



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**DETERMINACIÓN DEL NUTRIENTE LIMITANTE DE LA
COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA DEL LAGO ALCHICHICA,
PUEBLA, EVALUADO COMO POTENCIAL DEL CRECIMIENTO
ALGAL, BAJO CONDICIONES EXPERIMENTALES EN
MICROCOSMOS Y MESOCOSMOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

(LIMNOLOGÍA)

PRESENTA

BIOL. ERIK RAMOS HIGUERA

DIRECTOR DE TESIS: DR. JAVIER ALCO CER DURAND

COMITÉ TUTORAL: DRA. NANDINI SARMA
DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO

TUTOR EXTERNO: DR. ANTONIO CAMACHO GONZÁLEZ

MÉXICO D. F., MAYO 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo financiero otorgado a través de la beca para la realización de mis estudios de posgrado en Ciencias del Mar y Limnología.

Al proyecto CONACYT-41667 “Limnoecología tropical: Interacciones cuenca de drenaje-lago” por el apoyo financiero para realizar la presente investigación y a través de una beca de proyecto para concluir mis estudios de posgrado.

Al Dr. Javier Alcocer, por su acertada dirección durante estos años, por su gran disposición y todo su apoyo en el desarrollo de este trabajo, especialmente por su confianza y paciencia, pero sobretodo por su amistad.

A los miembros del comité tutorial y jurado, Dra. Nandini Sarma, Dr. Roberto Iglesias Prieto, Dra. Laura Dávalos-Lind y Dr. Fernando W. Bernal-Brooks por sus atinados comentarios y sugerencias que contribuyeron a enriquecer este trabajo de tesis.

Al Dr. Antonio Camacho por su asesoría en el procesamiento, interpretación y discusión de los resultados así como por su revisión exhaustiva del documento de tesis y por darme la oportunidad de realizar una enriquecedora estancia de investigación en su laboratorio en la Universidad de Valencia.

A la Dra. Elizabeth Ortega Mayagoitia por su asesoría en la identificación y conteo del fitoplancton así como por sus aportaciones a este trabajo.

A los candidatos a Dr. Antonio Picazo y Carlos Rochera por su invaluable apoyo durante mi estancia en la Universidad de Valencia, especialmente por compartir su tiempo y experiencia limnológica en el análisis de resultados.

A los M. en C. Laura Peralta (FES Iztacala, UNAM), Luis A. Oseguera (FES Iztacala, UNAM) y Marco A. Ramírez por el apoyo logístico en campo y laboratorio.

Al Hidrobiólogo Sergio Castillo (ICM y L, UNAM) por el análisis de nutrientes.

Al personal del Posgrado en CM y L por todo el apoyo que me brindaron durante estos años: Diana, Gaby, Lupita y Chantal.

Al programa de Posgrado en CMyL por el apoyo administrativo y financiero para la impresión de este trabajo de tesis.

DEDICATORIA

A mis queridos padres Cristina Higuera García y José Ramos Baltazar por todo su amor y apoyo incondicional.

A Tere, Nubia y Gizel por su comprensión y paciencia.

A Alejandro y Carlos por su solidaridad.

A Mayte por los innumerables momentos de felicidad y por los que nos faltan, junto al nuevo integrante de la familia.

A mis entrañables amigos que de alguna manera han contribuido a que mis sueños se hagan realidad: Toni, Antonio, Carlos, Jesús, Maru, Salvador, Efraín, Oswald, Horacio, Berenice, Jazmín, Gerardo, Mario, Alberto, Sergio, Isaías, José Luís, Elías, Jesús, Gabriela, Raymundo.

A Kimbo por su fiel compañía. †

ÍNDICE

1	RESUMEN Y ABSTRACT	1
2	INTRODUCCIÓN	2
3	HIPÓTESIS	6
4	OBJETIVO GENERAL	6
5	OBJETIVOS PARTICULARES	6
6	ÁREA DE ESTUDIO	7
7	MÉTODO EXPERIMENTAL	8
	7.1. Parámetros limnológicos	8
	7.2. Bioensayo	9
	7.3. Microcosmos	9
	7.3.1. Toma de muestra	9
	7.3.2. Preparación de material	9
	7.3.3. Medios para el enriquecimiento	10
	7.3.4. Bioensayo	10
	7.4. Mesocosmos	10
	7.4.1. Bioensayo	11
	7.5. Mediciones de clorofila <i>a in vivo</i>	11
	7.6. Identificación y conteo del fitoplancton	12
	7.7. Análisis estadístico	12
8	RESULTADOS	13
9	DISCUSIÓN	38
	9.1. Parámetros limnológicos	38
	9.2. Bioensayos	47
	9.3. Fitoplancton	49
	9.4. Mesocosmos vs. Microcosmos	51
10	CONCLUSIONES	54
11	REFERENCIAS	55
12	ANEXOS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		PP
1	Ubicación del Lago Alchichica, Puebla, México	7
2	Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en julio de 2004	14
3	Perfiles verticales de clorofila <i>a</i> y luz subacuática en el Lago Alchichica en julio de 2004	15
4	Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en julio de 2004	15
5	Variación de la concentración de clorofila <i>a</i> en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en julio de 2004	17
6	Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en julio de 2004	19
7	Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en noviembre de 2004	20
8	Perfiles verticales de clorofila <i>a</i> y luz subacuática en el Lago Alchichica en noviembre de 2004	21
9	Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en noviembre de 2004	21
10	Variación de la concentración de clorofila <i>a</i> en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en noviembre de 2004	23
11	Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en noviembre de 2004	25
12	Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en febrero de 2005	26
13	Perfiles verticales de clorofila <i>a</i> y luz subacuática en el Lago Alchichica en febrero de 2005	27
14	Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en febrero de 2005	27
15	Variación de la concentración de clorofila <i>a</i> en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en febrero de 2005	29
16	Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en febrero de 2005	31
17	Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en mayo de 2005	32
18	Perfiles verticales de clorofila <i>a</i> y luz subacuática en el Lago Alchichica en mayo de 2005	33
19	Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en mayo de 2005	33
20	Variación de la concentración de clorofila <i>a</i> en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en mayo de 2005	35
21	Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes en condiciones experimentales de mesocosmos y microcosmos en mayo de 2005	35

1. RESUMEN y ABSTRACT

El presente estudio tuvo como propósito evaluar si las concentraciones naturales de fósforo y nitrógeno limitaban la biomasa fitoplanctónica en el Lago Alchichica lo cual proporcionaría evidencia para dilucidar el papel que juega la limitación del nitrógeno sobre el crecimiento fitoplanctónico de los lagos tropicales. Se aplicaron tratamientos de enriquecimiento con nitrógeno, fósforo y nitrógeno + fósforo durante los cuatro estadios característicos de la hidrodinámica del lago a dos diferentes escalas mesocosmos *in situ* y microcosmos en condiciones de laboratorio. Se dio seguimiento al potencial de crecimiento algal mediante la evaluación fluorométrica de los cambios diarios de la concentración de clorofila *a in vivo*, expresado como porcentaje de cambio relativo con respecto al control. Durante la época de mezcla los nutrientes no limitaron el desarrollo del fitoplancton ya que la respuesta de crecimiento al enriquecimiento fue limitado y las especies que estuvieron presentes (e.g., *Cyclotella alchichicana*, *Monoraphidium minutum*) no se modificaron. Durante la época de estratificación la adición de nutrientes promovió significativamente el crecimiento del fitoplancton y favorecieron a *M. minutum* sobre *Oocystis* spp. Los resultados muestran que el nitrógeno es individualmente el nutriente que está limitando la producción primaria en el Lago Alchichica como ha sido encontrado en otros lagos tropicales; contrariamente en los templados el fósforo es el elemento que más frecuentemente es limitante. El enriquecimiento de un solo nutriente sin el otro produce un crecimiento breve hasta que el otro nutriente se agota. Sin embargo, cuando ambos nutrientes, nitrógeno y fósforo, son adicionados, el crecimiento algal es sostenido y la respuesta es detectable.

The purpose of the present study was to evaluate if the available nutrient concentrations are limiting the phytoplankton biomass in Lake Alchichica to provide further evidence to elucidate the role of nitrogen limitation on the phytoplankton growth in tropical lakes. Here we present a series of nutrient enrichment experiments (nitrogen, phosphorus, nitrogen + phosphorus) conducted at two different scales (*in situ* mesocosms and laboratory microcosms) in the four characteristic periods of the lake's hydrodynamics. We followed up the algal growth potential through *in vivo* fluorometric analysis of chlorophyll *a* expressed as relative change percentage regarding the control. The nutrient enrichment experiment during the circulation period did not modify significantly the phytoplankton growth or the species composition (e.g., *Cyclotella alchichicana*, *Monoraphidium minutum*). Opposite, during the stratification periods, the nutrient addition promoted the phytoplankton growth significantly and favored *M. minutum* over *Oocystis* spp. Our results showed nitrogen is the phytoplankton growth limiting nutrient in Lake Alchichica as has been found in other tropical lakes, opposite to temperate lakes where phosphorus has been found to be the limiting nutrient. The enrichment of one nutrient without the other produces only a brief growth enhancement until depletion of the other nutrient occurs. However, when both nitrogen and phosphorus are added, enhanced algal growth can be sustained and produce substantial and detectable responses.

2. INTRODUCCIÓN

El fitoplancton como productor primario juega un papel importante tanto en la circulación de materiales como en el flujo de energía de los ecosistemas acuáticos. Su presencia controla a menudo el crecimiento, capacidad reproductora y características de las poblaciones de otros organismos acuáticos (Kuang *et al.*, 2004).

La variación de la tasa de producción primaria del fitoplancton en los lagos templados está regulada por factores como la temperatura, la radiación solar disponible, la concentración de nutrientes, el consumo por parte de los herbívoros, el parasitismo y la competencia (Wetzel, 2001). En los lagos tropicales la temperatura, debido a su poca variación, no es demasiado importante, reconociéndose generalmente como factores principales la cantidad de radiación subacuática y la disponibilidad de nutrientes (Esteves, 1998).

La cantidad de luz disponible para el fitoplancton está influenciada, entre otros factores, por la frecuencia y profundidad de la mezcla vertical, que puede determinar el clima de luminosidad dentro del lago ya que influye sobre la disponibilidad de nutrientes y con ello sobre el crecimiento del fitoplancton, el cual a su vez absorbe la luz (Melack, 1996). Por otro lado, el fitoplancton de la mayoría de los lagos tropicales presenta variaciones estacionales pronunciadas que generalmente corresponden con variaciones en la precipitación, salida de agua o la mezcla vertical del lago; estas variables influyen de manera directa en la concentración de nutrientes (Esteves, 1998). El reciclamiento de nutrientes depende –en gran medida- de la mezcla (regeneración en la capa de mezcla, regeneración en los sedimentos en contacto con la capa de mezcla y transferencia de nutrientes a la capa de mezcla desde la columna de agua debajo de la capa de mezcla) la cual controla, para una carga de nutrientes y tiempo de residencia hidráulica dados, la disponibilidad de nutrientes (Lewis, 1996). Otras variables que también afectan son el viento y la turbulencia, que se reflejan en el patrón de circulación y estratificación de la columna de agua (Melack, 1996).

Nutrientes tales como el nitrógeno y el fósforo resultan de suma importancia para la producción primaria y su escasez limita la fotosíntesis del fitoplancton; esta limitación involucra una disminución de la concentración de nutrientes por debajo de los niveles que permiten al fitoplancton mantener un crecimiento poblacional continuo (Lampert y Sommer, 1997).

La inferencia de las relaciones ecológicas acuáticas determinadas por la disponibilidad de recursos se basa, para los productores primarios, en un punto de vista químico. En este caso, el papel de la limitación de los nutrientes está enfocado en las proporciones de nitrógeno y fósforo en el agua, sin embargo esto da valores estáticos que no reflejan los procesos del ecosistema (López y Dávalos-Lind, 1998).

La importancia de medir el potencial del crecimiento algal (AGP, por sus siglas en inglés) en el agua es que puede hacerse una diferenciación entre los nutrientes que están en la muestra (determinado por análisis químico) y cual de estos es capaz de propiciar el crecimiento algal. En este sentido la adición de un nutriente dado a una muestra puede indicar qué nutriente es limitante para el crecimiento de las algas (EPA, 1978) e incluso los grupos o especies algales que son favorecidos por cada uno de ellos.

Para evaluar el impacto causado por cambios en las concentraciones de nutrientes en la producción fitoplanctónica se han utilizado bioensayos con microalgas; la manipulación de la adición de nutrientes no sólo origina cambios en la biomasa algal, sino que también puede generar variaciones en las abundancias relativas de las especies dominantes (Bernal-Brooks *et al.*, 2003).

Bioensayos realizados en cuerpos acuáticos de latitudes templadas, principalmente en lagos del hemisferio norte (Camacho *et al.*, 2003), han identificado comúnmente al fósforo como el nutriente que a menudo está limitando el crecimiento algal (Golterman, 1983). En contraste, algunos estudios realizados en áreas tropicales muestran al nitrógeno como el nutriente limitante del crecimiento algal (Lewis, 2002), por ejemplo en el Lago Titicaca, Bolivia-Perú (Wurtsbaugh *et al.*, 1985).

Entre los trabajos en que se ha tratado de determinar el AGP reportados para cuerpos acuáticos mexicanos se encuentran el de Dávalos *et al.* (1989) para el Lago de Chapala, el de López y Dávalos-Lind (1998) para el Río Grande de Morelia y algunos embalses del mismo sistema, el de Hernández *et al.* (2001) para treinta lagos y presas de la Mesa Central de México y los de Bernal-Brooks y otros para los Lagos Zirahuén (2002) y Pátzcuaro (2003).

Todos los trabajos mencionados se han llevado a cabo siguiendo la metodología estándar de la EPA (1978) la cual indica utilizar como organismo de referencia el alga *Selenastrum capricornutum*. Lo anterior es respuesta a que según la EPA (1978), el uso de especies estándar y el crecimiento bajo condiciones ambientales específicas de cultivo en pruebas de laboratorio es esencial para entender la interacción compleja de nutrientes e inhibidores en la productividad acuática. Sin embargo, el uso de organismos nativos en los bioensayos es recomendable ya que da una respuesta más real del sistema que se está evaluando (Dávalos *et al.* 1989; López y Dávalos-Lind, 1998), lo cual es particularmente importante dadas las diferencias -radicales en algunos casos- entre los sistemas acuáticos templados -para los cuales se diseñó la técnica- y los tropicales (Lewis, 1996).

Es de importancia mencionar que los trabajos que determinaron el AGP en cuerpos acuáticos mexicanos, son producto de muestreos con una baja frecuencia temporal, en la mayoría de los casos uno o máximo dos muestreos al año, lo cual puede implicar una baja representatividad de la dinámica de los sistemas acuáticos ya que el nutriente limitante puede variar a lo largo del año. Finalmente, todos ellos fueron realizados en condiciones de laboratorio, lo que a pesar de suponer condiciones más controladas representa una variación con respecto a las condiciones naturales de factores tales como la iluminación y temperatura, y en volúmenes pequeños (microcosmos), por lo que la diferencia de escala se magnifica.

El presente estudio tiene como propósito evaluar la respuesta de la comunidad fitoplanctónica del Lago Alchichica con diferentes tratamientos de enriquecimiento de nutrientes (nitrógeno y fósforo), durante los cuatro estadios característicos de su

hidrodinámica (i.e., circulación, estratificación temprana, estratificación bien establecida y estratificación tardía, Alcocer *et al.*, 2000) tanto en condiciones experimentales de microcosmos bajo condiciones controladas de laboratorio, como en mesocosmos incubados *in situ*, que reducen las condicionantes derivadas de la escala y permiten la incubación en condiciones naturales de luz y temperatura.

3. HIPÓTESIS

1. Con base en la información existente para lagos tropicales, el nutriente que limitara el crecimiento del fitoplancton en el lago Alchichica será el nitrógeno.
2. El efecto de la adición del nutriente limitante tendrá como consecuencia el incremento en la biomasa fitoplanctónica y generará cambios en la dominancia de especies.
3. Los resultados obtenidos bajo condiciones experimentales de microcosmos tendrán una correspondencia directa con los resultados obtenidos bajo condiciones experimentales de mesocosmos.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la posible limitación del crecimiento fitoplanctónico por la disponibilidad de nutrientes en el Lago Alchichica, evaluado como potencial del crecimiento algal, bajo condiciones experimentales de enriquecimiento en microcosmos y mesocosmos.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar y cuantificar la respuesta de la biomasa fitoplanctónica (expresada como clorofila *a*) del Lago Alchichica bajo diferentes tratamientos de enriquecimiento con nutrientes (nitrógeno, fósforo y nitrógeno + fósforo) durante los cuatro estadios característicos de la hidrodinámica del lago.
- Determinar qué nutriente, nitrógeno ó fósforo, resultaría limitante del crecimiento algal en cada uno de los periodos estudiados.
- Cuantificar las principales especies fitoplanctónicas al inicio y final de cada bioensayo para evaluar la respuesta específica de dichas especies al enriquecimiento con nitrógeno y/o fósforo.
- Relacionar y analizar el grado de extrapolación de los resultados del AGP a dos diferentes escalas: microcosmos y mesocosmos.

6. ÁREA DE ESTUDIO

Alchichica es un lago-cráter ubicado en la región central de México ($19^{\circ} 24' N$, $97^{\circ} 24' W$) a una altitud de 2,300 m sobre el nivel del mar (Fig. 1). Tiene 62 m de profundidad máxima y 40.9 m de profundidad media, un área superficial de 2.3 km^2 , su longitud de línea de costa es 5.06 km y alberga un volumen $94,214,080 \text{ m}^3$ de agua salina ($8.5 \pm 0.2 \text{ g l}^{-1}$) y de pH básico (9 ± 0.1), en la que predominan los iones de sodio, magnesio, cloruro y bicarbonato (Filonov *et al.*, 2006; Vilaclara *et al.*, 1993).

La temperatura ambiental anual varía de -5.5°C a 30°C , con un valor medio de 14.4°C . El clima en el área es seco con una precipitación anual menor a 400 mm (García, 1988) y una tasa de evaporación anual de 1,690 mm (Adame *et al.*, 2007).

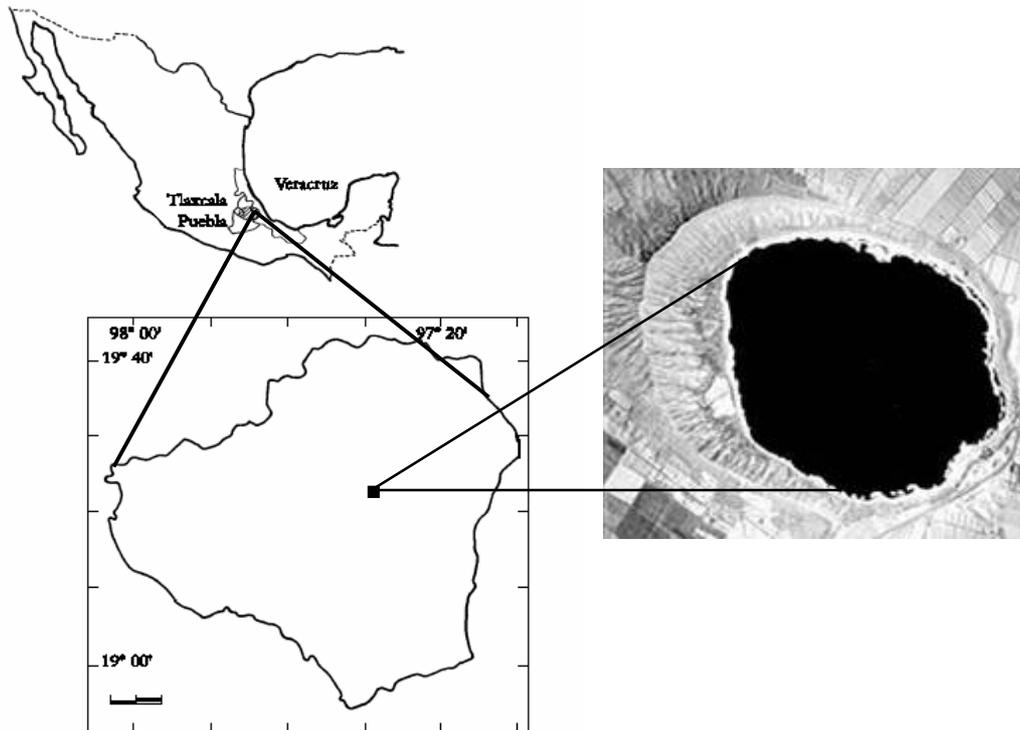


Figura 1. Ubicación del Lago Alchichica, Puebla, México.

7. MÉTODO EXPERIMENTAL

7.1. Parámetros limnológicos

En el lago Alchichica se realizaron simultáneamente a los bioensayos, mediciones de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica y pH a lo largo del perfil vertical en intervalos de un metro, empleando una sonda multiparamétrica Hydrolab modelo Datasonde 4 conectada a un analizador de datos Hydrolab modelo Surveyor 4. También se realizaron perfiles verticales de clorofila *a* medidos con un sensor de fluorescencia natural y perfiles de radiación fotosintéticamente activa (PAR 400-700 nm) medidos con un sensor de irradianza (4π), acoplados a una multisensor Biospherical modelo PFN-300.

Para la determinación de las concentraciones de P-PO₄ y N-NO₃ se tomaron muestras de la columna de agua en intervalos de cinco metros, las cuales fueron filtradas *in situ* a través de un filtro de 0.45 μ m y depositadas directamente en viales de plástico, almacenadas en condiciones de oscuridad y congelación hasta su análisis en el laboratorio. Para su análisis se siguieron métodos estándar (Strickland y Parsons, 1972) adaptados para su uso en un sistema autoanalizador de flujo segmentado (SFA) Skalar Sanplus (Kirkwood, 1994).

La estabilidad en la columna de agua se determinó mediante el cálculo de la frecuencia de Brunt-Väisälä (N^2), la cual describe la frecuencia a la que una parcela de un fluido oscila verticalmente para alcanzar su equilibrio. El cálculo se realizó empleando la constante de aceleración gravitacional (g) y la densidad (ρ) para cada metro de profundidad (Lerman *et al.*, 1995).

$$N^2 = \frac{-g \hat{c} \rho}{\rho \hat{c} z} \text{ (sec}^{-2}\text{)}$$

En donde la columna de agua es localmente estable si $N^2 > 0$

7.2. Bioensayos

Los experimentos en microcosmos se realizaron de manera simultánea a los mesocosmos en las cuatro épocas características de la hidrodinámica del lago. El diseño experimental incluyó la incubación de muestras con los siguientes cuatro tipos de tratamientos que se realizaron por cuadruplicado cada uno de ellos:

- Adición de nitrógeno
- Adición de fósforo
- Adición de nitrógeno y fósforo
- Testigo (sin adición de nutrientes)

7.3. Microcosmos

Estos experimentos se realizaron en el laboratorio con una muestra compuesta de agua procedente de la capa de mezcla con un volumen de 1 L y empleando una fracción de la comunidad fitoplanctónica nativa como recomiendan López y Dávalos-Lind (1998), debido a que los resultados son más representativos del sistema a evaluar.

7.3.1. Toma de muestra

La muestra se obtuvo empleando una bomba de diafragma marca Jabsco modelo 36680 (12V, 7-10A, 20.8LPM) para evitar daño mecánico a los organismos. La muestra se filtró a través de una malla de 63 μm para eliminar el zooplancton filtrador grande, el cual al alimentarse del fitoplancton puede interferir en el desarrollo del bioensayo. El agua a incubar se almacenó en condiciones de oscuridad y a baja temperatura hasta el momento de realizar el experimento en el laboratorio, el cual se llevo a cabo lo más pronto posible (i.e., de 3 a 4 horas después de la toma de muestra).

7.3.2. Preparación del material

Para los experimentos se utilizaron matraces de vidrio de un litro los cuales fueron lavados previamente con un detergente libre de fósforo y se enjuagaron con agua corriente.

Posteriormente, se lavaron con una solución de HCl al 10% mediante agitación y se neutralizaron lavando con una solución saturada de carbonato de sodio (APHA, 1989). Se enjuagaron tres veces con agua corriente y una más con agua destilada. Los matraces se secaron en un horno a una temperatura de 50°C y posteriormente se esterilizaron en un autoclave durante 20 minutos a 1.21 Kg cm² y a 121°C. Los matraces se dejaron enfriar y se almacenaron hasta su uso (EPA, 1978).

7.3.3. Medios para el enriquecimiento

Se determinó emplear las concentraciones mínimas a las cuales la comunidad fitoplanctónica creció diferencialmente en los distintos tratamientos, evitando así la saturación de muestras que ocasionarían un crecimiento prolongado y una respuesta menos clara en cuanto a la limitación de nutrientes debido a su recirculación. El enriquecimiento con fósforo fue de 0.3 μmol l⁻¹ mediante la adición de una solución de K₂HPO₄. El enriquecimiento con nitrógeno fue de 2.5 μmol l⁻¹ utilizando una solución de NaNO₃ y en el caso del tratamiento de adición nitrógeno y fósforo se agregaron ambas soluciones en las mismas concentraciones. En el testigo no se agregaron nutrientes.

7.3.4. Bioensayo

Los microcosmos se incubaron en posición vertical sobre un agitador orbital marca Bigger Bill (21" x 21") que proporcionó agitación constante a 50 rpm para evitar que el fitoplancton sedimente. Los microcosmos se mantuvieron iluminados con luz blanca fluorescente (120 μmol quanta m⁻² s⁻¹) valor medio de luz de saturación para la fotosíntesis (Lewis, 1987); el fotoperíodo fue similar al medido en el lago (12 horas luz: 12 horas oscuridad). La temperatura de los cultivos se mantuvo a 18 ± 1°C, la cual corresponde a la temperatura promedio anual registrada en la capa de mezcla del lago Alchichica.

7.4. Mesocosmos

Consistieron en muestras compuestas de 20 L de agua procedente de la capa de mezcla incluyendo su comunidad fitoplanctónica y excluido el zooplancton filtrador. Los

tratamientos y las réplicas fueron los mismos que para el microcosmos. La toma de muestra se llevo a cabo de la misma forma que para el microcosmos. En este caso la incubación durante el experimento se realizó *in situ*.

Para los experimentos se utilizaron envases de policarbonato (carboys marca Nalgene) de 20 L de capacidad, los cuales fueron previamente lavados con detergente libre de fósforo y se enjuagaron tres veces con agua corriente y una más con agua destilada (EPA, 1978).

7.4.1. Bioensayo

Los mesocosmos se incubaron a 1 m de profundidad sujetándolos a una estructura metálica implementada con flotadores que permitiera exponerlos a condiciones ambientales naturales del lago como sugieren Havens *et al.* (1996). El sitio seleccionado para colocar la estructura con los mesocosmos se encuentra a 30 m de la orilla del lago en donde existe una profundidad mínima de 10 m lo cual garantiza que el experimento esté sujeto a condiciones de agitación constante por las corrientes y el oleaje (está situado a sotavento de los vientos predominantes), de forma tal que se evite la sedimentación de las microalgas.

7.5. Mediciones de clorofila *a in vivo*

Desde el inicio de los experimentos se tomaron diariamente alícuotas de cada microcosmos y mesocosmos para evaluar el crecimiento algal mediante la lectura fluorométrica de los cambios diarios de la concentración de clorofila *a in vivo*, hasta el momento en el cual las lecturas comenzaron a declinar (EPA, 1978). Para ello se empleo un fluorómetro digital de campo marca Turner Designs modelo Aquafluor calibrado con un estándar primario Turner Designs liquid chlorophyll "a" standard in 90% Acetone (10-850)

Para determinar el AGP los resultados de las lecturas de clorofila *a* han sido expresados como porcentaje de cambio relativo con respecto a los controles (EPA, 1978; Bernal-Brooks *et al.*, 2003). Si el valor promedio de las lecturas de clorofila *a* de las réplicas del tratamiento testigo (sin adición de nutrientes) muestra una tasa o porcentaje de crecimiento significativamente (desde el punto de vista de pruebas estadísticas) más baja que el

promedio de las réplicas de los tratamientos con adición de un determinado nutriente, entonces ese nutriente es considerado como limitante (EPA, 1978).

7.6. Identificación y conteo de fitoplancton

Se tomaron muestras al inicio y final de cada bioensayo fijándolas con solución ácida de lugol (1% concentración final). Para la cuantificación se empleó el método de Utermöhl (1958), el cual consiste en colocar una alícuota de la muestra en cámaras de sedimentación de 10, 50, ó 100 ml dependiendo de la concentración de los organismos. El conteo de fitoplancton se realizó en un microscopio invertido (Leica) con una magnificación de 20x, 40x y 100x, registrando únicamente células con contenido celular, hasta llegar a 400 organismos de la especie más abundante. Con este criterio el intervalo de confianza para el valor medio es de $\pm 10\%$ (Wetzel y Likens, 1979). En los casos que no se contabilizaron 400 organismos se revisó toda la cámara.

Para la identificación de los organismos se emplearon claves especializadas (Simonsen, 1979; Vinyard, 1979; Comas, 1996) así como trabajos previos realizados en el Lago Alchichica (Oliva, 2001; Oliva *et al.*, 2006; Komárek y Komárková-Legnerová, 2002). La biomasa se determinó con el cálculo del biovolumen para cada una de las especies presentes, empleando formas geométricas similares a las células del fitoplancton (Hillebrand *et al.*, 1999; Sun y Liu, 2003).

7.7. Análisis estadístico

Los valores de concentración de clorofila *a*, abundancia y biomasa algal se analizaron estadísticamente con un ANOVA de una vía y post hoc de Tukey, para determinar diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, empleando un software estadístico (SPSS 13.0).

8. RESULTADOS

Debido a que las condiciones ambientales en el Lago Alchichica varían a lo largo de su ciclo anual, se describen al inicio de cada bioensayo los principales parámetros limnológicos (temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH, estabilidad, clorofila *a*, irradianza, P-PO₄ y N-NO₃) a lo largo de la columna de agua, con el fin de establecer un panorama más amplio del estadio en que se encuentra el lago y poder relacionar los resultados obtenidos en los microcosmos y mesocosmos.

En el primer bioensayo realizado en el mes de julio de 2004 el lago se encontró estratificado térmicamente (Fig. 2), el epilimnion (análogo a la capa de mezcla) se extendió hasta los 18 m y el metalimnion se localizó entre 18 y 28 m. La variación de la temperatura entre la superficie y fondo fue de 18.7°C a 14.3°C, con una variación de 3°C en la termoclina (gradiente = 0.3°C/m). La concentración de oxígeno disuelto en el epilimnion varió de 7.7 a 6.6 mg l⁻¹ disminuyendo en el metalimnion hasta llegar a concentraciones < 1 mg l⁻¹ a los 27 m y a partir de los 28 m el hipolimnion del lago permaneció anóxico. El valor promedio de pH en la columna fue de 8.7 y la conductividad fue de 11.6 mS cm⁻¹, ambos parámetros con reducida variación (Anexo 1).

Mediante el cálculo de la frecuencia de Brunt-Väisälä (N²), se identificaron dos valores máximos el primero de 0.00108 seg⁻² en la parte superficial del lago a 0.1 m de profundidad y el segundo de 0.00115 seg⁻² a 22 m de profundidad. Estos valores indican máximos gradientes de densidad, los cuales generan que la columna de agua sea localmente estable en estas zonas.

La distribución vertical de la clorofila *a* (Fig. 3), presentó concentraciones de 0.3 a 0.45 µg l⁻¹ en el epilimnion, con un máximo de clorofila de 0.64 µg l⁻¹ a 23 m de profundidad localizado en el metalimnion, la concentración de clorofila disminuyó gradualmente hacia el hipolimnion hasta llegar a concentraciones <0.3 µg l⁻¹ a partir de los 36 m de profundidad. La cantidad de luz subacuática (PAR = 400-700 nm) varió de 718 µmol quanta m⁻² s⁻¹ en la superficie (0.1 m), hasta valores <1 µmol quanta m⁻² s⁻¹ a partir de los

36 m de profundidad. La zona eufótica ($\geq 1\%$ PAR superficial) comprende los primeros 24 m, profundidad en la que la cantidad de luz durante el día era de $7 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los mesocosmos se incubaron a 1m de profundidad en donde la cantidad de luz era un 30% menor que la superficial.

La concentración promedio de N-NO_3 y P-PO_4 disponible en la capa de mezcla fue de 0.21 y $0.24 \mu\text{mol l}^{-1}$ respectivamente (Fig. 4).

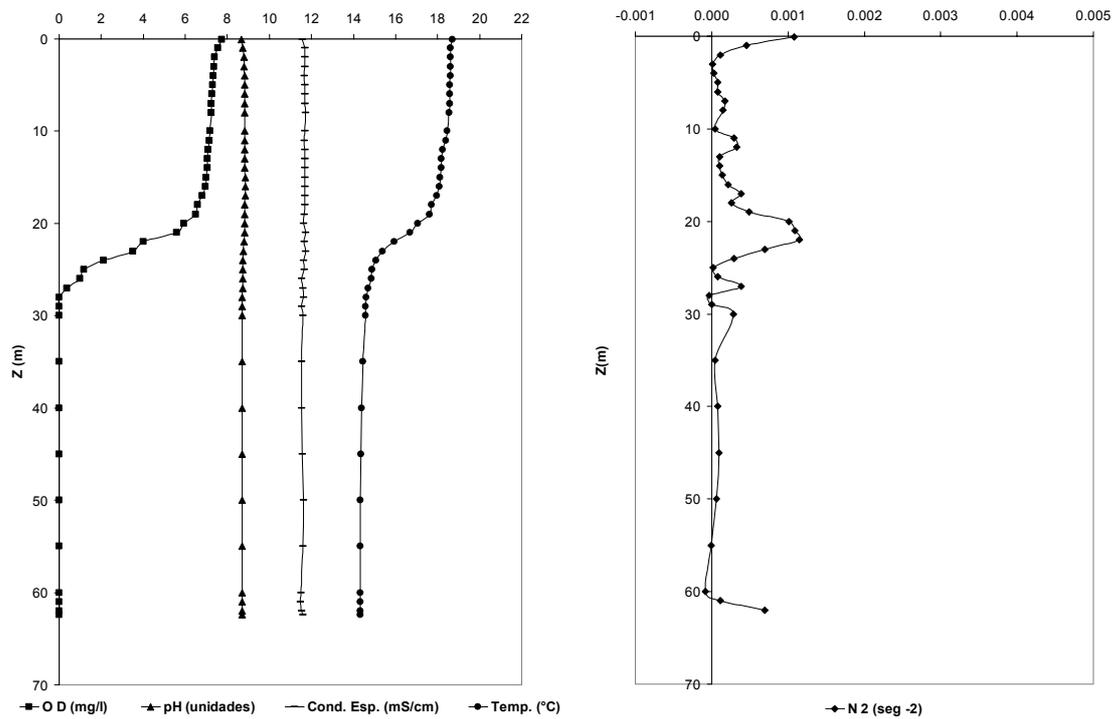


Figura 2. Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en el mes de julio de 2004.

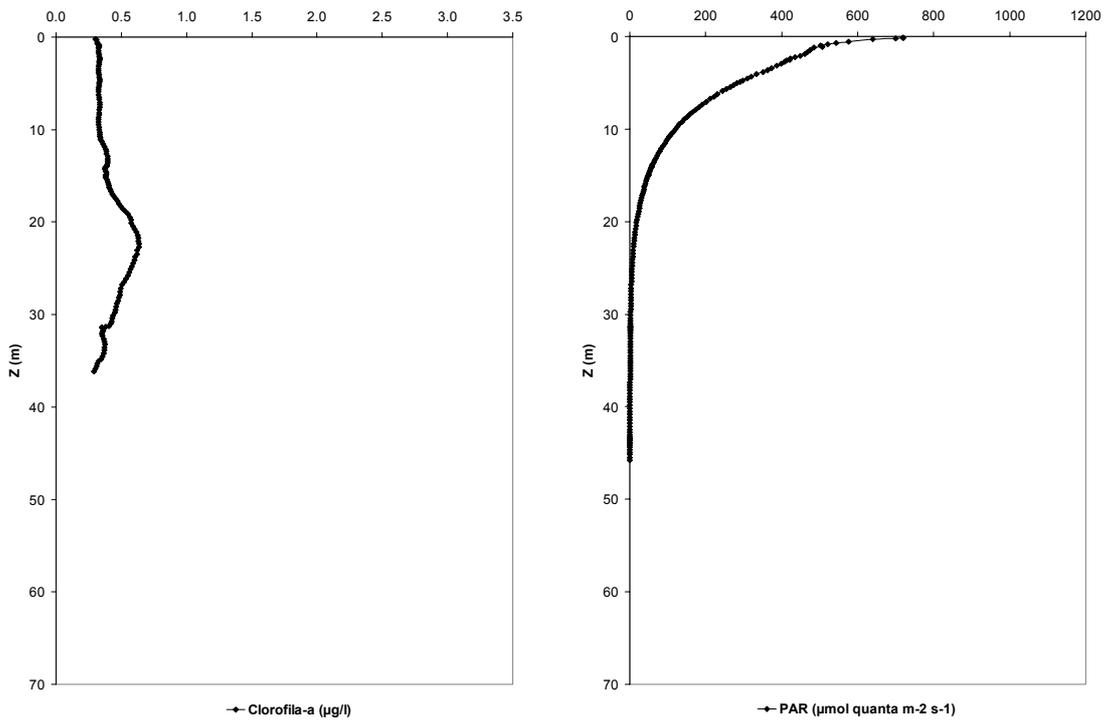


Figura 3. Perfiles verticales de clorofila *a* y luz subacuática en el Lago Alchichica en el mes de julio de 2004.

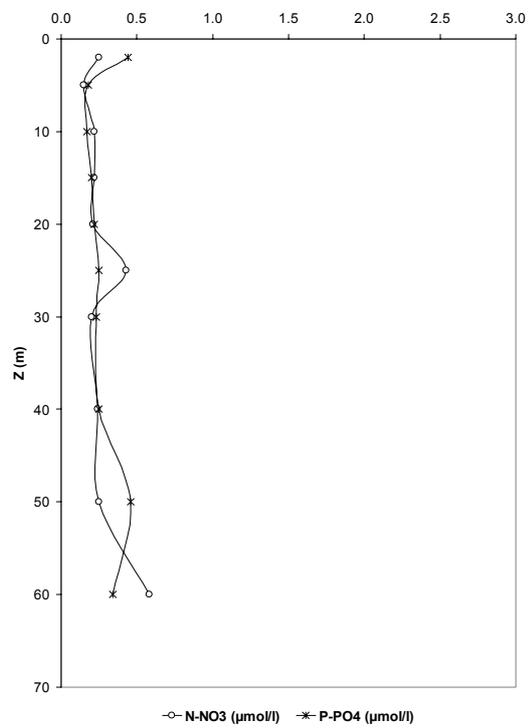


Figura 4. Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en el mes de julio de 2004.

En los mesocosmos realizados en el mes de julio (Fig. 5a) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 5 del bioensayo en los tratamientos T, P y NP, por lo cual el AGP se determinó el día 4, cuando se presentaron los valores máximos de clorofila *a*. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 116%, el cual fue significativamente mayor (Anexo 2; $F=399.89$, $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento con un AGP de 28%, presentó diferencias significativas con respecto a T y NP, pero no con respecto a P, que fue el tratamiento que generó una menor respuesta 24%, mostrando diferencias significativas sólo con respecto a T y NP.

En los microcosmos realizados en el mes de julio (Fig. 5b) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 7 del bioensayo en los tratamientos T, P y NP, por lo cual el AGP se determinó el día 6. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 75% el cual fue significativamente mayor (Anexo 3; $F=46.52$, $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento, con un AGP de 24%, presentó diferencias significativas con respecto a T y NP, pero no con respecto a P, que fue el tratamiento que generó la menor respuesta con un 17% mostrando diferencias significativas solo con respecto a T y NP.

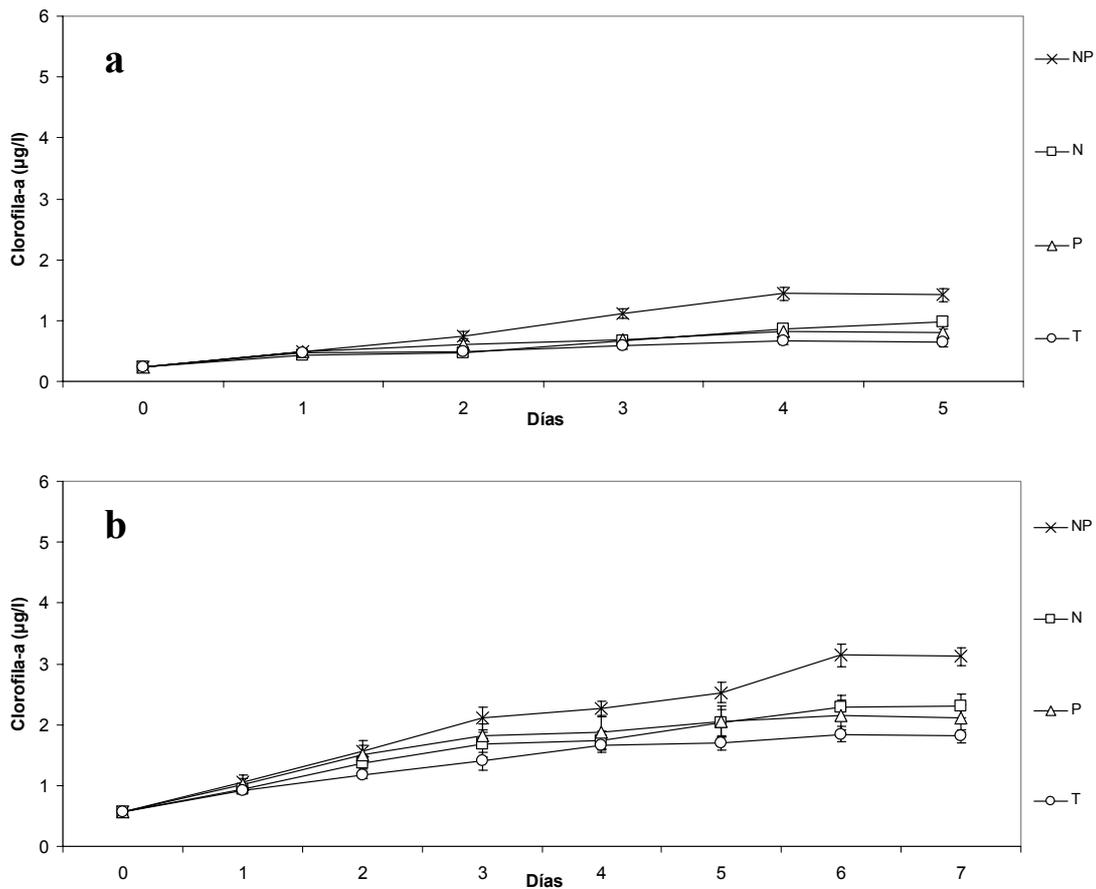


Fig. 5. Variación de la concentración de clorofila *a* en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de julio de 2004.

Las especies más representativas (expresadas como biovolumen) de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del mesocosmos realizado en el mes de julio (Fig. 6a) fueron las clorofilas *Oocystis parva* (54%), *Monoraphidium minutum* (32%), *Oocystis submarina* (4%), y la cianobacteria *Nodularia spumigena* (8%), el porcentaje restante correspondió a diatomeas como *Cymbella mexicana* y *Chaetoceros elmorei*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un aumento en la biomasa fitoplanctónica en todos los tratamientos así como cambios en las especies dominantes en los tratamientos N y NP, siendo *O. parva* la especie que presentó un mayor crecimiento en todos los tratamientos, incrementando su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T en el tratamiento P (58%) y disminuyendo en el tratamiento N (46%) así como en el tratamiento NP (47%). En el caso de *M. minutum* también presentó crecimiento en los

tres tratamientos de enriquecimiento; en el tratamiento P el crecimiento fue mínimo por lo cual su contribución relativa al total del fitoplancton disminuyó (29%), incrementándose sustancialmente en el tratamiento N (46%) y NP (45%) igualando a *O. parva*. en el aporte relativo al total de la biomasa fitoplanctónica. *N. spumigena* y *O. submarina* variaron poco en su crecimiento, por lo cual su contribución porcentual al total del fitoplancton fue menor.

Las especies más representativas en el tratamiento T del microcosmos realizado en el mes de julio (Fig. 6b) fueron *M. minutum* (49%), *O. parva* (33%), *O. submarina* (10%) y *N. spumigena* (6%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *Ch. elmorei* y *C. mexicana*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un aumento en la biomasa fitoplanctónica en todos los tratamientos, sin presentar cambios en la dominancia de las especies. *M. minutum* fue la especie que presentó un mayor crecimiento en todos los tratamientos, la cual incrementó su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T, para el caso del tratamiento P (58%), N (61%) y para NP (62%). Las especies restantes presentaron variaciones mínimas en su crecimiento en todos los tratamientos y debido al mayor crecimiento de *M. minutum* su aporte relativo al total del fitoplancton disminuyó en la mayoría de los casos (Anexo 4).

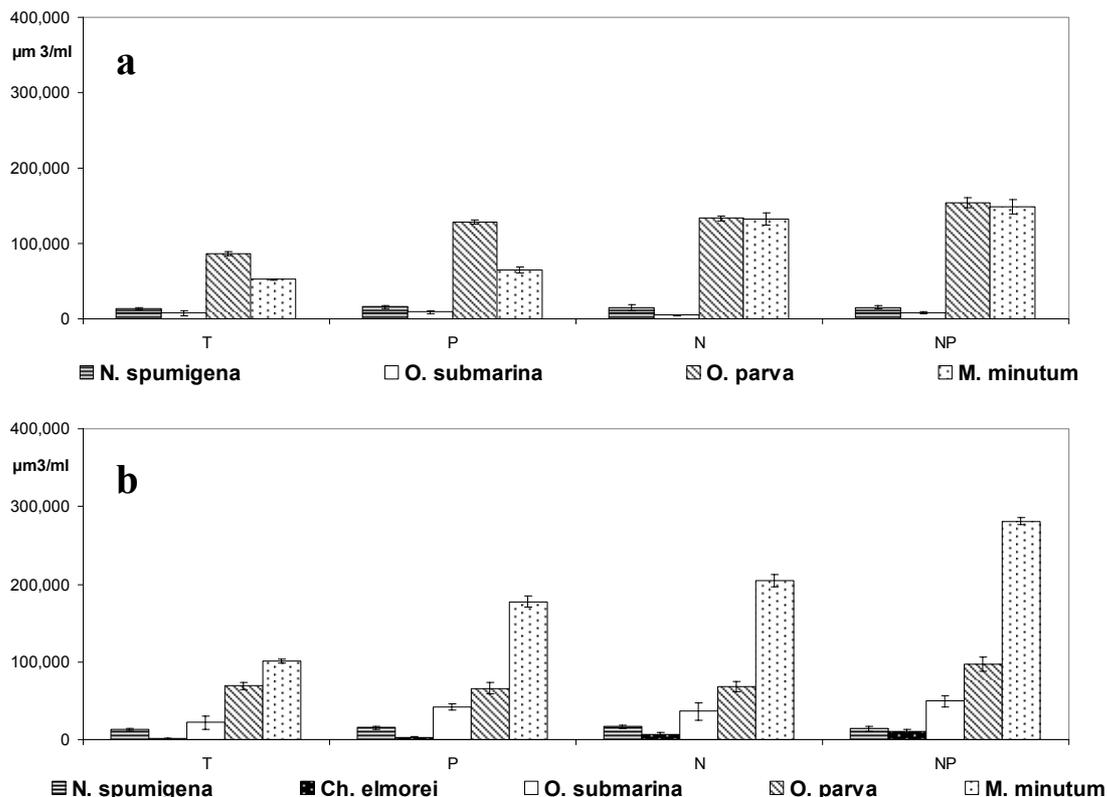


Figura 6. Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de julio de 2004.

En el segundo bioensayo realizado en el mes de noviembre de 2004 el lago se encontró en la etapa final de su estratificación térmica (Fig. 7), el epilimnion se profundizó hasta los 28 m y el metalimnion se localizó entre los 28 y 33 m. La variación de la temperatura entre la superficie y fondo fue de 17.8°C a 14.4°C, con una variación de 2.7°C en la termoclina (gradiente = 0.54°C/m). La concentración de oxígeno disuelto en el epilimnion varió de 7.2 a 6.4 mg l⁻¹ disminuyendo en el metalimnion hasta llegar a concentraciones < 1 mg l⁻¹ a los 33 m y a partir de los 35 m el hipolimnion del lago permaneció anóxico. El valor promedio de pH en la columna fue de 9 y la conductividad fue de 13.3 mS cm⁻¹, ambos parámetros con reducida variación (Anexo 1).

Mediante el cálculo de N² se identificaron dos valores máximos, el primero de 0.00222 seg⁻² a 0.1 m de profundidad y el segundo de 0.00220 seg⁻² a 30 m de profundidad, los cuales

indica máximos gradientes de densidad, que generan estabilidad en estas zonas de la columna de agua.

La distribución vertical de la clorofila *a* (Fig. 8), presentó concentraciones de 0.1 a 0.35 $\mu\text{g l}^{-1}$ en el epilimnion, con un máximo de clorofila de 2.61 $\mu\text{g l}^{-1}$ a 34 m de profundidad localizado en la transición entre el metalimnion y el hipolimnion, la concentración de clorofila disminuyó gradualmente hacia el fondo hasta llegar a concentraciones $<0.2 \mu\text{g l}^{-1}$ a partir de los 45 m de profundidad. La cantidad de luz subacuática varió de 1,022 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la superficie (0.1 m), hasta valores $<1 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a partir de los 45 m. La zona eufótica comprendió los primeros 34 m, profundidad en la que la cantidad de luz durante el día era de 10 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los mesocosmos se incubaron a 1m de profundidad en donde la cantidad de luz era un 4% menor que la superficial.

La concentración promedio de N-NO₃ y P-PO₄ disponible en la capa de mezcla fue de 0.37 y 0.25 $\mu\text{mol l}^{-1}$ respectivamente (Fig. 9).

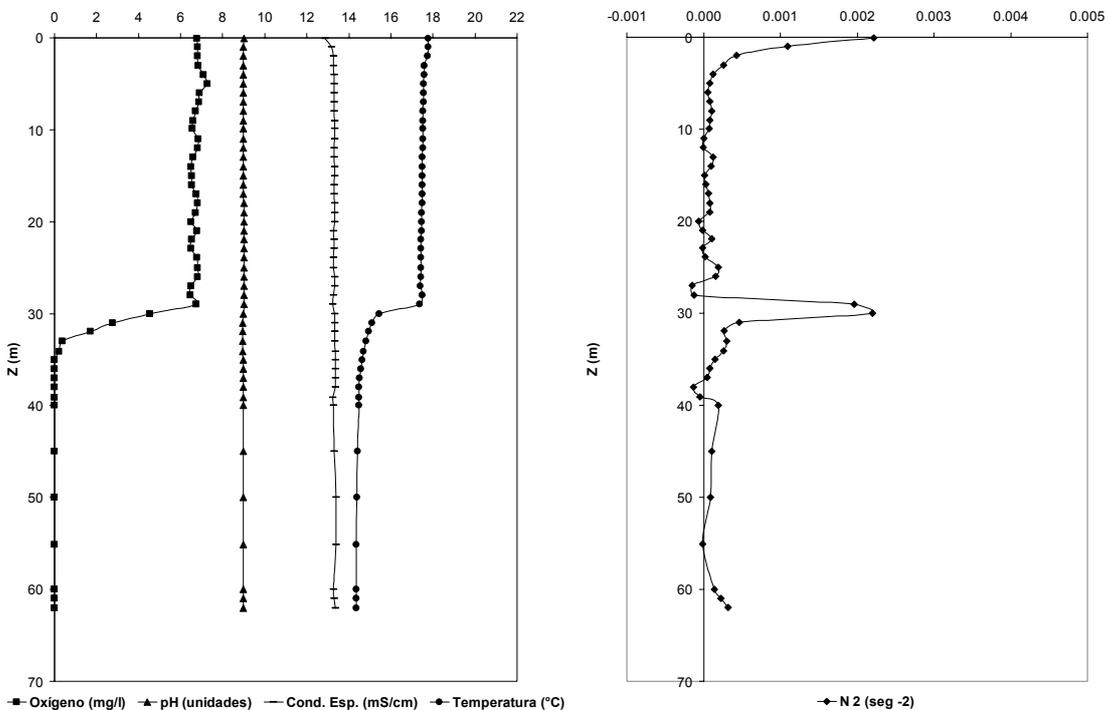


Figura 7. Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en el mes de noviembre de 2004.

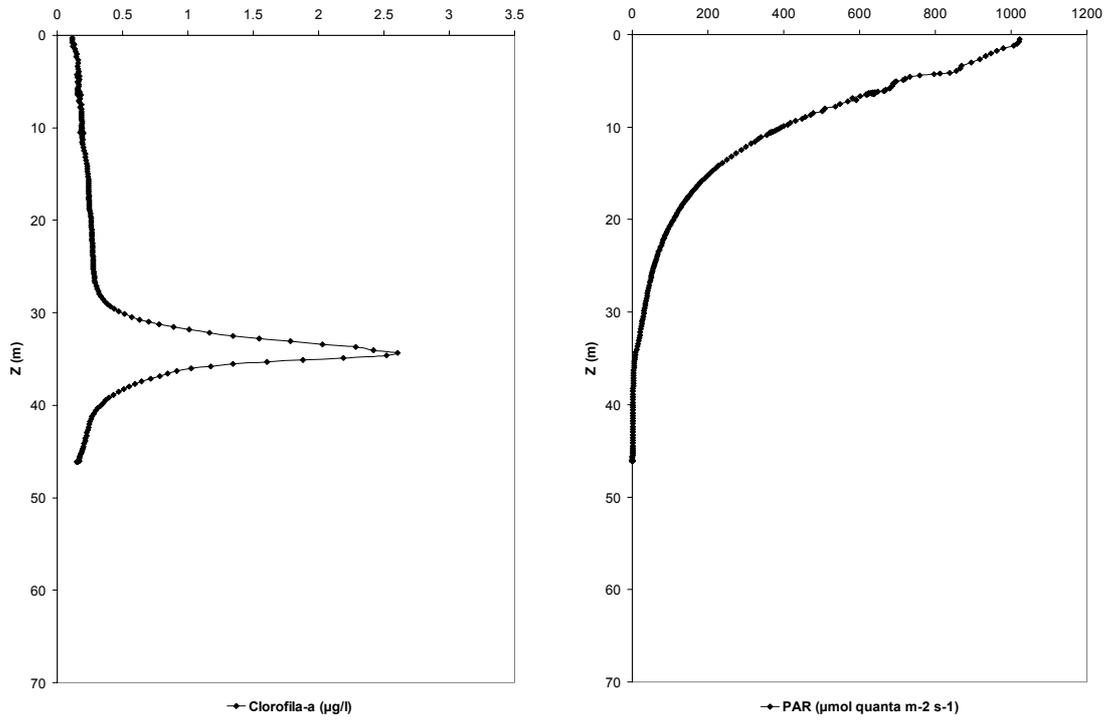


Figura 8. Perfiles verticales de clorofila *a* y luz subacuática en el Lago Alchichica en el mes de noviembre de 2004.

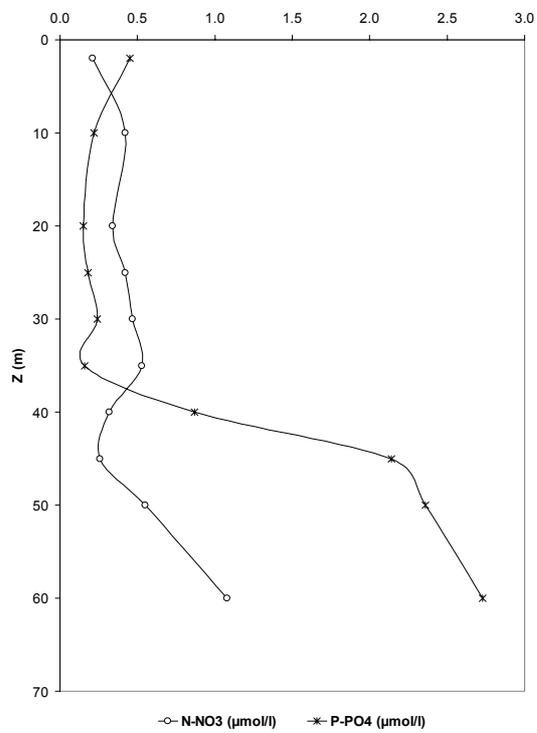


Figura 9. Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en el mes de noviembre de 2004.

En los mesocosmos realizados en el mes de noviembre (Fig. 10a) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 7 del bioensayo en todos los tratamientos, por lo cual el AGP se determinó el día 6, cuando se presentaron los valores máximos de clorofila *a*. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 407%, el cual fue significativamente mayor (Anexo 2; $F=532.35$ $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento con un AGP de 117%, presentó diferencias significativas con respecto a T, P y NP. El tratamiento P fue el que generó una menor respuesta 30%, no mostrando diferencias significativas con respecto a T, pero si con respecto a N y NP.

En los microcosmos realizados en el mes de noviembre (Fig. 10b) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 8 del bioensayo en el tratamiento NP y aunque en los demás tratamientos no disminuyeron las lecturas de clorofila *a* se decidió determinar el AGP el día 7, con el fin de evitar el efecto de la recirculación de nutrientes. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 550% el cual fue significativamente mayor (Anexo 3; $F=283.78$, $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento, con un AGP de 59%, presentó diferencias significativas con respecto a T y NP, pero no con respecto a P, que fue el tratamiento que generó la menor respuesta con un 39% sin mostrar diferencia significativa con respecto a T y N, pero si con respecto a NP.

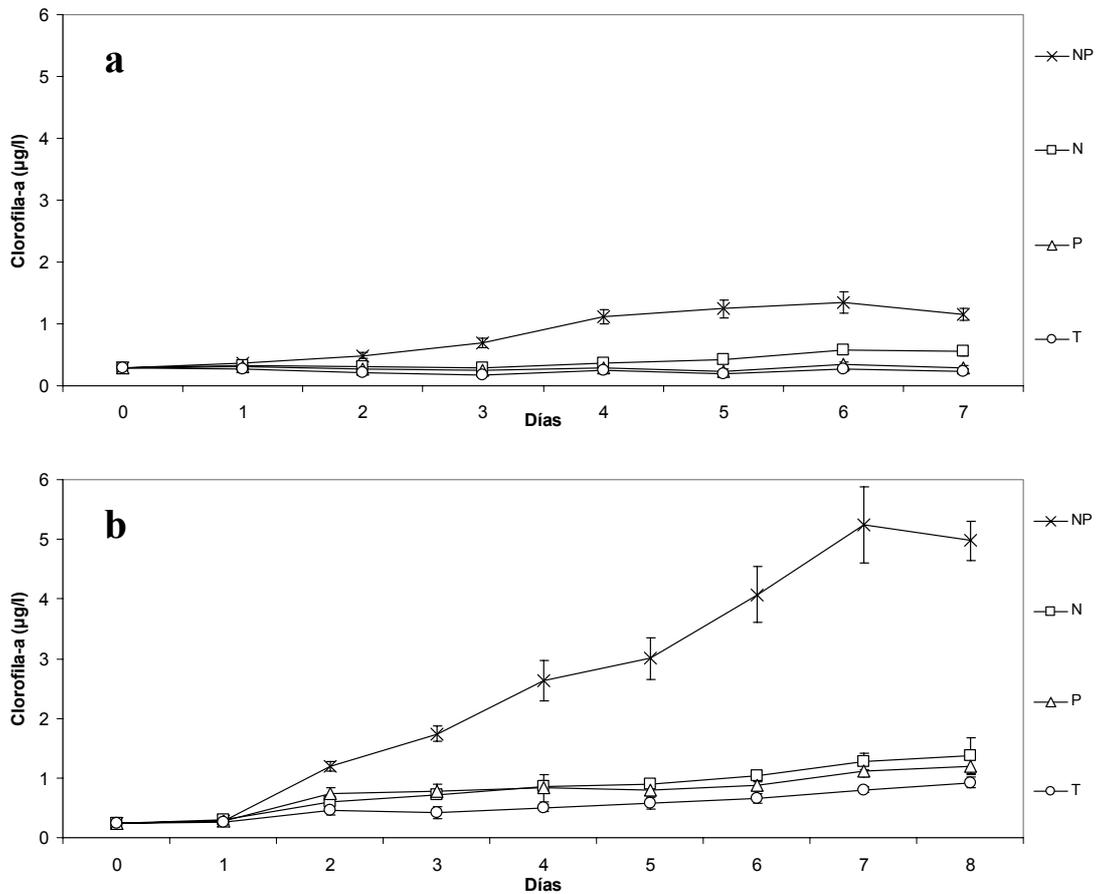


Fig. 10. Variación de la concentración de clorofila *a* en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de noviembre de 2004.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del mesocosmos realizado en el mes de noviembre (Fig. 11a) fueron *O. parva* (61%), *O. submarina* (15%), *M. minutum* (13%) y la diatomea *Cyclotella choctawhatcheana* (10%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *N. spumigena*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un incremento en la biomasa fitoplanctónica en los tratamientos N y NP, en el tratamiento P la variación fue mínima con respecto a T. Los cambios en la dominancia de especies sólo se presentaron en el tratamiento NP. La especie que presentó un mayor crecimiento en todos los tratamientos fue *O. parva*, sin embargo, su importancia relativa al total del fitoplancton disminuyó con respecto a T, en el tratamiento P (58%), N (59%) y NP (36%). En el caso de *O. submarina*

también presentó crecimiento en los tres tratamientos de enriquecimiento, incrementando su importancia relativa al total del fitoplancton en los tratamientos P (19%), N (17%) y NP (23%). *C. choctawhatcheeana* no presentó cambios importantes en los tratamientos P (9%) y N (9%), no así en el tratamiento NP (26%) en donde fue la segunda especie que presentó un mayor crecimiento superando a *O. submarina*. Con respecto a *M. minutum* su crecimiento se mantuvo sin cambios en el tratamiento P (13%), incrementándose en los tratamientos N (14%) y NP (14%), sin embargo su contribución porcentual al total del fitoplancton no presentó cambios importantes.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del microcosmos realizado en el mes de noviembre (Fig. 11b) fueron *O. parva* (34%), *C. choctawhatcheeana* (22%), *Ch. elmorei* (21%), *O. submarina* (10%), *C. mexicana* (7%) y *M. minutum* (5%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *N. spumigena*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un incremento en la biomasa fitoplanctónica en los tratamientos N y NP, en el caso del tratamiento P la variación fue mínima con respecto a T. Los cambios en la dominancia de especies solo se presentaron en el tratamiento NP, en donde *Ch. elmorei* (41%), fue la especie que aportó el mayor porcentaje al total del fitoplancton, en contraparte, en los tratamientos P (17%) y N (15%) presentó una disminución en su crecimiento con respecto a T y por consecuencia, su aporte al total de fitoplancton también se redujo. La especie que creció consistentemente en todos los tratamientos fue *O. parva*, incrementando su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T, en los tratamientos P (35%) y N (41%) y disminuyendo en NP (19%), siendo la segunda especie que más creció en este tratamiento, solo por debajo de *Ch. elmorei*. Con respecto a *C. choctawhatcheeana*, *C. mexicana*, *M. minutum* y *O. submarina*, presentaron pocas variaciones en su crecimiento con respecto a T, en los tratamientos P y N, incrementando sustancialmente su crecimiento en el tratamiento NP, sin embargo su aporte al total del fitoplancton disminuyó a 16%, 13%, 5% y 4% respectivamente, debido principalmente al mayor crecimiento de *Ch. elmorei* y *O. parva* (Anexo 4).

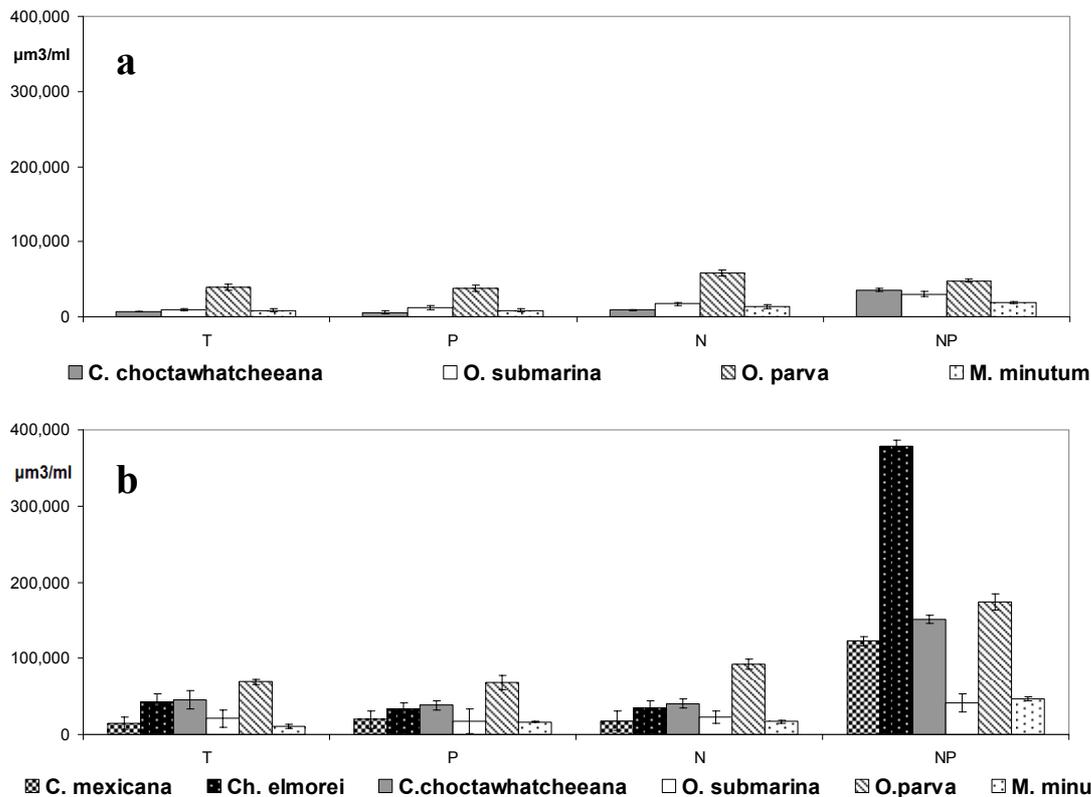


Figura 11. Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de noviembre de 2004.

En el tercer bioensayo realizado en el mes de febrero de 2005 el lago se encontró en circulación (Fig. 12), la variación de la temperatura entre la superficie y el fondo fue de 16°C a 14.3°C, con el mayor cambio en el primer metro de profundidad con 0.8°C. La concentración de oxígeno disuelto en la columna disminuyó de 7.1 mg l⁻¹ en superficie a 3.4 mg l⁻¹ en el fondo. El valor promedio de pH fue de 9 y la conductividad fue de 11.8 mS cm⁻¹ ambos parámetros con reducida variación (Anexo 1).

Mediante el calculo de N² se identifico un valor máximo 0.00277 seg⁻² en la parte superficial del lago a 0.1 m de profundidad, lo cual indica un máximo gradiente de densidad.

La distribución vertical de la clorofila *a* (Fig. 13), presentó varios picos a lo largo de los primeros 18 m de profundidad, con valores de 0.9 a 1.8 $\mu\text{g l}^{-1}$, a partir de los 18 m la concentración de clorofila disminuyó gradualmente hacia el fondo hasta llegar a concentraciones $<0.6 \mu\text{g l}^{-1}$ a partir de los 21 m de profundidad. La cantidad de luz subacuática varió de 772 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la superficie (0.1 m), hasta valores $<1 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a partir de los 21 m. La zona eufótica comprendió los primeros 16 m, profundidad en la que la cantidad de luz durante el día era de 8 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los mesocosmos se incubaron a 1m de profundidad en donde la cantidad de luz era un 22% menor que la superficial.

La concentración promedio de N-NO₃ y P-PO₄ disponible en la columna fue de 0.53 y 0.82 $\mu\text{mol l}^{-1}$ respectivamente (Fig. 14).

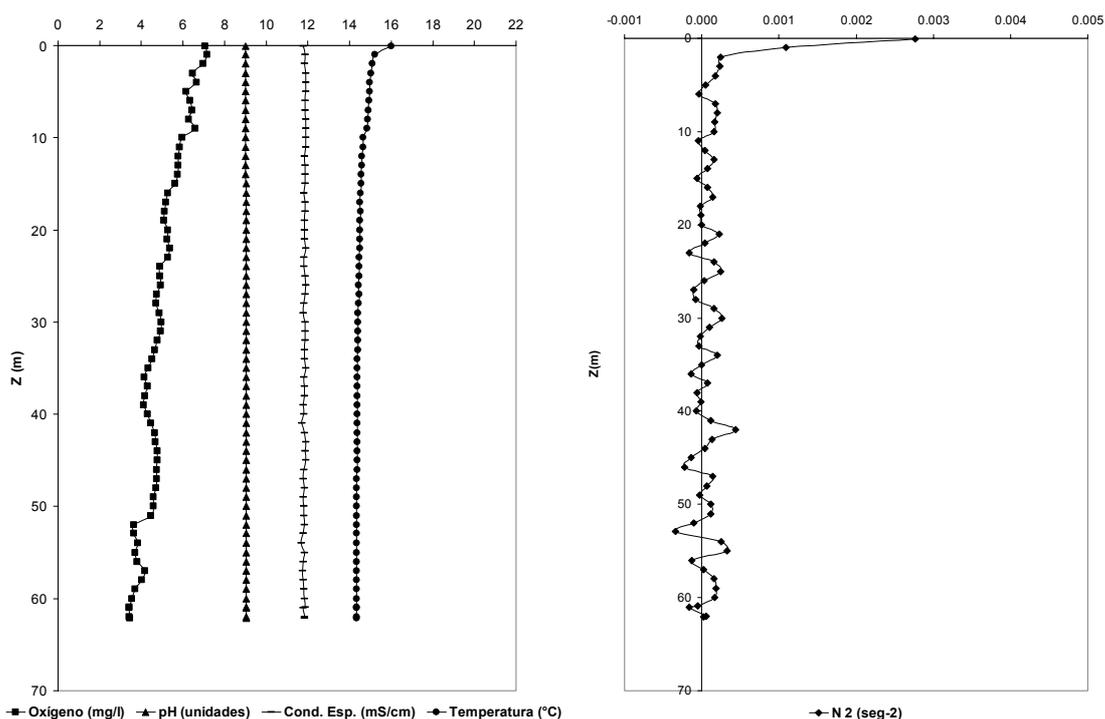


Figura 12. Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en el mes de febrero de 2005.

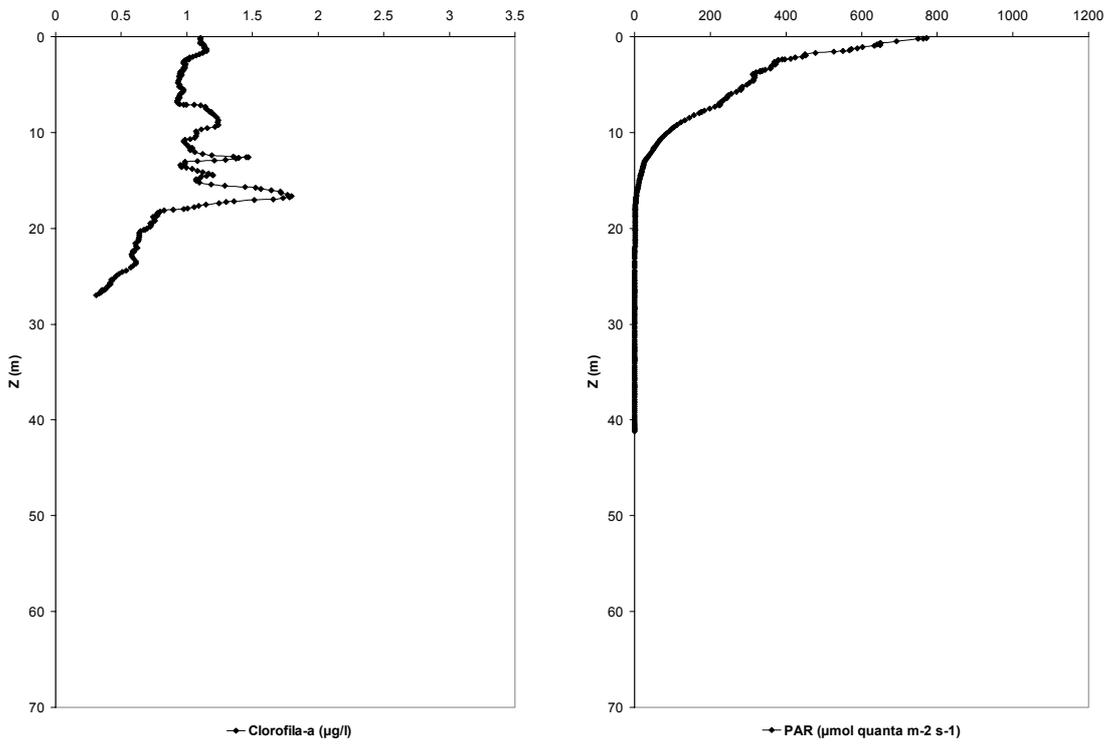


Figura 13. Perfiles verticales de clorofila *a* y luz subacuática en el Lago Alchichica en el mes de febrero de 2005.

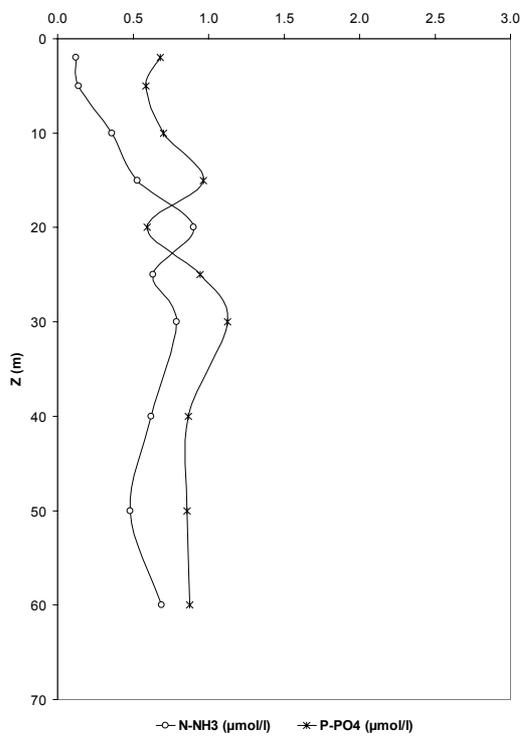


Figura 14. Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en el mes de febrero de 2005.

En los mesocosmos realizados en el mes de febrero (Fig. 15a) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 3 del bioensayo en los tratamientos T, P y NP, por lo cual el AGP se determinó el día 2, cuando se presentaron los valores máximos de clorofila *a*. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 22%, el cual fue significativamente mayor (Anexo 2; $F=87.17$ $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento con un AGP de 17%, presentó diferencias significativas con respecto a T, P y NP. El tratamiento P fue el que generó una menor respuesta -5% sin mostrar diferencias significativas con respecto a T, pero si con respecto a N y NP.

En los microcosmos realizados en el mes de febrero (Fig. 15b) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 3 del bioensayo en los tratamientos P, N y NP, por lo cual el AGP se determinó el día 2. Los valores máximos de AGP se presentaron en los tratamientos enriquecido con NP y N con un 10% en ambos casos, no mostrando diferencias significativas entre ellos, ni con respecto a P, solamente con respecto a T (Anexo 3; $F=8.36$ $n=16$, $p<0.05$). El tratamiento P generó la menor respuesta con un 6% sin mostrar diferencias significativas con respecto a T, N y NP.

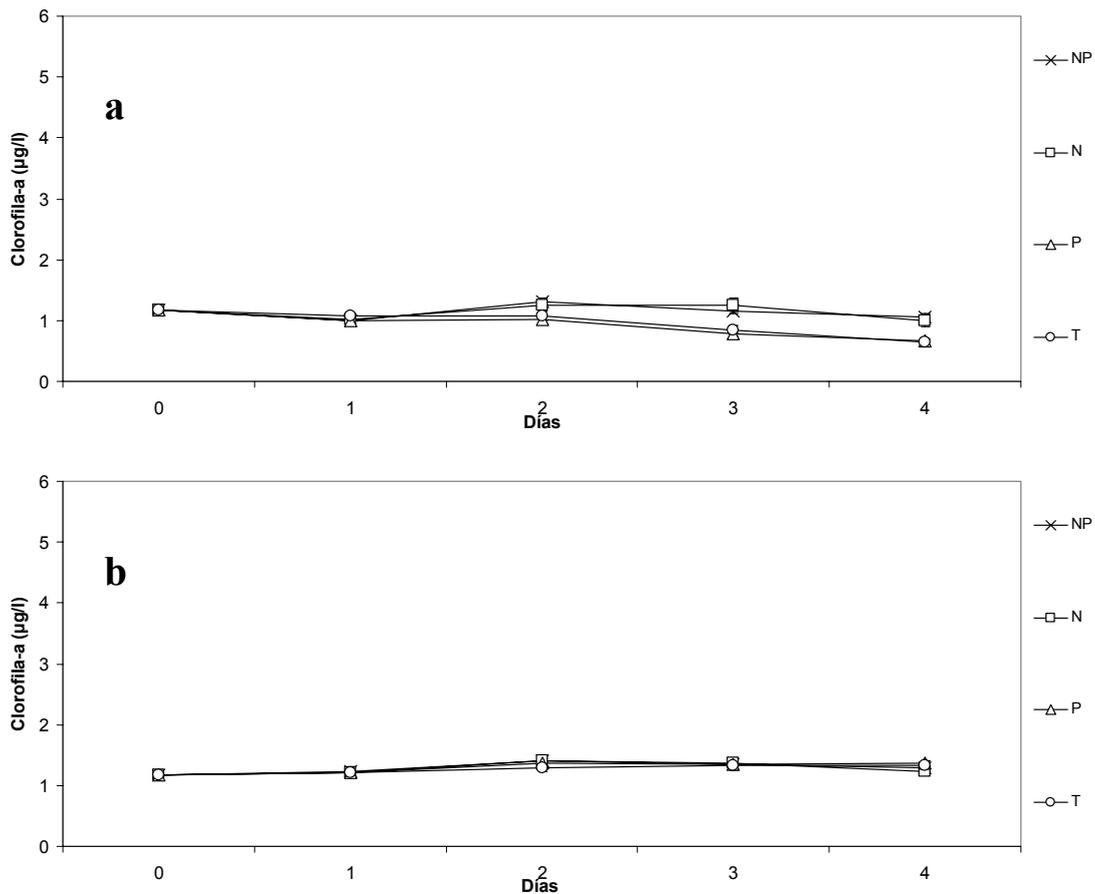


Fig. 15. Variación de la concentración de clorofila *a* en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de febrero de 2005.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del mesocosmos realizado en el mes de febrero (Fig. 16a) fueron *O. parva* (39%), *M. minutum* (29%), *O. submarina* (9%) y la diatomea *Cyclotella alchichicana* (22%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *C. choctawhatcheeana*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un incremento en la biomasa fitoplanctónica en los tratamientos N y NP, en el tratamiento P la variación fue mínima con respecto a T. Los cambios en la dominancia de especies sólo se presentaron en los tratamientos N y NP, siendo *M. minutum* la especie que presentó un mayor crecimiento en estos tratamientos, incrementando su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T en los tratamientos N (40%) y NP (45%). La segunda especie en importancia fue *O. parva* la cual disminuyó en su contribución relativa al total del fitoplancton con respecto a T, en el

tratamiento N (31%) y en el tratamiento NP (30%), debido principalmente al mayor crecimiento de *M. minutum*. En el caso de *C. alchichicana* y *O. submarina* variaron poco en su crecimiento, por lo cual su contribución porcentual al total del fitoplancton fue menor.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del microcosmos realizado en el mes de febrero (Fig. 16b) fueron *M. minutum* (42%), *O. parva* (27%), *O. submarina* (8%) y *C. alchichicana* (22%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *C. choctawhatcheeana*. El incremento en la biomasa fitoplanctónica de los tratamientos de enriquecimiento prácticamente no presentó cambios con respecto al testigo y en cuanto a la dominancia de especies solamente *C. alchichicana* incremento su contribución relativa al total del fitoplancton, en todos los tratamientos, P (29%), N (28%) y NP (30%), siendo la segunda especie en importancia, superando a *O. parva* (Anexo 4).

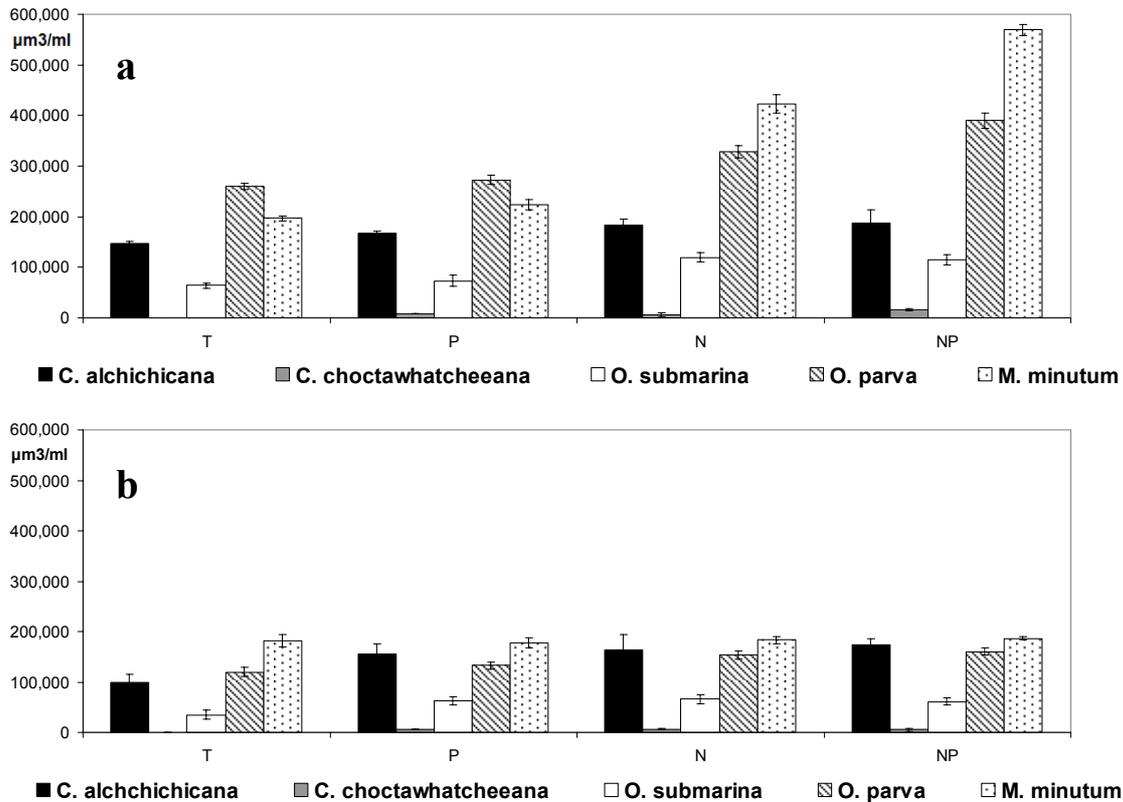


Figura 16. Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de febrero de 2005.

En el cuarto bioensayo realizado en el mes de mayo de 2005 el lago se encontró al inicio de su estratificación térmica (Fig. 17), el epilimnion se extendió a los primeros 9 m y el metalimnion se localizó entre 9 y 22 m. La variación de la temperatura entre la superficie y fondo fue de 21.1°C a 14.4°C, con una variación de 4°C en la termoclina (gradiente = 0.31°C/m). La concentración de oxígeno disuelto en el epilimnion varió de 7.1 a 6.5 mg l⁻¹ disminuyendo gradualmente en el metalimnion e hipolimnion, hasta llegar a concentraciones < 1 mg l⁻¹ a los 55 m y a partir de los 58 m el lago permaneció anóxico. El valor promedio de pH en la columna fue de 9.1 y la conductividad fue de 14.1 mS cm⁻¹, ambos parámetros con reducida variación (Anexo 1).

Mediante el cálculo de N² se identificaron dos valores máximos, el primero de 0.00461 seg⁻² a 0.1 m de profundidad y el segundo de 0.00134 seg⁻² a 13 m de profundidad, los cuales

indica máximos gradientes de densidad, que generan estabilidad en estas zonas de la columna de agua.

La distribución vertical de la clorofila *a* (Fig.18) presentó concentraciones máximas en la parte superficial del lago $3.03 \mu\text{g l}^{-1}$ en los primeros 0.5 m de profundidad, disminuyendo gradualmente a $0.36 \mu\text{g l}^{-1}$ a los 10 m de profundidad donde se localiza el metalimnion, en el hipolimnion las concentración de clorofila *a* se mantuvieron entre 0.5 y $0.7 \mu\text{g l}^{-1}$ hasta los 29 m de profundidad. La cantidad de luz subacuática varió de $406 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en la superficie (0.1 m), hasta valores $<1 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a partir de los 29 m. La zona eufótica comprendió los primeros 21 m, profundidad en donde la cantidad de luz durante el día era de $4 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los mesocosmos se incubaron a 1m de profundidad en donde la cantidad de luz era un 21% menor que la superficial.

La concentración promedio de N-NO_3 y P-PO_4 disponible en la capa de mezcla fue de 0.22 y $0.27 \mu\text{mol l}^{-1}$ respectivamente (Fig. 19)

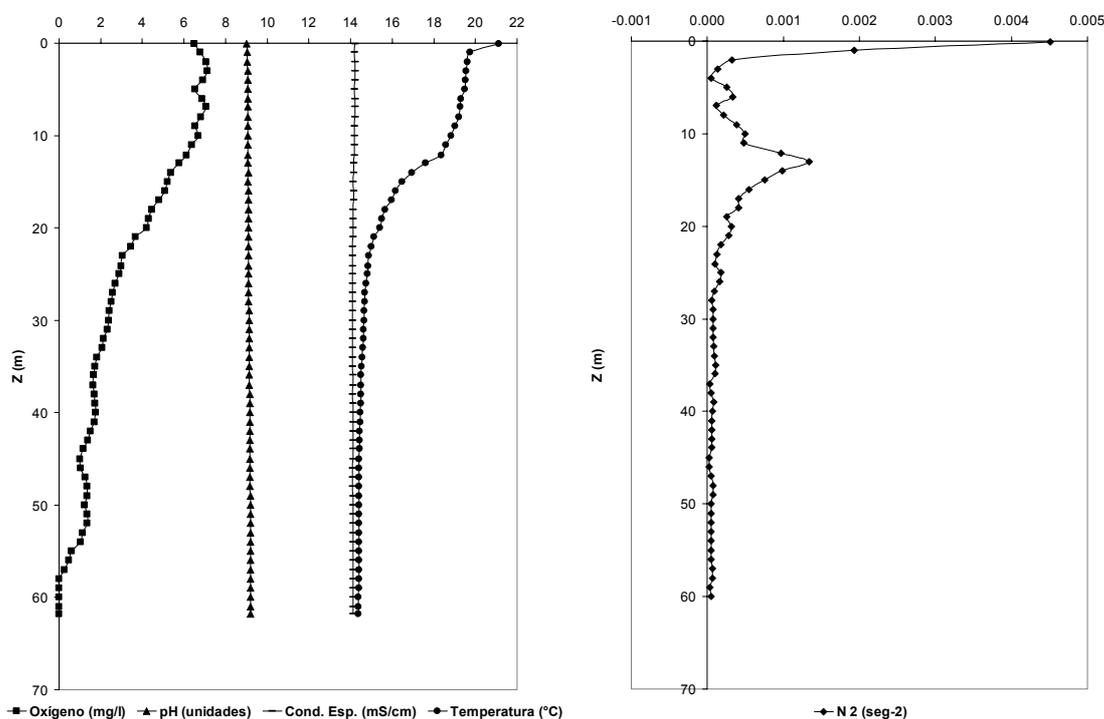


Figura 17. Perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto, conductividad específica, pH y estabilidad en el Lago Alchichica en el mes de mayo de 2005.

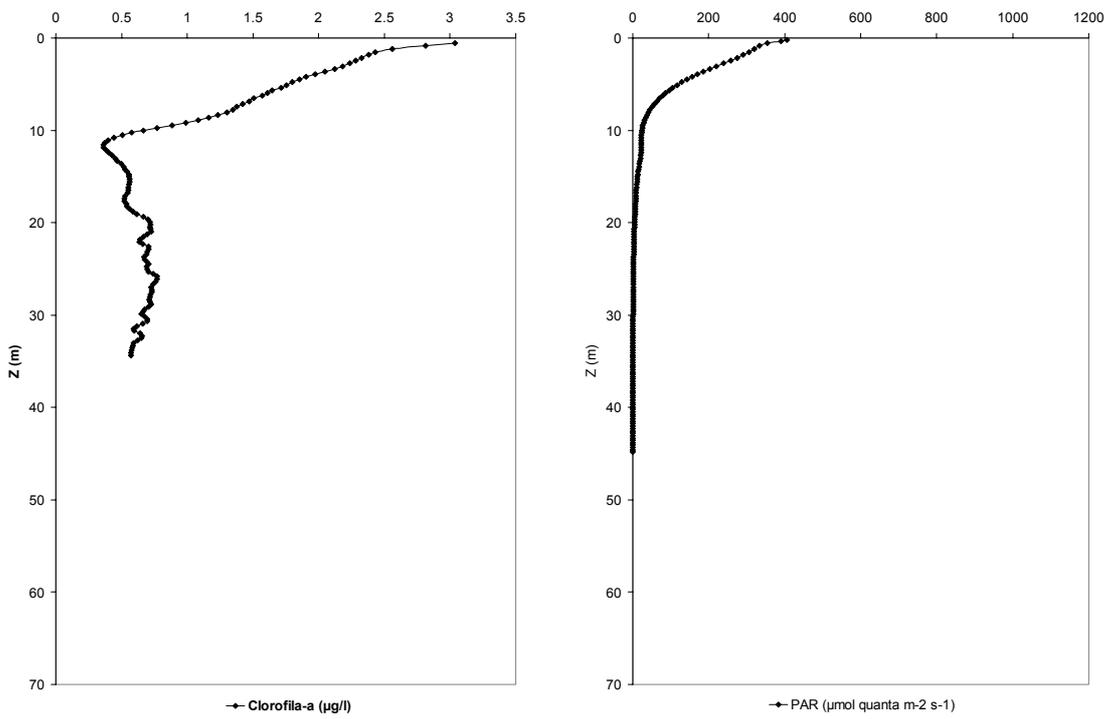


Figura 18. Perfiles verticales de clorofila *a* y luz subacuática en el Lago Alchichica en el mes de mayo de 2005.

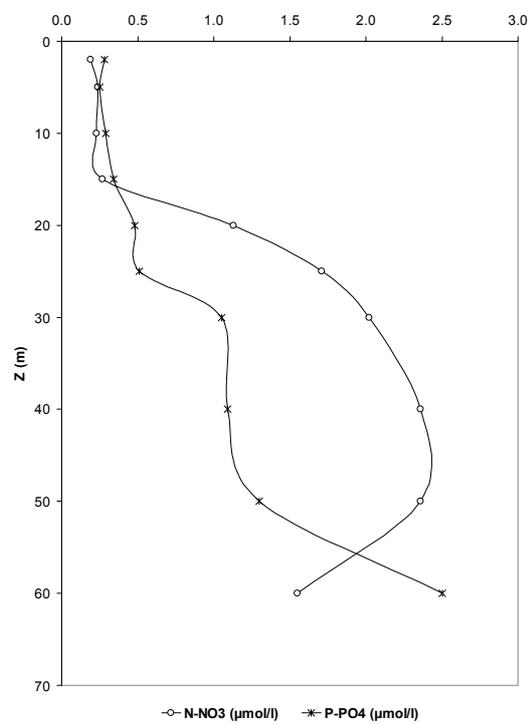


Figura 19. Perfiles verticales de nutrientes en el Lago Alchichica en el mes de mayo de 2005.

En los mesocosmos realizados en el mes de mayo (Fig. 20a) las lecturas de clorofila *a* disminuyeron el día 7 del bioensayo en los tratamientos T y NP, por lo cual el AGP se determinó el día 6, cuando se presentaron los valores máximos de clorofila *a*. El tratamiento que presentó un valor máximo de AGP fue el enriquecido con NP con un 103%, el cual fue significativamente mayor (Anexo 2; $F=283.39$, $n=16$, $p<0.05$) que los tratamientos T, N y P. El tratamiento con N, segundo en crecimiento con un AGP de 31%, presentó diferencias significativas con respecto a T y NP, pero no con respecto a P, este último fue el tratamiento que generó una menor respuesta 22%, mostrando diferencias significativas solo con respecto a T y NP

En los microcosmos realizados en el mes de mayo (Fig. 20b) las lecturas de clorofila *a* se incrementaron consistentemente en los cuatro tratamientos, sin presentar disminuciones al momento de suspender la incubación en el día 10 del bioensayo, esto, a fin de evitar el efecto de la recirculación de nutrientes. Por el motivo anterior el AGP se determinó el día 9. Los valores máximos de AGP se presentaron en el tratamiento N con un 22%, seguido por NP con un 11%. El tratamiento P generó la menor respuesta con un -12%. En todos los casos, no se presentaron diferencias significativas (Anexo 3; $F=1.80$, $n=16$, $p<0.05$) entre los tratamientos.

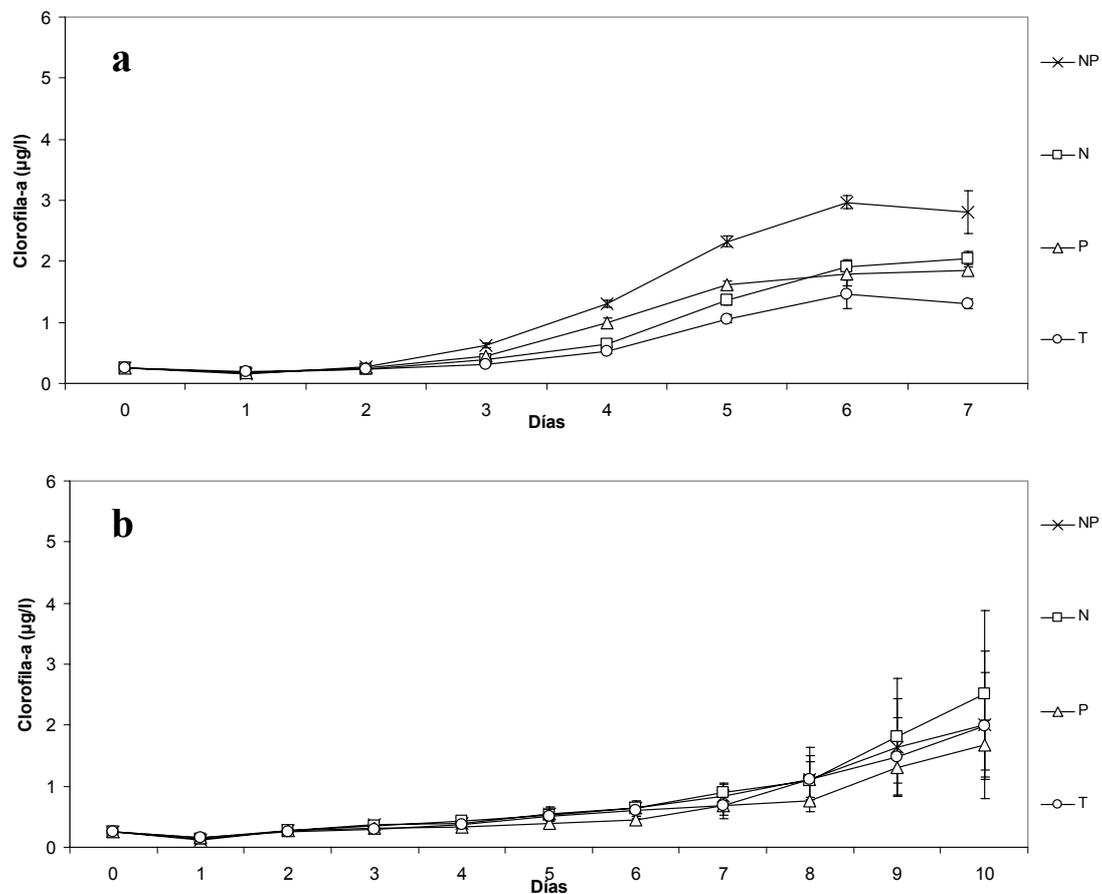


Fig. 20. Variación de la concentración de clorofila *a* en el Lago Alchichica en respuesta al enriquecimiento con nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de mayo de 2005.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del mesocosmos realizado en el mes de mayo (Fig. 21a) fueron *N. spumigena* (78%), *O. parva* (8%), *C. alchichicana* (6%), *C. choctawhatcheeana* (6%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *O. submarina* y *Ch. elmorei*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un incremento en la biomasa fitoplanctónica en todos los tratamientos y variaciones mínimas en cuanto a la dominancia de especies en el tratamiento NP. La especie que presentó el mayor crecimiento en todos los tratamientos fue *N. spumigena*, en el tratamiento P (68%), N (67%) y NP (64%), sin embargo su contribución relativa al total del fitoplancton disminuyó. La segunda especie en importancia fue *O. parva* la cual incrementó su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T,

en el tratamiento P (15%), N (16%) y NP (13%). *C. alchichicana* no presentó cambios importantes en su crecimiento con respecto a T, en los tratamientos P (5%) y N (6%), solo en el tratamiento NP (13%) su crecimiento fue mayor, igualando a *O. parva* en su contribución porcentual al total del fitoplancton. En cuanto a *C. choctawhatcheeana*, *O. submarina* y *Ch. elmorei* su crecimiento fue limitado en todos los tratamientos, manteniendo su contribución porcentual al total del fitoplancton.

Las especies más representativas de la comunidad fitoplanctónica en el tratamiento T del microcosmos realizado en el mes de mayo (Fig. 21b), fueron *C. alchichicana* (56%), *N. spumigena* (24%), *O. parva* (10%), *O. submarina* (4%), el porcentaje restante estuvo constituido principalmente por *Ch. elmorei* y *C. choctawhatcheeana*. El enriquecimiento con nutrientes dio como resultado un incremento en la biomasa fitoplanctónica en todos los tratamientos, sin presentar cambios en la dominancia de especies. *C. alchichicana* fue la especie que presentó un mayor crecimiento en todos los tratamientos, la cual incrementó su importancia relativa al total del fitoplancton con respecto a T, en el tratamiento P (63 %), N (57%) y NP (61%). La segunda especie en importancia fue *N. spumigena* contribuyendo al total del fitoplancton en el tratamiento P (21%), N (24%) y NP (18%). Las especies restantes *O. parva*, *O. submarina*, *Ch. elmorei* y *C. choctawhatcheeana* crecieron consistentemente en todos los tratamientos, manteniendo su contribución porcentual al total del fitoplancton (Anexo 4).

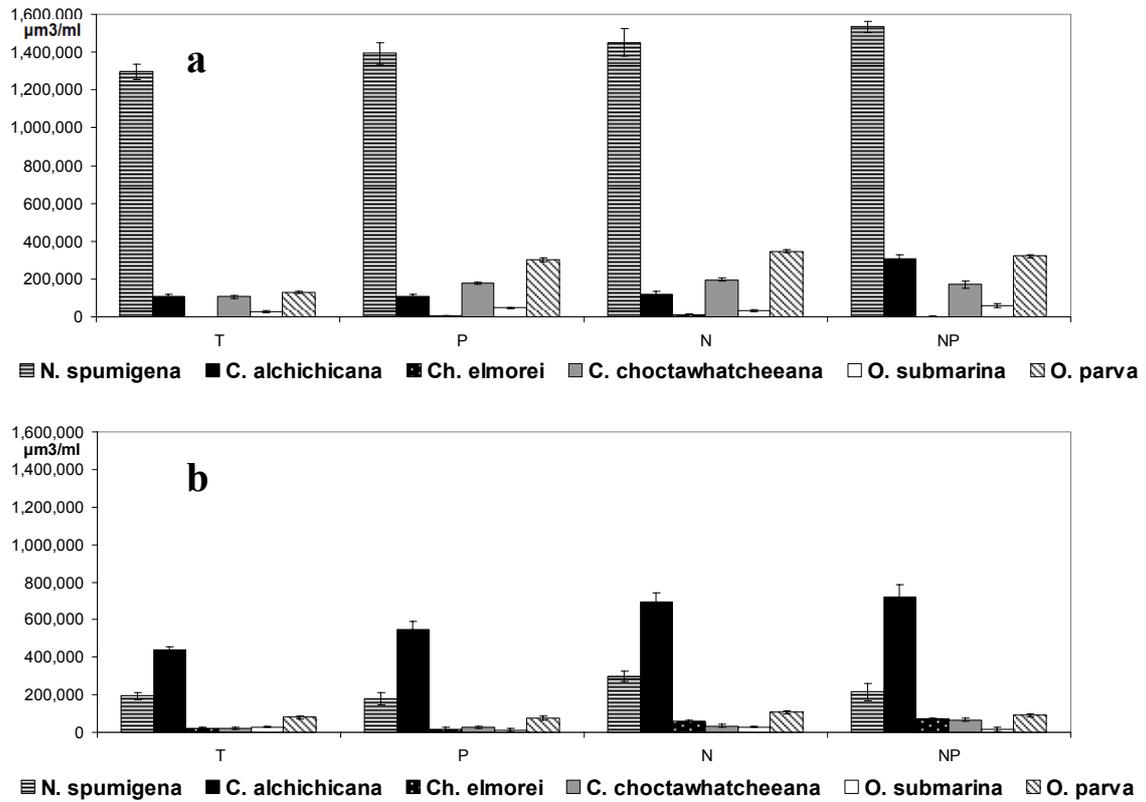


Figura 21. Variación del biovolumen fitoplanctónico en respuesta al enriquecimiento de nutrientes (T = testigo, P = fósforo, N = nitrógeno, NP = nitrógeno + fósforo) en condiciones experimentales de mesocosmos (a) y microcosmos (b) en el mes de mayo de 2005.

9. DISCUSIÓN

La discusión de los resultados obtenidos en el presente estudio se divide en cuatro apartados principales. El primero se refiere al comportamiento de los principales parámetros limnológicos y su relación con los procesos de estratificación y mezcla del lago. El segundo se refiere a la respuesta de la comunidad fitoplanctónica a los distintos tratamientos de enriquecimiento con nutrientes en los bioensayos, con el fin de establecer el nutriente que limita el crecimiento algal mediante la determinación del AGP. El tercer apartado se refiere a la respuesta específica de cada una de las especies a los diferentes tratamientos de enriquecimiento con nutrientes. En el último apartado se hace una comparación de los resultados obtenidos en los bioensayos a dos diferentes escalas, microcosmos y mesocosmos, para poder establecer diferencias o similitudes.

Parámetros limnológicos

Temperatura

Los procesos de circulación y estratificación térmica en los lagos son sumamente importantes por sus implicaciones en la distribución de los recursos a lo largo de la columna de agua además, de ser tomados en cuenta por diverso autores (p. e., Forel, 1892 en Kalff, 2002; Hutchinson y Löffler, 1956; Lewis, 1983) en sus sistemas de clasificación.

Como resultado del análisis de los perfiles de temperatura realizados al inicio de cada bioensayo, podemos establecer que el lago en el mes de julio se encontraba estratificado térmicamente, mostrando claramente la zonación de la columna de agua en epilimnion, metalimnion e hipolimnion. En el mes de noviembre el lago se encontró en fase final de estratificación, en donde el epilimnion se profundiza y la termoclina se erosiona. En el mes de febrero el lago se encontró circulando sugerido por el hecho de que la temperatura era prácticamente homogénea a lo largo de la columna de agua. Por ultimo, en el mes de mayo el lago se encontró en la fase inicial de estratificación, en donde el gradiente térmico se encuentra en la parte superficial del lago. Este comportamiento coincide con los estadios de

la hidrodinámica del lago descritos por Alcocer *et al.* (2000), un periodo de circulación en invierno y otro de estratificación durante el resto del año, dividido en tres subperiodos estratificación temprana, estratificación bien establecida y estratificación tardía.

Según Lewis (1983) en su clasificación de los lagos en función de la latitud, corregida por la altitud (0.6° por cada 200 m), y la profundidad, el Lago Alchichica es considerado como monomítico cálido. En el caso de la clasificación de Hutchinson y Löffler (1956) en la cual se toma en cuenta la latitud y la altitud, también se considera como monomítico cálido. En la clasificación de Forel (1892) es considerado como lago tropical, en los tres casos las descripciones coinciden en cuanto a que son lagos que presentan un periodo de estratificación en la temporada cálida y una de circulación en invierno, además de que su temperatura no desciende a menos de 4°C. En el caso de lagos subtropicales y tropicales con suficiente profundidad que permita una estratificación estable por un periodo de tiempo significativo, la temperatura máxima y mínima del agua disminuye cuando se incrementa la latitud y altitud, reduciéndose las diferencias de temperatura entre el epilimnion y el hipolimnion (Kalff, 2002). Lo cual coincide con nuestro lago de estudio.

En la limnología templada clásica se establece que para que exista una estratificación térmica debe de haber un cambio de cuando menos 1°C por metro de profundidad en la termoclina, en donde el gradiente de temperatura es máximo (Hutchinson, 1957). Este concepto es inapropiado para lagos tropicales, ya que se ha observado recientemente que lagos tropicales de latitud menor a 20° muestran ciclos relativamente regulares de estratificación en donde las diferencias de temperatura en la columna de agua son de menor amplitud (Talling & Lemoalle, 1998) y en otros casos se ha llegado a definir a la termoclina como el intervalo de profundidad sobre el cual los cambios de temperatura nos son mayores de 0.2°C por metro de profundidad (Kalff, 2002). En este sentido, el Lago Alchichica cumple con los patrones de circulación y gradientes de temperatura que describen a un lago monomítico cálido. En México, el Lago Atexcac (Mecek et al., 1994) y el Lago Zirahuén (Bernal-Brooks, 1998), por ejemplo, han sido descritos también como monomíticos cálidos. Estos lagos al igual que Alchichica son lagos profundos y se encuentran a una latitud cercana a los 19°.

Oxígeno disuelto

Las concentraciones de oxígeno disuelto en un lago refleja el balance entre el aporte de oxígeno proveniente de la atmósfera y el que se genera a través de la fotosíntesis, además de indicar el consumo de oxígeno generado por la respiración de los organismos y los procesos de oxidación de la materia orgánica (Kalff, 2002).

La ausencia de oxígeno disuelto en capas profundas del lago durante el desarrollo de la estratificación térmica, sugiere que la producción de materia orgánica en el lago es elevada, ya que ésta al demandar oxígeno para su descomposición contribuye al agotamiento del gas en los estratos profundos del lago (Lugo, 2000). Además, si se toma en cuenta que se establece un gradiente de densidad en la termoclina, la difusión del oxígeno de los estratos superiores del lago, en donde es abundante, hacia los estratos más profundos se dificulta, favoreciendo así la anoxia hipolimnética.

El desarrollo de una termoclina y el establecimiento de un hipolimnion anóxico durante la mayor parte del año en la época cálida, confirma que el Lago Alchichica solamente se mezcla en invierno, ya que si el lago circulara en algún otro momento del año, se deberían encontrar concentraciones de oxígeno disuelto en el hipolimnion y el desarrollo de la estratificación se vería interrumpido.

Estabilidad

La intensidad de la estratificación en un lago está determinada por la estabilidad de la columna de agua (resistencia a la mezcla) la cual influye de manera directa en el flujo de agua y nutrientes hacia el epilimnion (Kalff, 2002). Mediante el cálculo de la frecuencia de Brunt-Väisälä (N^2) a lo largo de la columna de agua se identifican gradientes de densidad máximos, los cuales generan que la columna de agua sea localmente estable en estas zonas (Lerman *et al.*, 1995).

Estudios más detallados de la temperatura y el flujo de calor en lagos tropicales con poca influencia del viento, indican que no solamente se genera un gradiente de densidad máximo en la columna de agua (termoclina), si no que también existe una termoclina diurna que se genera en los primeros metros de profundidad (Kalff, 2002). El establecimiento de esta termoclina diurna se debe principalmente a que durante el día el agua superficial incrementa su temperatura debido a una mayor absorción de la radiación solar, estableciendo así un gradiente de densidad, el cual se pierde con la disminución de la temperatura que sucede durante la noche (Wetzel, 2001). En el caso de Lago Alchichica esta termoclina superficial se rompe después del medio día cuando las condiciones de viento aumentan, tomando en cuenta que todos los perfiles que se emplearon para la determinación de N^2 se realizan antes del medio día, cuando las condiciones de viento son mínimas. Se puede explicar el por qué en todos los estadios del lago encontramos un máximo de estabilidad superficial, En cuanto a los máximos de estabilidad que se presentaron en el metalimnion durante la estratificación, se entiende que estén asociados a la termoclina, ya que es aquí, en donde se presenta el máximo gradiente de densidad, que origina la acumulación de materiales.

Monroy (2004) reporta para el embalse de Valle de Bravo -también monomítico cálido- reporta valores de estabilidad (N^2) durante su periodo de estratificación de 0.00447 seg^{-2} en el 2001 y 0.00482 seg^{-2} para el año 2002, los cuales duplican el valor máximo obtenido en el Lago Alchichica durante el periodo de estratificación 0.00220 seg^{-2} . Tomando como referencia los valores de N^2 de Valle de Bravo y la similitud de los valores máximos obtenidos en la superficie y el metalimnion de Alchichica, podemos concluir que la estratificación en el lago de estudio es de poca intensidad, lo cual debe influir en el transporte de agua del hipolimnion hacia el epilimnion y por consecuencia en la dinámica de los nutrientes.

pH

Las diferencias verticales en la actividad biológica en un lago es la principal causa de cambios temporales en el pH, en general son tres los procesos importantes; la fotosíntesis, la respiración y la asimilación de nitrógeno (Lampert & Sommer, 1997).

Los perfiles verticales de pH realizados durante los estadios característicos de la hidrodinámica del Lago Alchichica mostraron variaciones mínimas a lo largo de la columna de agua, menores a 0.1 unidades de pH, en cuanto a la variación estacional también fue reducida 0.3 unidades, lo cual nos indica claramente la persistencia de condiciones básicas en el lago. A pesar de que en la zona fótica la producción primaria es mayor y durante el año se producen florecimientos algales en el lago, diatomeas en la época de circulación y cianobacterias en la época de estratificación temprana (Alcocer *et al.*, 2000), y esta condición en teoría podría incrementar el pH. La elevada reserva alcalina en lago (Vilaclara *et al.*, 1993) como amortiguador impide variaciones tanto especiales como temporales.

Conductividad específica a 25°C

Existen varias formas de medir la concentración de sólidos disueltos en el agua. La determinación de salinidad es la forma directa y convencional de hacerlo, pero para ello se requiere de un análisis iónico completo. Indirectamente se puede hacer mediante la determinación de la conductividad, la cual es empleada ampliamente por su fácil medición (Williams y Sherwood, 1994).

Los resultados obtenidos en los perfiles de conductividad indican una reducida variación, menos de 0.5 mS cm⁻¹, a lo largo de la columna de agua en los cuatro estadios característicos del lago. En cuanto al comportamiento estacional la variación fue de 2.5 mS cm⁻¹, sin presentar un patrón definido, 11.6 mS cm⁻¹ en la estratificación bien establecida 13.3 mS cm⁻¹, en la estratificación tardía 11.8 mS cm⁻¹, durante la circulación y 14.1 mS cm⁻¹ en la estratificación temprana. Tomando en cuenta estos valores, Alchichica se

clasifica como un lago hiposalino ($5.5 - 30 \text{ mS cm}^{-1}$) según la clasificación de Hammer (1986) para lagos salinos.

En general, la variación en la conductividad de un lago depende de los procesos de dilución y concentración de materiales, generados por la captación de la precipitación pluvial y la pérdida de agua por evaporación, además de los aportes de la cuenca. Sin embargo, la variación de los ciclos climáticos, el cambio en el uso del suelo en la cuenca, agrícola principalmente y descargas de origen doméstico, comúnmente interfiere en la identificación de una respuesta más clara del comportamiento del lago y su cuenca de drenaje (Kalf, 2002).

Clorofila *a in vivo*

Las mediciones de clorofila *a* son la forma de aproximación más rápida para conocer cuantitativamente la biomasa fitoplanctónica en un cuerpo de agua (Lewis, 1990). Debido a su presencia en todos los grupos algales (Wetzel, 2001), la determinación de la clorofila *a* es un método ampliamente utilizado para estimar dicha biomasa.

Los resultados obtenidos en los perfiles verticales de clorofila *a in vivo* durante la estratificación bien establecida y en la estratificación tardía indicaron valores mínimos en el epilimnion (menores a $0.5 \mu\text{g/l}$) y la presencia de máximos profundos de clorofila *a*, asociados al metalimnion y la presencia de la oxiclina. Estas elevadas concentraciones de clorofila *a* en la interfase óxido-anóxica de lagos estratificados son debidas a la acumulación de organismos fitoplanctónicos atrapados en el gradiente de densidad metalimnético y al desarrollo de densas poblaciones de picoplancton fotoautotrófico (Camacho *et al.*, 2003). Siendo cianobacterias las que proliferan considerablemente por la mayor disponibilidad de nutrientes en esta interfase y gracias a pigmentos accesorios como la ficoeritrina que les permiten un aprovechamiento óptimo de la escasa luz que alcanza dichas profundidades (Morata *et al.*, 2003).

Durante la circulación la concentración de clorofila *a* se incrementó a lo largo del perfil con valores de 1 µg/l a 1.8 µg/l. Es durante este estadio que se presentó un florecimiento de diatomeas, las cuales se distribuyen al lo lago de la columna debido a una mayor disposición de nutrientes así como a una menor tasa de sedimentación ocasionada por la circulación constante de la columna de agua (Boland & Griffiths, 1996).

En cuanto a los valores máximos de 3 µg/l de clorofila *a* durante la estratificación temprana, estos se ubicaron en la parte superficial del lago, debido a que en este periodo se desarrolló un florecimiento de cianobacterias filamentosas, las cuales se ven favorecidas por las condiciones de estabilidad en la columna y déficit de nitrógeno, ya que su capacidad de flotación mediante vacuolas de gas así como la de fijación de nitrógeno atmosférico les permite competir de forma favorable por los recursos y así mantener altas tasas de crecimiento (Paerl, 1996).

Las concentraciones promedio de los perfiles verticales de clorofila *a* en los cuatro estadios característicos de la hidrodinámica del lago, no fueron mayores a 1 µg/l. Si se considera el criterio de Margalef (1983) que establece 5 µg/l de clorofila como limite superior para la oligotrofia, se puede establecer que el Lago Alchichica es oligotrófico.

Luz (PAR 300-400 nm)

La cantidad y composición espectral de la radiación solar que alcanza la superficie de un lago varía considerablemente con respecto a la estación del año, hora del día y condiciones meteorológicas. Una parte importante es reflejada en la superficie, del resto de energía luminosa que penetra en el agua, una parte es absorbida por la materia suspendida y el resto es dispersada por los componentes moleculares del agua y sus solutos, así como por los materiales particulados en suspensión (Wetzel, 2001).

Los perfiles verticales de PAR realizados durante los estadios característicos de la hidrodinámica del Lago Alchichica mostraron variaciones estacionales importantes en cuanto a la cantidad de luz subacuática disponible para los organismos fotosintéticos.

Durante la estratificación bien establecida se registraron valores de $718 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 0.1 m de profundidad, incrementándose considerablemente en la estratificación tardía a $1022 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 0.1 m de profundidad, estas diferencias se deben principalmente a que los perfiles fueron realizados bajo diferentes condiciones meteorológicas, en el primer caso a un día nublado y en el segundo a un día despejado. Una mayor intensidad lumínica y una menor cantidad de clorofila *a* en el epilimnion, que es un indicador de biomas fitoplanctónica suspendida, permiten que la zona fótica se establezca a una mayor profundidad, que en el caso de la estratificación tardía es a los 34 m. En contra sentido la menor intensidad lumínica en la estratificación bien establecida así como un ligero incremento en las concentraciones de clorofila *a* en el epilimnion ocasiona que la zona fótica disminuya hasta los 24 m de profundidad.

Durante la circulación la cantidad de luz subacuática a 0.1 m de profundidad fue de $772 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ la cual disminuye rápidamente con la profundidad debido a una mayor concentración de clorofila *a* en la columna, ocasionada por el florecimiento invernal de diatomeas, en estas condiciones la zona fótica solo alcanza los primeros 16 m de profundidad.

La menor cantidad de luz subacuática disponible se registró durante la estratificación tardía con $406 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a 0.1 m de profundidad, es durante este periodo que se registran las mayores concentraciones de clorofila *a*, en la parte superficial del lago, debido a las densas poblaciones de cianobacterias filamentosas, las cuales impiden una mayor penetración de la luz hacia la columna de agua, sin embargo, la rápida disminución de estos organismos con la profundidad permite que la menor cantidad de luz disponible en la columna llegue a una mayor profundidad, debido a esto la zona fótica se extiende hasta los 21 m de profundidad.

La disminución en la cantidad de luz disponible en la columna de agua se encuentra directamente relacionada con las máximas concentraciones de clorofila (Lampert & Sommer, 1997). En el caso de la estratificación bien establecida y la estratificación tardía la extinción de la luz se presentó justo por debajo de los máximos profundos de clorofila *a*. En

cuanto a la atenuación de la luz durante los florecimientos de diatomeas en la circulación y de cianobacterias filamentosa en la estratificación temprana, esta se acentuó hacia la parte superficial del lago en donde las concentraciones de clorofila *a* son mayores. Se ha demostrado que durante los máximos de biomasa fitoplanctónica durante la primavera y el verano en el Lago Constance, cerca del 70% de atenuación de la luz se debe al fitoplancton (Tilzer, 1983).

Nutrientes

La concentración de nutrientes en un lago está asociada con los periodos de mezcla y estratificación de la columna de agua, como puede constatarse comparando las concentraciones de N-NO₃ y P-PO₄ medidas en el Lago Alchichica en este estudio, que fueron menores durante los estadios de estratificación y más altas durante la mezcla de la columna de agua. Esto responde a que durante la estratificación se establece un gradiente de densidad en la columna, el cual reduce el flujo interno de nutrientes a los estratos superiores del lago (Kalff, 2002), situación que limita el crecimiento fitoplanctónico y permite mantener condiciones de oligotrofia durante la mayor parte del año. Durante la mezcla, en contraparte, los nutrientes disueltos en la zona profunda del lago se difunden hacia las zonas superficiales, incrementando su concentración a lo largo de la columna y favoreciendo el crecimiento fitoplanctónico (Wetzel, 2001).

A menudo, la estimación del nutriente limitante para el crecimiento del fitoplancton se realiza comparando la proporción de los nutrientes N:P respecto al cociente de Redfield (1958) establecido en 16:1. En el caso del Lago Alchichica la relación N:P durante los estadios de estratificación en la capa de mezcla varió de 0.5 a 2.3 y durante la mezcla de la columna de agua vario de 0.2 a 1.5, lo cual supone una deficiencia de N. Talling & Talling (1965), con base en información de lagos del este y centro de África, concluyen que regionalmente prevalecía una limitación por N. Adicionalmente y como se mencionó en la introducción, existe evidencia creciente (revisada por Lewis, 1996 y Talling & Lemoalle, 1998) de que la limitación por N es de amplia distribución en los lagos y ríos tropicales (i.e., África, Asia, América del Sur).

Bioensayos

En un primer análisis estacional de la respuesta de la comunidad fitoplanctónica al enriquecimiento con nutrientes (P, N y N+P) evaluado como AGP, que es un indicador de la intensidad de la limitación del crecimiento algal, se reportaron los valores máximos durante los estadios de estratificación en las dos diferentes escalas (mesocosmos y microcosmos), con una sola excepción que se presentó en la estratificación temprana del microcosmos, en donde no fue posible determinar alguna respuesta diferenciada de los diferentes enriquecimientos con nutrientes hasta el momento en que se interrumpió el bioensayo (10 días). Es durante la estratificación que los nutrientes son limitados en la zona epilimnetica del lago, en estas condiciones la biomasa fitoplanctónica disminuye considerablemente en condiciones naturales, por lo que el incremento de nutrientes en los bioensayos genera una respuesta favorable con respecto al crecimiento algal. Los valores mínimos de AGP se registraron en la época en la cual el lago se encuentra en su fase de circulación y la concentración de nutrientes es mayor y homogénea en la columna de agua, lo que genera un incremento en la biomasa fitoplanctónica en condiciones naturales, debido a lo anterior, la adición de nutrientes en los bioensayos realizados durante la circulación tiene un efecto menor en el crecimiento de fitoplancton y por consecuencia en los valores de AGP.

En cuanto a la respuesta específica a cada uno de los distintos tratamientos de enriquecimiento para las dos diferentes escalas microcosmos y mesocosmos, fue el tratamiento NP el que presentó una mayor respuesta en casi todos los estadios de la hidrodinámica del lago, con la excepción antes mencionada del microcosmos realizado en la estratificación temprana, seguido por los tratamientos enriquecidos con N y en estos mismos casos el tratamiento con P fue el que siempre presentó la menor respuesta. Los resultados encontrados en el Lago Alchichica concuerdan con los reportados por Elser *et al.* (1990) para 60 lagos templados, en los cuales se realizaron bioensayos de enriquecimiento con nutrientes empleando –al igual que en esta investigación– comunidades fitoplanctónicas nativas, en donde el enriquecimiento con NP generó una mayor respuesta en el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica (47%). Sin embargo, en el estudio de Elser *et al.* (1990) fue el

P (27%) y no el N (11%) el nutriente que añadido de forma individual generó un crecimiento diferencial en un mayor porcentaje de los casos.

La baja respuesta del enriquecimiento con un solo nutriente con respecto al enriquecimiento combinado es consistente, ya que la adición de un solo nutriente genera una respuesta en tanto que el otro nutriente se agota, por lo que cuando ambos nutrientes son añadidos, el crecimiento es sostenido y la respuesta detectable (Elser *et al.*, 1990). Por tanto, es el crecimiento diferencial con respecto al testigo, la respuesta que más claramente revela cual es inicialmente el nutriente limitante en el bioensayo.

Consistentemente los tratamientos N generaron un crecimiento de la biomasa fitoplanctónica significativamente mayor que T, en las dos escalas de los bioensayos así como en los distintos estadios del lago, excepto en el microcosmos de la estratificación temprana. En el caso de los tratamientos P en el mesocosmos el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica fue significativamente mayor que T en la estratificación bien establecida y en la estratificación temprana y no mostró un crecimiento significativamente diferente en la estratificación tardía y en la circulación, en todos los casos el crecimiento nunca fue mayor que el del tratamiento N. En cuanto al microcosmos, el tratamiento P solo mostró un crecimiento significativamente diferente con respecto a T en la estratificación bien establecida, sin ser mayor que el crecimiento en el tratamiento N y en el resto de los estadios no mostró un crecimiento significativamente mayor que T, ni mayor que el tratamiento N. Así pues, el nitrógeno es el elemento que principalmente podría limitar el crecimiento algal en el Lago Alchichica, lo cual confirma lo sugerido por un cociente de Redfield < 16 . Con base en lo anterior se confirma la primera hipótesis la cual plantea que el nutriente que limitará el crecimiento del fitoplancton en el lago Alchichica será el nitrógeno.

La limitación por N del fitoplancton es común en los lagos tropicales debido principalmente a la pérdida de este elemento por procesos de desnitrificación promovidos por las más elevadas temperaturas así como a los largos periodos de anoxia hipolimnética (Lewis, 2002). Otra condición que favorece esta limitación es la abundancia de P en el

joven terreno volcánico de las regiones tropicales y subtropicales (Carignan & Planas, 1994).

Sin embargo, bioensayos de enriquecimiento de nutrientes realizados en otros lagos mexicanos muestran inconsistencia en sus resultados: limitación por N en el Lago de Chapala (Dávalos *et al.*, 1989), diferente limitación N ó P en el Río Grande de Morelia y algunos embalses del mismo sistema (López & Dávalos-Lind, 1998), y co-limitación en el Lago de Pátzcuaro (Bernal-Brooks, 2003). Desafortunadamente las características de estos sistemas acuáticos (i.e., someros, eutróficos y dulceacuícolas) no permiten contrastar los resultados aquí obtenidos. Sin embargo, estudios en ambientes templados como en los lagos Walker (Beutel *et al.*, 2001) y Mono (Jellison & Melack, 2001), que presentan características similares a las del Lago Alchichica (i.e., profundos y salados), concluyen que la condición limitante del crecimiento algal es el N.

Fitoplancton

Durante la estratificación bien establecida, la concentración de los nutrientes se agotan en la parte superficial del lago y debido a esto, las especies que están mejor adaptadas a un déficit de nutrientes y que tengan menores tasas de sedimentación, ya sea por mecanismos de flotación (p.e., mucílago, vacuolas de gas) o por su menor tamaño, puedan mantener sus poblaciones; en este caso las clorofitas *O. parva* y *M. minutum* son la mejor adaptadas. El mayor crecimiento de *M. minutum* y la disminución de *O. parva* en los tratamientos N y NP del mesocosmos y microcosmos, es una consecuencia de la capacidad superior de la primera para obtener y asimilar nutrientes a una mayor velocidad que la segunda, confirmando su clasificación como una especie oportunista que explota con éxito los pulsos repentinos de nutrientes (Reynolds, 1988).

Durante la estratificación tardía, la erosión de la termoclina ocasiona un incremento en la disposición de nutrientes hacia la parte superficial del lago, además de resuspender en la capa de mezcla organismos de talla pequeña que se encuentran “atrapados” en ella; en esta situación *O. parva* así como *C. choctawhatcheeana* son las mejor adaptadas a las

condiciones. El mayor crecimiento de diatomeas como *C. choctawhatcheeana* en el tratamiento NP del mesocosmos, así como de *Ch. elmorei*, *C. choctawhatcheeana* y *C. mexicana* en el mismo tratamiento del microcosmos, se puede atribuir a que las diatomeas desarrollan una mayor capacidad de asimilación de nutrientes y una alta tasa de reproducción, con el fin de contrarrestar la desventaja que representa tener mayores tasas de sedimentación (Reynolds, 1984). En este caso resultan mejores competidoras por los recursos, incluso por arriba de *O. parva* y *M. minutum*.

Durante la circulación del lago, la concentración de nutrientes es mayor y homogénea a lo largo de la columna de agua, así como la presencia de diatomeas de gran tamaño como *C. alchichicana*, que son características de esta época (Oliva *et al.*, 2006). En este caso *C. alchichicana* junto con *O. parva* y *M. minutum* son las mejor adaptadas a estas condiciones. El mayor crecimiento en el mesocosmos se dio en los tratamientos NP y N, siendo *M. minutum* y *O. parva* las que presentaron un mayor crecimiento; en cuanto *C. alchichicana* su crecimiento fue mínimo en los distintos tratamientos, el mayor éxito de las clorofilas con respecto a la diatomea se debe muy probablemente a que esta última tiene ciclos de vida más prolongados, que las dos primeras, lo cual representa un desventaja para su establecimiento si se toma en cuenta que el bioensayo fue de corta duración (3 días). En cuanto al microcosmos, la única especie que presentó crecimiento fue *C. alchichicana* igualando en importancia a *O. parva* y *M. minutum*, sin embargo, en cuanto a la suma total del crecimiento de las especies no se presentaron cambios importantes en los distintos tratamientos.

Durante la estratificación temprana, la concentración de nutrientes disminuye nuevamente en la parte superficial del lago; esta condición aunada al incremento de la temperatura favorecen el desarrollo del florecimiento de *N. spumigena*, característico de esta época (Oliva *et al.*, 2001). El mayor crecimiento de *N. spumigena* fue consistente en todos los tratamientos del mesocosmos, lo cual indica que se adapta favorablemente a condiciones de déficit de nutrientes (N y P) y que su capacidad de fijar nitrógeno gaseoso le permiten mantener altas tasas de crecimiento mientras exista P disponible. A pesar de que *N. spumigena* domina ampliamente en los distintos tratamiento, especies como *O. parva*, *C.*

alchichicana y *C. choctawhatcheeana* también presentaron crecimientos importantes en todos los tratamientos, lo cual sugiere que este tipo de cianobacterias filamentosas tienen un papel importante en recirculación de nutrientes, mediante la remineralización de sus células muertas o bien por sus desechos metabólicos (Reynolds, 2006). En cuanto al microcosmos, la especie que presentó un mayor crecimiento en todos los tratamientos fue *C. alchichicana* seguida por *N. spumigena*, lo cual contrasta con los resultados obtenidos en el mesocosmos en donde *N. spumigena* dominó ampliamente, sin embargo, este último caso apoya el hecho de que *N. spumigena* puede promover indirectamente el crecimiento de otras especies.

La adición de N como elemento limitante generó un incremento en la biomasa fitoplanctónica, sin presentar cambios en la dominancia de las especies, esta solo fue evidente en algunos casos, cuando se adicionaron N y P simultáneamente. Es debido a lo anterior que la segunda hipótesis la cual plantea que el efecto de la adición del nutriente limitante tendrá como consecuencia el incremento en la biomasa fitoplanctónica además de generar cambios en la dominancia de especies, es parcialmente aceptada

Mesocosmos vs. Microcosmos

El comportamiento de la dinámica de los nutrientes y sus efectos en el comportamiento de la comunidad fitoplanctónica, ha sido ampliamente estudiado mediante la realización de bioensayos, los cuales tiene como objeto generar información experimental que permita entender de mejor forma las complejas relaciones ecológicas que se llevan a cabo en un sistema acuático.

Los bioensayos realizados en condiciones controladas de laboratorio y con volúmenes pequeños denominados comúnmente microcosmos, son ampliamente utilizados, ya que el manejo simultaneo de variables como la manipulación de las poblaciones, de las especies y la adición de sustancias así como la toma de muestras, entre otros aspectos, representan una ventaja con respecto a los bioensayos que se realizan en condiciones naturales. Sin embargo, el aislamiento en volúmenes pequeños supone un incremento en las interacciones bióticas como competencia y predación, además, al no estar sujetos a condiciones

ambientales naturales las respuestas fisiológicas de los organismos también pueden verse afectadas, lo cual puede llevar a conclusiones equivocadas en cuanto a los procesos ecológicos. En contraparte la realización de bioensayos en volúmenes mayores bajo condiciones naturales (*in situ*) denominados comúnmente mesocosmos, disminuyen el efecto del incremento en las interacciones bióticas, además de estar expuestos a las variaciones naturales de temperatura y luz, que en el caso de organismos fotosintéticos son variables que influyen directamente en su desarrollo(Lampert & Sommer, 1997).

Los resultados obtenidos en las dos diferentes escalas (mesocosmos y microcosmos) tiene una correspondencia en cuanto a la respuesta diferenciada a cada uno de los tratamientos de enriquecimiento, es decir, la mayor respuesta evaluada como clorofila *a* se presentó en los tratamiento en que se adicionó N y P simultáneamente, seguida del de los tratamientos adicionados con N y la menor respuesta siempre fue en los tratamientos con P. Sin embargo, la desviación estándar de cada una de las replicas en el microcosmos ocasionó una menor claridad en la determinación del elemento limitante en la estratificación bien establecida y en la circulación y en el caso extremo, no fue posible hacer tal determinación para la estratificación tardía. En contra sentido, la menor desviación estándar entre las replicas en el mesocosmos permitió determinar claramente el elemento limitante en todos los estadios del lago. A pesar de estas diferencias, la conclusión fue la misma en las dos diferentes escalas, limitación por N, exceptuando por su puesto el bioensayo en donde no se pudo determinar la limitación.

En cuanto a la respuesta específica de las especies al enriquecimiento con nutrientes, se presentaron diferencias importantes debido al desarrollo de diatomeas en los microcosmos, incluso llegando a ser dominantes en los bioensayos correspondientes a la estratificación tardía, circulación y estratificación temprana, situación que no sucedió en los mesocosmos, en donde las especies dominantes fueron las clorofitas en los bioensayos que correspondieron a la estratificación bien establecida estratificación tardía y circulación y por último en la estratificación temprana dominaron las cianobacterias filamentosas. Es debido a una mayor relación superficie - volumen en los microcosmos que especies de como las diatomeas pueden desarrollarse favorablemente bajo estas condiciones.

Si bien los resultados obtenidos en el mesocosmos y microcosmos coinciden en cuanto a la identificación del nutrimento que limita el crecimiento fitoplanctónico la respuesta correspondiente de las especies favorecidas por el enriquecimiento fue diferente no solo a nivel especie sino a nivel grupo (i.e., diatomeas en los microcosmos y clorofilas en los mesocosmos). Con base en lo anterior, la tercera hipótesis que plantea una correspondencia directa entre los resultados obtenidos bajo condiciones experimentales de microcosmos y los obtenidos bajo condiciones experimentales de mesocosmos es aceptada parcialmente en cuanto a la indicación del nutriente limitante y rechazada en cuanto a la especies favorecidas.

10. CONCLUSIONES

Es el crecimiento diferencial con respecto al testigo, la respuesta que más claramente revela cual es el nutriente que añadido de forma individual en principio limita el crecimiento de la comunidad fitoplanctónica, en este caso fue el nitrógeno.

La adición del nutriente limitante en los bioensayos genero un incremento en la biomasa fitoplanctónica y en cuanto a la respuesta específica de las especies a los distintos enriquecimientos con nutrientes, se establece que *O. parva* se adapta mejor a condiciones de déficit de nutrientes. *M. minutum* es una especie oportunista que explota con éxito los pulsos repentinos de nutrientes. Diatomeas como *C. choctawhatcheeana* y *Ch. elmorei*, desarrollan una mayor capacidad de asimilación de nutrientes y una alta tasa de reproducción, lo cual les permite contrarrestar la desventaja que representa tener una mayor tasas de sedimentación, llegando a ser mejores competidoras, incluso por arriba de *O. parva* y *M. minutum*. Diatomeas de gran tamaño como *C. alchichicana*, tienen desventajas competitivas por su mayor tasa de sedimentación así como por sus ciclos de vida mas prolongados. Por ultimo, *N. spumigena* se adapta favorablemente a condiciones de déficit de nutrientes (N y P) y que su capacidad de fijar nitrógeno gaseoso y flotabilidad le permiten competir eficientemente en estas condiciones, manteniendo altas tasas de crecimiento, además de tener un papel importante en recirculación de nutrientes, mediante la remineralización de sus células muertas o bien por sus desechos metabólicos.

La similitud de los resultados obtenidos en los mesocosmos y microcosmos, en cuanto a la limitación de nutrientes, confirma el hecho de que el crecimiento de la comunidad fitoplanctónica esta limitado por el nitrógeno, a pesar de que la respuesta corresponde a las especies que mejor se adaptaron a las distintas condiciones de cultivo derivadas de la escala y que por consecuencia fueron las dominantes.

11. REFERENCIAS

Adame, M. F., J. Alcocer & E. Escobar. 2007. Size-fractionated phytoplankton biomass and its implications for the dynamics of an oligotrophic tropical lake. *Freshwater Biology*. doi: 10.1111/j.1365-2427.01864.x

Alcocer, J., A. Lugo, E. Escobar, M. R. Sánchez, & G. Vilaclara. 2000. Water column stratification and its implications in the tropical warm monomictic lake Alchichica, Puebla, Mexico. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 27: 3166-3169.

APHA, AWWA & WPCF. 1989. *Standard Methods for the examination of water and waste water*. 17 ed. APHA (ed). Washington. 1269 p.

Bernal-Brooks, F. W. 1998. The lakes of Michoacan (Mexico): a brief history and alternative point of view. *Freshwater Forum* 10: 20-34.

Bernal-Brooks F. W., L. Davalos-Lind & O. T. Lind. 2002. Assessing trophic state of an endorheic tropical lake: the algal growth potential and limiting nutrients. *Archiv Für Hydrobiologie* 153 (2): 323-338.

Bernal-Brooks, F. W., L. Dávalos-Lind & O. T. Lind. 2003. Seasonal and spatial variations in algal growth potential and growth-limiting nutrients in a shallow endorheic lake: Lake Pátzcuaro (México). *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 8: 83-93.

Beutel, M. W., A. J. Horne, J. C. Roth & N. J. Barratt. 2001. Limnological effects of anthropogenic desiccation of a large, saline lake, Walker Lake, Nevada. *Hydrobiologia* 46: 91-105.

Boland, K. T. & D. J. Griffiths. 1996. Water column stability as a mayor determinant of shifts in phytoplankton composition – evidence from two tropical lakes in northern Australia. In: *Perspectives in Tropical Limnology*. Eds. F. Schiemer & K. T. Boland. SPB Academic Publishing. Amsterdam. pp. 89-99.

Camacho, A., W. A. Wurtsbaugh, M. R. Miracle, X. Armengol, & E. Vicente. 2003. Nitrogen limitation of phytoplankton in a Spanish karst lake with a deep chlorophyll maximum: a nutrient enrichment bioassay approach. *Journal of Plankton Research* 25 (4): 397-404.

Carignan, R. & D. Planas. 1994. Recognition of nutrient and light limitation in turbid mixed layers: Three approaches compared in Paraná floodplain (Argentina). *Limnology and Oceanography* 39: 580-596.

Comas, A. 1996. *Las clorococales dulceacuicolas de Cuba*. Biblioteca Phicologica. Band 99. J. Cramer. Berlin. Stuttgart. 192 p.

Dávalos, L., O. T. Lind. & R. D. Doyle. 1989. Evaluation of phytoplankton-limiting factors in lake Chapala, Mexico: turbidity and spatial and temporal variations in algal assay response. *Lake and Reservoir Management* 5 (2): 99-104.

Elser, J. J., E. R. Marzolf & C. R. Goldman. 1990. Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwater of North America: a review and critique of experimental enrichments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 1468-1477.

Environmental Protection Agency (EPA) 1978. *The Selenastrum capricornutum printz. Algal assay bottle test. Experimental design, application, and data interpretation protocol*. EPA-600/9-78-018. Corvallis Environmental Research Laboratory. Oregon. 122 p.

Esteves, F. de A. 1988. *Fundamentos de limnología*. Interciencia/FINEP. Río de Janeiro. 575 p.

Filonov, A., I. Tereshchenko & J. Alcocer. 2006: Dynamic response to mountain breeze circulation in Alchichica, a crater lake in Mexico. *Geophysical Research Letters* 33, L07404, doi:10.1029/2006GL025901

Forel, F. A. 1892. *Le Léman: Monographie Limnologique. Tome I. Géographie, Hydrographie, Géologie, Climatologie, Hydrologie*. Lausanne, F. Rouge, 543 p. (Reprinted Genève, Slatkine Reprints, 1969.)

García, E. 1988. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. García. México. 217 p.

Golterman, H. L. 1983. Algal bioassays and algal growth controlling factors in eutrophic shallow lakes. *Hydrobiologia* 100: 59-64.

Hammer, U. T. 1986. *Saline Lake Ecosystems of the World. Monographiae Biologicae, Vol. 59*. Dordrecht: W. Junk Publ.

Havens, K. E., T. L. East, R. H. Meeker, W. P. Davis & A. D. Steiman. 1996. Phytoplankton and periphyton responses to *in situ* experimental nutrient enrichment in a shallow subtropical lake. *Journal of Plankton Research* 18 (4): 551-566

Hernández-Avilés, J. S., F. Bernal-Brooks, G. Velarde, D. Ortiz, O. T. Lind & L. Dávalos-Lind. 2001. The algal growth potential and algae growth-limiting nutrients for 30 of México's lakes and reservoirs. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 27: 3583-3588.

Hillebrand, H., C. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollinger & T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424.

Hutchinson, G. E. 1957. *A Treatise on Limnology. Vol I: Geography, Physics and Chemistry*. New York: John Wiley and Sons.

Hutchinson, G. E. & H. Löffler. 1956. The thermal classification of lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 42: 84-86.

Jellison, R. & J. M. Melack. 2001. Nitrogen limitation and particulate elemental ratios of seston in hypersaline Mono Lake, California, U.S.A. *Hydrobiologia* 466: 1-12.

Kalff, J. 2002. *Limnology. Inland Water Ecosystems*. Prentice Hall. USA. 592 p.

Kirkwood, D. S. 1994. Sanplus segmented flow analyzer and its applications. *Seawater analysis*. Skalar. 51 p.

Kuang, Q., Y. Bi, Y. Xia & Z. Hu. 2004. Phytoplankton community and algal growth potential in Taipinghu Reservoir, Anhui Province, China. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 9: 119-124.

Komárek, J. & J. Komárková-Legnerová. 2002. Contribution to the knowledge of planktic cyanoprokaryotes from central Mexico. *Preslia, Praha*, 74: 207–233.

Lampert, W. & U. Sommer. 1997. *Limnoecology. The Ecology of Lakes and Streams*. Oxford University Press, Oxford. 382 p.

Lerman, A., D. I. Imboden & J. R. Gat. 1995. *Physics and Chemistry of Lakes*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 334 p.

Lewis, W. M., Jr. 1983. A revised classification of lakes based on mixing. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40: 1779-1787.

Lewis, W. M. Jr. 1987. Tropical limnology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:159-84.

Lewis, W. M. Jr. 1990. Comparisons of phytoplankton biomass in temperate and tropical lakes. *Limnology and Oceanography* 35(8) 1838-1845.

Lewis, W. M., Jr. 1996. Tropical lakes: How latitude makes a difference. In: *Perspectives in Tropical Limnology*. Eds. F. Schiemer & K.T. Boland. SPB Academic Publishing. Amsterdam. pp. 43-64.

Lewis, W. M., Jr. 2002. Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 28: 210-213.

López, L. E. & L. Dávalos-Lind. 1998. Algal growth potential and nutrient limitation in a tropical river-reservoir system of the Central Plateau, México. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 1: 345-351.

Lugo, V. A. 2000. *Variación espacial y temporal de la estructura de la comunidad planctónica del Lago Alchichica, Puebla, con algunos aspectos de interacciones tróficas*. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, UNAM. México. 98 p.

Macek, M., G. Vilaclara & A. Lugo. 1994. Changes in protozoan assemblage structure and activity in a stratified tropical lake. *Marine Microbial Food Webs* 8:235-249.

Margalef, R. 1983. *Limnología*. Omega, Barcelona. 1010 p.

Melack, J. 1996. Recent developments in tropical limnology. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 26: 211-217.

Monroy, R. E. 2004. *Hidrología del embalse de Valle de Bravo, México*. Tesis de Maestría (Química Acuática). Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. México. 97 p.

Morata, S. M., A. Camacho, M. R. Miracle & E. Vicente. 2003. Asociaciones fitoplanctónicas y su periodicidad en un lago marcadamente estratificado. *Limnetica* 22 (3-4): 35-52.

Oliva, M. G. 2001. *Estudio de la variación vertical y temporal de las comunidades fitoplanctónicas durante el florecimiento de cianofíceas en el Lago Cráter Alchichica, Puebla*. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias, UNAM. México. 133 p.

Oliva, M. G., A. Lugo, J. Alcocer & E. A. Cantoral-Uriza. 2006. *Cyclotella alchichicana* sp. nov. from a saline Mexican lake. *Diatom Research* 21 (1): 81-89.

Oliva, M. G., A. Lugo, J. Alcocer, L. Peralta & M. R. Sánchez. 2001. Phytoplankton dynamics in a deep, tropical, hyposaline lake. *Hydrobiologia* 466: 299-306.

Paerl, H. W. 1996. A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments. *Phycologia* 35 (6): 25-35.

Redfield, A. C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist* 46: 205-222.

Reynolds, C. S. 1984. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press. Cambridge. 384 p.

Reynolds, C. S. 1988. Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. *In*: Sandgren, C.D. (Ed.). Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 388-433.

Reynolds, C. S. 2006. *The Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press. Cambridge. 535 p.

Simonsen, R. 1979. The diatom system: Ideas of Phylogeny. *Bacillaria* 2: 9-71.

Strickland, J.D.H. & T. R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 167: 1-311.

Sun, J. & D. Liu. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331-1346.

Talling, J. F. & J. Lemoalle. 1998. *Ecological Dynamics of Tropical Waters*. Cambridge University Press, Cambridge. 441 p.

Talling, J.F. & T.B. Talling. 1965. The chemical composition of African lake waters. *Internationale Revue der Gesamen Hydrobiologie* 50: 421-463.

Tilzer, M. M. 1983. The importance of fractional light absorption by photosynthetic pigments for phytoplankton productivity in Lake Constance. *Limnology and Oceanography* 28: 833-846.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkomung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 9: 1-38.

Vilaclara, G., M. Chávez, A. Lugo, H. González & M. Gaytán. 1993. Comparative description of crater-lakes basic chemistry in Puebla state, Mexico. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung der Limnologie* 25: 435-440.

Vinyard, W. C. 1979. *Diatoms of North America*. Mad River Press, Inc. California, 119 p.

Wetzel, R.G. 2001. *Limnology. Lake and River Ecosystems*. Academic Press, USA, 1006 p.

Wetzel, R.G. & G.E. Likens. 1979. *Limnological Analyses*. W.B. Saunders Filadelfia. 357 p.

Williams, W. D. & J. E. Sherwood. 1994. Definition and measurement of salinity in salt lakes. *International Journal of Salt Lake Research* 3: 53-63.

Wurtsbaugh, W., W.F. Vincent, R. Alfaro-Tapia, C.L. Vincent & P.J. Richerson. 1985. Nutrient limitation of algal growth and nitrogen fixation in a tropical alpine lake, Lake Titicaca (Peru/Bolivia). *Freshwater Biology* 15: 185-195.

12. ANEXOS

Anexo1. Variables limnológicas del Lago Alchichica en cuatro estadios característicos de su hidrodinámica.

	Z (m)	O. D. (mg /l)	pH (unidades)	Cond. Esp. (mS/cm)	Temp.(°C)	N2 (seg-2)
	0.1	7.74	8.66	11.57	18.72	0.00108
	1	7.56	8.74	11.67	18.62	0.00046
	2	7.41	8.79	11.68	18.61	0.00011
	3	7.37	8.79	11.69	18.6	0.00001
	4	7.33	8.81	11.66	18.6	0.00003
	5	7.31	8.82	11.68	18.59	0.00008
	6	7.28	8.82	11.67	18.59	0.00008
	7	7.24	8.82	11.69	18.58	0.00017
	8	7.23	8.82	11.71	18.55	0.00014
	10	7.18	8.84	11.67	18.46	0.00005
	11	7.16	8.84	11.65	18.41	0.00029
	12	7.1	8.84	11.68	18.23	0.00032
	13	7.06	8.84	11.68	18.19	0.00010
	14	7.05	8.84	11.68	18.17	0.00010
	15	6.99	8.85	11.68	18.13	0.00014
Estratificación	16	6.96	8.85	11.68	18.07	0.00022
Temprana	17	6.79	8.85	11.68	17.95	0.00038
(mayo-2005)	18	6.6	8.84	11.68	17.71	0.00026
	19	6.49	8.83	11.64	17.62	0.00049
	20	5.95	8.83	11.62	17.07	0.00101
	21	5.59	8.82	11.7	16.7	0.00109
	22	4	8.78	11.65	15.94	0.00115
	23	3.5	8.77	11.7	15.38	0.00069
	24	2.11	8.74	11.63	15.08	0.00029
	25	1.19	8.73	11.64	14.89	0.00002
	26	1	8.72	11.54	14.85	0.00008
	27	0.37	8.72	11.59	14.69	0.00039
	28	0	8.71	11.61	14.61	-0.00003
	29	0	8.7	11.52	14.58	0.00001
	30	0	8.7	11.58	14.57	0.00028
	35	0	8.7	11.53	14.46	0.00004
	40	0	8.69	11.52	14.4	0.00008
	45	0	8.7	11.57	14.35	0.00009
	50	0	8.69	11.61	14.34	0.00006
	55	0	8.69	11.6	14.33	-0.00001
	60	0	8.7	11.49	14.32	-0.00009
	61	0	8.7	11.46	14.32	0.00011
	62	0	8.7	11.52	14.32	0.00070
	63	0	8.71	11.59	14.32	0.00070

	Z (m)	O. D. (mg /l)	pH (unidades)	Cond. Esp. (mS/cm)	Temp.(°C)	N2 (seg-2)
	0.1	6.76	9	12.87	17.78	0.00222
	1	6.81	8.99	13.18	17.77	0.00109
	2	6.82	8.99	13.26	17.74	0.00043
	3	6.83	8.99	13.28	17.6	0.00026
	4	7.09	8.98	13.29	17.58	0.00013
	5	7.28	8.98	13.3	17.56	0.00008
	6	6.9	8.98	13.3	17.56	0.00005
	7	6.87	8.98	13.3	17.55	0.00008
	8	6.7	8.98	13.31	17.54	0.00011
	9	6.6	8.98	13.32	17.53	0.00008
	10	6.55	8.98	13.32	17.52	0.00007
	11	6.84	8.98	13.33	17.52	0.00000
	12	6.81	8.99	13.3	17.51	-0.00001
	13	6.58	8.99	13.3	17.5	0.00012
	14	6.5	8.99	13.33	17.5	0.00010
	15	6.51	8.99	13.32	17.49	0.00002
Estratificación	16	6.51	8.99	13.31	17.48	0.00003
Tardía	17	6.73	8.99	13.31	17.48	0.00007
(noviembre-2004)	18	6.8	9	13.32	17.48	0.00008
	19	6.72	9	13.32	17.46	0.00008
	20	6.49	9	13.33	17.46	-0.00006
	21	6.78	9	13.27	17.45	-0.00001
	22	6.52	9	13.29	17.44	0.00011
	23	6.48	9	13.29	17.44	-0.00002
	24	6.78	9	13.26	17.43	0.00002
	25	6.81	9	13.28	17.43	0.00019
	26	6.82	9	13.32	17.42	0.00015
	27	6.5	9	13.32	17.41	-0.00015
	28	6.46	9	13.27	17.5	-0.00012
	29	6.74	9	13.23	17.36	0.00196
	30	4.54	8.97	13.32	15.43	0.00220
	31	2.75	8.96	13.33	15.1	0.00046
	32	1.72	8.96	13.33	14.94	0.00027
	33	0.36	8.96	13.33	14.82	0.00030
	34	0.22	8.96	13.37	14.69	0.00026
	35	0	8.97	13.37	14.63	0.00015
	40	0	8.97	13.28	14.47	0.00019
	45	0	8.97	13.3	14.42	0.00011
	50	0	8.97	13.39	14.38	0.00009
	55	0	8.98	13.38	14.37	-0.00001
	60	0	8.97	13.27	14.36	0.00014
	61	0	8.97	13.3	14.36	0.00023
	62	0	8.97	13.35	14.36	0.00032

	Z (m)	O. D. (mg /l)	pH (unidades)	Cond. Esp. (mS/cm)	Temp.(°C)	N2 (seg-2)
	0.1	7.06	9.01	11.76	16	0.00277
	1	7.14	9.02	11.85	15.21	0.00109
	2	6.97	9.01	11.84	15.11	0.00025
	3	6.46	9	11.88	15.04	0.00024
	4	6.66	9	11.88	14.98	0.00018
	5	6.15	9	11.91	14.96	0.00005
	6	6.33	9.01	11.87	14.94	-0.00003
	7	6.44	9.01	11.86	14.91	0.00018
	8	6.28	9.01	11.91	14.89	0.00020
	9	6.59	9.01	11.9	14.83	0.00017
	10	5.95	9.01	11.89	14.67	0.00016
	11	5.83	9.01	11.89	14.65	-0.00004
	12	5.79	9.01	11.83	14.6	0.00004
	13	5.78	9.01	11.87	14.59	0.00016
	14	5.73	9.01	11.87	14.57	0.00007
	15	5.61	9.03	11.87	14.55	-0.00006
Circulación (febrero-2005)	16	5.28	9.03	11.81	14.53	0.00007
	17	5.17	9.03	11.87	14.51	0.00014
	18	5.1	9.03	11.85	14.52	-0.00002
	19	5.08	9.03	11.84	14.5	-0.00001
	20	5.26	9.03	11.82	14.5	0.00000
	21	5.25	9.03	11.82	14.5	0.00023
	22	5.37	9.03	11.9	14.5	0.00004
	23	5.27	9.03	11.81	14.47	-0.00016
	24	4.91	9.03	11.8	14.47	0.00016
	25	4.91	9.04	11.86	14.47	0.00024
	26	4.92	9.04	11.88	14.45	0.00003
	27	4.75	9.04	11.85	14.46	-0.00010
	28	4.71	9.04	11.81	14.43	-0.00008
	29	4.88	9.04	11.78	14.41	0.00016
	30	4.96	9.04	11.85	14.4	0.00026
	35	4.32	9.04	11.9	14.37	0.00000
	40	4.29	9.04	11.8	14.37	-0.00007
	45	4.77	9.05	11.89	14.36	-0.00014
	50	4.57	9.05	11.8	14.35	0.00011
55	3.71	9.05	11.83	14.35	0.00033	
60	3.54	9.05	11.83	14.34	0.00016	
61	3.43	9.05	11.85	14.34	-0.00005	
62	3.43	9.05	11.78	14.34	-0.00016	
63	3.42	9.05	11.82	14.34	0.00006	

	Z (m)	O. D. (mg /l)	pH (unidades)	Cond. Esp. (mS/cm)	Temp.(°C)	N2 (seg-2)
	0.1	6.49	9.02	14.22	21.11	0.00451
	1	6.77	9.04	14.19	19.73	0.00193
	2	7.05	9.05	14.23	19.6	0.00033
	3	7.11	9.06	14.23	19.55	0.00014
	4	6.89	9.06	14.23	19.51	0.00005
	5	6.54	9.07	14.2	19.48	0.00025
	6	6.88	9.07	14.23	19.31	0.00034
	7	7.06	9.07	14.23	19.26	0.00012
	8	6.81	9.08	14.22	19.22	0.00021
	9	6.54	9.08	14.2	19.03	0.00038
	10	6.68	9.08	14.2	18.84	0.00049
	11	6.38	9.08	14.2	18.58	0.00048
	12	6.13	9.08	14.19	18.36	0.00096
	13	5.76	9.08	14.15	17.61	0.00134
	14	5.37	9.09	14.15	16.96	0.00099
	15	5.2	9.08	14.12	16.49	0.00075
Estratificación	16	5.09	9.09	14.15	16.15	0.00054
Temprana	17	4.79	9.09	14.14	15.96	0.00041
(mayo-2005)	18	4.46	9.09	14.13	15.66	0.00041
	19	4.3	9.09	14.13	15.49	0.00026
	20	4.2	9.1	14.13	15.4	0.00032
	21	3.68	9.1	14.12	15.12	0.00028
	22	3.46	9.1	14.1	15.01	0.00018
	23	3.03	9.1	14.1	14.89	0.00013
	24	2.97	9.11	14.08	14.85	0.00010
	25	2.89	9.11	14.09	14.81	0.00017
	26	2.71	9.11	14.1	14.75	0.00016
	27	2.56	9.11	14.1	14.69	0.00009
	28	2.52	9.11	14.1	14.69	0.00006
	29	2.42	9.12	14.1	14.67	0.00008
	30	2.39	9.12	14.1	14.65	0.00008
	35	1.73	9.14	14.1	14.53	0.00011
	40	1.76	9.15	14.11	14.47	0.00007
	45	0.99	9.17	14.11	14.42	0.00003
	50	1.21	9.18	14.11	14.41	0.00004
	55	0.6	9.18	14.11	14.4	0.00005
	56	0.46	9.19	14.11	14.39	0.00005
	57	0.25	9.19	14.11	14.39	0.00007
	58	0	9.18	14.12	14.39	0.00007
	59	0	9.18	14.12	14.39	0.00003
	60	0	9.18	14.11	14.38	0.00005
	61	0	9.18	14.12	14.38	-0.00432
	62	0	9.18	14.11	14.38	-0.01139

Anexo 2. Diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA de una vía y *post hoc* de Tukey) de los mesocosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica. (AGP = Potencial del crecimiento algal en % respecto al testigo). (T = testigo, P = adición de fósforo, N = adición de nitrógeno, NP = adición de nitrógeno + fósforo).

Mesocosmos	Tratamiento	Diferencias significativas	AGP (%)
(F=399.89, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Establecida (julio-2004)	T	P, N, NP	
	P	T, NP	24
	N	T, NP	28
	NP	T, P, N	116
(F=532.35, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Tardía (noviembre-2004)	T	N, NP	
	P	N, NP	30
	N	T, P, NP	117
	NP	T, P, N	407
(F=87.17, n = 16, p < 0.05)			
Circulación (febrero-2005)	T	N, NP	
	P	N, NP	-5
	N	T, P, NP	17
	NP	T, P, N	22
(F=283.39, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Temprana (mayo-2005)	T	P, N, NP	
	P	T, NP	22
	N	T, NP	31
	NP	T, P, N	103

Anexo 3. Diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA de una vía y *post hoc* de Tukey) de los microcosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica. (AGP = Potencial del crecimiento algal en % respecto al testigo). (T = testigo, P = adición de fósforo, N = adición de nitrógeno, NP = adición de nitrógeno + fósforo).

Microcosmos	Tratamiento	Diferencias significativas	AGP (%)
(F=46.52, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Establecida (julio-2004)	T	P, N, NP	
	P	T, NP	17
	N	T, NP	24
	NP	T, P, N	75
(F=283.78, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Tardía (noviembre-2004)	T	N, NP	
	P	NP	17
	N	T, NP	59
	NP	T, P, N	550
(F=8.36, n = 16, p < 0.05)			
Circulación (febrero-2005)	T	N, NP	
	P	—	6
	N	T	10
	NP	T	10
(F=1.80, n = 16, p < 0.05)			
Estratificación Temprana (mayo-2005)	T	—	
	P	—	-12
	N	—	22
	NP	—	11

Anexo 4. Respuesta específica de la comunidad fitoplanctónica del Lago Alchichica a diferentes tratamientos de enriquecimiento con nutrientes (T = testigo, P = adición de fósforo, N = adición de nitrógeno, NP = adición de nitrógeno + fósforo) a dos diferentes escalas (mesocosmos y microcosmos).

Mesocosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Estratificación Establecida (julio-2004)	T	<i>Oocystis parva</i>	86 706	54
		<i>Monoraphidium minutum</i>	52 239	32
		<i>Oocystis submarina</i>	7 625	4
		<i>Nodularia spumigena</i>	13 376	8
	P	<i>Oocystis parva</i>	128 598	58
		<i>Monoraphidium minutum</i>	65 299	29
		<i>Oocystis submarina</i>	9 011	4
		<i>Nodularia spumigena</i>	15 768	7
	N	<i>Oocystis parva</i>	133 469	46
		<i>Monoraphidium minutum</i>	132 629	46
		<i>Oocystis submarina</i>	4 852	2
		<i>Nodularia spumigena</i>	14 892	5
	NP	<i>Oocystis parva</i>	153 928	47
		<i>Monoraphidium minutum</i>	148 301	45
		<i>Oocystis submarina</i>	7 625	3
		<i>Nodularia spumigena</i>	15 028	4
Microcosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Estratificación Establecida (julio-2004)	T	<i>Monoraphidium minutum</i>	101 576	49
		<i>Oocystis parva</i>	69 007	33
		<i>Oocystis submarina</i>	21 662	10
		<i>Nodularia spumigena</i>	13 306	6
	P	<i>Monoraphidium minutum</i>	177 613	58
		<i>Oocystis parva</i>	66 166	21
		<i>Oocystis submarina</i>	41 591	13
		<i>Nodularia spumigena</i>	15 324	5
	N	<i>Monoraphidium minutum</i>	204 894	61
		<i>Oocystis parva</i>	68 601	20
		<i>Oocystis submarina</i>	36 392	10
		<i>Nodularia spumigena</i>	16 880	5
	NP	<i>Monoraphidium minutum</i>	280 931	62
		<i>Oocystis parva</i>	97 422	21
		<i>Oocystis submarina</i>	43 390	10
		<i>Nodularia spumigena</i>	13 793	3

Mesocosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Estratificación Tardía (noviembre-2004)	T	<i>Oocystis parva</i>	39 618	61
		<i>Oocystis submarina</i>	9 704	15
		<i>Monoraphidium minutum</i>	8 416	13
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	6 512	10
	P	<i>Oocystis parva</i>	37 994	58
		<i>Oocystis submarina</i>	12 477	19
		<i>Monoraphidium minutum</i>	8 416	13
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	6 047	9
	N	<i>Oocystis parva</i>	58 128	59
		<i>Oocystis submarina</i>	17 329	17
		<i>Monoraphidium minutum</i>	13 350	14
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	8 838	9
	NP	<i>Oocystis parva</i>	47 737	36
		<i>Oocystis submarina</i>	30 500	23
		<i>Monoraphidium minutum</i>	18 864	14
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	35 355	26
Microcosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Estratificación Tardía (noviembre-2004)	T	<i>Oocystis parva</i>	69 007	34
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	45 357	22
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	42 693	21
		<i>Oocystis submarina</i>	20 795	10
		<i>Cymbella mexicana</i>	14 425	7
		<i>Monoraphidium minutum</i>	10 447	5
	P	<i>Oocystis parva</i>	68 195	35
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	38 379	19
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	33 378	17
		<i>Oocystis submarina</i>	17 329	9
		<i>Cymbella mexicana</i>	19 843	10
		<i>Monoraphidium minutum</i>	16 542	8
	N	<i>Oocystis parva</i>	92 551	41
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	40 705	18
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	34 930	15
		<i>Oocystis submarina</i>	22 528	10
		<i>Cymbella mexicana</i>	18 031	8
		<i>Monoraphidium minutum</i>	16 832	7
	NP	<i>Oocystis parva</i>	173 737	19
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	151 191	16
<i>Chaetoceros elmorei</i>		378 805	41	
<i>Oocystis submarina</i>		41 591	4	
<i>Cymbella mexicana</i>		122 612	13	
<i>Monoraphidium minutum</i>		46 434	5	

Mesocosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Circulación (febrero-2005)	T	<i>Oocystis parva</i>	259 754	39
		<i>Monoraphidium minutum</i>	196 768	29
		<i>Oocystis submarina</i>	64 120	9
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	146 723	22
	P	<i>Oocystis parva</i>	272 783	37
		<i>Monoraphidium minutum</i>	223 468	30
		<i>Oocystis submarina</i>	72 785	9
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	166 354	22
	N	<i>Oocystis parva</i>	328 802	31
		<i>Monoraphidium minutum</i>	423 138	40
		<i>Oocystis submarina</i>	119 575	11
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	182 716	17
	NP	<i>Oocystis parva</i>	389 691	30
		<i>Monoraphidium minutum</i>	568 828	45
		<i>Oocystis submarina</i>	114 376	9
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	186 580	14
Microcosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Circulación (febrero-2005)	T	<i>Monoraphidium minutum</i>	181 386	42
		<i>Oocystis parva</i>	119 748	27
		<i>Oocystis submarina</i>	34 659	8
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	98 027	22
	P	<i>Monoraphidium minutum</i>	178 484	33
		<i>Oocystis parva</i>	133 144	25
		<i>Oocystis submarina</i>	62 387	11
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	154 841	29
	N	<i>Monoraphidium minutum</i>	183 418	32
		<i>Oocystis parva</i>	153 846	27
		<i>Oocystis submarina</i>	65 853	11
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	162 885	28
	NP	<i>Monoraphidium minutum</i>	186 030	31
		<i>Oocystis parva</i>	160 341	27
		<i>Oocystis submarina</i>	61 520	10
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	174 388	30

Mesocosmos	Tratamiento	Especies	Biovolumen ($\mu\text{m}^3/\text{ml}$)	Aporte (%)
Estratificación Temprana (mayo-2005)	T	<i>Nodularia spumigena</i>	1 296 538	78
		<i>Oocystis parva</i>	127 461	8
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	105 141	6
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	105 834	6
	P	<i>Nodularia spumigena</i>	1 392 903	68
		<i>Oocystis parva</i>	302 010	15
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	109 168	5
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	180 267	9
	N	<i>Nodularia spumigena</i>	1 449 845	67
		<i>Oocystis parva</i>	345 850	16
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	119 011	6
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	196 549	9
	NP	<i>Nodularia spumigena</i>	1 533 069	64
		<i>Oocystis parva</i>	320 683	13
		<i>Cyclotella alchichicana</i>	307 370	13
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	169 800	7
Estratificación Temprana (mayo-2005)	T	<i>Cyclotella alchichicana</i>	441 101	56
		<i>Nodularia spumigena</i>	192 728	24
		<i>Oocystis parva</i>	79 561	10
		<i>Oocystis submarina</i>	29 460	4
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	24 063	3
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	19 771	2
	P	<i>Cyclotella alchichicana</i>	547 630	63
		<i>Nodularia spumigena</i>	179 588	21
		<i>Oocystis parva</i>	76 314	9
		<i>Oocystis submarina</i>	12 130	1
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	17 077	2
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	27 912	3
	N	<i>Cyclotella alchichicana</i>	693 485	57
		<i>Nodularia spumigena</i>	297 853	24
		<i>Oocystis parva</i>	106 353	9
		<i>Oocystis submarina</i>	27 727	2
		<i>Chaetoceros elmorei</i>	57 441	4
		<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>	34 890	3
	NP	<i>Cyclotella alchichicana</i>	722 504	61
		<i>Nodularia spumigena</i>	214 629	18
<i>Oocystis parva</i>		90 116	8	
<i>Oocystis submarina</i>		15 596	1	
<i>Chaetoceros elmorei</i>		69 861	6	
<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i>		66 291	5	

Anexo 5. Fotográfico.



Panorámica del Lago Alchichica, Puebla.



Microcosmos en condiciones de laboratorio y Mesocosmos *in situ*.



Ubicación del mesocosmos