en el que se llevó a cabo el muestreo en dicho año (Fig. 4). Este último ciclo se produjo no obstante bajo condiciones de mayor temperatura, tanto en el aire ($0,40\pm 0,11^{\circ}\text{C}$) como en el agua del lago ($2,92\pm 1,05$).

La radiación global incidente sobre la superficie del lago varió notablemente entre los tres años estudiados debido a la notable estacionalidad del ciclo solar en esta región del planeta (Fig. 6). Así, los muestreos de 2003 y 2009, llevados a cabo respectivamente a finales de diciembre y principios de febrero, presentaron valores moderados de irradiación, con máximos entre las 14:00 y las 16:00 de en torno a 30 kJ/m^2 , siendo ligeramente más bajos y con un mayor desplazamiento del mediodía solar en el muestreo más tardío llevado a cabo en febrero de 2009. Por el contrario, y debido a su coincidencia con el solsticio de verano, durante el muestreo llevado a cabo en noviembre de 2006 se registraron valores de radiación global notablemente más elevados, con valores máximos por encima de 100 kJ/m^2 , produciéndose además en este caso en periodos más próximos al mediodía solar.

Independientemente de estas diferencias en la radiación global incidente, el factor que principalmente reguló la disponibilidad de luz en la

columna de agua fue la presencia de una cobertura helada en el lago. En función de los distintos perfiles de extinción de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) llevados a cabo durante la campaña 2003/04, y que abarcaron todo el proceso de deshielo del lago, se pudieron establecer distintos niveles de disponibilidad de luz en la columna de agua en función de las condiciones del lago, y que podrían extrapolarse al resto de años estudiados. Así, el porcentaje de radiación de la radiación PAR incidente que alcanzó el fondo del lago estando la superficie de este congelada y cubierta con una capa de nieve fue de tan solo el 3%, aumentando al 7% inicio durante el deshielo y alcanzando el 45% ya sin hielo y avanzado el periodo estival.



Figura 1. a) Lago Limnopolar (noviembre 2006) con la superficie cubierta de hielo y nieve. Foto: Ana Justel y b) Muestreo en el Lago Limnopolar durante el ciclo de migración (febrero 2009) estando el lago libre de hielo. Foto: R. de Wit.



Figura 2. Obtención de muestras durante los ciclos de migración en el Lago Limnopolar a) muestras discretas en la columna de agua tomadas con una botella hidrográfica de 5 L y b) a partir de las trampas de zooplancton instaladas en la columna de agua en ambas orientaciones para capturar a los copépodos, tanto en ascenso como en descenso y c) ejemplo sobre como se realizó el montaje y colocación de las trampas en el lago.

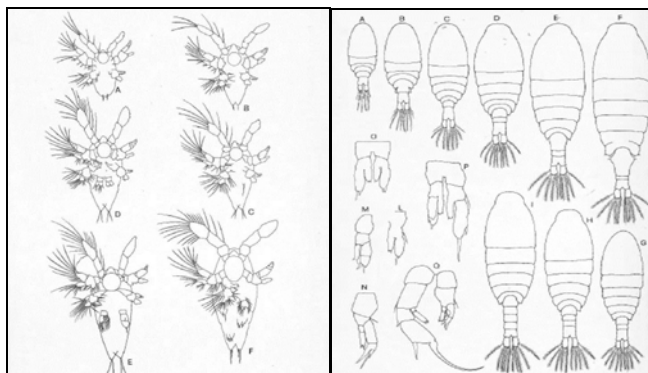


Figura 3. Esquema de los estadios de copépodos calanoides. Estadios de nauplios: A y B (ortonauplios), C-F (metanauplios). Estadio de copepoditos: A-F estadios de I – VI de la hembra; G-I estadios III, IV, V del macho. L-N, modificación de la pata de la hembra; O-Q, modificación de la pata del macho. Fuente: Stella (1984).



Figura 4. Lago Limnopolar en el ciclo de migración sin hielo (2009) donde, (a) día que se inició el muestreo (1 de febrero) y (b) el lago al siguiente día de muestreo (2 de febrero) posterior a una tormenta de nieve durante la noche.



Figura 5. Preparación de los trabajos de buceo por parte de los investigadores Dr. Dan Dietrich (izq) y Dr. Javier Cristobo (der) para llevar a cabo el reconocimiento del lecho del Lago Limnopolar el cual se puede observar en la imagen de la derecha mostrando la ausencia de musgo acuático en la zona del talud (febrero 2009).

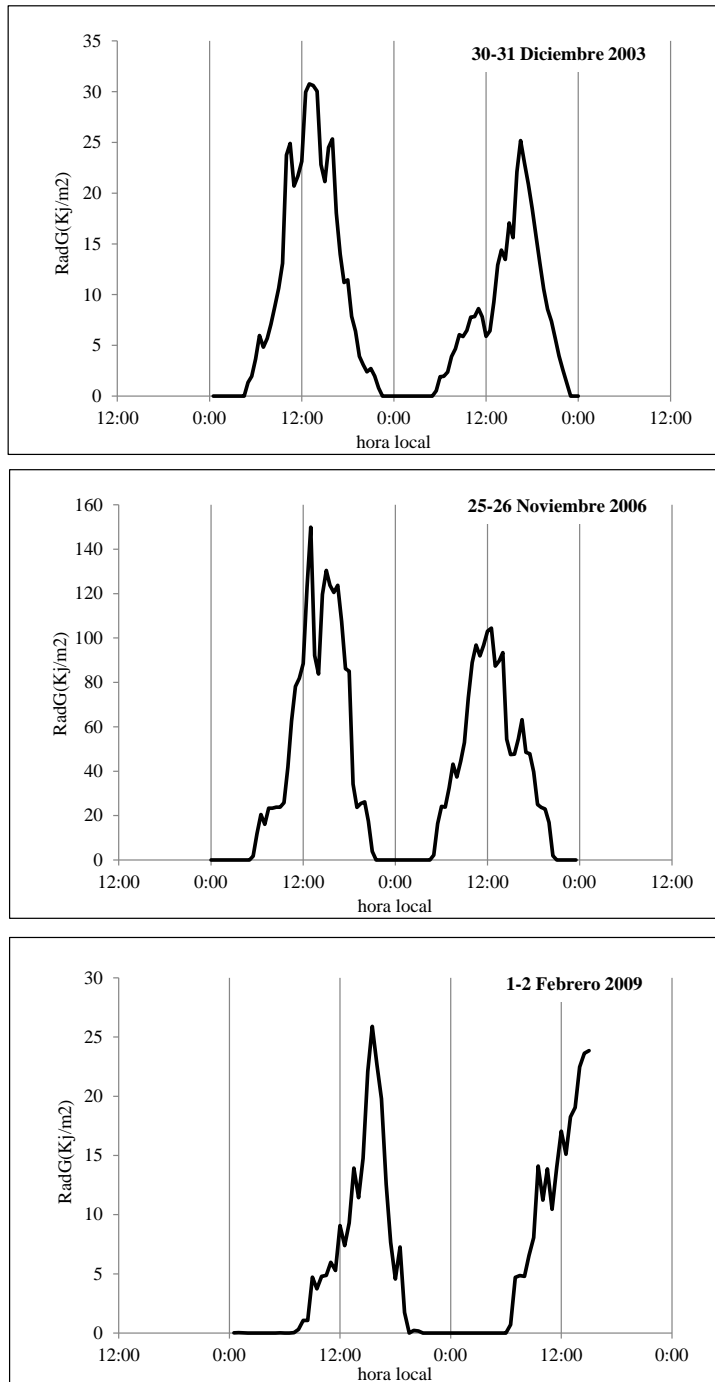


Figura 6. Medida en la estación meteorológica adyacente al lago de la radiación global (Kj/m^2) acumulada en registros de 30 minutos en el Lago Limnopolar durante los tres ciclos migratorios estudiados en 2003, 2006 y 2009.

Estructura poblacional de Boeckella poppei en los distintos ciclos de migración

En términos generales, si se comparan los tres años estudiados, el grado de madurez de la población fue mayor conforme avanzó el verano. En febrero de 2009 se observó un número reducido de nauplios y copepoditos en la fase I en comparación con lo observado en diciembre de 2003 y noviembre de 2006, donde el porcentaje de nauplios y fases tempranas (CI a CIII) fue superior, particularmente en el año 2006. Por el contrario, las fases adultas fueron relativamente más abundantes en 2009. Desde la fase de copepodito II (CII) a Copepodito IV (CIV) se observó el mayor incremento de tamaño, produciéndose una cierta estabilización del tamaño a partir de las fases posteriores (Fig. 7). El tamaño (mm) de los estadios no siguió una distribución normal, mostrando diferencias asintóticas. Por medio del test no paramétrico de Mann-Whitney observamos que existen diferencias entre tamaños dentro de cada estadio. Las diferencias dentro del grupo de los nauplios (NI a NVI) resultó significativa para ambos años ($U= 0,000$). En las cinco fases de copepoditos (CI a CV) también se observaron diferencias significativas tanto en el 2006 como en el 2009 ($U = 0,000$); sin embargo, en los adultos del 2006 no se observaron diferencias significativas ($U= 0,882$) indicando que los tamaños fueron menores en comparación con los del 2009 los cuales si fueron significativos ($U= 0,000$). Las hembras en febrero 2009 fueron de mayor tamaño en comparación con las de noviembre, sin tomar en cuenta una hembra que midió 2,21 mm, el tamaño máximo fue de 172 mm.

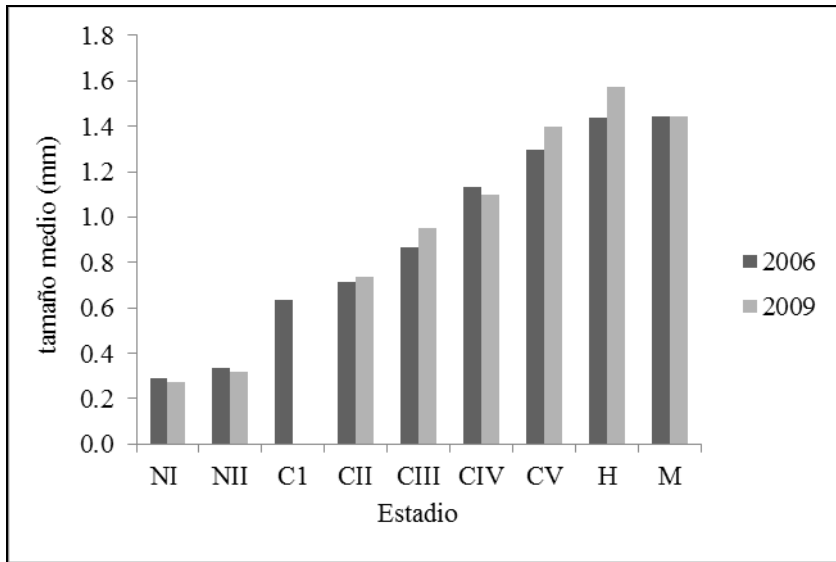


Figura 7. Longitud media (mm) de cada estadio de desarrollo de *B. poppei* durante el verano austral 2006 con cobertura de hielo en el lago y 2009 con el lago deshelado.

Ciclos migratorios de Boeckella poppei en el Lago Limnopolar

Las densidades promedio en la columna de agua de *Boeckella poppei* durante los ciclos de 2003, 2006 y 2009 fueron respectivamente de 4,04, 14,72 y 47,5 ind/l. En los tres casos se observaron de forma movimientos verticales de *Boeckella poppei* asociados al ciclo diario. No obstante, su intensidad no fue la misma dependiendo del periodo, condiciones físicas del lago y del estadio de desarrollo del copépodo. A pesar de estos aspectos diferenciales, sí se observó un patrón general que se correspondió con el de un ciclo migratorio semejante al nocturno, aunque con menor intensidad, produciéndose en todos los caso una acumulación de la población en las capas profundas durante las horas de mayor iluminación y el ascenso a superficie de una parte de la población durante el periodo nocturno, siendo más pronunciado el fenómeno en ausencia de cobertura de hielo.

El muestreo llevado a cabo entre el 30 y 31 de diciembre de 2003, debido a su propósito únicamente exploratorio, se llevó a cabo con una resolución tanto espacial como temporal limitada. Sin embargo, permitió constatar la existencia de movimientos migratorios de parte de la población de *Boeckella poppei*, en particular debido al ascenso nocturno de los estadios iniciales de copepoditos, con valores máximos observados durante el muestreo de las 12:00 pm. Los adultos, por el contrario, mostraron una clara agrupación en la parte profunda del lago y ninguna respuesta notable a las variaciones en el ciclo de luz.

El muestreo realizado durante los días 25 y 26 de noviembre de 2006 se llevó a cabo también con la superficie del lago helada, con una mayor resolución espacial y frecuencia de muestreo que el anterior, más apropiadas para este tipo de estudios. En este caso se observó también cómo los copépodos en el periodo de máxima incidencia de luz solar (12:00 – 13:00 am), y a pesar del efecto sombra del hielo superficial, se concentraron en las capas profundas del lago (Fig. 8a y 9a), particularmente a 4 m de profundidad con porcentajes entre 30 y 60% del total de individuos presentes en la columna con densidades en algún caso próximas a 17 ind/l, mientras que en superficie estas eran inferiores incluso a 1 ind/l. Por el contrario, durante el periodo de menor radiación solar (2:00 am), la mayor concentración de copépodos se observó en la zona superficial del lago (0,5 m), con un porcentaje próximo al 40% del total de individuos presentes en la columna de agua y en el resto de la columna se observó una distribución más uniforme en torno a 15-20% en cada profundidad. En el muestreo posterior (8:00 h) se observó la ausencia de copépodos en la capa más superficial y finalmente observándose a un descenso aún mayor de la población a las 13:00 pm conforme aumentó la radiación incidente concentrándose cerca del 60% de los individuos presentes en la columna de agua a 4 metros. Estadísticamente, los datos entre los muestreos siguieron una distribución normal (Shapiro-Wilk $p > 0,05$). El análisis del único muestreo

(19:00) que fue significativo mostrando una distribución uniforme en la columna de agua ($t_{(4)} = 7,3$ p-valor = 0,002). En relación al movimiento de los distintos estadios de desarrollo, este comportamiento migratorio se manifestó igualmente de forma más clara en las primeras fases de copepoditos (Fig. 10).

En relación a las trampas de migración instaladas durante este ciclo de noviembre de 2006, los datos son en parte limitados debido a la rotura de algunas de ellas durante su manipulación. Aún con todo, los datos obtenidos corroboran el comportamiento migratorio descrito anteriormente, observándose tasas de ascenso de 264,5 y 225,7 ind/m²·h entre las 12:00 y las 19:00 pm en las trampas instaladas en la parte norte y sur respectivamente, doblando con ello prácticamente las tasas de descenso registradas durante ese mismo periodo. A su vez, estos resultados contrastan con las tasas de ascenso más bajas de 37,9 ind/m²·h registradas en la trampa sur entre las 2:00 y las 8:00 am.

El ciclo de migración vertical monitoreado entre el 1 y 2 de febrero de 2009 (Fig. 8b y 9b) fue el único que se produjo en ausencia total de cobertura de hielo, permitiendo con ello una alta penetración de la luz en la columna de agua. No obstante, los niveles de radiación fueron moderados debido a la nubosidad presente en algunos momentos durante el estudio. Al inicio del muestreo (8:00 am), la población de *Boeckella poppei* mostró una distribución bastante uniforme en la columna de agua, iniciando posteriormente un claro descenso que llevó a prácticamente toda la población a recluirse en la parte más profunda del lago durante las horas de zénit solar (14:00 pm), con densidades en este punto cercanas 60 ind/l. A diferencia de lo observado en el ciclo de 2006, el ascenso nocturno fue algo menos evidente en este caso, estando además no solo determinado por los estadios más inmaduros de copepoditos, sino por estadios más avanzados, siendo incluso detectable en las formas adultas (Fig. 11). Estadísticamente, los recuentos de la distribución vertical de *B. poppei* mostraron una distribución no normal entre muestreos (Shapiro-Wilk; Friedman $\chi^2 = 10,2$, p-valor 0,067). El análisis de la prueba t para los dos muestreos

concretos que mostraron una distribución normal (8:00 y 20:00) fueron significativos horas mostrando una distribución homogénea en la columna de agua ($t_{(3)}= 8,1$ y $t_{(3)}=8,1$, p-valor < 0,05 respectivamente).

El cálculo de flujos migratorios en la columna de agua, mediante la instalación de trampas, durante este ciclo de febrero de 2009 (Fig. 12) fue más resolutivo que el llevado a cabo en noviembre de 2006. Esto cabría achacarlo no solo al hecho de que en este caso no se perdieron muestras durante su manipulación, sino que además en este caso se decidió instalar las trampas a dos profundidades distintas (1 y 3 m) en lugar de hacerlo en solo una en distintos puntos geográficos del lago como se hizo en el ciclo anterior. El resultado más destacable en este caso fue la notable diferencia observada entre los flujos de ascenso y descenso, siendo generalmente más elevados los segundos, circunstancia ya observada en las trampas instaladas durante el ciclo estudiado en 2003. En la figura 13 se puede apreciar lo que se comentó anteriormente en donde se observa mayor flujo de descenso en la columna de agua.

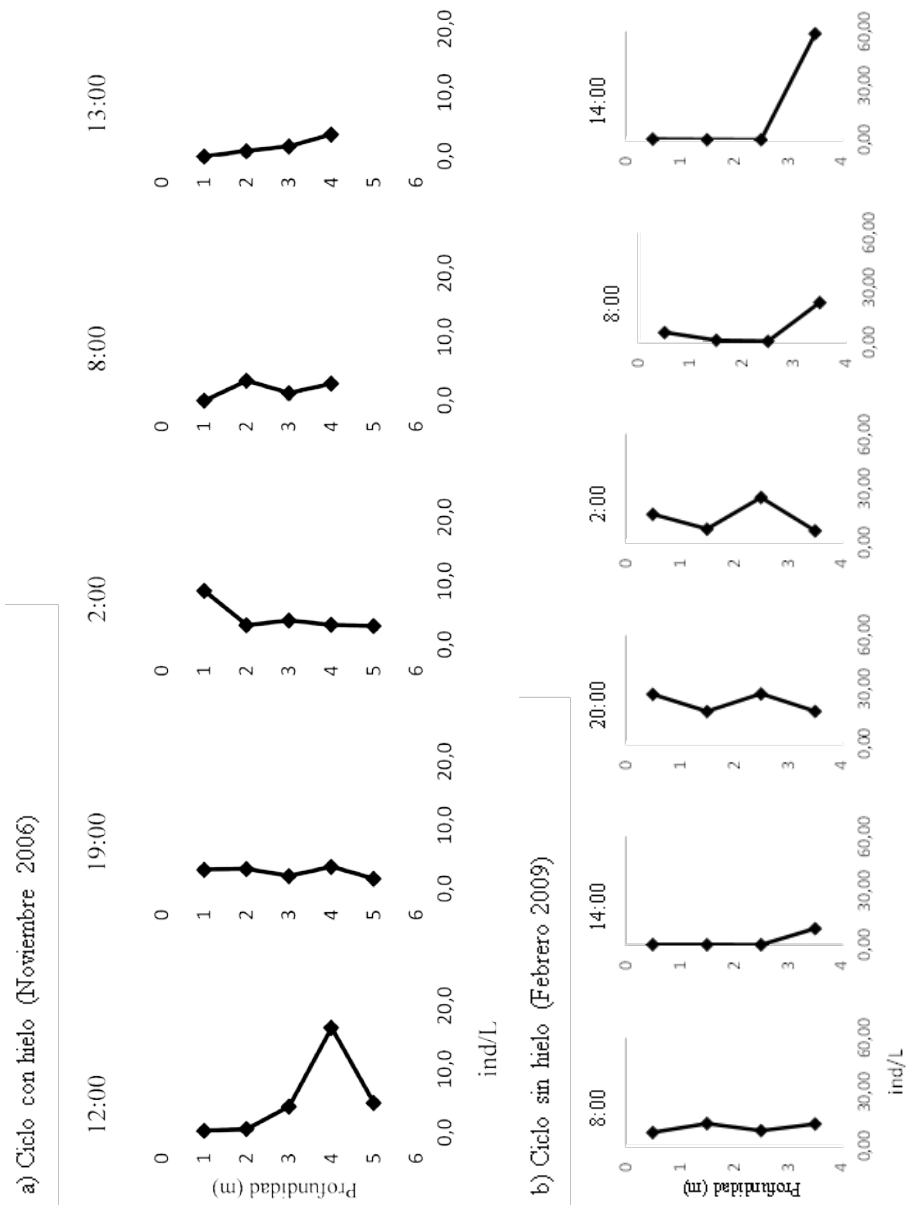


Figura 8. Abundancia (ind/l) de *B. poppei* en la columna de agua del Lago Limnopolar (Península Byers, Antártida) durante los ciclos de migración. La gráfica muestra dos ciclos diarios a) con hielo en la superficie (noviembre 2006) y b) con el lago deshelado (febrero 2009).

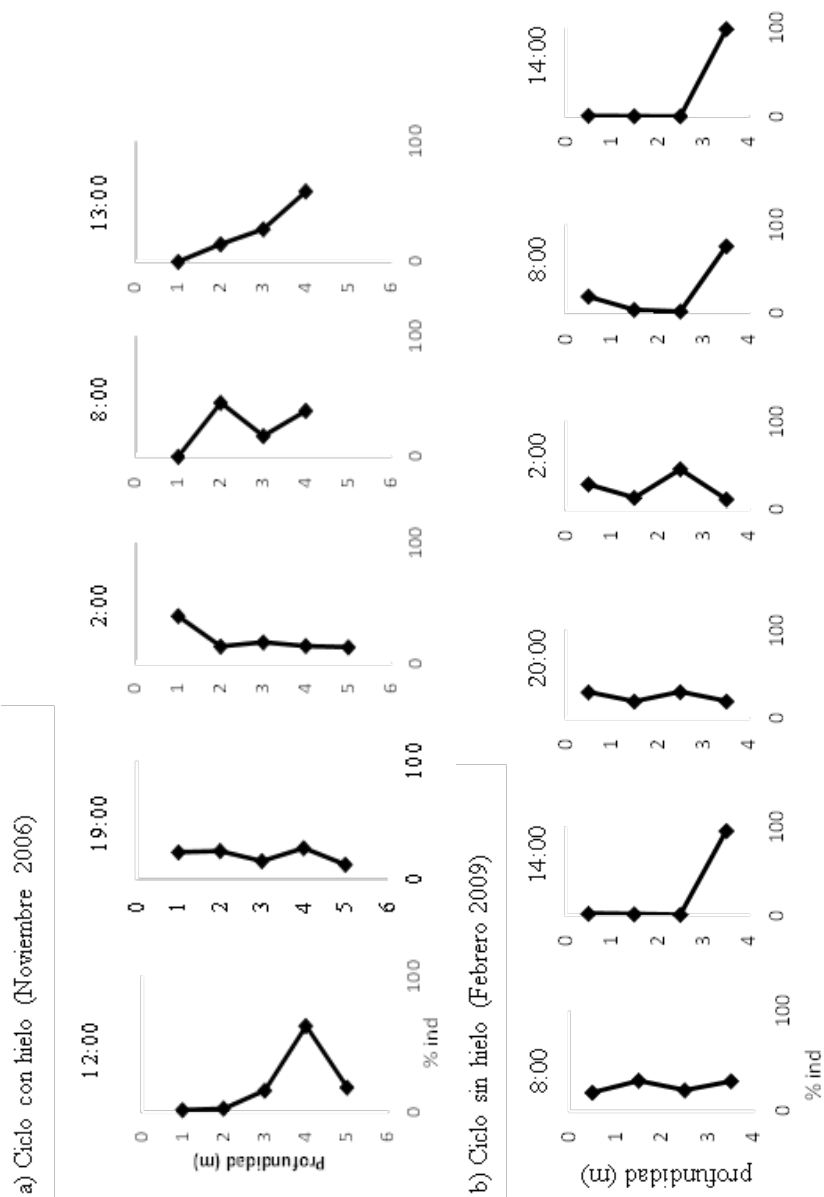


Figura 9. Porcentaje de individuos (%) de *B. poppei* de acuerdo a su distribución vertical en el Lago Linnopolar (Península Byers, Antártida). La gráfica muestra dos ciclos diarios a diferentes profundidades a) con hielo en la superficie (noviembre 2006) y b) con el Lago deshelado (febrero 2009).

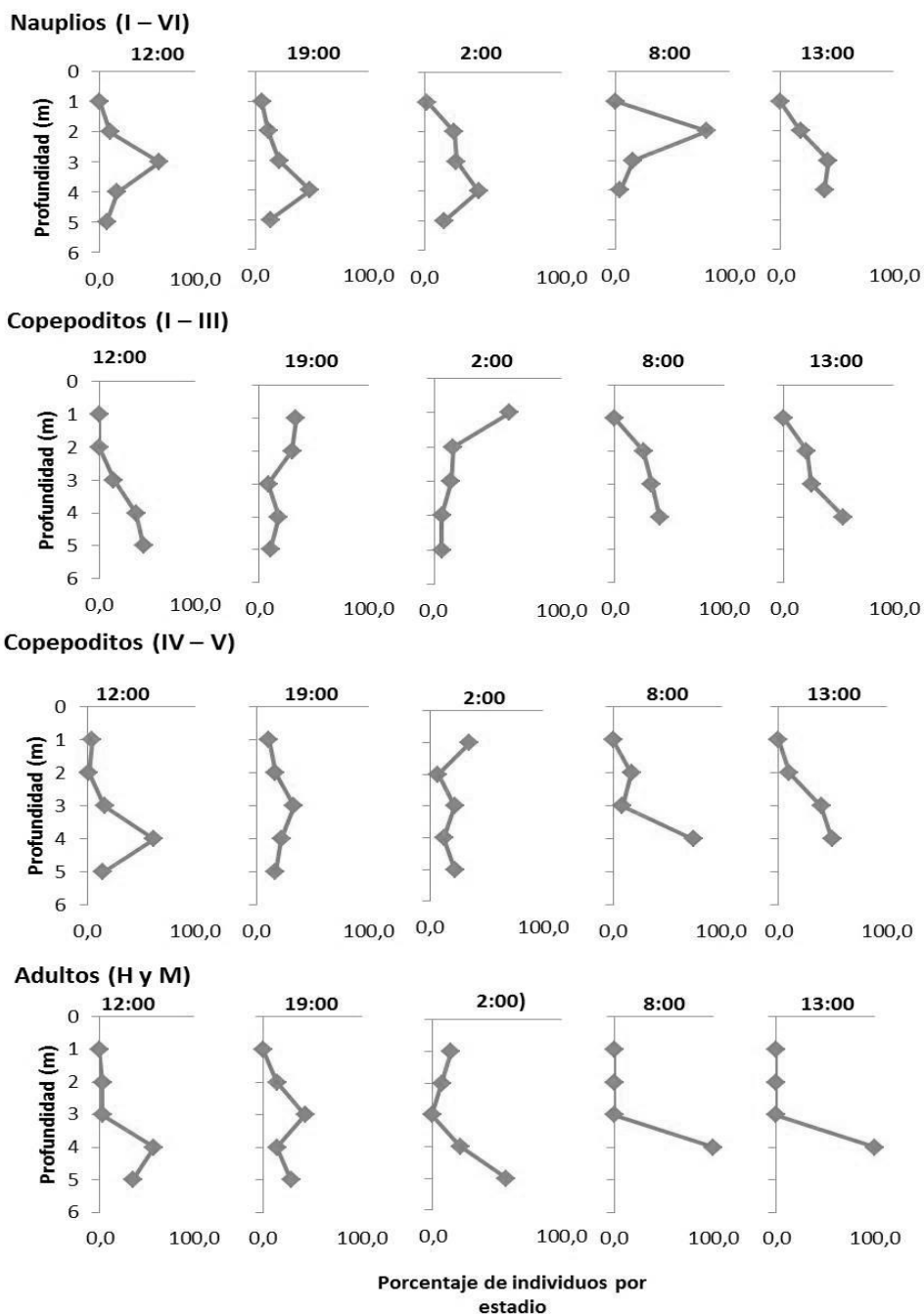
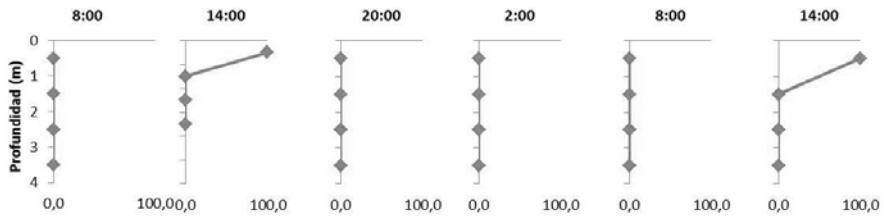
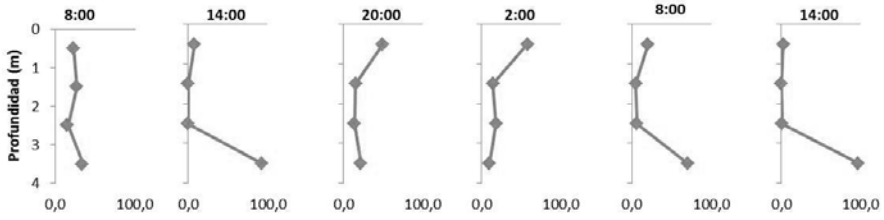


Figura 10. Distribución del porcentaje de individuos de cada estadio de desarrollo de *B. poppei* en cada hora y profundidad específica durante el ciclo de migración con cobertura de hielo (2006) en la superficie del Lago Limnopolar.

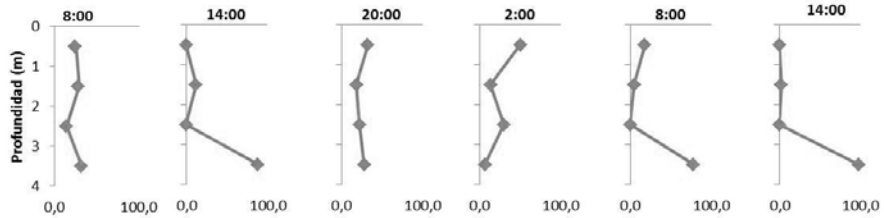
Nauplios (I – VI)



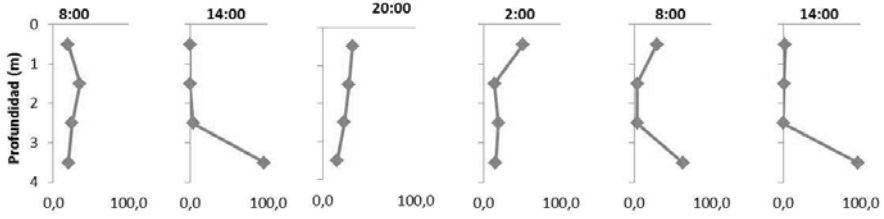
Copepoditos (I – III)



Copepoditos (IV – V)



Adultos (H y M)



Porcentaje Individuos por estadio

Figura 11. Distribución del porcentaje de individuos de cada estadio de desarrollo de *B. poppei* en cada hora y profundidad específica durante el ciclo de migración con el Lago Limnopolar deshelado (2009).

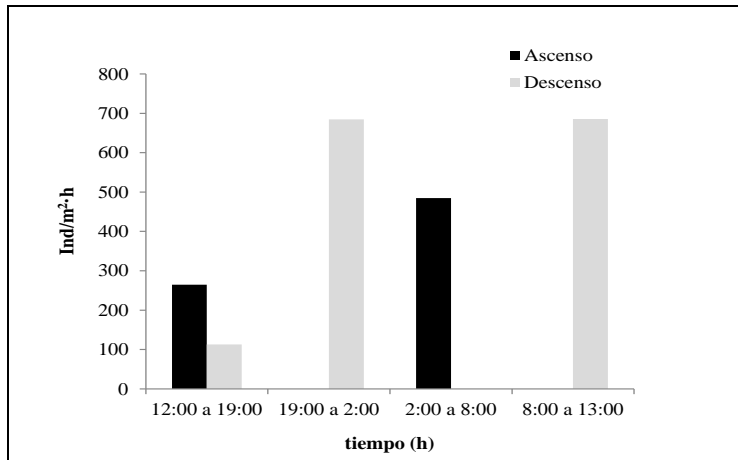


Figura 12. Flujo migratorio de copépodos registrados en las trampas instaladas en dos zonas del lago (N y S) en la columna de agua del Lago Limnopolar durante el ciclo de migración de noviembre de 2006 con cubierta de hielo en la superficie.

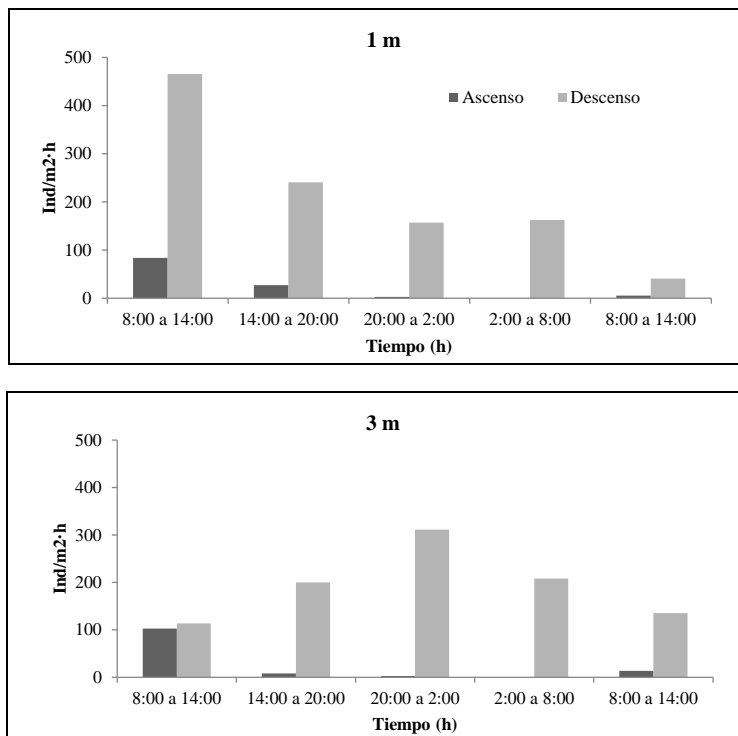


Figura 13. Flujo migratorio de copépodos registrados en las trampas instaladas a 1 y 3 m en la columna de agua del Lago Limnopolar durante el ciclo de migración de febrero de 2009 con el lago deshelado.

Distribución horizontal de *Boeckella poppei*

Durante el muestreo llevado a cabo en noviembre de 2006, realizado mientras el lago presentaba todavía su superficie congelada, y no estando por tanto la distribución horizontal de *B. poppei* afectada por el efecto mecánico del viento, esta mostró en superficie (1 m) un claro sesgo hacia la orientación NE, y en general valores bajos de abundancia, excepto en el muestreo de las 19:00 horas en donde la abundancia de copépodos fue particularmente elevada (~34 ind/l) en la orientación antes mencionada (Fig. 14a).

Por otra parte, las densidades de copépodos a 3.5 m de profundidad fueron en términos generales algo más elevadas, próximas en algún caso a 40 ind/l, estando además claramente sesgadas hacia las orientaciones SE y SO (Fig. 14b). Estadísticamente, los datos de la distribución horizontal a nivel superficial (1.5 m) siguieron una distribución normal (Shapiro-Wilk p-valor>0,05) rechazando la hipótesis de una distribución homogénea en la columna de agua (Prueba t para muestras únicas, p-valor > 0,05). En las muestras del fondo (3,5 m) también se observó una distribución normal (Shapiro-Wilk p-valor> 0,05) siendo significativa en el muestreo de las 13:00 indicando una distribución homogénea en la columna de agua ($t_{(3)}= 6,9$, p-valor= 0,006) y heterogénea para el resto de muestras a esa profundidad.

En relación a la distribución horizontal observada en febrero de 2009, con el lago completamente deshelado y por tanto sometido al efecto del viento, los copépodos mostraron un patrón en el cual en horas de mayor iluminación tuvieron preferencia por la orientación sur, concentrando más del 50% de la población en las orientaciones SO y SE (Fig. 15). En este caso, y a diferencia del ciclo llevado a cabo en noviembre de 2006, las capturas se llevaron a cabo únicamente a 1 m de profundidad, realizándose un mayor esfuerzo de muestreo en la periodicidad de las capturas. Así, en horas de máxima iluminación se apreció claramente la ausencia de grandes concentraciones de copépodos en la

superficie, en correspondencia con los muestreos verticales, independientemente de la orientación horizontal. En cambio, en las horas de menor iluminación (entre las 20:00 y las 2:00) se observaron las densidades de copépodos más elevadas (Fig. 15). Durante estas horas de baja iluminación y del consecuente ascenso de los copépodos, estos se concentraron mayoritariamente en las orientaciones NE y SE, con porcentajes sobre el total de la población durante ese periodo del 37,3% y 33,3% respectivamente. Estadísticamente, los datos fueron significativos para los muestreos de las 8:00 y 20:00 ($t_{(3)} = 7,4$ y $t_{(3)} = 7,2$; $p\text{-valor} < 0,05$) mostrando una distribución homogénea en las cuatro orientaciones, independientemente de la densidad de copépodos.

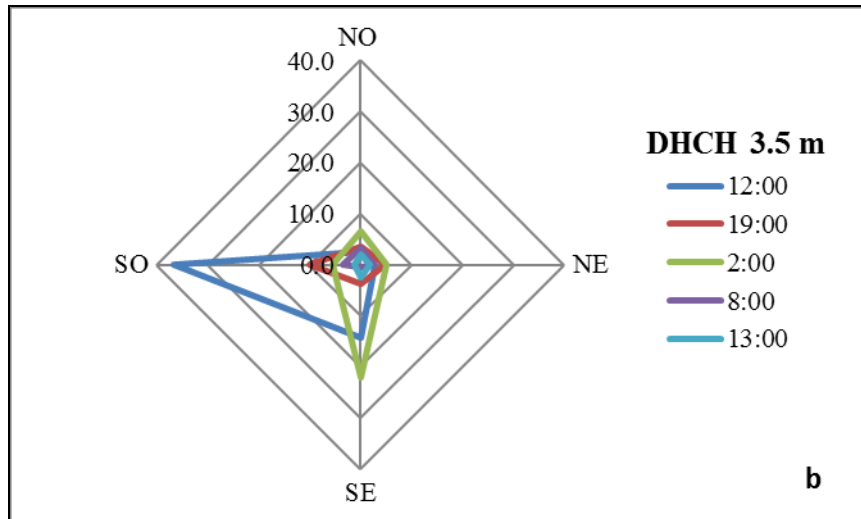
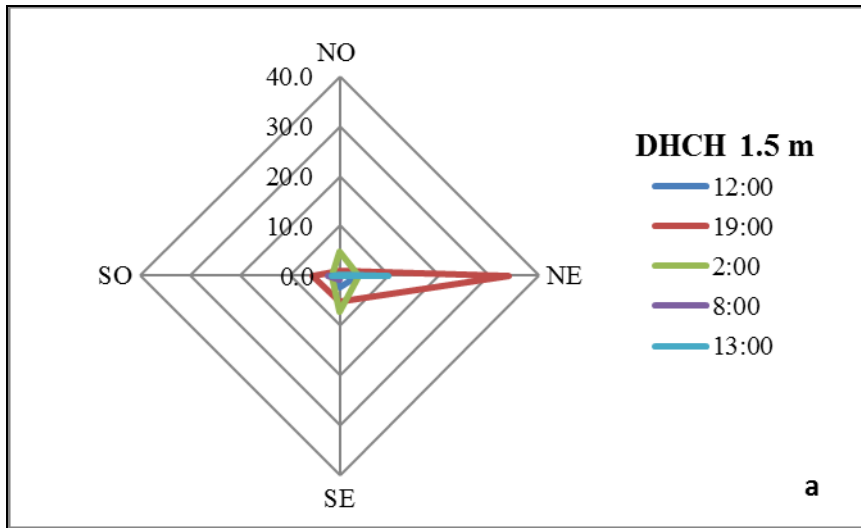


Figura 14. Representación de la distribución horizontal de *B. poppei* (ind/l) en el Lago Limnopolar con la superficie cubierta por hielo. En la gráfica se representa la orientación en donde se ubicaron los copépodos y no la dirección hacia donde soplab el viento en ese momento debido a que no se cuenta con esos datos. La primera figura (a) corresponde a la superficie (1,5 m) y la segunda figura (b) corresponde al fondo del lago (3,5 m). Las líneas de colores representan la orientación y se corresponden con los valores de abundancia, conforme mayor es el pico, mayor es la densidad de copépodos.

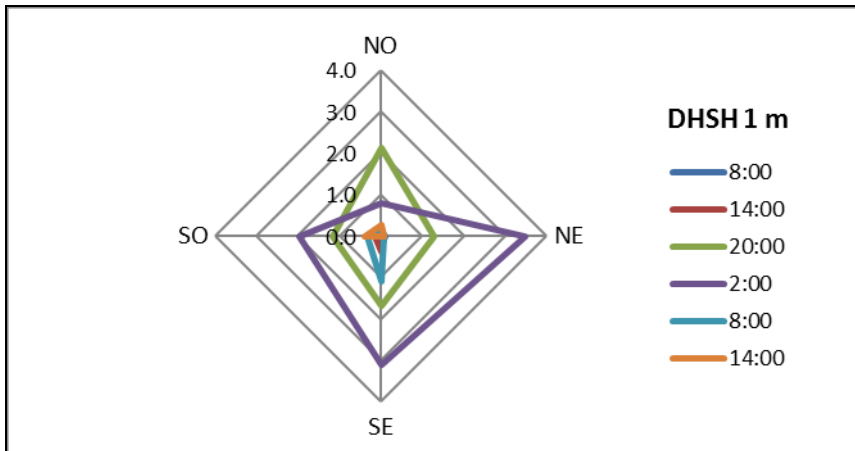


Figura 15. Representación de la distribución horizontal de *B. poppei* (ind/l) a un metro de profundidad con el lago libre de hielo. En la gráfica se representa la orientación en donde se ubicaron los copépodos y no la dirección hacia donde soplabo el viento en ese momento. Las líneas de colores representan la orientación y se corresponde con los valores de abundancia para cada hora, conforme mayor sea el pico, mayor será la abundancia de copépodos.

Esta heterogénea distribución de los copépodos estuvo parcialmente vinculada al comportamiento de las corrientes de viento (Tabla 2). Así, en términos generales, la dirección del viento (barlovento) dominante durante el periodo de estudio, el cual osciló entre velocidades moderadas de en torno a 5 y 10 m/s, fue principalmente SO, probablemente empujando a los copépodos (sotavento) hacia el NE siendo esta la orientación que principalmente mostró la población de copépodos. No obstante, sí se observó en términos porcentuales una cierta coincidencia entre la distribución de copépodos y dirección del viento durante las horas matinales y hasta el mediodía, cuando la velocidad del viento genera corrientes en el lago, siendo más elevada. Cabe tener en cuenta, sin embargo, que estas observaciones se correspondieron, en términos absolutos, con las densidades más bajas de copépodos debido a su acumulación durante estos periodos en el fondo del lago, por lo que su significancia podría estar algo comprometida.

Tabla 2. Características del viento en los momentos del muestreo (febrero 2009) mostrando las coordenadas (norte (0°), este (90°), sur (180°) y el oeste (270°). La velocidad máxima (m/s) y la orientación tanto del viento como de la ubicación de los copépodos (Ver figura 17).

| Muestreo hora | Coordenada (°) | Viento | | | <i>Boeckella poppei</i> | |
|------------------|-------------------|--------------|------------|-----------|-------------------------|-------------------------------|
| | | Vel (m/s) | Barlovento | Sotavento | Ubicación | Máxima distribución (%) |
| 8:00 | 246 | 10,2 | SO | NE | SE | 34.4 |
| 14:00 | 266 | 9,8 | SO | NE | SE | 50.5 |
| 20:00 | 209 | 7,6 | SO | NE | NO | 33.8 |
| 2:00 | 216 | 5,0 | SO | NE | NE | 37.3 |
| 8:00 | 115 | 7,3 | SE | NO | SE | 65.7 |
| 14:00 | 188 | 8,7 | SO | NE | SO | 53.2 |

Descripción del lecho del Lago Limnopolar mediante observación directa (Actividad de buceo)

Las observaciones directas durante las inmersiones constataron la presencia de una cubierta de musgo en el Lago Limnopolar compuesto únicamente por el musgo *Drepanocladus longifolius*, estimándose un porcentaje de cobertura próximo al 90% en la zona de la cubeta (Fig. 16). En la zona de plataforma y talud no se observó por el contrario la presencia de este musgo ni de tapetes microbianos (Fig. 5). Con respecto a la presencia de crustáceos, y en particular a los copépodos, que resultaron dominantes en la comunidad de este lago, se observó durante las inmersiones una mayor concentración en el fondo del lago, coincidiendo con horas de máxima iluminación, estando además, por su posición exacta en la columna de agua, estrechamente asociados al musgo (Fig. 16).

Finalmente, este estudio concluye que *B. poppei*, presentó un comportamiento de migración vertical durante el verano austral en el lago Limnopolar (Península Byers, Antártica) incluso cuando el lago tenía una cubierta de hielo en la superficie, permaneciendo en el fondo en horas de mayor radiación y los estadios tempranos de copepoditos son los que predominaban en la superficie en horas de menor radiación. La migración en horas de menor radiación fue menos evidente pero en cambio se observaron todos los estadios de desarrollo. El flujo migratorio de copépodos fue más elevado en los flujos de descenso por la noche. En cuanto a la distribución horizontal con el lago cubierto por hielo se observó una alta concentración de copépodos en la superficie en horas de baja intensidad lumínica, en cambio, la concentración de copépodos fue mayor en el fondo en horas de máxima radiación y estando el lago deshelado se observó gran cantidad de ejemplares en la superficie en horas de obscuridad probablemente la ubicación en el noreste sea debida a causa del barlovento. Finalmente, por observación directa por parte de los buzos se confirma la gran abundancia de copépodos en el fondo sobre la cobertura de musgo *Drepanocladus longifolius*.

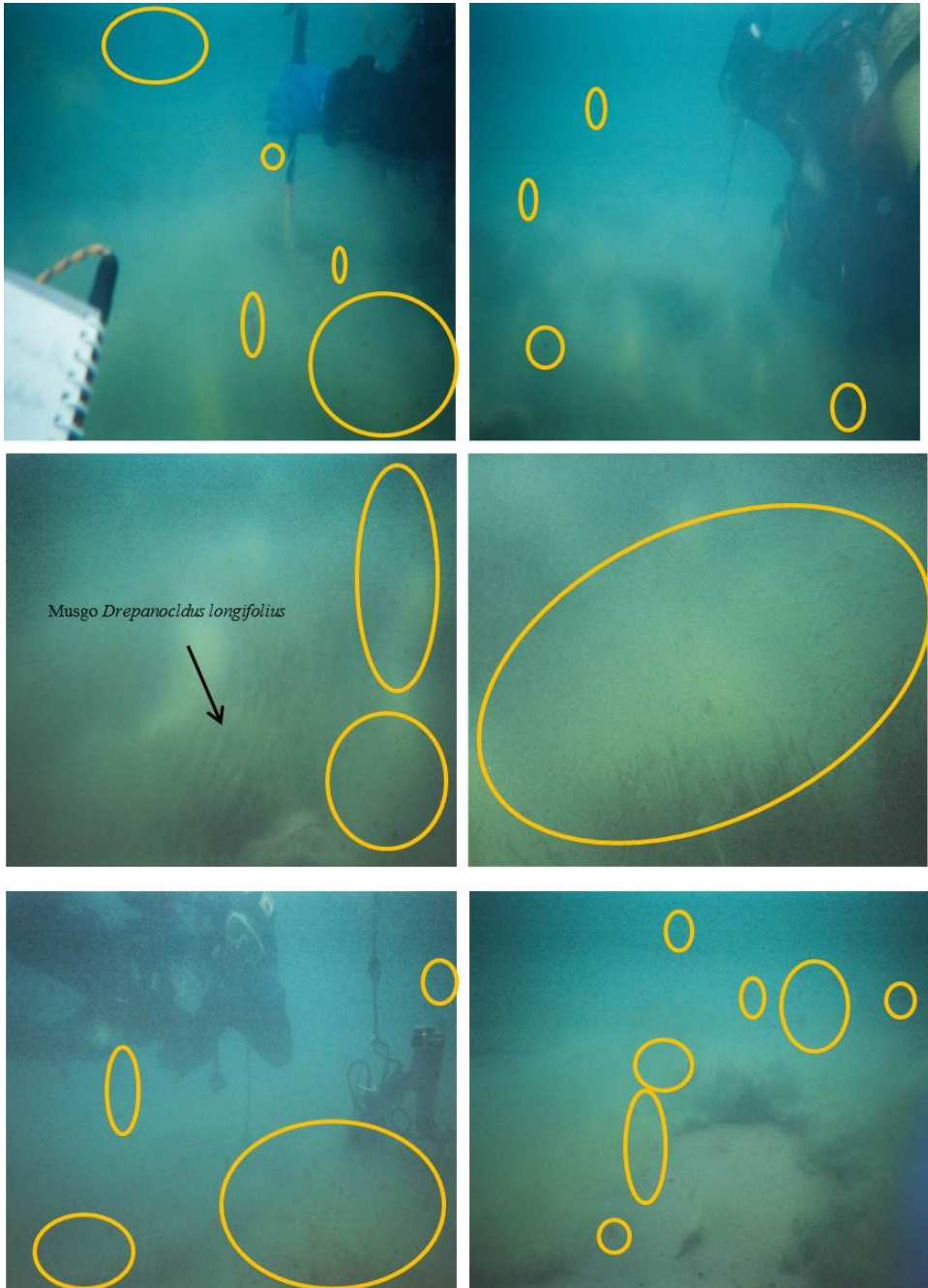


Figura 16. Las imágenes corresponden a las fotografías realizadas en el fondo del Lago Limnopolar, en donde se puede apreciar la cobertura por el musgo *Drepanocladus longifolius*. Los puntos color marrón que se observan corresponden a individuos de *Boeckella poppei*.

7.4. Discusión

Nuestros resultados muestran por primera vez la existencia de movimientos migratorios diarios en la especie de copépodo *Boeckella poppei* en un lago representativo de la Antártida marítima. Este comportamiento muestra además consistencia, puesto que fue observado en los tres ciclos de muestreo realizados, independientemente del periodo y características físicas del lago, factores que no obstante sí tuvieron una cierta influencia en la intensidad con la que se manifiesta este fenómeno. En general, el comportamiento migratorio del copépodo se ajusta quizás cercano a una migración crepuscular, subiendo por la tarde. Sin embargo, podría ser también una migración nocturna, subiendo durante las horas nocturnas y bajando a las capas más profundas del lago en horas de máxima iluminación pero dicho movimiento no fue tan intenso. El desplazamiento en torno a 5 metros, según las condiciones del lago en cuanto a la presencia o ausencia de la cubierta de hielo y el periodo del año, el comportamiento migratorio será de mayor o menor intensidad. Un aspecto interesante de nuestros resultados es la recurrencia de este comportamiento durante todo el verano austral, incluso en condiciones de muy reducida penetración de luz en la columna de agua, lo que evidenciaría una notable sensibilidad de estos copépodos al estímulo producido por la luz, incluso mostrando un comportamiento local adaptado a su ritmo circadiano (Hansson *et al.*, 2007). Las zonas polares presentan cambios de luz específicos en cuanto a su intensidad durante el día, en cambio, los cambios en la iluminación son sutiles durante el ciclo diario y con un pequeño cambio en esta puede motivar el inicio de la migración vertical (Ringelberg, 2010). En este sentido, en el ciclo de migración observado en condiciones de ausencia de cubierta de hielo, y por tanto con mayor disponibilidad de luz en la columna de agua, el patrón migratorio (p.ej. ascenso nocturno) fue menos evidente mostrando una distribución heterogénea en la columna con el 30% y 40% de la población en la superficie y en el centro respectivamente, en el resto de profundidades los

porcentajes fueron semejantes en torno al 15% (1,5 y 3,5 m). Dicha circunstancia podría deberse al efecto del viento, con velocidades de cercanas a 8 m/s que favorecerían la mezcla de la columna de agua, haciendo con ello más imprecisa la posición de los copépodos.

El patrón de migración nocturno parece ser el más normal en este grupo de crustáceos en estas condiciones, en los cuales son capaces de detectar y responder a cambios imperceptibles de radiación, incluso durante la noche polar (Berge *et al.*, 2009); sin embargo, son muy atípicos aquellos casos en los que se ha observado un patrón inverso de migración en lagos con cobertura helada (Cunningham, 1972). Incluso en lagos y océanos tanto del Ártico como del Antártico algunos investigadores han reportado que no observaron migraciones verticales en algunas especies de zooplancton (por lo general cladóceros y copépodos) tanto en periodos de obscuridad como en periodos de constante iluminación como ocurre en el zooplancton Ártico (Ringelberg, 2010; Blachowiak-Samolyk *et al.*, 2006) por lo tanto, el comportamiento de migración en dichas zonas, hoy en día es motivo de debates buscando explicaciones a nivel de comportamiento tanto por factores fisiológicos, ambientales, entre otros.

Estos movimientos, al menos los de mayor amplitud y que mejor quedan reflejados en nuestros muestreos, se producen de forma más clara en determinados estadios juveniles, hecho que podría guardar relación con aspectos del ciclo vital del copépodo, ya que son varios estudios que corroboran un comportamiento migratorio ontogenético, es decir, que depende del proceso de crecimiento de individuo (Conover y Huntley, 1991; Boxshall y Defaye, 2008). En este sentido, en nuestros datos aparece la distribución de tamaños de los distintos estadios (Fig. 7), puede verse como son precisamente estas fases juveniles tempranas las que presentan un desarrollo más rápido, siendo posible que sus ascensos nocturnos sea bien un comportamiento genético o reminiscencia de su lugar de origen, posiblemente de la región zoogeográfica Neotropical, en donde el género *Boeckella* es el dominante en la Cordillera de

los Andes (lagos de alta montaña) y en la Patagonia (altas latitudes) (Boxhall y Defaye, 2008). En otro sentido dichos movimientos también pueden estar motivados por la obtención y/o procesamiento de determinados recursos distintos a los del resto de la población y que faciliten este desarrollo, siendo este el ejemplo de una posible diferenciación de hábitat dentro de una misma especie, ya sugerida además en el caso de *B. poppei* por otros autores (Almada *et al.*, 2004). No obstante, estimaciones de la actividad fotosintética llevadas a cabo en la columna de agua de este mismo lago (Villaescusa, 2015) muestran como la productividad en las capas profundas es generalmente más elevada que en superficie, con valores en el rango de 0,5-3 mg C/g clorofila-a·E·día. Por el contrario, tasas fotosintéticas de esta magnitud, o ligeramente superiores, solo se observan ocasionalmente las capas superficiales del lago.

De acuerdo a esta distribución de la producción primaria en la columna de agua, más importante cerca del fondo, el comportamiento migratorio no parece tener justificación en la obtención de alimento en capas superficiales. A esta actividad del plancton hay que sumarle la presencia del musgo *D. longifolius*, el cual tiene una cobertura de 15225 m², cubriendo la mayor parte de la cubeta del lago (Fig. 16). Los estadios adultos de *B. poppei* probablemente obtengan todos los recursos necesarios en estos estratos profundos, de modo similar a los machos de *Notodiaptomus incompositus*, los cuales acumulan reservas de lípidos suficientes y no migran a la superficie (Weigand y Escalante, 2008).

Por otra parte, la agrupación que observamos de *B. poppei* en el fondo del Lago Limnopolar, tanto durante los muestreos como por la observación directa durante las inmersiones, particularmente de formas adultas, tiene su correspondencia con lo observado en otros copépodos calanoides (De Meester y Vyverman, 1997; Zadereev y Tolomeyev, 2007). No obstante, en este último caso estos comportamientos suelen justificarse por la presencia de depredadores, circunstancia que debe descartarse en nuestro caso debido a la

ausencia de estos últimos, sin embargo, como comentamos anteriormente la hipótesis que mejor explica el comportamiento migratorio que exhibe *B. poppei* en lagos antárticos coincide con el de los copépodos calanoides del mar de Weddell (Antártida) los cuales realizan migraciones verticales según el estadio de desarrollo (Schnack-Schiel, 2001).

En el número de copépodos capturados en las trampas se observa un patrón que en buena parte se corresponde con el patrón de migración observado, con mayores descensos durante el periodo de noche, aunque presentan un claro sesgo en el número de individuos capturados durante su ascenso. Una posible explicación a esta aparente incoherencia es que el descenso, a diferencia del ascenso, sea pasivo y se produzca por un aumento del contenido de grasas del copépodo, y con ello de su densidad, tras ingerir alimento. Así, es posible que las trampas no resulten totalmente ineludibles para el copépodo, quien únicamente las detectaría y podría evitarlas con una mayor frecuencia durante los ascensos, los cuales el copépodo realiza de forma activa. Esta variación en el contenido lipídico del copépodo podría tener su causa en la ingesta de determinado alimento como observan algunos autores (Hattori y Saito 1997; Wetzel, 2001). La idea de un descenso pasivo motivado por condicionantes internos y no por factores externos como la luz concuerda también con las observaciones de Fortier (2001), quien documenta el comportamiento de cuatro especies distintas de copépodos calanoides, los cuales realizan también migraciones bajo el hielo con descensos a zonas profundas pero iniciados antes de que la luz incremente. En nuestro estudio durante las horas de obscuridad (20:00 y 2:00) estando el lago deshelado, los copépodos permanecieron distribuidos en la columna de agua y quizás en nuestros muestreos no localizamos la hora de máxima concentración de copépodos en la superficie del lago siendo los ejemplares observados a las 2:00 los que estuviesen descendiendo de forma pasiva. En cambio, la concentración de copépodos a la misma hora (2:00) cuando el lago tenía una cubierta de hielo era cerca del 40%

de la población en ese momento y el resto estaba distribuido de forma homogénea en la columna de agua.

No obstante, el hábito mayoritariamente nectobentónico que presenta de *B. poppei* en el Lago Limnopolar podría guardar relación con hábitos alimenticios considerando la importancia del bentos en la producción de este lago (Rochera *et al.*, 2010; Villaescusa *et al.*, 2013), y que explicarían a su vez la notable presencia de esta especie en el Lago Somero, dónde los recursos son también principalmente de origen bentónico. La actividad de buceo confirmó los resultados de nuestro estudio distinguiendo que en el fondo del lago se observaron altas densidades de copépodos en las horas de máxima radiación, y que estos además mostraban una distribución muy asociada al lecho del musgo *Drepanocladus longifolius* que cubre buena parte de la cubeta central del lago. Por otra parte, en este tipo de lagos antárticos, los componentes del bucle microbiano juegan un papel primordial en la red trófica del plancton (Camacho, 2006). Las poblaciones microbianas tienen gran importancia, en términos de abundancia, en las capas profundas del Lago Limnopolar (Rochera *et al.*, 2010; Villaescusa *et al.*, 2013), el cual podría sustentarse en parte por la producción primaria de la comunidad de musgo antes mencionada. Probablemente, estas circunstancias hacen que una especie como *B. poppei*, con hábitos claramente nectobentónicos como en el vecino Lago Somero u otros lagos poco profundos de la región (Pociecha y Dumont, 2008), presente este retraimiento cerca del bentos de lagos más profundos como es el Lago Limnopolar.

Por otra parte, en relación al mecanismo que en el Lago Limnopolar presenta *B. poppei* para evitar el efecto nocivo de la radiación ultravioleta, parece evidente que tiene que ver con una la acumulación coloración de pigmentos carotenoides antioxidantes que actúan como fotoprotectores (Rocco *et al.*, 2002; Hylander y Hansson, 2010), y que les dan su característica coloración roja, dicha estrategia resulta además ventajosa en ausencia de depredadores visuales (Rautio y Tartarotti, 2010), como en el caso del Lago

Limnopolar. Asimismo, se ha observado una relación directa entre el nivel de esta pigmentación y la producción de huevos (Gorokhova *et al.*, 2013). Sin embargo, a la vista de nuestros resultados, esta adaptación no obvia que *B. poppei* presente además una fototaxis negativa que le conduzcan a realizar movimientos migratorios. Los resultados de Rocco *et al.* (2002) para la misma especie (*B. poppei*) en Bahía Esperanza en función de sus estrategias ante la luz ultravioleta, la catalogan como una especie altamente tolerante a la radiación ultravioleta siendo capaz de minimizar la exposición a altas dosis de radiación solar por medio de mecanismos fisiológicos de fotoprotección (i.e., pigmentos carotenoides) y comportamentales (i.e., concentración en capas profundas del lago), debido a la cercanía de los sitios de estudio es posible que *B. poppei* en el lago Limnopolar presente lo mismos mecanismos. No obstante, esta idea de que la migración vertical participa también de los mecanismos para sustraerse de la radiación ultravioleta queda en parte desacreditada por el hecho de que *B. poppei* medra también en lagos vecinos poco profundos como el Lago Somero, dónde el único mecanismo de evitación posible es la protección pigmentaria.

Otra explicación para esta mayor acumulación de copépodos en zonas profundas de lagos cubiertos por hielo se basa en la idea que la anoxia y las temperaturas inferiores favorecen la transformación del alimento por parte de las hembras en reservas de lípidos. Ambas circunstancias no parecen, sin embargo, ser comunes en el Lago Limnopolar, en el cual la extinción de oxígeno durante los periodos de máximo desarrollo de las poblaciones de este copépodo es un fenómeno poco probable. Cabe destacar también en nuestro caso, en relación a esta acumulación de estadios más avanzados en capas profundas, como parece ser más acusado al inicio del verano, lo que indicaría que no solo el estado ontogenético sino que también existe una componente estacional en este tipo de comportamientos, hecho observado tanto en copépodos calanoides marinos como de agua dulce (Pasternak y Arashkevich, 1999; Zadereev y Tolomeyev, 2007).

El movimiento horizontal del zooplancton es una consecuencia más que una razón de la migración vertical diaria (Hays, 2003), observando que cuando el lago presentaba una cubierta de hielo en la superficie las abundancias fueron más altas respecto a las observadas en la migración vertical en la superficie, probablemente atribuido a la protección que brinda la cubierta de hielo ante factores ambientales. Sin embargo, en las horas de mayor radiación lumínica (12:00 -13:00) la abundancia de copépodos fue mayor en zonas profundas (4 y 5 m) probablemente por la cama de macrófitos, compuesta por el musgo *D. longifolius* el cual sirve como refugio ante altos valores de radiación y al mismo tiempo como fuente de alimentación, es así que los macrófitos pueden influir en los patrones de migración horizontal (Lauridsen *et al.*, 1996). Las observaciones anteriores explican la distribución horizontal cuando el lago permaneció deshelado, en donde las abundancias fueron menores respecto a la abundancia de copépodos a nivel superficial (1m) en donde su distribución mostraba una clara influencia del viento, ya que el sotavento (NE) los mantuvo entre la orientación noreste y por consecuencia una pequeña desviación hacia el sureste.

La presencia de *Boeckella poppei* en la Península Antártica es relativamente reciente, a diferencia de los registros que se tienen para la Antártida continental, los cuales pertenecen al Holoceno con diferentes teorías sobre su dispersión, supervivencia y evolución, entre otros (Bayly *et al.*, 2003; Gibson *et al.*, 2006). En nuestro caso observamos un comportamiento migratorio, no obstante, su baja intensidad dentro del conjunto de la población y la falta de motivaciones ecológicas que la expliquen, hace pensar que estos se producen por la existencia de una cierta inercia evolutiva, es decir, existen factores genéticos que los motiva, ya que dicho comportamiento podría ser beneficioso en otras áreas de distribución de la especie.

Finalmente, nuestros resultados muestran la existencia de movimientos migratorios diarios del copépodo *Boeckella poppei* en el Lago Limnopolar, siendo las primeras observaciones de este fenómeno en un lago de la Antártida

marítima, tanto con cobertura de hielo como sin ella. El comportamiento observado puede ser considerado como crepuscular o nocturno, en donde la intensidad de estos ciclos migratorios fue variable según las condiciones del lago, sin embargo, de acuerdo con las hipótesis planteadas, consideramos que la migración de *B. poppei* en dicho lago responde más bien a un comportamiento vestigial.

Conclusiones

1. Esta tesis representa un estudio extenso de la ecología de las dos especies de crustáceos dominantes en los lagos de la Antártida marítima, el anostráceo *Branchinecta gaini* y el copépodo *Boeckella poppei*. En particular las investigaciones se centran en sistemas lenticos presentes en la Península Byers, siendo ésta, desde un punto de vista limnológico un área representativa de toda la región marítima, lo que permite hacer extensivos nuestros resultados a otros lagos de dicha región del continente antártico.
2. Los lagos estudiados, Somero y Limnopolar, seleccionados como modelos para llevar a cabo las investigaciones, aunque muestran características distintivas, albergan ambas poblaciones estables de las dos especies, las cuales constituyen el nivel trófico superior. Estos lagos exhiben en común un notable dominio de la componente microbiana en el plancton, aunque difieren no obstante en la tipología del bentos. El Lago Somero, menos profundo, muestra una zona perimetral en la que predominan biofilms y tapetes microbianos. Por su parte el Lago Limnopolar, más profundo y oligotrófico, presenta un bentos compuesto únicamente por el musgo *Drepanocladus longifolius*.
3. Con respecto al ciclo reproductivo de *Branchinecta gaini*, este muestra un acoplamiento con el proceso de deshielo asociado al inicio del verano austral. En este sentido, se observa una maximización del tamaño de puesta durante una ventana temporal en las que la productividad y, por tanto, la probabilidad de encontrar alimento en los lagos, son mayores. La diapausa, presente en esta especie, supone a su vez una adaptación a un ambiente con duras restricciones ambientales.

4. Los experimentos de efecto de la temperatura en las tasas de respiración en el caso de *Branchinecta gaini* mostraron un patrón bimodal, con un aumento de éstas con la temperatura solo dentro de un rango fisiológico óptimo de entre 0°C y aproximadamente 6-7°C, siendo estos valores los que generalmente experimenta en condiciones naturales. Los mayores incrementos observados a las temperaturas más elevadas, fuera estas últimas del rango habitual, responden en este caso a la descompensación metabólica que lleva al anostráceo a una situación de estrés.

5. El incremento de la temperatura provoca también que la excreción de nutrientes aumente en ambas especies, en particular la de fósforo y amonio, pudiendo ser este un factor importante en la recirculación de nutrientes en estos lagos, incluso en el rango natural de temperaturas que presentan. No obstante, esto no produce un desequilibrio significativo entre las relaciones estequiométricas del nitrógeno y fósforo, ya que el incremento en la excreción de ambos nutrientes es aproximadamente equivalente.

6. La dieta de *B. gaini* en la Península Byers se compone mayoritariamente de pequeñas algas y detritus. El estudio del contenido del tracto digestivo muestra a las diatomeas bentónicas como principal componente de esta dieta, seguido de las algas clorofíceas. Por su parte, el fraccionamiento isotópico en el caso del copépodo *Boeckella poppei* sugiere una alimentación basada más bien en recursos planctónicos, lo que concuerda con otras investigaciones llevadas a cabo en estos lagos.

7. En función de la diversidad de especies de diatomeas observadas en el Lago Somero, puede decirse que *Branchinecta gaini* muestra un consumo generalizado sobre toda la comunidad, no mostrando una marcada selección por determinadas especies sino más bien ajustándose a su disponibilidad durante cada periodo. No obstante, sí se detecta una cierta predilección por determinadas morfologías como las naviculoides, cymbeloides o nitzschoides.
8. El perfil de ácidos grasos de *B. gaini* corrobora lo anterior, mostrando una mayor presencia de aquellos que son específicos de diatomeas, como son el ácido palmitoleico, pero también de otros marcadores de herbivoría en general. No obstante, aunque en menor medida, presenta también marcadores ausentes en las algas y correspondientes a dietas carnívoras, como son el 20:1n-9 y 22:1n-11, señalando con ello el carácter omnívoro y detritívoro de esta especie. Por otra parte, las diferencias observadas entre individuos provenientes de ambos lagos, cuyas comunidades bentónicas presentan una tipología distinta, sugiere una cierta capacidad de esta especie a adaptar su dieta a distintos ambientes.
9. Los perfiles lipídicos guardan también relación con el ciclo reproductivo del anostráceo. Así, las diferencias observadas entre sexos parecen deberse a la acumulación diferencial de ácidos grasos en hembras grávidas, como por ejemplo el ácido graso saturado 18:0, en lo que parece un mecanismo de reserva energética para la producción de huevos. Igualmente, y en consonancia con las diferencias observadas en el fraccionamiento isotópico, estas divergencias en los perfiles de ácidos grasos podrían responder también a diferencias tanto cuantitativas como cualitativas en la dieta de ambos sexos.

10. De forma complementaria a los estudios taxonómicos y bioquímicos de la dieta antes citados, la tesis aborda también aspectos conductuales de *B. gaini* relacionados con sus hábitos alimenticios. Estos consistieron en relacionar experimentalmente la probabilidad de permanencia del anostráceo en una determinada fuente de alimento con su predilección por esta. En términos generales las estancias en los distintos tipos de alimento tendieron a ser similares, mostrando no obstante una mayor persistencia en las distintas comunidades de algas bentónicas, ya fuesen éstas propias del lago o debidas a aportes externos.
11. Desde el punto de vista comportamental, nuestras observaciones sugieren que el patrón de conducta de *B. gaini* podría asemejarse a lo que se conoce como vuelos de Lévy, consistentes en la realización de movimientos basados en desplazamientos cortos alternados con relocalizaciones aleatorias mediante desplazamientos más largos y menos frecuentes, lo que considerando las características de esta especie y la distribución parcheada del alimento en el lago podría resultar la estrategia más óptima en la búsqueda de recursos. Sin la existencia de factores que produzcan un sesgo en este patrón de conducta, este tiende a producir una distribución uniforme de los individuos en el espacio.
12. Entre las comunidades bentónicas por las que el anostráceo muestra una cierta preferencia y que son más abundantes en el Lago Somero están los biofilms y tapetes microbianos. El anostráceo es capaz de obtener recursos de ambas, no obstante el forrajeo sobre las primeras le aporta más beneficios, tanto por su mayor abundancia relativa de diatomeas, como por su mayor facilidad de manipulación si se comparan con los tapetes microbianos, disminuyendo así el gasto energético asociado a la obtención del alimento.

13. Nuestros resultados muestran la existencia de movimientos migratorios diarios del copépodo *Boeckella poppei* en el Lago Limnopolar, lo que constituye las primeras observaciones de este fenómeno en un lago de la Antártida marítima. El ascenso observado puede ser considerado como crepuscular o nocturno. La instalación de trampas de migración sugiere además que mientras el ascenso se produce de forma activa, el descenso de los copépodos pasivo. Estos movimientos los expresan no obstante solo los estadios más tempranos de copepoditos. A diferencia de estas clases juveniles, los copépodos adultos muestran una clara preferencia por permanecer en capas próximas al fondo.

14. La intensidad de estos ciclos migratorios varía con las condiciones del lago. En cualquier caso, su baja intensidad con respecto al total de la cohorte y la falta de motivaciones ecológicas que la expliquen, hace pensar que estos responderían más bien a factores genéticos de la especie, ya que dicho comportamiento resultaría efectivo en otras áreas de distribución de ésta.

15. Finalmente, considerando la importancia que ambas especies tienen en el funcionamiento de las cadenas tróficas de estos lagos, los aspectos de su ecología estudiados resultan valiosos para predecir algunas alteraciones que un cambio en el régimen climático en la región podría llegar a tener dichas comunidades acuáticas, particularmente viendo el efecto, tanto directo o indirecto, que un incremento de las temperaturas tendría sobre los procesos ecológicos y fisiológicos estudiados en la presente tesis.

Referencias

- Alcaraz, M, R. Almeda, E. Saiz, A. Calbet, C. M. Duarte, S. Agustí, R. Santiago, & A. Alonso (2013) Effects of temperature on the metabolic stoichiometry of Arctic zooplankton. **Biogeosciences**, 10:689–697.
- Alfaro, A. C., F. Thomas, L. Sergent & M. Duxbury (2006) Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 70: 271-286.
- Ali, A.J. & H. J. Dumont (1995) Larviculture of the fairy shrimp, *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Anostraca): effect of food concentration and physical and chemical properties of the culture medium. **Hydrobiología**, 298: 159-165.
- Ali, A.J., S.S.S. Sarma, G. Murugan & H.J. Dumont (1996) Effect of zooplankton type and abundance on prey consumption by the fairy shrimp, *Streptocephalus proboscideus* (Anostraca: Crustacea) **Hidrobiología**, 319:191-202.
- Almada, P., L. Allende, G. Tell & I. Izaguirre (2004) Experimental evidence of the grazing impact of *Boeckella poppei* on phytoplankton in a maritime Antarctic lake. **Polar Biology**, 28: 39-46.
- Ampe, F. & A. Thiéry (1998) Microflora associated with the digestive tract of the fairy shrimp *Branchinecta spinosa* (H. Milne Edwards, 1840) (Crustacea, Branchiopoda). **FEMS Microbiology Letters**, 158: 201-205.
- APHA-AWWA-WPCF (1992) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 18th edition American Public Health Association. Washington D.C.

- Armengol, J., A. Esparcia, E. Vicente & M.R. Miracle (1993) Vertical distribution of planktonic rotifers in a karstic meromictic lake. **Hidrobiologia**, 83: 381-388.
- Bañón, M. (2001) *Observaciones meteorológicas en la base antártica española Juan Carlos I*. Monografía A-151. Instituto Nacional de Meteorología, Ministerio Medio Ambiente. Madrid. 135 pp.
- Bañón, M., A. Justel, D. Velázquez & A. Quesada (2013) Regional weather survey on Byers Peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica. **Antarctic Science**, 25: 146-156.
- Bayly, I.A.E., J.A.E. Gibson, B. Wagner & K.M. Swadling (2003) Taxonomy, ecology and zoogeography of two east antarctic freshwater calanoid copepod species: *Boeckella poppei* and *Gladioferens antarcticus*. **Antarctic Science**, 15: 439-448.
- Belk, D. (1987) Embryonic Cuticles of *Artemia* during diapause and hatching: insights from comparison with other Branchiopoda. **Journal of Crustacean Biology**, 7: 691-696.
- Benvenuto, C., B. Knott & S.C. Weeks (2015) Crustaceans of extreme environments. In: Thiel M. & L. Watling. *Lifestyles and feeding biology, the natural history of crustacea*. Oxford University Press. pp. 379-417.
- Berge, J., F. Cottier, K.S. Last, Ø. Varpe, E. Leu, J. Søreide, K. Eiane, S. Falk-Petersen, K. Willis, H. Nygård, D. Vogedes, C. Griffiths & A.S. Brierley (2009) Diel vertical migration of Arctic zooplankton during the polar night. **Biology Letters**, 5: 69-72.
- Björck, S., C. Hjort, O. Ingólfsson, R. Zale & J. Ising (1996a) Holocene deglaciation chronology from lake sediments. In López-Martinez J., M.R.A. Thomson & J.W. Thomson (eds.) *Geomorphological map of Byers Peninsula, Livingston Island*. BAS GEOMAP Series Sheet 5-A, 49-51. British Antarctic Survey. Cambridge.

- Björck, S., S. Olsson, C. Ellis-Evans, H. Hakansson, O. Humlum & J.M. De Lirio (1996b) Late Holocene paleoclimate records from lake sediments on James Ross Island, Antarctica. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, 121: 195-220.
- Blachowiak-Samolyk, K., S. Kwasniewski, K. Richardson, K. Dmoch, E. Hansen, H. Hop, S. Falk-Petersen & L.T. Mouritsen (2006) Arctic zooplankton do not perform diel vertical migration (DVM) during periods of midnight sun. **Marine Ecology Progress Series**, 308, 101–116.
- Blaseiro, E.G., B.E. Mondenutti & C.P. Quemaliños (2001) Feeding of *Boeckella gracilipes* (Copepoda, Calanoida) on ciliates and phytoflagelates in an ultraoligotrophic Andean lake. **Journal of Plankton Research**, 23. 849-857.
- Boxshall, G.A. & D. Defaye (2008) Global diversity of copepods (Crustacea: Copepoda) in freshwater. **Hydrobiologia**, 595: 195-207.
- Brendonck, L. & L. De Meester (2003) Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. **Hydrobiologia**, 491: 65-84.
- Brendonck, L., M.D. Centeno & G. Persoone (1996) The influence of processing and temperature conditions on hatching of resting eggs of *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchipoda: Anostraca). **Hydrobiologia**, 320: 99-105.
- Brett, M. T. & D. C. Müller-Navarra (1997) The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. **Freshwater Biology**, 38:483-499.
- Brett, M.T., Muller-Navarra DC & J. Persson (2009) Crustacean zooplankton fatty acid composition. In: Arts M.T., M.T. Brett, M. Kainz (eds.). *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer. New York. pp 115–146.

- Burks, E.L., D.M. Lodge, E. Jeppesen & L. Lauridsen (2002) Diel horizontal migration of zooplankton: costs and benefits of inhabiting the littoral. **Freshwater Biology**, 47: 343-365.
- Butler, H., A. Atkinson & E.M Gordon (2005) Omnivory and predation impact of the calanoid copepod *Boeckella poppei* in a maritime Antarctic lake. **Polar Biology**, 28: 815-821.
- Camacho, A. (2006) Planktonic microbial assemblages and the potential effects of metazooplankton predation on the food web of lakes from the maritime Antarctica and sub-Antarctic islands. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, 5:167–185.
- Camacho, A. & E. Fernández-Valiente (2005) Un mundo dominado por los microorganismos. Ecología microbiana de los Lagos Antárticos. **Ecosistemas**, 14: 66-78.
- Camacho, A., C. Rochera, J.A. Villaescusa, D. Velázquez, M. Toro, E. Rico, E. Fernández-Valiente, A. Justel, M. Bañón & A. Quesada (2012) Maritime Antarctic lakes as sentinels of climate change. **International Journal of Design & Nature and Ecodynamics**, 7: 239:250.
- Caraco, T. (2012) Foraging behavior. In: A. Hastings & L. Gross (eds.) *Encyclopedia of Theoretical Ecology*. University of California Press. Berkeley. pp 302–307.
- Cohen, R. G., F. Amat, F. Hontoria & J. C. Navarro (1999) Preliminary characterization of some Argentinean *Artemia* populations from La Pampa and Buenos Aires provinces. **International Journal of Salt Lake Research**, 8: 329-340.
- Conover, R.J. & M. Huntley (1991) Copepods in ice-covered seas – distribution, adaptations to seasonally limited food, metabolism, growth patterns and life cycle strategies in polar seas. **Journal of Marine Systems**, 2: 1-41.

- Convey, P. & W. Block (1996) Antarctic Diptera: ecology, physiology and distribution. **European Journal of Entomology**, 93:1-13.
- Convey, P., S.L. Chown, A. Clarke, D.K.A. Barnes, S. Bokhorst, V. Cummings, H.W. Ducklow, F. Frati, T.G.A. Green, S. Gordon, H.J. Griffiths, C. Howard-Williams, A.H.L. Huiskes, J. Laybourn-Parry, W. Berry-Lyons, A. McMinn, S.A. Morley, L.S. Peck, A. Quesada, S.A. Robinson, S. Schiaparelli & D.H. Wall (2014) The spatial structure of Antarctic biodiversity. **Ecological Monographs**, 84: 203-244.
- Crick, H.Q.P., Gibbons, D.W. & R.D. Magrath (1993) Seasonal Changes in clutch size in British birds. **Journal of Animal Ecology**, 62: 263-273.
- Cripps, G. & Hill H.J. (1998) Changes in lipid composition of copepods and *Euphasia superba* associated with diet and environmental conditions at the marginal ice zone. **Limnology and Oceanography**, 41:1281-1294.
- Cunningham, L. (1972) Vertical migrations of Daphnia and Copepods under the ice. **Limnology and Oceanography**, 17: 301-304.
- Cutts, C. (2001) Culture of harpacticoid copepods: potential as live feed for rearing marine fish. **Advances in Marine Biology**, 44:296-316.
- Dararat, W., P.L. Starkweather & L. Sanoamuang (2011) Life history of the three fairy shrimps (Branchiopoda: Anostraca) from Thailand. **Journal of Crustacean Biology**, 31: 623-629.
- De Carvalho, C.C.C.R. & M-J. Caramujo (2014) Fatty Acids as a tool to understand microbial diversity and their role in the food webs of Mediterranean temporary ponds. **Molecules**, 19: 5570-5598.
- De los Ríos, P., D.C. Rogers & N. Rivera (2008) *Branchinecta gaini* Daday, 1910 (Branchiopoda, Anostraca) as a bioindicator of oligotrophic and low conductivity shallow ponds in Southern Chilean Patagonia. **Crustaceana**, 81: 1025-1034.

- De Los Ríos Escalante, P. & E. Carreño (2012) First observations on reproductive characteristics on Chilean Patagonian populations inland water Calanoids Copepods. **Gayana**, 76: 46-51.
- De Meester, L. & W. Vyverman (1997) Diurnal residence of the larger stages of the calanoid copepod *Acartia tonsa* in the anoxic monimolimnion of a tropical meromictic lake in New Guinea. **Journal of Plankton Research**, 19: 425-434.
- Dell, A. I., S. Pawar, & V.M. Savage (2011) Systematic variation in the temperature dependence of physiological and ecological traits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 108: 10591–10596.
- Desvillettes, C., G. Bourdier & J-C. Breton (1994) Lipid class and fatty acid composition of planktivorous larval pike *Esox Lucius* living in a natural pond. **Aquatic Living Resources**, 7:67-77.
- Dhondt, A.A., T.L. Kast & P.E. Allen (2002) Geographical differences in seasonal clutch size variation in multi-brooded bird species. **Ibis**, 144: 646-651.
- Doyle, S.R., F.R. Momo, J.-C. Brêthes & G.A. Ferreyra (2012) Metabolic rate and food availability of the Antarctic amphipod *Gondogeneia antarctica* (Chevreux 1906): seasonal variation in allometric scaling and temperature dependence. **Polar Biology**, 35: 413-424.
- Ducklow, H.W., K. Baker, D.G. Matinson, L.B. Quetin, R.M. Ross, R.C. Smith, S.E. Stammerjohn, M. Vernet & W. Fraser (2007) Marine pelagic ecosystems: The West Antarctic Peninsula. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, B 362: 67-94.
- Dumont, H.J. & S.V. Negrea (2002) *Guides to the identification of the macroinvertebrates of the continental waters of the world*. Backhuys Publishers. Leiden. 398 pp.

- Dumont, H.J & J. Ali (2004) Stage-specific cannibalism and spontaneous cyst hatching in the freshwater fairy shrimp *Streptocephalus proboscideus*. **Hydrobiologia**, 524: 103-113.
- Ederington, M.C., G.B. McManus & H.R. Harvey (1995) Trophic transfer of fatty-acids, sterols, and a triterpenoid alcohol between bacteria, a ciliate, and the copepod *Acartia tonsa*. **Limnology and Oceanography**, 40: 860 – 867.
- Eriksen, C.H. & D. Belk (1999) *Fairy Shrimps of California's puddles, pools, and playas*. Mad River Press. Eureka, California.
- Ettl, H. (1978) Teil 3: *Xanthophyceae*. In: Ettl, H., J. Gerloff & H. Heynig (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart-Jena.
- Falk-Petersen, W. Hagen, G. Kattner, A. Clarke & J. Sargent (2000) Lipids, trophic relationships, and biodiversity in Arctic and Antarctic krill. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 57: 178-191.
- Fernández de Puellas, M.L., L. Valdés, M. Varela, M.T. Alvarez-Ossorio & N. Halliday (1996) Diel variations in the vertical distribution of copepods off the north coast of Spain. **ICES Journal of Marine Science**, 53: 97-106.
- Fernández-Valiente, E., A. Camacho, C. Rochera, E. Rico, W. F. Vincent & A. Quesada (2007) Community structure and physiological characterization of microbial mats in Byers Peninsula, Livingston Island (South Shetland Islands, Antarctica). **FEMS Microbiology Ecology**, 59: 377-385.
- Förster, K. (1982) *Conjugatophyceae: Zygnematales und Desmidiiales (excl. Zygnemataceae)*. In: Elster, H.J. & W. Ohle (eds.). *Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie*. Teil 8. E. Schweizerbart'sche Verlag. Stuttgart.

- Fortier, M., L. Fortier, H. Hattori, H. Saito & L. Legendre (2001) Visual predators and the diel vertical migration of copepods under Arctic sea ice during the midnight sun. **Journal of Plankton Research**, 23: 1263-1278.
- Fry, B., W. Brand, F.J. Mersch, H. Tholke & R.H. Garritt (1992) Automated analysis system for coupled d13C and d15N measurements. **Analytical Chemistry**, 64: 289-291.
- Gibson, J.A.E. & I.A.E Bayly (2007) New insights into the origins of crustaceans of Antarctic lakes. **Antarctic Science**, 19: 157-164.
- Gil-Delgado, J.A., E. Marco, M. Paredes & C. Vives-Ferrandiz (2005) Seasonal clutch size variation of multi-brooded bird species: comparisons between breeding season and latitudes. **Ibis**, 147: 206-212.
- Gil-Delgado, J.A., J. González-Solís & A. Barbosa (2013) Populations of breeding birds in Byers Peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands. **Antarctic Science**, 25: 303-306.
- Golterman, H. L., R. S.Clymo & M. A. M. Ohnstad (1978) *Methods for Physical & Chemical Analysis of Fresh waters*. Blackwell Scientific Publications.
- Gorokhova, E., M. Lehtiniemi & N.H. Motwani (2013) Trade-offs between predation risk and growth benefits in the copepod *Eurytemora affinis* with contrasting pigmentation. **PLOS ONE**, 8: e71385.
- Graeve, M. (1993) Turnover and distribution of lipids in Arctic marine organisms with regard to lower trophic levels. **Reports on Polar Research**, 124: 1-141.
- Graeve, M., C. Albers & G. Kattner (2005) Assimilation and biosynthesis of lipids in Arctic Calanus species based on feeding experiments with a ¹³C labelled diatom. **Journal of Experimental Marine Ecology**, 317:109-125.

- Graeve, M., W. Hagen & G. Kattner (1994) Herbivorous or omnivorous? On the significance of lipid compositions as a trophic markers in Antarctic copepods. **Deep-Sea Research**, 41. 915-924.
- Guiry, M.D. (2013) Taxonomy and nomenclature of the Conjugatophyceae (=Zygnematophyceae). **Algae**, 28:1-29.
- Hagen, W. G. Kattner & M. Graeve (1995) On the lipid biochemistry of polar copepods: compositional differences in the antarctic copepods *Euchaeta antarctica* and *Euchirella rostromagna*. **Marine Biology**, 123: 451-457.
- Hammer, Ø., D.A.T. Harper & P.D. Ryan (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electrónica**, 4: 9pp.
- Hansson, L-A. & L.J. Tranvik (2003) Food webs in sub-Antarctic lakes: a stable isotope approach. **Polar Biology**, 26: 783–788.
- Hansson, L.-A., E. Becares, M. Fernández-Aláez, C. Fernández-Aláez, T. Kairesalo, M. R. Miracle, S. Romo, D. Stephen, K. Vakkilainen, W. Van de Bund, E. Van Donk, D. Balayla & B. Moss (2007) Relaxed circadian rhythm in zooplankton along a latitudinal gradient. **Oikos**, 116: 585-591.
- Hattori, H. & H. Saito (1997) Diel changes in vertical distribution and feeding activity of copepods in ice-covered Resolute Passage, Canadian Arctic, in spring 1992. **Journal of Marine Systems**, 11: 205-219.
- Hawes, T. C. (2008) Feeding behavior in the fairy shrimp, *Branchinecta gaini*. **Polar Biology**, 31: 1287-1289.
- Hawes, T.C. (2009) Origins and dispersal of the Antarctic fairy shrimp. **Antarctic Science**, 21: 477-482.
- Hawes, T. C., M.R. Worland & J.S. Bale (2008) Physiological constraints on the cycle and distribution of the Antarctic fairy shrimp *Branchinecta gaini*. **Polar Biology**, 31:1531-1538.

- Hays, G. (2003) A review of the adaptive significance and ecosystem consequences of zooplankton diel vertical migrations. **Hydrobiologia**, 503: 163:170.
- Helbling, E.W., F. Zaratti, L.O. Sala, E.R. Palenque, C.f. Menchi & V.E. Villafaña (2002) Mycosporine like amino acids protect the copepod *Boeckella titicacae* (Harding) against high levels of solar UVR. **Journal of Plankton Research**, 24:225-234.
- Hernández-Orts, J.S., G. Alama-Bermejo, E.A. Crespo, N.A. García, J.A. Raga & F. E. Montero (2012) *Breizacanthus aznari* sp. n. (Acanthocephala: Arhythmacanthidae) from the banded cusk-eel *Raneya brasiliensis* (Ophidiiformes: Ophidiidae) from the Patagonian coast in Argentina. **Folia Parasitologica**, 59: 264-271.
- Holdgate, M.W. (1977) Terrestrial ecosystems in Antarctica. **Philosophical Transactions of the Royal Society Series B**, 279: 5-25.
- Hontoria, F. & F. Amat (1992) Morphological characterization of adult *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda) from different geographical origins. Mediterranean populations. **Journal of Plankton Research**, 14: 949-959.
- Hudcovicova, M. & M. Vranovsky (2006) Vertical distribution of pelagial zooplankton in a middle-sized dimictic valley reservoir. **Biologia**, 61: 171-177.
- Humphries, N.E. & D.W. Sims (2014) Optimal foraging strategies: Lévy walks balance searching and patch exploitation under a very broad range of conditions. **Journal of Theoretical Biology**, 358:179-193.
- Hylander, S. & L. Hansson (2013) Vertical distribution and pigmentation of Antarctic zooplankton determined by a blend of UV radiation, predation and food availability. **Aquatic Ecology**, 47: 467-480.

- Hylander, S., J.C. Grenvald & T. KiØrboe (2014) Fitness costs and benefits of ultraviolet radiation exposure in marine pelagic copepods. **Functional Ecology**, 28: 149-158.
- Jiang, X., S. Zhao, Z. Xu, G. Wang, J. He & M. Cai (2012) Abundance and age of viable resting eggs of the calanoid copepod *Boeckella poppei* Mrázek in sediments: evidence of egg banks in two Antarctic maritime lakes. **Polar Biology**, 35: 1525-1531.
- Jones, V.J., D.A. Hodgson & A. Chepstow-Lusty (2000) Palaeolimnological evidence for marked Holocene environmental changes on Signy Island, Antarctica. **The Holocene**, 10: 43-60.
- Ju, S.J. & H.R. Harvey (2004) Lipids as markers of nutritional condition and diet in the Antarctic krill *Euphausia superba* and *Euphausia crystallorophias* during austral Winter. **Deep-Sea Research Part II: Tropical Studies in Oceanography**, 51: 2199-2214.
- Jurasz, W., W. Kittel & P. Presler (1983) Life cycle of *Branchinecta gaini* Daday, 1910, (Branchiopoda, Anostraca) from King George Island, South Shetland Islands). **Polish Polar Research**, 4: 143-154.
- Kopalova, K. & B. Van de Vijver (2013) Structure and ecology of freshwater benthic diatom communities from Byers Peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands. **Antarctic Science**, 25:239-253.
- Koussoroplis, A., J. Nussbaumer, M. T. Arts, I. Guschina & M. Kainz (2014) Famine and feast in a common freshwater calanoid: Effects of diet and temperature on fatty acid dynamics of *Eudiaptomus gracilis*. **Limnology Oceanography**, 59(3):947-958.
- Kremer, P. & J.N. Kremer (1988) Energetic and behavioral implications of pulsed food availability for zooplankton. **Bulletin of Marine Science**, 43: 797-809.

- Kübar, K., H. Agasild, T. Virro & I. Ott (2005) Vertical distribution of zooplankton in a strongly stratified hypertrophic lake. **Hydrobiologia**, 547: 151-162.
- Lampert, W. (1993) Ultimate causes of diel vertical migration in zooplankton: new evidence for the predator-avoidance hypothesis. **Archiv für Hydrobiologie Beiheft/Ergebnisse der Limnologie**, 39: 79-88.
- Lampert, W. (2005) Vertical distribution of zooplankton: density dependence and evidence for an ideal free distribution with costs. **BMC Biology**, 3:10.
- Lampert, W., E. McCauley & B.F.J. Manly (2003) Trade-off in the vertical distribution of zooplankton: ideal free distribution with costs? **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, 270: 765-773.
- Lauridsen, T.L., J. Pedersen, E. Jeppesen & M. SØndergaard (1996) The importance of macrophyte bed size for cladoceran composition and horizontal migration in a shallow lake. **Journal of Plankton Research**, 18: 2283-2294.
- Lauridsen, T.L., E. Jeppesen, M. SØndergaard & D. Lodge (1998) Horizontal migration of zooplankton: predator mediated use of macrophyte habitat. In: E. Jeppesen, M. SØndergaard, M. SØndergaard & K. Christoffersen (Eds). *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes*. Ecological Studies. Springer Verlag. New York.
- Laybourn-Parry, J. (2002) Survival mechanisms in Antarctic lakes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B**, 357: 863-869.
- Leger, D.W. (1992) *Biological foundations of behavior: an integrative approach*. New York, Harper Collins. 473 pp.

- López-Martínez, J., E. Serrano & E. Martínez de Pisón (1996) Geomorphological features of the drainage system. In: López-Martínez J. Thomson MRA, Thomson JW (eds) *Geomorphological map of Byers Peninsula, Livingston Island*. BAS GEOMAP Series, Sheet 5-A. British Antarctic Survey, Cambridge.
- Mackereth, F., J. Heron, & J.F. Talling (1978) *Water Analysis: some revised methods for limnologists*. Freshwater Biological Association, Scientific Publications.
- Meredith, M.P., J.C. King (2005) Rapid climate change in the ocean west of the Antarctic Peninsula during the second half of the 20th century. **Geophysical Research Letters**, 32. LI9604.
- Mertens, J., N. Munuswamy, C. de Walsche & H. Dumont (1991) The filtration apparatus of Anostraca (Crustacea): species specific setulation in the genus *Streptocephalus*. **Hydrobiologia**, 212:187-193.
- Mura, G., F. Ferrara, M. Delise, F. Fabietti & A. Bocca (1997) Evaluation of the fatty acid profiles of two fairy shrimp species, *Branchipus pasai* Cottarelli, 1969 and *Chirocephalus kerkyrensis* Pesta, 1936 (Crustacea, Anostraca) fed different diets. **Hidrobiología**, 359: 229-235.
- Mura, G. P. Zarattini, M. Delise, F. Fabietti & A. Bocca (2000) Seasonal variation of the fatty acid profile in cysts and wild adults of the fairy shrimp *Chirocephalus kerkyrensis* Pesta, 1936 (Anostraca). **Crustaceana**, 73: 479-495
- Navarro, J.C.& F. Amat (1992) Effect of algal diets on the fatty acid composition of brine shrimp, *Artemia* sp. cysts. **Aquaculture**, 101: 223-227.
- Navas, A., J. Soto & J. López-Martínez (2005) Radionuclides in soils of Byers Peninsula, South Shetland Islands, Western Antarctica. **Applied Radiation and Isotopes**, 62:809-816.

- Nedzarek, A. & A. Pocięcha (2010) Limnological characterization of freshwater systems of the Thomas Point Oasis (Admiralty Bay, King George Island, West Antarctica). **Polar Science**, 4: 457-467.
- Nydahl, F. (1978) On the peroxodisulfate oxidation of total nitrogen in water to nitrate. **Water Research**, 12:1123-1130.
- O'Sullivan, P. & C.S. Reynolds (2003) *The Lakes Handbook: Limnology and Limnetic Ecology*. Blackwell Science. 708 pp.
- Paggi, J.C. (1987) Limnological studies in the Potter Peninsula, 25 de Mayo Island, South Shetland Islands: biomass and Spatial distribution of zooplankton. **BIOMASS Sci Ser**, 7: 175-191.
- Paggi, J.C. (1996) Feeding ecology of *Branchinecta gaini* (Crustacea: Anostraca) in ponds of South Shetland Islands, Antarctica. **Polar Biology**, 16: 13-18.
- Pasternak, A.F. & E.G. Arashkevich (1999) Resting stages in the life cycle of *Eudiaptomus graciloides* (Lill) (Copepoda: Calanoida) in lake Glubokoe. **Journal of Plankton Research**, 21: 309-325.
- Pearce, D.A. & Laybourn-Parry J. (2012) Antarctic Lakes as Models for the Study of Microbial Biodiversity, Biogeography and Evolution. In: Rogers A.D., M Nadine, E.J. Murphy, A. Clarke. *Antarctic Ecosystems: An extreme environment in a changing world*. Blackwell Publishing.
- Peck, L (2004) Physiological flexibility: the key to success and survival for Antarctic fairy shrimps in highly fluctuating extreme environments. **Freshwater Biology**, 49:1195-1205.
- Peck, L. (2005) Prospects for surviving climate change in Antarctic aquatic species. **Frontiers in Zoology**, 2: 1-8.

- Peck, L., H.O. Pörtner & I. Hardewig (2002) Metabolic demand, oxygen supply, and critical temperatures in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. **Physiological and Biochemical Zoology**, 75: 123-133.
- Peck, L., S.A. Morley & M.S. Clark (2010) Poor acclimation capacities in Antarctic marine ectotherms. **Marine Biology**, 157: 2051-2059.
- Peters, J., Tuschling & A. Brandt (2004) Zooplankton in the arctic Laptev Sea. Feeding ecology as indicated by fatty acid composition. **Journal of Plankton Research**, 26: 227-234.
- PhysiologyWeb. Copyright 2000-2015. Calculadora para calcular el coeficiente de temperatura (Q₁₀). Última actualización: 31-12-13.
http://www.physiologyweb.com/calculators/q10_calculator.html
- Plodsomboon, S., A.M. Maeda-Martínez, H. Obregón-Barboza & L. Sanoamuang (2012) Reproductive cycle and genitalia of the fairy shrimp *Branchinella thailandesis* (Branchiopoda: Anostraca). **Journal of Crustacean Biology**, 32: 711-726.
- Pociecha, A. (2007) Effect of temperature on the respiration of an Antarctic freshwater anostracan. *Branchinecta gaini* Daday 1919, in field experiments. **Polar Biology**, 30: 731-734.
- Pociecha, A. & H.J. Dumont (2008) Life cycle of *Boeckella poppei* Mrazek and *Branchinecta gaini* Daday (King George Island, South Shetlands). **Polar Biology**, 31: 245-248.
- Quesada, A., A. Camacho, C. Rochera & D. Velázquez (2009) Byers Peninsula: A reference site for coastal, terrestrial and limnetic ecosystem studies in maritime Antarctica. **Polar Science**, 3: 181-187.
- Rautio, M., & B. Tartarotti (2010) UV radiation and freshwater zooplankton: damage, protection and recovery. **Freshwater Reviews**, 3: 105-131.

- Rautio, M., S. Bonilla & W.F. Vincent (2009) UV photoprotectants in arctic zooplankton. **Aquatic Biology**, 7:93-105.
- Ringelberg, J. (2010) *Diel vertical migration of zooplankton in lakes and oceans: causal explanations and adaptive significances*. Springer. New York. 356 pp.
- Roberts, E.C., J.C. Priscu & J. Laybourn-Parry (2004) Microplankton dynamics in a perennially ice-covered Antarctic lake – Lake Hoare. **Freshwater Biology**, 49: 853-869.
- Rocco, V.E., O. Oppezzo, R. Pizarro, R. Sommaruga, M. Ferraro & H.E. Zagarese (2002) Ultraviolet damage and counteracting mechanisms in the freshwater copepod *Boeckella poppei* from the Antarctic Peninsula. **Limnology and Oceanography**, 47: 829-836.
- Rochera, C. A. Justel, E. Fernández-Valiente, M. Bañón, E. Rico, M. Toro, A. Camacho & A. Quesada (2010) Interannual meteorological variability and its effects on a lake from maritime Antarctica. **Polar Biology**, 33: 1615-1628.
- Rochera, C., J.A. Villaescusa, M.E. Diazmacip, J.A. Gil-Delgado, M. Toro, E. Rico, D. Velázquez, A. Quesada & A. Camacho (2011) Interacciones bióticas en lagos Antárticos. Investigaciones derivadas del proyecto LIMNOPOLAR en la península Byers (Antártida marítima). **Ecosistemas**, 20: 23-32.
- Rochera, C., M. Toro, E. Rico, E. Fernández-Valiente, J.A. Villaescusa, J.A. Picazo, A. Quesada & A. Camacho (2013a) Structure of planktonic microbial communities along a trophic gradient in lakes of Byers Peninsula, South Shetland Islands. **Antarctic Science**, 25:277-287.

- Rochera, C., J.A. Villaescusa, D. Velázquez, E. Fernández-Valiente, A. Quesada & A. Camacho (2013b) Vertical structure of bi-layered microbial mats from Byers Peninsula, Maritime Antarctica. **Antarctic Science**, 25: 270-276.
- Rodríguez, P. & E. Rico (2008) A new freshwater oligochaete species (Clitellata: Enchytraeidae) from Livingston Island (Antarctica). **Polar Biology**, 31, 1267-1279.
- Rogers, C. D. & M. Fugate (2001) *Branchinecta hiberna*, a new species of fairy shrimp (Crustacea: Anostraca) from western North America. **Western North American Naturalist**, 61: 11-18.
- Rogers, A.D., M. Nadine, E.J. Murphy & A. Clarke (2012) *Antarctic Ecosystems: An Extreme Environment in a Changing world*. Blackwell Publishing Ltd. 586 pp.
- Ruiz, O., G. R. Medina, R. G. Cohen, F. Amat & J. C. Navarro (2007) Diversity of the fatty acid composition of *Artemia* spp. Cysts from Argentinean populations. **Marine Ecology Progress Series**, 335: 155-165.
- Saad, J.F., M.R. Schiaffino, A. Vinocur, I. O'Farrel, G. Tell & I. Izaguirre (2013) Microbial planktonic communities of freshwater environments from Tierra del Fuego: dominant trophic strategies in lakes with contrasting features. **Journal of Plankton Research**, 35: 1220-1233.
- Saba, G.K., D.K. Steinberg & D.A. Bronk (2009) Effects of diet on release of dissolved organic and inorganic nutrients by the copepod *Acartia tonsa*. **Marine Ecology Progress Series**, 386: 147-161.
- Sanz-Brau, A., J.A. Gil-Delgado & F. Mesquita-Joanes. (2010) Seasonal variation of clutch size in the cangronid shrimp *Philocheras trispinus* (Crustacea: Decapoda) in the western mediterranean (Spain). **Vie et milieu**, 60: 283-289.

- Savage, A., & B. Knott (1998) *Artemia parthenogenetica* in Lake Hayward, Western Australia. I. Interrupted recruitment into adult stages in response to seasonal limnology. **International Journal of Salt Lake Research**, 7: 1-12.
- SCAR Bulletin 150. (2003) Management Plan for Antarctic Specially Protected Area No. 126 Byers Peninsula, Livingston Island, South Shetland Islands. <http://www.scar.org/publications/bulletins/150/aspa126/>
- Schluter, D. & R.E. Ricklefs (1993) Species diversity: an introduction to the problem: In: Ricklefs R.E. & D. Schluter. *Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives*. University of Chicago Press. Chicago.
- Schnack-Schiel, S.B. (2001) Aspects of the study of the life cycles of Antarctic copepods. **Hydrobiologia**, 453: 9-24.
- Scott, C. L., S. Falk-Petersen, J. R. Sargent, H. Hop, O. J. Lonne & M. Poltermann (1999) Lipids and trophic interactions of ice fauna and pelagic zooplankton in the marginal ice zone of the Barents Sea. **Polar Biology**, 21: 65-70.
- Simovich, M.A. & S.A. Hathaway (1997) Diversified bet-hedging as a reproductive strategy of some ephemeral pool anostracans (Branchiopoda). **Journal of Crustacean Biology**, 17: 38-44.
- Somero, G.N. (2010) The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine ‘winners’ and ‘losers’. **The Journal of experimental biology**, 213:912–9220.
- Spaulding, S., R. Esposito, D. Lubinski, S. Horn, M. Cox, D. McKnight, A. Alger, B. Hall, M. Mayernick, T. Whittaker & C. Yang. Antarctic freshwater diatoms web site. McMurdo Dry Valleys LTER. Visited 22 Oct 2015 at <http://huey.colorado.edu/diatoms>.

- Stella, E. (1984) *Crustacea Copepoda, Calanoida (d'acqua dolce)*. Fauna D'Italia. Calderini, Bologna. Vol. 21.
- Tavernier, E., P. Mayzaud, M. Boutoute, C. Vallet & P. Koubbi (2012) Lipid Characterization of *Pleuragramma antarcticum* (Nothoteniidae) larvae off East Antarctica (139°E-145.101E) during summer. **Polar Biology**, 35: 829-840.
- Toro, M., A. Camacho, C. Rochera, E. Rico, M. Bañón, E. Fernández-Valiente, E. Marco, A. Justel, M. Avendaño, Y. Ariosa, W. Vincent & A. Quesada (2007) Limnological characteristics of the freshwater ecosystems of Byers Peninsula, Livingston Island, in Maritime Antarctica. **Polar Biology**, 30:635-649.
- Trathan, P.N., J. Forcada & E.J. Murphy (2007) Environmental forcing and Southern Ocean marine predator populations: effects of climate change and variability. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, 362:2351-2365.
- Turner, J., N. E. Barrand, T.J. Bracegirdle, P. Convey, D.A. Hodgson, M. Jarvis, A. Jenkins, G. Marshall, M.P. Meredith, H. Roscoe & J. Shanklin (2013) Antarctic climate change and the environment: an update. **Polar Record**, 50: 1-23.
- Utermöhl, H. (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitt. Int. **Vereinigung für theoretische und Angewandte Limnologie**, 9: 1-38.
- Vaquer-Sunyer, R., C.M. Duarte, R. Santiago, P. Wassmann & M. Reigstad (2010) Experimental evaluation of planktonic respiration response to warming in the European Arctic Sector. **Polar Biology**, 33:1661–1671.
- Villaescusa, J.A. (2015) *Functional and taxonomic diversity in maritime Antarctic lakes*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia.

- Villaescusa, J.A., E.O. Casamayor, C. Rochera, A. Quesada, L. Michaud & A. Camacho (2013) Heterogeneous vertical structure of the bacterioplankton community in a non-stratified Antarctic lake. **Antarctic Science**, 25: 229-238.
- Viswanathan, G.M., S.V. Buldyrev, S. Havlin, M.G.E. Da luz, E.P. Raposo & H.E. Stanley (1999) Optimizing the success of random searches. **Nature**, 401: 911-914.
- Watanabe, T., F. Oowa, C. Kitajima & S. Fujita (1978) Nutritional quality of Brine shrimp, *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, 44: 1115-1121.
- Watling, L. & M. Thiel (2013) *The Natural History of the Crustacea. Functional morphology and diversity*. Oxford University Press.
- Weigand, P.V. & A.H. Escalante (2008) Diel vertical distribution of freshwater calanoid copepods in a shallow lake: its variability in males with and without an oil sac. **Marine and Freshwater Behavior and Physiology**, 41: 257-266.
- Weller, D.L. (1977) Observations on the diet and development of *Pseudoboeckella poppei* (Calanoida, Centropagidae) from an Antarctic lake. **British Antarctic Survey Bulletin**, 45: 77-92.
- Wetzel, R.G. (2001) *Limnology: lake and River Ecosystems*. 3rd Ed. Academic Press. 1006 pp.
- Zadereev, Y.S. & A. P. Tolomeyev (2007) The vertical distribution of zooplankton in brackish meromictic lake with Deep-water chlorophyll maximum. **Hydrobiologia**, 576: 69-82.

Zagarese, H.E., M. Feldman & C.E. Williamson (1997) UV-B induced damage and photoreactivation in three species of Boeckella (Copepoda, Calanoida).

Journal of Plankton Research, 19: 357-367.

Zanden, M. & J. B. Rasmussen (2001) Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: implications for aquatic food webs studies. **Limnology and**

oceanography, 46: 2061–2066.