



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE NUTRIMENTOS Y
DETERMINACIÓN DEL NUTRIMENTO LIMITANTE (N Y/O P)
SOBRE LA ASOCIACIÓN FITOPLANCTÓNICA DEL LAGO
PROFUNDO HIPOSALINO (LAGO ALCHICHICA, PUEBLA)
UTILIZANDO MODELOS EXPERIMENTALES DE MICRO Y
MESOCOSMOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

M. EN C. MARCO ANTONIO RAMÍREZ OLVERA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JAVIER ALCO CER DURAND



IZTACALA

AGOSTO 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

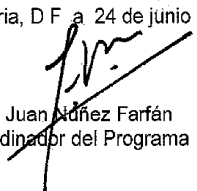
Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 3 de noviembre de 2008, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **RAMÍREZ OLVERA MARCO ANTONIO**, con número de cuenta **503012427**, con la tesis titulada. "**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE NUTRIMENTOS Y DETERMINACIÓN DEL NUTRIMENTO LIMITANTE (N Y/O P) SOBRE LA ASOCIACIÓN FITOPLANCTÓNICA DEL LAGO PROFUNDO HIPOSALINO (LAGO ALCHICHICA, PUEBLA) UTILIZANDO MODELOS EXPERIMENTALES DE MICRO Y MESOCOSMOS**", realizada bajo la dirección del (la) **DR. JAVIER ALCOCER DURAND**:

Presidente:	DRA. ROSALUZ TAVERA SIERRA
Secretario:	DR. ALFONSO LUGO VAZQUEZ
Vocal:	DR. MIROSLAV MACEK
Vocal:	DR. FERNANDO WALTER BERNAL BROOKS
Vocal:	DR. ENRIQUE ARTURO CANTORAL URIZA

De acuerdo con lo anterior, el alumno se acogió a la nueva normatividad, con base en el artículo QUINTO TRANSITORIO en apego a lo establecido en el Artículo 31 del Reglamento General de Estudios de Posgrado.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 24 de junio de 2009


Dr. Juan Muñoz Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

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

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 la libertad de desarrollo y dirección que sólo alguien con su calidad de investigador y persona pueden ofrecer. Por la paciencia, disposición y apoyo para la solución de todos los problemas durante el desarrollo de la presente investigación y formación personal. Finalmente porque me enseñó que el trabajo no está separado de la amistad y que trabajando en grupo (PILT) son la mejor compañía que desearías tener en campo y en el laboratorio (Laura, Noemí, Jorge, Elizabeth, Mireck, Rosario, Alfonso, Luis y perdón si omití a alguien).

A los miembros de mi Comité Tutorial, Drs. Rosa Luz Tavera (Facultad de Ciencias, UNAM), Miroslav Macek (FES Iztacala, UNAM) y Fernando W. Bernal-Brooks (INIRENA, UMSNH), por el apoyo y sugerencias para el desarrollo de la presente investigación. A los miembros de mi Jurado de Examen, Drs. Alfonso Lugo (FES Iztacala, UNAM) y Enrique Cantoral, por los comentarios y sugerencias realizados al presente documento.

A Erik Ramos (Programa de PCMyL, UNAM) por el apoyo en el campo y en el laboratorio aún con las diferencias ideológicas, a Laura Peralta (FES Iztacala, UNAM) por su apoyo en el campo, a Sergio Castillo (ICMyL, UNAM) por los análisis de nutrimentos y a Luis A. Oseguera (FES Iztacala, UNAM) por su apoyo en el campo y escritorio.

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa Angelica, el apoyo que siempre me ha mantenido despierto en noches de desvelo y que sin su ayuda no lo hubiese logrado, te debo tanto por el tiempo robado, por los consejos, por el apoyo incondicional y por su compañía en estos últimos seis años que ha durado esta investigación. Agradezco también por haber encontrado el amor de mi vida y vivir con ella.

A mis padres Sara Olvera Rodríguez y Pedro Ramírez Martínez que me educaron para ser mejor cada día y que nunca dejaron de apoyarme, ni rendirme hasta que termine cada uno de mis proyectos, incluyendo mi Doctorado, gracias por su ejemplo. Esta tesis también es suya.

A mis hijos Ariel Alejandro y Valeria Michelle Ramírez Silva, los dos pequeños motores de mi vida que nacieron durante esta investigación, y que cada tarde me reciben con una sonrisa sin exigir nada a cambio, a quienes les he robado horas de juego y compañía que pienso devolverles con intereses.

A mis hermanos Alvaro y Verónica que siempre han sido un apoyo en toda mi vida a pesar a veces de la lejanía y quiero compartirles un éxito más.

A mi suegra (Lourdes) por su apoyo de tantas tardes y días que sigue pasando cuidando lo más preciado que tengo, mi esposa y mis hijos.

INDICE GENERAL

	pp.
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO GENERAL	14
METAS	14
MATERIAL Y MÉTODOS	16
<i>Área de estudio</i>	16
<i>Análisis de nutrimentos</i>	17
<i>Identificación y cuantificación del fitoplancton</i>	18
<i>Bioensayos</i>	19
<i>Microcosmos</i>	19
<i>Mesocosmos</i>	24
RESULTADOS	28
Capa de Mezcla	28
<i>Nutrimentos y clorofila-a</i>	28
<i>Ensamble fitoplanctónico</i>	30
<i>Riqueza específica fitoplanctónica</i>	31
Microcosmos	32
<i>Potencial de crecimiento algal</i>	32
<i>Experimentos de enriquecimiento</i>	33
<i>Tasas de crecimiento</i>	36
<i>Ensamble fitoplanctónico</i>	37
Mesocosmos	39
<i>Potencial de crecimiento algal</i>	39
<i>Experimentos de enriquecimiento</i>	40
<i>Tasas de crecimiento</i>	41
<i>Ensamble fitoplanctónico</i>	42
DISCUSIÓN	44
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	51
APÉNDICES	61

INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y APÉNDICES

	pp.	
Fig. 1	Localización del lago Alchichica	16
Fig. 2	Diseño de microcosmos	22
Fig. 3	Diseño del mesocosmos	25
Fig. 4	Concentraciones <i>in situ</i> de clorofila <i>a</i> , nitrógeno inorgánico disuelto y fósforo soluble reactivo durante el periodo de muestreo en el lago Alchichica	29
Fig. 5	Potencial de crecimiento algal y la relación NID:FSR durante el periodo de muestreo	32
Fig. 6	Respuesta de crecimiento del fitoplancton al enriquecimiento de nutrimentos llevados a cabo en microcosmos	34
Fig. 7	Tasas de crecimiento para los distintos tratamientos realizados en microcosmos	37
Fig. 8	Potencial de crecimiento algal y durante el periodo de muestreo	39
Fig. 9	Respuesta de crecimiento del fitoplancton al enriquecimiento de nutrimentos llevados a cabo en mesocosmos	41
Fig. 10	Tasas de crecimiento para los distintos tratamientos realizados en mesocosmos	42
Tabla 1	Condiciones experimentales de bioensayos de limitación de nutrimentos en lagos mexicanos y en el mundo	9
Tabla 2	Listado taxonómico de las especies fitoplanctónicas registradas en el lago Alchichica por Oliva (2001) y en el presente estudio	30
Tabla 3	Variación temporal de la riqueza específica en la zona de mezcla del lago Alchichica	31
Tabla 4	Taxa principales de fitoplancton en las muestras iniciales y en las muestras en las que se alcanzó el crecimiento máximo al final de la incubación en microcosmos	38
Tabla 5	Taxa principales de fitoplancton en las muestras iniciales y en las muestras en las que se alcanzó el crecimiento máximo al final de la incubación en mesocosmos	43
Apéndice 1	Diferencias significativas entre los tratamientos de los bioensayos en microcosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica.	62
Apéndice 2	Diferencias significativas entre los tratamientos de los bioensayos en mesocosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica.	64

RESUMEN

Existe evidencia creciente de que la limitación por nitrógeno es muy frecuente en los lagos tropicales. Sin embargo, información de Alchichica (México), un lago salino tropical profundo, muestra que el cociente entre nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y el fósforo reactivo soluble (FRS) fluctúa ampliamente. Con el fin de elucidar el papel del nitrógeno y fósforo en la limitación del crecimiento fitoplanctónico en los lagos salinos tropicales, se presentan los resultados de una serie de experimentos de enriquecimiento con nutrientes en el ensamblado natural de fitoplancton del Lago Alchichica llevados a cabo mensual (microcosmos) o estacionalmente (mesocosmos) a lo largo de un año. Los ensayos indican que el fósforo y el nitrógeno se alternan en limitar la biomasa fitoplanctónica del Lago Alchichica. El fósforo limitó el crecimiento fitoplanctónico la mayoría del tiempo (41.7%), seguido del nitrógeno (33.3%), y ambos nutrientes (co-limitación) el resto del tiempo (25.0%). Esta alternancia entre el nitrógeno y fósforo en la limitación del crecimiento fitoplanctónico del Lago Alchichica se atribuye a una combinación de condiciones naturales (p.ej., terreno volcánico joven rico en fósforo) que favorecería la limitación por nitrógeno e impactos antropogénicos (p.ej., fertilización de terrenos agrícolas con nitrógeno) que causarían una limitación por fósforo.

ABSTRACT

There is increasing evidence that nitrogen limitation have a widespread occurrence in tropical lakes. Nonetheless, data on the deep tropical saline Lake Alchichica (Mexico) show that dissolved inorganic nitrogen (DIN) to soluble reactive phosphorus (SRP) ratio fluctuates widely. To elucidate further the role of nitrogen and phosphorus limitation on the phytoplankton growth in tropical saline lakes, we present the results of a series of nutrient enrichment experiments with natural assemblages of Lake Alchichica phytoplankton conducted monthly (microcosms) or seasonally (mesocosms) for a year. Our assays indicate that phosphorus and nitrogen alternate in limiting Lake Alchichica phytoplankton biomass. Phosphorous limited phytoplankton growth most (41.7%) of the time, followed by nitrogen (33.3%), and both nutrients (co-limitation) for the rest of the time (25.0%). This alternation in nitrogen and phosphorus responsible for phytoplankton growth limitation in Lake Alchichica is attributed to the combination of natural conditions (e.g., young volcanic terrain rich in phosphorus) that would favor nitrogen limitation and anthropogenic impacts (e.g., agricultural nitrogen fertilization) that would cause phosphorus limitation.

INTRODUCCIÓN

Los recursos, así como las densidades poblacionales del fitoplancton fluctúan tanto en el espacio como en el tiempo, lo que promueve la coexistencia de las especies y el aumento de la diversidad (Litchman y Klausmeier 2001). El término se refiere a sustancias o factores consumibles necesarios para el metabolismo basal, el crecimiento y la reproducción de los organismos y, para la mayoría de los productores primarios (incluyendo el fitoplancton), consisten principalmente en espacio, luz, carbono, fósforo, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno y azufre (Krebs 1998). El uso de los recursos por parte de cualquier organismo tiene como fin principal el mantenimiento y autopropagación de la especie, creando durante este proceso acumulaciones de materia y energía que organizadas dan lugar a células, poblaciones, comunidades y ecosistemas (Wetzel 2001).

Dentro de los procesos se tienen tres categorías: químicos, físicos y biológicos. En los primeros, la limitación por parte de los nutrientes adquiere un lugar preponderante (Reynolds 1999); la temperatura, el fotoperíodo y la mezcla de la columna de agua son los de mayor influencia dentro de los segundos (Mayer et al. 1997); mientras que los procesos biológicos, la competencia y la depredación se consideran prioritarios (Naselli y Barone 1994). Generalmente estos procesos no actúan en forma independiente, sino que están relacionados. De los procesos químicos, los nutrientes tales como el nitrógeno y el fósforo resultan de suma importancia y su escasez limita la fotosíntesis del fitoplancton (Wetzel y Lickens 2000).

En el océano, se considera al nitrógeno como el principal nutriente limitante de la producción acuática (Ammerman et al. 2003), mientras que en cuerpos de aguas epicontinentales se considera que es el fósforo (Jones et al. 1998). El paradigma del fósforo

como el factor dominante que limita la producción primaria en las aguas epicontinentales fue desarrollado por los limnólogos norteamericanos con base en el estudio de lagos templados (Elser et al. 1990). La determinación experimental de la limitación del crecimiento fitoplanctónico por parte de nutrimentos se llevó a cabo a diversas escalas, incluso consideró la adición de nutrimentos en lagos enteros (“whole-lake experiments”), los cuales mostraron el papel del fósforo como nutrimento clave en el control de la producción primaria lacustre (Schindler 1974, 1978). Estos mismos experimentos reforzaron el concepto de la carga de nutrimentos (“nutrient load”) expresada en términos cuantitativos (Vollenweider 1966, 1968, 1975) dieron origen a modelos simplificados que predicen la respuesta de lagos y reservorios para distintas concentraciones o cargas de fósforo (OECD 1982) en términos de biomasa de fitoplancton generada u otros índices relacionados (por ejemplo, la transparencia o profundidad del disco de Secchi y la concentración de clorofila-*a*).

En contraste, los estudios en lagos tropicales sugieren cada vez más que el nitrógeno que juega un papel preponderante en el control de la producción primaria lacustre (Henry et al. 1985, Wurtsbaugh et al. 1985, Dávalos et al. 1989 y Widinski et al. 2001). Aunado a lo anterior, las bajas concentraciones de nitrógeno registradas en el epilimnion de lagos tropicales profundos, el hallazgo de concentraciones altas de FRS (Fósforo Reactivo Soluble) por periodos largos, la sostenida presencia de heterocitos en cianobacterias en lagos con diferentes estatus trófico y baja tasa de nitrógeno inorgánico disuelto NID:FSR evidencian que este nutrimento es el limitante (Lewis 2002).

Existen casos registrados de patrones temporales de limitación de nutrimentos en lagos (Phillips et al. 1993, Havens 1994), así como la presencia de limitación simultánea por parte del

fósforo y del nitrógeno lo que contradice la costumbre –generalizada- de considerar que los lagos están limitados por uno u otro nutrimento (Sommer 1989), sin mencionar que la naturaleza, escasez y adición de nutrimentos en forma excesiva, no solo causa cambios en la biomasa algal, sino también cambios en la dominancia de las especies fitoplanctónicas (López y Davalos-Lind 1998).

Sommer et al. (1986) describieron estos patrones o cambios como parte del modelo del grupo de la ecología del plancton (PEG), con 24 declaraciones construidas del análisis de numerosos sistemas. Lo que sigue incluye un subconjunto de estas declaraciones que ilustran la sucesión durante un solo ciclo estacional:

Invierno

1. Resultado de la creciente disponibilidad de nutrimentos y luz, provoca un crecimiento rápido del fitoplancton hacia finales del invierno. Las especies dominantes, tales como las diatomeas, son pequeñas y tienen capacidades rápidas del crecimiento.
2. El plancton es consumido por el zooplancton, que se convierte en el taxa dominante del plancton.

Primavera

3. Una fase clara del agua ocurre, debido a que las poblaciones del fitoplancton se agotaron por la depredación creciente del zooplancton.

Verano

4. La abundancia del zooplancton disminuye como resultado de la escasa abundancia del fitoplancton y de la depredación creciente por los peces juveniles.
5. Con disponibilidad de nutrimentos creciente y la depredación por zooplancton disminuida, una comunidad diversa del fitoplancton se desarrolla.
6. A medida que el verano continúa, el alimento se agota en una orden fiable: fósforo, silicio, y después nitrógeno. La abundancia de varias especies del fitoplancton varía en lo referente a su necesidad biológica por estos nutrimentos.
7. El zooplancton pequeño se convierte en el tipo dominante de zooplancton porque son menos vulnerables a la depredación por peces.

Otoño

8. La depredación por los peces es reducida debido a disminución de temperaturas y el zooplancton de todos los tamaños aumenta en gran número.
9. Invierno
10. Temperaturas frías y resultado ligero disminuido de la disponibilidad en índices más bajos de producción primaria y de poblaciones disminuidas del fitoplancton.
11. Reproducción en las disminuciones del zooplancton debido a temperaturas más bajas y a menos presa.

Otro punto de vista, con base solamente en la concentración de nutrimentos, desarrolló una forma indirecta de inferir la limitación de la producción fitoplanctónica, la llamada proporción de Redfield (o también llamada proporción molar), la cual se basa en el supuesto de que la cantidad de átomos de carbono, nitrógeno y fósforo (106:16:1 respectivamente) es la concentración “óptima” de nutrimentos para el crecimiento de los organismos acuáticos y que cualquier desviación de estos valores indicarían limitación por uno u otro nutrimento (Redfield 1958). Esta proporción permite saber mediante la medición de concentraciones de N y P del lago en cuestión que tan lejos o cerca se encuentra del valor óptimo.

Tabla 1. Condiciones experimentales de bioensayos de limitación de nutrientes en cuerpos de agua mexicanos y en el mundo.

Tipo de Muestra (Agua)	Lago	Vol. Ensayo	Alga utilizada	Conc. de N y P (mg/L)	Nutriente limitante	Referencia
Integrada	Chapala, México	50 ml y 3.8 l (polietileno)	<i>A. vibrianaunus</i> fitoplancton nativo-64µm	1 0.5	N	Dávalos et al. 1989
Superficie	Río Grande, México	30 ml	<i>S. capricornutum</i> Fitoplancton nativo	1 1	N	López y Dávalos-Lind 1998
Superficie	Alchichica, México	20 ml	<i>S. capricornutum</i>	1 0.5	NP	Hernández et al. 2001
Integrada	Zirahuen, México	50 ml	<i>S. capricornutum</i>	1 0.05	NP	Bernal-Brooks et al. 2002
Superficie	Pátzcuaro, México	50 ml	<i>S. capricornutum</i>	1 0.5	NP	Bernal-Brooks et al. 2003
Superficie	Lewis y Clark, USA	4 l Vidrio	Fitoplancton nativo	0.1 0.1	P	Martin y Novotny 1975
Superficie	Colorado, USA	10 l polietileno	Fitoplancton nativo	0.2 0.1	N	Morris y Lewis 1988
Superficie	Binnense, USA	Vidrio	Fitoplancton nativo	6.8 0.27	N	Sommer 1989
Superficie	Calder, USA	4 l Vidrio	Fitoplancton nativo 250 µm	0.8 0.54	NP	Wehr 1989
Superficie	Dillon, USA	500 ml polietileno	Picofitoplancton nativo	0.2 0.05	P	Morris y Lewis 1992
Integrada	Joel Pool, USA	22.5 l Vidrio	Fitoplancton nativo 153 µm	3.96 0.85	N Somero P Profundo	Sterner y Hessen 1994
Superficie	Okeechobee, USA	20 l policarbonato	Fitoplancton nativo	0.5 0.05	N	Havens et al. 1996
Integrada	Tanganica, Africa	15 L polietileno	Fitoplancton nativo	1.25 0.8	P	Sarvala et al. 1999
Superficie	Mono, USA	4 l plásticos	Fitoplancton nativo	0.8 1.36	N	Jellison y Mellack 2001
Superficie	Lagos de Alaska	1 l polietileno	Fitoplancton nativo 240 µm	0.3 0.68	NP	Levine y Whalen 2001
Epi, meso e hipo oxi 19m	El Tejo, España	900 ml vidrio	Fitoplancton nativo	0.03 c/2 días 0.002	N	Camacho et al. 2003

Los estudios sobre limitación de nutrimentos presentan diversos enfoques con distintas aproximaciones experimentales (Tabla 1). Algunos autores han utilizado bioensayos con microalgas de referencia tal como *Selenastrum capricornutum* como lo indica la EPA (1978); por otro lado, algunos investigadores (p.e., Sommer 1989, Havens et al. 1996, Jellison y Mellack 2001, Camacho et al. 2003) señalan la conveniencia de realizar bioensayos con la comunidad fitoplanctónica nativa. Una explicación para tal preferencia radica en que los resultados obtenidos con la comunidad nativa son más representativos del estado del ecosistema a evaluar que el uso de una cepa de referencia que solo muestra en los resultados las variaciones de su fisiología ante diversas condiciones experimentales y ajena a la mayoría de los cuerpos acuáticos a analizar (López y Dávalos-Lind 1998). El uso de la comunidad fitoplanctónica nativa fue el criterio aplicado en la presente investigación.

Las primeras experiencias con microcosmos fueron desarrolladas en lagos templados donde han resultado efectivos para la evaluación de diversos tópicos como la determinación del nutrimento limitante, la evaluación del impacto por pesticidas y el efecto de la fertilización del agua sobre la producción primaria del fitoplancton *in situ* (Axler y Reuter 1996, Cottingham y Knigh 1995, Dodds y Priscu 1990). Los mesocosmos se han utilizado para diversos fines. Por ejemplo, Jones et al. (1998) utilizaron envases de plástico de seis litros para determinar los nutrimentos que limitan la producción de biomasa fitoplanctónica en el Río Brisbane y la Bahía Moretón (Australia). Fouilland et al. (2003) utilizaron contenedores de fibra de vidrio de 1500 litros para registrar el efecto de la luz UV sobre la asimilación de nitrógeno por una comunidad de fitoplancton.

El volumen de los bioensayos llamados mesocosmos también es variable, oscilando entre cuatro y 12,000 litros. En general existe polémica en cuanto al volumen que clasificaría a un bioensayo como microcosmos o como mesocosmos. En la presente investigación se consideró un volumen menor o igual a 1 litro como microcosmo y mayor de dos litros como mesocosmos. Estos bioensayos consisten en tomar una muestra representativa de la comunidad a evaluar y exponerla a diferentes tratamientos de concentración de nutrimentos bajo condiciones experimentales controladas, lo cual resulta ser una herramienta muy efectiva para explorar las interacciones dentro de la comunidad con el fin de predecir fenómenos naturales (Gerhart y Lickens 1975, Jones et al. 1998).

Havens et al. (1996) emplearon envases de polycarbonato (Nalgene) de 20 litros para la evaluación de la respuesta del fitoplancton y perifiton al enriquecimiento *in situ* dentro del lago Okechobee. Frost y Xenopoulos (2002) evaluaron el efecto de la luz UV sobre el fitoplancton usando bolsas de polietileno (Nasco Plastics y Cadillac Plastics) para el desarrollo de sus mesocosmos.

Es importante hacer notar que los trabajos desarrollados en ambientes templados (por ejemplo, Dodds y Priscu 1990, Cottingham y Knigh 1995, Axler y Reuter 1996) muestran que es posible extrapolar los resultados de los bioensayos tanto de micro como de mesocosmos a escala real.

Para lagos mexicanos existen un número reducido de estudios realizados con *S. capricornutum* como organismo de prueba en microcosmos siguiendo la metodología estándar de la EPA (1978). Dávalos-Lind et al. (1989) para el Lago de Chapala, el de López y Dávalos-Lind (1998) para el Río Grande de Morelia y algunos embalses a lo largo del mismo, el

de Hernández et al. (2001) en treinta lagos y presas de la Mesa Central de México y los de Bernal-Brooks et al. (2002, 2003) para los lagos de Zirahuén y Pátzcuaro, respectivamente (Tabla 1).

Los resultados son producto de muestreos con una baja frecuencia temporal (en la mayoría de los casos con uno o dos muestreos al año) por lo que en general muestran ambigüedad, con una tendencia a identificar al nitrógeno como nutriente limitante y al mismo tiempo, sugiriendo -en la mayoría de los casos- una co-limitación de nitrógeno y fósforo, la cual se define cuando ambos nutrientes (N y P) estimulan el crecimiento del tratamiento en una cantidad significativamente mayor que al adicionarlos individualmente. Lo anterior contradice el marco teórico, ya que una especie algal no puede estar limitada simultáneamente por más de un nutriente según lo expresa la Ley de Liebig (1840) la cual indica que “el nutriente que se encuentra menos disponible es el que limita la producción, aun cuando los demás estén en cantidades suficientes”.

Para el caso de Alchichica, Hernández et al. (2001) indican –con base en un solo muestreo- una respuesta positiva (200%) a la adición de ambos nutrientes y una tendencia hacia la co-limitación de la producción. Sin embargo, las proporciones NID/FRS epilimnéticas en Alchichica sugieren, de acuerdo a Sánchez (2001), una variación temporal en el nutriente limitante. Esto último parece ser más cercano a la realidad ya que Alchichica tiene una sucesión fitoplanctónica anual marcada (Oliva et al. 2001), la cual está regida en gran medida por la hidrodinámica del lago (Alcocer et al. 2000), y probablemente regulada -al menos parcialmente- por la proporción biodisponible de ambos nutrientes (N y P). La sucesión en Alchichica indica una dominancia de las bacilariofitas, clorofitas y pequeñas cianobacterias en el período de

circulación. Cuando el cuerpo de agua se mantiene estratificado, dominan las cianofitas y clorofitas coloniales; sin embargo dentro de esta etapa existen diferencias. Al principio de la estratificación -estratificación temprana- se presenta un florecimiento de la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Nodularia spumigena*, lo que sugiere condiciones de deficiencia de nitrógeno; durante la estratificación bien establecida dominan las especies de pequeño tamaño como *Monoraphidium minutum*, *Synechocystis aquatilis*, *Cyclotella choctawhatcheeana* y *Oocystis parva*, mientras que durante la estratificación tardía es *Chaetoceros elmorei* la más abundante, y en menor medida *M. minutum*, *S. aquatilis* y *C. choctawhatcheeana* (Oliva et al. 2001).

Adicionalmente, las cianobacterias fijadoras de nitrógeno parecen jugar un papel importante en la dinámica de este nutrimento en Alchichica (Falcón et al. 2001), ya que las tasas de fijación de nitrógeno de las cianobacterias asociadas a las “tufas” (estromatolitos) disminuyen después del florecimiento de *N. spumigena*, lo cual sugiere una respuesta estacional a la biodisponibilidad de nitrógeno, por lo menos cerca de la zona litoral que es donde están ubicados los estromatolitos.

Sin embargo, la información disponible hasta el momento no responde a la interrogante de si la sucesión fitoplanctónica observada en Alchichica es un producto de la limitación de nutrimentos y si esta limitación está dada por uno solo o si existe una alternancia en la limitación entre el nitrógeno y el fósforo. Con base en lo anterior en el presente estudio se propusieron las siguientes hipótesis.

HIPÓTESIS

- H₁. La disponibilidad de nutrimentos (P y N) varía temporalmente y está regida en gran medida por los períodos críticos de circulación-mezcla (estratificación temprana, plena y tardía) de la columna de agua. Por lo anterior, existirá una alternancia en el elemento limitante de la producción primaria. El nitrógeno limitará el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica durante la estratificación temprana, mientras que el fósforo será el limitante durante el resto de la estratificación; finalmente, durante el período de circulación del lago no existirá limitación alguna.
- H₂. Los resultados obtenidos experimentalmente en los microcosmos serán similares a los de los mesocosmos por lo cual los primeros, realizados en laboratorio, podrán ser extrapolados a los realizados en el campo.
- H₃. La sucesión fitoplanctónica en Alchichica es consecuencia, en gran medida, de la limitación de recursos, regidos principalmente por la hidrodinámica del cuerpo de agua.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la adición de nutrimentos y determinar si el N es el nutrimento que limita el crecimiento de la asociación fitoplanctónica del Lago Alchichica.

METAS

- a) Analizar la variación temporal natural de la concentración de nitrógeno y fósforo en el lago Alchichica.

- b) Estudiar la dinámica temporal de la composición fitoplanctónica (composición) en el lago Alchichica.
- c) Evaluar la respuesta de una muestra de la comunidad fitoplanctónica nativa en condiciones experimentales de microcosmos a la adición de nutrimentos.
- d) Evaluar la respuesta de una muestra de la comunidad fitoplanctónica nativa en condiciones experimentales de mesocosmos a la adición de nutrimentos.
- e) Relacionar las variaciones del fitoplancton con los cambios temporales de disponibilidad de nutrimentos tanto en los bioensayos como en el lago.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Alchichica es un lago-cráter de aguas salinas ($\approx 8.5 \text{ g l}^{-1}$) ubicado en la región central de México a una altitud de 2,350 m sobre el nivel del mar. Tiene forma casi circular (Fig. 1) con 62 m de profundidad máxima (profundidad media 40.9 m), un área superficial de 2.3 km^2 , un volumen de $94,214,080 \text{ m}^3$ y una longitud máxima de 1.8 km (Filonov et al. 2006).



Fig. 1. Localización del Lago Alchichica. (Nótese que el lago está rodeado de terrenos con uso de suelo agrícola). (Tomado de Google Earth).

El agua tiene un pH básico cercano a 9 y la alcalinidad total es de 37 meq l^{-1} ; los iones más importantes son el sodio y el cloro, aunque los carbonatos y bicarbonatos también son abundantes (Vilaclara et al. 1993).

El clima es templado seco con una temperatura media anual de 12.9°C y una precipitación pluvial anual entre 400-500 mm; la evaporación es alta (1,690 mm) y la lluvia se presenta de mayo a septiembre, al igual que las máximas temperaturas, mientras que la temperatura media mensual es de 14.5-15.4°C (García 1988, Adame et al. 2008).

Alchichica se clasifica como un lago monomítico cálido con un período de mezcla durante la sequía (Alcocer et al. 2000). En el periodo de estratificación se han reconocido tres etapas: estratificación temprana, plena y tardía. Los nutrientes tienen una dinámica ligada a los periodos de mezcla y estabilización de la columna de agua, registrándose bajas concentraciones en el epilimnion y con valores mayores en el hipolimnion durante la estratificación, mientras que durante la mezcla las concentraciones son homogéneas en toda la columna de agua. El hipolimnion es anóxico a lo largo de la mayor parte de la estratificación. Los procesos de mezcla y estratificación de la columna de agua son los mecanismos más importantes para la definición del comportamiento biológico y de nutrientes en Alchichica (Alcocer et al. 2000).

Análisis de nutrientes

Se tomaron muestras de agua compuesta procedente de la zona o capa de mezcla con periodicidad mensual durante un ciclo anual. Las muestras de agua para la determinación de fósforo reactivo soluble (FRS/P- PO_4^{3-}) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID/ $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- + \text{NH}_3$) se filtraron *in situ* con un filtro de 0.45 μm luz de malla para eliminar plancton y materia orgánica suspendida, el agua filtrada se depositó directamente en viales de plástico lavados y enjuagados con agua desionizada, donde se mantuvieron en oscuridad y a baja temperatura

hasta su determinación en el laboratorio. Los análisis se realizaron siguiendo métodos estándar (Strickland y Parsons 1972) adaptados para su uso en un sistema autoanalizador de flujo segmentado (SFA) Skalar Sanplus (Føyn et al. 1981).

Identificación y cuantificación del fitoplancton

Se colectaron mensualmente durante un año una muestra de agua compuesta procedente de la capa de mezcla con el uso de una botella Van Dorn (Morris y Lewis 1988), lo que permitió obtener una muestra representativa de la comunidad fitoplanctónica de la zona pelágica, misma que se fijó con una solución de Lugol ácido a una concentración final de 1%, para luego proceder en el laboratorio a la determinación de las especies presentes mediante el uso de claves taxonómicas especializadas (p.e., Smith 1950, Prescott 1962).

Las muestras de fitoplancton para cuantificación se fijaron con lugol ácido al 1% y para el conteo se siguió el método de Uthermöhl (1958) con modificaciones, las cuales consistieron en colocar muestras de agua de entre 20 y 50 ml (dependiendo de la densidad fitoplanctónica) en cámaras cilíndricas dejándose sedimentar por un periodo de 24 h, para luego proceder a su cuantificación con ayuda de un microscopio invertido, normalmente se cuenta hasta llegar a un número definido de células (100), en nuestro caso durante la cuenta se revisaron y contabilizaron todas las células contenidas como mínimo en 10 campos de cada muestra, debido a que pruebas previas indicaron que *Monoraphidium minutum* puede ser muy abundante y la revisión de pocos campos subrepresentaba al resto de las especies, además redujo la desviación estándar para obtener una precisión de conteo de $\pm 10\%$ dentro del 95% de los límites de confianza.

Bioensayos

Las pruebas de limitación de nutrientes se realizaron siguiendo dos aproximaciones diferentes.

- 1) Bioensayos de 1 litro que en lo sucesivo se denominarán “microcosmos”, con una muestra representativa de la comunidad algal del Lago Alchichica. Los microcosmos se realizaron en el laboratorio.
- 2) Bioensayos de 20 litros que en lo sucesivo se denominarán “mesocosmos”, con una muestra representativa de la comunidad algal del Lago Alchichica. Los mesocosmos se realizaron en el lago directamente.

Microcosmos

La muestra experimental de agua integrada se obtuvo empleando una bomba de diafragma marca Jabsco modelo 36680(12V, 7-10A, 20.8LPM) para evitar el daño mecánico a los organismos, y fue procedente de la capa de mezcla, tomándose cada 5 m desde la superficie hasta el fondo de la misma, se mezcló y depositó en un contenedor de plástico previamente limpio y mantenido en condiciones de oscuridad y baja temperatura hasta el momento de desarrollar los experimentos de microcosmos en el laboratorio. Los bioensayos se iniciaron lo antes posible (i.e., entre 3 y 4 horas después de la toma de muestra).

La muestra se filtró a través de una malla de 63 μm para eliminar el zooplancton filtrador grande, el cual es capaz de alimentarse del fitoplancton sujeto experimental de los bioensayos.

Preparación del material para los microcosmos

Para los experimentos se utilizaron matraces de vidrio de un litro, los cuales fueron previamente cepillados, lavados con un detergente sin fósforo y enjuagados con agua corriente. Posteriormente, se volvieron a lavar con una solución de HCl al 10% con agitación y se neutralizaron con una solución de carbonato de sodio saturado. Se volvieron a enjuagar pero ahora con agua bidestilada. Una vez limpios, los matraces fueron secados en un horno a una temperatura de 50°C y posteriormente esterilizados en un autoclave a 1.21 kg cm^2 y a 121°C por 20 minutos. Los matraces se dejaron enfriar y se almacenaron en alacenas cerradas hasta su uso (EPA 1978).

Preparación de medios

Para cada mes se corrieron en forma paralela cuatro tratamientos, cada uno por cuadruplicado. Los tratamientos fueron:

1. Prueba control o blanco (sin adición de nutrimentos)
2. Adición de fósforo
3. Adición de nitrógeno
4. Adición de nitrógeno y fósforo

La concentración promedio anual de nutrimentos registrada para Alchichica por Oliva et al. (2001) es de 0.2 mg L^{-1} de nitrógeno como nitratos y 0.04 mg L^{-1} de fósforo como fósforo soluble reactivo. Para el presente experimento se consideró adecuado enriquecer los microcosmos mediante la adición de K_2HPO_4 a razón 0.05 mg l^{-1} para el enriquecimiento por fósforo y para el nitrógeno se utilizó una solución de NaNO_3 a 0.20 mg L^{-1} , y en el caso del tratamiento de adición nitrógeno y fósforo se agregaron ambas soluciones. En el testigo no se agregaron nutrimentos.

Tales concentraciones de nutrimentos corresponden en el caso de fosfatos a la misma concentración y el de nitratos ligeramente menor a las recomendadas por la EPA (1978), las cuales, permiten a las microalgas involucradas en el bioensayo obtener un exceso de nutrimentos y un crecimiento mayor con respecto al control.

Incubación

Los microcosmos fueron incubados en posición vertical sobre un agitador orbital (Fig. 2) que proporcionó agitación constante a 50 rpm para evitar que el fitoplancton se sedimentara; iluminados con luz blanca fluorescente ($120 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) valor medio de luz de saturación para la fotosíntesis (Lewis, 1987). El fotoperíodo de 12:12 (luz:oscuridad) y la temperatura de los cultivos se mantuvo a $18 \pm 1^\circ\text{C}$, dichas condiciones emularon a las del lago, inclusive corresponden a la temperatura promedio anual registrada en la capa de mezcla de Alchichica (Alcocer et al. 2000).



Fig. 2. Diseño de microcosmos. (Nótese su ubicación sobre un agitador orbital y las condiciones de iluminación artificial).

Lecturas de clorofila-*a*

El crecimiento algal fue medido mediante la extracción de una alícuota diaria de 5 ml, a la cual se le realizó una lectura fluorométrica (fluorescencia en vivo) de los cambios de concentración de clorofila-*a* en vivo hasta el momento en el cual las lecturas comenzaron a declinar. De acuerdo a los experimentos de Hernández et al. (2001), el periodo es de alrededor de cinco días. Para determinar la clorofila-*a* se empleó un fluorómetro digital de campo marca

Turner Designs modelo Aquafluor. Las lecturas se realizaron cada 24 h por quintuplicado por réplica y cada lectura considerando que el resultado es en sí un promedio de 5 lecturas que hace automáticamente el fluorómetro; las concentraciones que se expresaron como μg de clor- $a \text{ l}^{-1}$ (EPA 1978).

En el presente estudio se consideró que no había limitación cuando el crecimiento en los tratamientos enriquecidos no fue significativamente diferente del control. La limitación por N o P se determinó solamente cuando alguno de estos tratamientos crece significativamente por encima del control. Existió co-limitación cuando ni el tratamiento con adición de N ni con adición de P estimularon el crecimiento fitoplanctónico más allá que el control, mientras que el tratamiento con adición de N+P si lo hizo.

En forma complementaria se tomaron muestras de agua de cada bioensayo al inicio y al final de cada experimento para la identificación del fitoplancton presente.

Potencial de Crecimiento Algal (PCA) y Tasas de crecimiento

El potencial de crecimiento algal (PCA) fue expresado como el incremento en Clor-a al momento de dar por terminados los experimentos y se calculó como la concentración final menos la concentración inicial. Por otro lado, para el cálculo de la tasa de crecimiento (T.C.) se consideró como el cambio de la biomasa del ensamblado fitoplanctónico en el periodo de tiempo que duraron los experimentos y se expresó como la proporción de cambio respecto a la concentración de Clor-a al inicio del experimento de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{PCA} = (\text{Clor-a final} - \text{Clor-a inicial}) / \text{Clor-a inicial}.$$

Mesocosmos

Selección de recipientes para los mesocosmos y diseño

Se consideró el uso de bolsas de polipropileno como lo sugieren Frost y Xenopoulos (2002) ya que, entre otras ventajas, tienen menor costo y facilidad de manejo. Las bolsas de polipropileno presentan las siguientes características:

- Las bolsas nuevas resultan estériles, son altamente ligeras y moldeables.
- No absorben ni liberan sustancias.
- Resultan inocuos para organismos vivos.
- Tienen alta resistencia.
- Muestran dureza aceptable de su superficie y resistencia a químicos.
- Son incoloros y con una alta transparencia.

Respecto a este último punto, se midió la radiación solar afuera (testigo) y al interior de las bolsas con el uso de fotómetros. Los resultados indicaron que no hay diferencias significativas entre la intensidad lumínica al exterior y al interior de las bolsas.

Para sostener las 16 réplicas requeridas para este estudio se diseñó una estructura metálica (Fig. 3a) siguiendo las recomendaciones de Havens et al. (1996). Adicionalmente, se utilizaron soportes cilíndricos de PVC para sostener los mesocosmos en la estructura con una tapa de acrílico que evitara la incidencia de luz UV directa, además del ingreso de agua y/o polvo con nutrimentos que pudieran alterar los bioensayos (Fig. 3b). Las bolsas de polipropileno consideradas en este caso para constituir los mesocosmos fueron de 15 litros de capacidad (Fig. 3c). Se llevaron a cabo cuatro experimentos a lo largo del ciclo anual en los períodos

característicos de la hidrodinámica del lago: circulación (febrero 2004) y estratificación temprana (abril 2004), plena (julio 2004) y tardía (noviembre 2004).

Tratamientos

En cada experimento se corrieron cuatro tratamientos en forma paralela, cada uno por cuadruplicado. Los tratamientos considerados son: 1) prueba control o blanco (sin adición de nutrimentos), 2) adición de fósforo, 3) adición de nitrógeno y 4) adición de nitrógeno y fósforo.

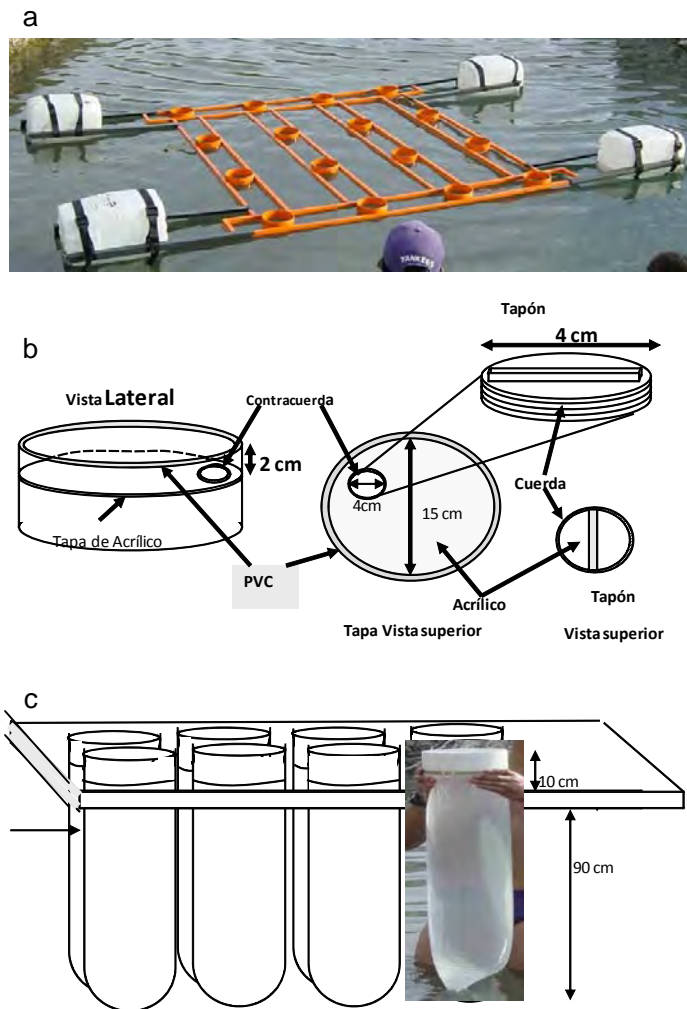


Fig. 3. Diseño del mesocosmos. a) Estructura metálica diseñada para sostener las 16 mesocosmos. b) Diagrama del soporte de PVC y tapón de acrílico diseñado para colocar los mesocosmos en la estructura metálica. c) Mesocosmos con soporte y tapón colocados.

Desarrollo de mesocosmos

En cada fecha de muestreo (febrero, abril, julio y noviembre del 2004) la muestra se obtuvo empleando una bomba de diafragma marca Jabsco modelo 36680 (12V, 7-10A, 20.8 LPM) para evitar daño mecánico a los organismos. Se colectó una muestra integrada de 320 litros de agua procedente de la zona de mezcla del lago, la cual se filtró a través de una malla con una apertura de poro de 63 μm para eliminar al zooplancton filtrador grande. Una vez colocados los mesocosmos sobre la estructura de flotación, ésta fue arrastrada dentro del lago hasta su posición fija en una pequeña bahía, en donde se procedió a llenar cada mesocosmos con 20 litros de muestra integrada de agua, para luego añadir los nutrientes correspondientes a cada prueba respectiva, después de lo cual permanecieron expuestos a las condiciones ambientales naturales del lago como lo sugieren Havens et al. (1996).

La ubicación de la estructura presentó una profundidad de más de 10 m con lo cual se garantizó que los mesocosmos estuvieron sujetos a condiciones pelágicas normales del lago (temperatura, iluminación), lo que favoreció la agitación de los mesocosmos y la suspensión de las microalgas dentro de los bioensayos.

Al inicio del experimento y cada 24 horas se tomaron alícuotas de 20 ml de cada mesocosmos para medir la concentración de clorofila-a por quintuplicado mediante fluorescencia *in vivo*. Se utilizó un fluorómetro digital de campo marca Turner Designs modelo Aquafluor. El experimento continuó hasta que las concentraciones de clorofila-a comenzaron a disminuir lo cual, de acuerdo a otros experimentos (Cottingham y Knigth 1995, Dodds y Priscu 1990), se esperaba fuera de al menos tres días. A pesar de lo anterior, el periodo de lecturas se alargó de cinco a tres días.

En forma adicional se tomaron muestras de agua de cada mesocosmos al inicio y al final del experimento en las cuales se identificaron y cuantificaron las especies fitoplanctónicas presentes.

Los resultados de concentración de clorofila-a 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).

RESULTADOS

Los experimentos de enriquecimiento con nutrientes (doce en microcosmos y cuatro en mesocosmos) se llevaron a cabo entre febrero de 2004 y enero de 2005. En este periodo se registró una gama amplia de condiciones *in situ* de la capa de mezcla del lago Alchichica como se describe a continuación.

CAPA DE MEZCLA

Nutrientes y clorofila-*a*

Las concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) fluctuaron de 0.69 a 3.80 μM , el fósforo soluble reactivo (FSR) de 0.114 a 0.639 μM y la concentración de clorofila-*a* (Clor-*a*) entre 0.24 y 2.15 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Fig. 4). La profundidad de la capa de mezcla varió de 15 m y hasta 60 m (toda la columna acuática), con un promedio de 27 m.

Las concentraciones de nutrientes y Clor-*a* en la capa de mezcla (Fig. 4) estuvieron asociadas con la hidrodinámica del lago, esto es, los periodos de circulación y estratificación. Las concentraciones de NID, FRS y Clor-*a* fueron comparativamente más altas durante la mezcla y más bajas a lo largo de la estratificación. Las mayores concentraciones de Clor-*a* se encontraron en el periodo de mezcla (fines de diciembre a febrero) y estuvieron relacionados con el florecimiento invernal de diatomeas (Alcocer y Lugo 2003). Las concentraciones disminuyeron durante el resto del año, durante la estratificación. En mayo, la concentración de clorofila mostró un ligero aumento asociado con el florecimiento de *Nodularia spumigena*, el cual usualmente se presenta en la estratificación temprana (Alcocer y Lugo 2003).

El FRS alcanzó las concentraciones más altas durante la circulación y principio de la estratificación (febrero a abril). Después del florecimiento de cianobacterias en mayo, el P disminuyó y se mantuvo bajo a lo largo del período de estratificación; éste aumentó nuevamente en enero al momento de presentarse la circulación. El NID disminuyó notablemente desde febrero (la segunda concentración más alta) hasta abril (la concentración más baja). Acoplado con el florecimiento de las cianobacterias, el NID aumentó otra vez en mayo. De mayo a diciembre las concentraciones del NID variaron entre 2.2 y 0.8 μM . En enero el NID aumentó otra vez durante el periodo de mezcla.

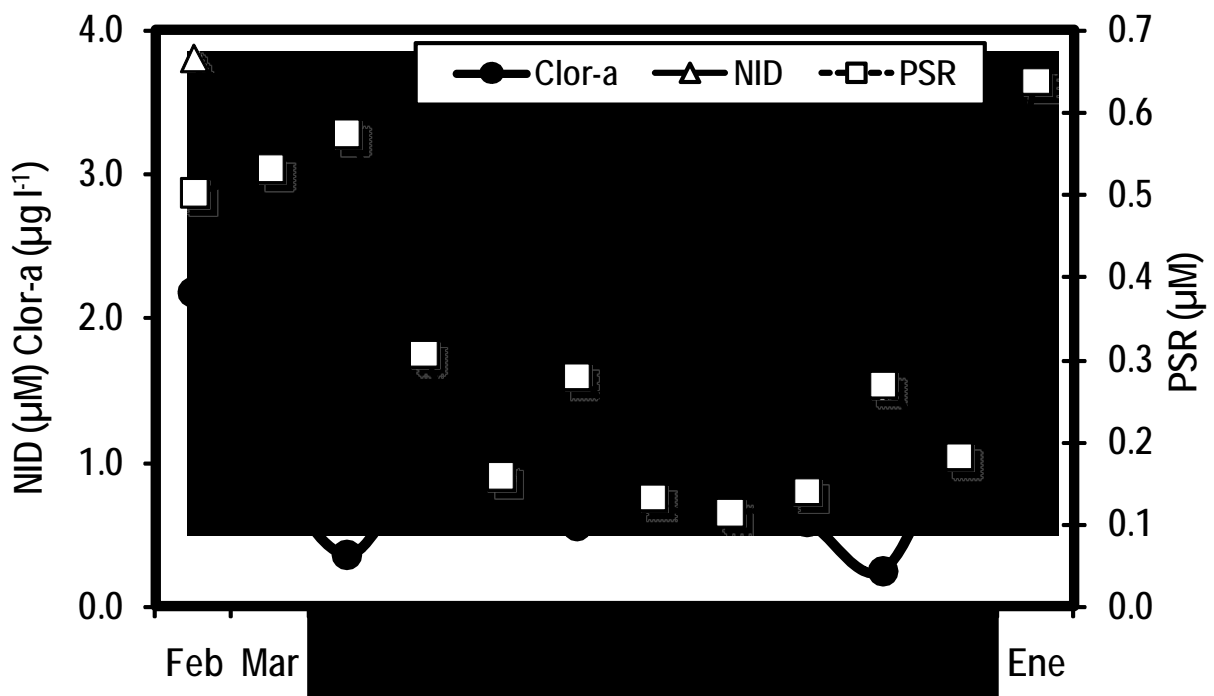


Fig. 4. Concentraciones *in situ* de clorofila *a* (Clor-a), nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo soluble reactivo (FRS) durante el periodo de muestreo en el lago Alchichica. (La barra gris indica el periodo de estratificación).

Ensamble fitoplanctónico

Las especies fitoplanctónicas encontradas durante los muestreos habían sido reportadas con anterioridad para el lago Alchichica por Oliva et al. (2001) (Tabla 2). De las 21 especies registradas tan solo se encontraron 10 de ellas en las muestras analizadas; adicionalmente se encontró una especie de *Oocystis* que no pudo ser identificada y que difiere de las reportadas (i.e., *O. parva* y *O. submarina*) previamente por Oliva et al. (2001). En consecuencia, la riqueza específica ascendió a un total de 11 especies. Oliva et al. (2006) indican que la especie identificada como *Cyclotella quillensis* en Alchichica, es actualmente *C. alchichicana*.

Riqueza específica fitoplanctónica

La riqueza específica máxima fue de 8 y la mínima de 3. Se observaron dos etapas, la primera de riqueza específica más elevada (7.0 ± 0.7) durante la primera parte del año (febrero a junio) y la segunda con menor riqueza específica (5.8 ± 2.2) de julio a enero.

Solo *M. minutum* estuvo presente todo el periodo de muestreo seguido de *O. submarina* y luego por *O. parva* que se presentaron en 11 y en 10 ocasiones; respectivamente. El resto de las especies se encontraron en $\leq 50\%$ de los muestreos y tanto *S. aquatilis* como *N. spumigena* solo se registraron en un muestreo (Tabla 3).

Tabla 2. Listado taxonómico de las especies fitoplanctónicas registradas en el lago Alchichica por Oliva et al. (2001) y en el presente estudio.

Oliva et al. (2001)	Presente estudio
<i>Anomoeoneis</i> sp.	-
<i>Chaetoceros elmorei</i> Boyer, 1914	+
<i>Chroococcus dispersus</i> Lemmermann 1904	-
<i>Cocconeis placentula</i> Grunow 1884	+
<i>Cryptomonas ovata</i> Ehrenberg 1838	+
<i>Cyclotella choctawhatcheeana</i> Prasad 1990	-
<i>Cyclotella quillensis</i> Bayley 1922 / <i>C. alchichicana</i> Oliva et al. 2006	+
<i>Cymbella mexicana</i> (Ehrenb.) Cleve	-
<i>Diploneis pseudovalis</i> Hustedt 1930	-
<i>Epithemia argus</i> Kutzing 1844	-
<i>Gomphonema olivaceum</i> Brebisson 1838	-
<i>Gomphosphaeria lacustris</i> Chodat 1898	-
<i>Merismopedia tenuisima</i> Lemmermann 1898	-
<i>Monoraphidium minutum</i> Kom Legn 1969	+
<i>Nodularia spumigena</i> Mertens et Bornetel 1886	+
<i>Oocystis parva</i> W y G. S. West 1898	+
<i>Oocystis submarina</i> Lagerheim 1886	+
<i>Oscillatoria</i> sp.	-
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	-
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauv 1992	+
<i>Suriella striatula</i> Turpin 1828	-

Tabla 3. Variación temporal de la riqueza específica en la zona de mezcla del lago Alchichica.

Especie	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Frec.
<i>C. choctawhatcheeana</i>	1		1	1					1	1			5
<i>C. alchichicana</i>	1	1	1		1				1			1	6
<i>C. placentula</i>	1	1			1								3
<i>C. ovata</i>	1	1	1		1								4
<i>Ch. elmorei</i>			1	1	1				1				4
<i>M. minutum</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	12
<i>N. spumigena</i>				1									1
<i>O. parva</i>	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1		10
<i>O. submarina</i>	1	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	11
<i>S. aquatilis</i>				1									1
<i>Oocystis</i> sp.					1	1	1	1					4
S	7	6	7	7	8	3	4	3	6	4	3	3	

MICROCOSMOS

Potencial de crecimiento algal

El potencial de crecimiento algal (PCA) expresado como el incremento en *Clor-a* (concentración final – concentración inicial) en los tratamientos control se muestra en la Figura 5. Los nutrientes disponibles en la zona de mezcla estimularon el crecimiento del fitoplancton nativo en diez de los doce casos posibles. El Lago Alchichica estimuló el crecimiento del fitoplancton de hasta $5.76 \mu\text{g Clor-a l}^{-1}$.

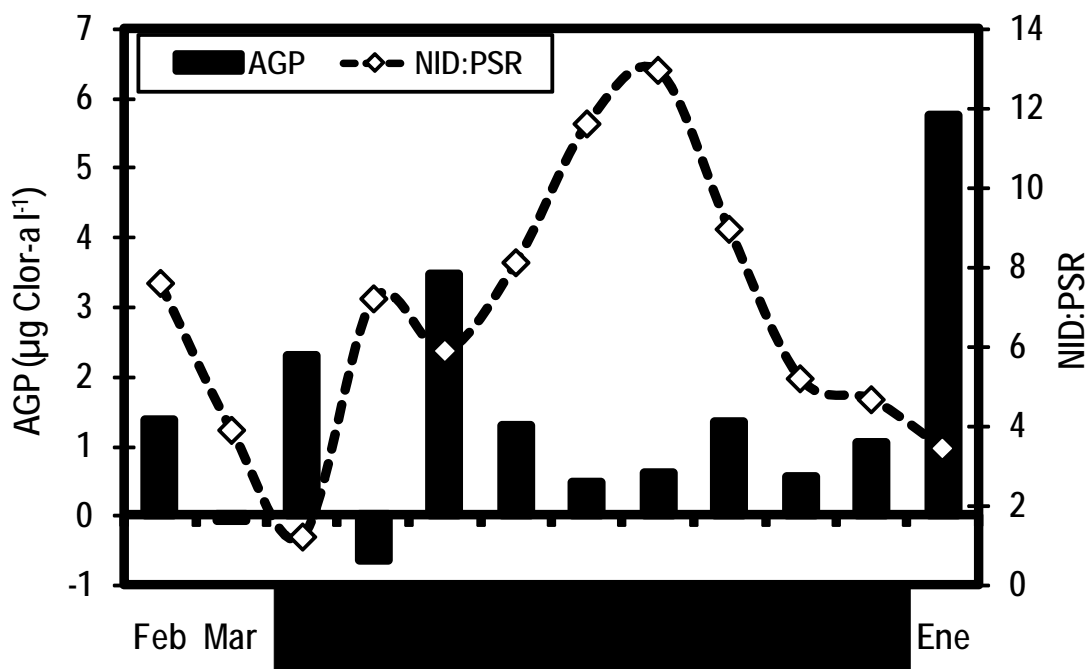


Fig. 5. Potencial de crecimiento algal (PCA) y cociente de NID:FSR durante el periodo de muestreo. (La barra gris indica el periodo de estratificación).

Las regresiones lineales mostraron un bajo r^2 entre el PCA y el NID (0.0047), el FRS (0.1562) y DIN:FRS (0.1562). La R^2 más "alta" sugiere limitación por P. A pesar de lo anterior, los nutrientes disponibles permitieron el crecimiento del fitoplancton nativo en diez de los doce casos posibles. La explicación más probable a esta aparente controversia es que el control de

descendente (top-down) por parte del zooplancton herbívoro sea suficientemente alto como para evitar la utilización total de los nutrientes disponibles. Al respecto y de acuerdo a Lugo et al. (2000), la abundancia del copépodo (i.e., *Leptodiptomus novamexicanus* Herrick, 1895) muestra un patrón acoplado cercanamente a la del fitoplancton, apoyando la idea de que la herbivoría juega un papel importante en el control del crecimiento de la biomasa fitoplanctónica.

El presente estudio no muestra un patrón estacional respecto al PCA del lago Alchichica. Se encuentran valores de PCA por encima y por debajo del promedio de forma alternada en ambas estaciones (Fig. 5).

Experimentos de enriquecimiento

A través del periodo de muestreo, la clorofila se incremento en los tratamientos con N+P a niveles significativamente ($p < 0.05$) diferentes de los controles (Fig. 6, Apéndice 1). Las algas en el tratamiento N+P crecieron en promedio de $3.85 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ (intervalo de 0.34 a $8.68 \mu\text{g}$), mientras que en el tratamiento de P crecieron en promedio $2.08 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ (0.12 a 7.46) y aquellos en el tratamiento de N crecieron en promedio $2.10 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ (-0.54 a $6.97 \mu\text{g}$).

En los experimentos de febrero, marzo, mayo, junio y octubre, el crecimiento en los tratamientos con P y con N+P fue significativamente más alto ($p = 0.05$) que en los controles y los tratamientos con adición de nitrógeno, indicando claramente que el fósforo fue el elemento limitante en estos meses (Fig. 6). En el resto de los muestreos, el crecimiento en los tratamientos con P no fue diferente ($p = 0.05$) de los tratamientos control. La adición de N

también causo un crecimiento fitoplanctónico significativamente mayor ($p = 0.05$) que el de los controles durante abril, agosto, diciembre y enero. De cualquier manera, ninguno de los tratamientos con N desarrolló un crecimiento de fitoplancton comparable a los crecimientos obtenidos en los tratamientos N+P, sugiriendo que siempre existe una ligera co-limitación con P durante estos meses de limitación por N. En julio, septiembre y noviembre, solo las adiciones con N+P estimularon un crecimiento de fitoplancton significativamente mayor ($p < 0.05$) que en los controles, indicando una co-limitación por ambos nutrientes durante esos meses.

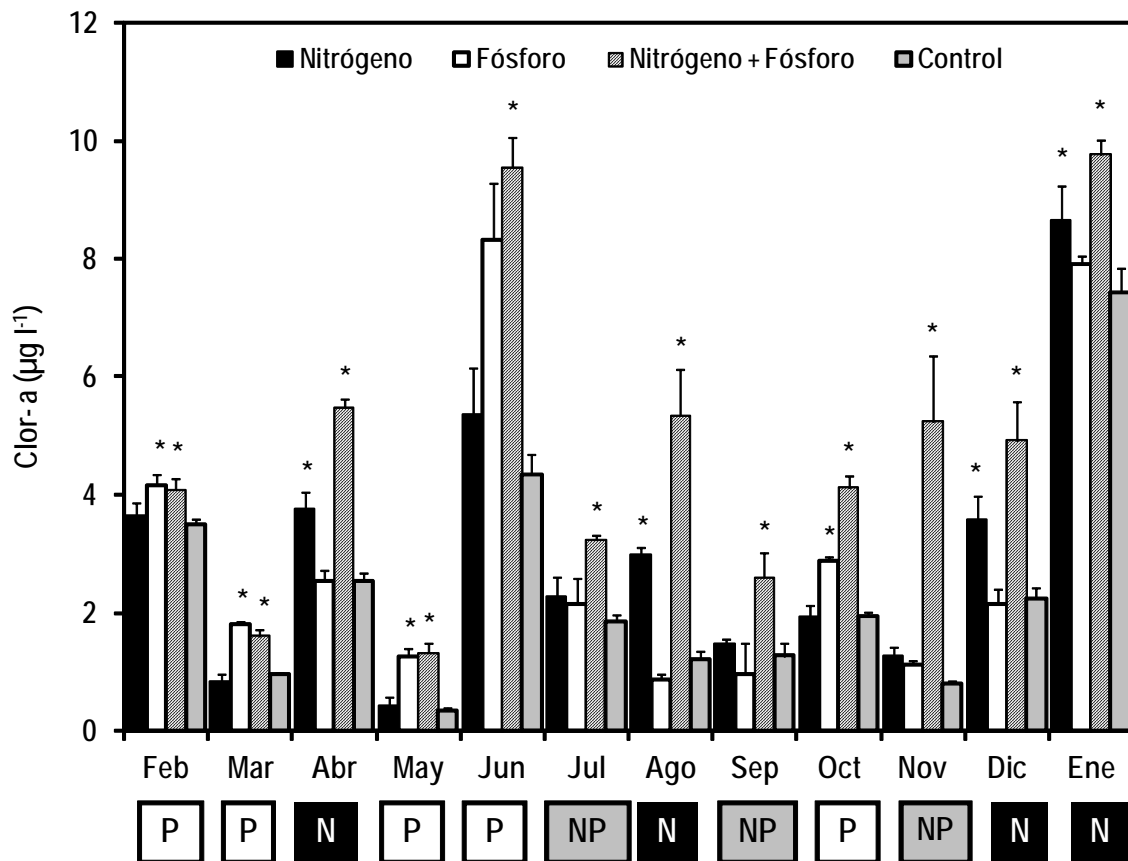


Fig. 6. Respuesta de crecimiento del fitoplancton al enriquecimiento de nutrientes llevados a cabo en microcosmos. Respuestas obtenidas como fluorescencia de clorofila-*a*. (Las barras de error indican 1 DE de la media de las tratamientos). (Asteriscos indican diferencias significativas $-p < 0.05-$ de los controles). En la columna inferior, N indica limitación por nitrógeno, P indica limitación por fósforo y NP indica co-limitación.

La co-limitación se presentó en los meses de julio, septiembre y noviembre (i.e., 25% de los casos). Cuando el tratamiento con P estimuló el crecimiento y el N+P lo estimuló aún más (i.e., febrero, marzo, junio y octubre, 41.7% de los casos), entonces el P fue el factor limitante, pero su adición permitió que la comunidad estuviera limitada por N. Por el otro lado, cuando el N estimuló el crecimiento y el N+P lo estimuló aún más (i.e., abril, agosto, diciembre y enero, 33.3% de los casos), entonces el N fue el factor limitante, pero su adición permitió que la comunidad estuviera limitada por P.

El más alto crecimiento (ej. $> 5 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) fue alcanzado en abril ($5.12 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$), junio ($8.68 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) y enero ($8.10 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) en los tratamientos de N+P, en junio ($7.46 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) y enero ($6.24 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) por P, y en enero ($6.97 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) por los tratamientos con N. En mayo, cuando *Nodularia spumigena* fue abundante, el tratamiento con enriquecimiento con N generó la respuesta más baja registrada ($-0.54 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) que no fue significativamente diferente ($p = 0.05$) de los controles.

De acuerdo al modelo de la profundidad crítica de Sverdrup, como indican Smetacek y Passow (1990), el florecimiento de *Nodularia spumigena* comienza en aguas bien mezcladas durante el inicio de la estratificación (abril) cuando la capa de mezcla (Z_{MIX}) fue suficientemente poco profunda y las condiciones de luz (zona eufótica grande) fue favorable para la fotosíntesis ($Z_{\text{MIX}} < Z_{\text{EU}}$), así como la producción por balance de fotosíntesis o pérdida por respiración ($P \geq R$). La estabilización de columna de agua, luz y temperatura, son todos los factores que favorecieron el crecimiento de la cianobacterias. Algún tiempo después, en clima tranquilo con la zona epilimnetica cálida, las colonias de *Nodularia* flotan hacia la superficie y eso hace que el

florecimiento se vuelva aparente (observación personal) como se ha hallado en otros sistemas acuáticos (Horne y Galat 1985, Kononen et al. 1996).

Tasas de crecimiento

Las tasas de crecimiento (T.C.) de los tratamientos fluctuaron entre -0.7 y 20.1 con un promedio de 2.9, 2.7 y 6.1 para N, P y N+P, respectivamente, mientras que el promedio de los controles fue de tan solo 1.9 (Fig. 7).

Las T.C. más bajas se registraron en mayo, marzo y febrero, mientras que las más altas en abril, noviembre y julio. No se observó un patrón temporal definido, sin embargo las menores T.C. se obtuvieron cuando el P fue el elemento limitante, mientras que las T.C. más elevadas, se presentaron cuando el N o N+P fueron los limitantes (Fig. 6).

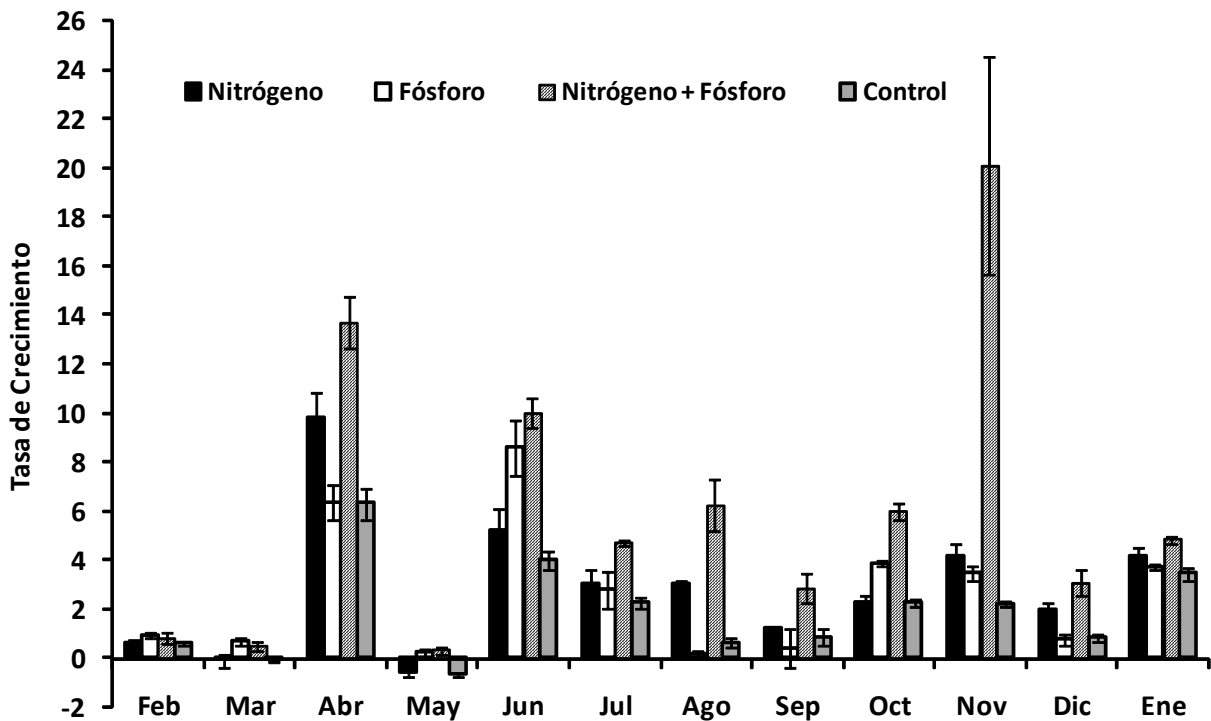


Fig. 7. Tasas de crecimiento para los distintos tratamientos realizados en microcosmos.

Ensamble fitoplanctónico

Los taxa dominantes en los tratamientos del lago Alchichica fueron similares en la mayoría de los casos en las muestras de agua original pero los más importantes taxa no estuvieron presentes algunas veces al final del experimento (Tabla 4). Por ejemplo *Cyclotella alchichicana*, la principal especie en el florecimiento de invierno no estuvo presente como un componente dominante al final de los experimentos. *Cyclotella choctawhatcheeana*, una diatomea dominante en los tratamientos iniciales de octubre y diciembre, disminuyó al final de los experimentos. En contraste, algunas especies aumentaron al final de los experimentos. Como el caso de *Chaetoceros elmorei*, la cual creció en grandes cantidades en junio, agosto, y septiembre. En otros casos, hubo un cambio de varias especies de *Oocystis* entre el inicio y fin de los experimentos.

Tabla 4. Taxa principales de fitoplancton en las muestras iniciales y en las muestras en las que se alcanzó el crecimiento máximo (expresada como clorofila *a*) al final de la incubación. (Los taxa están colocados en orden de dominancia). (Las especies en negro indican los cambios principales).

	Muestra inicial	Después de la incubación
Feb	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. alchichicana</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>O. parva</i>
Mar	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>O. Parva</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. ovata</i>
Abr	<i>M. minutum</i> , <i>C. ovata</i> , <i>O. Submarina</i> ,	<i>M. minutum</i> , <i>C. ovata</i> , <i>O. submarina</i>
May	<i>N. spumigena</i> , <i>M. minutum</i> , <i>O. Parva</i>	<i>M. minutum</i> , <i>N. spumigena</i> , <i>O. submarina</i>
Jun	<i>M. minutum</i> , <i>O. parva</i> , <i>O. Submarina</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. parva</i> , <i>Ch. elmorei</i>
Jul	<i>O. parva</i> , <i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i>	<i>O. parva</i> , <i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i>
Ago	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>Oocystis</i> sp.	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>Ch. elmorei</i>
Sep	<i>O. parva</i> , <i>M. minutum</i> , <i>Oocystis</i> sp.	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>Ch. elmorei</i>
Oct	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. choctawhatcheeana</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>O. parva</i>
Nov	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. choctawhatcheeana</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>O. parva</i>
Dic	<i>M. minutum</i> , <i>O. Parva</i>	<i>M. minutum</i> , <i>Anomoneis</i> sp. , <i>O. submarina</i>
Ene	<i>O. parva</i> , <i>M. minutum</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>O. parva</i>

MESOCOSMOS

Potencial de crecimiento algal

Los nutrientes disponibles en la zona de mezcla estimularon el crecimiento del fitoplancton nativo en los cuatro casos (Fig. 8). El lago Alchichica estimuló el crecimiento del fitoplancton de hasta $1.24 \mu\text{g Clor-a l}^{-1}$.

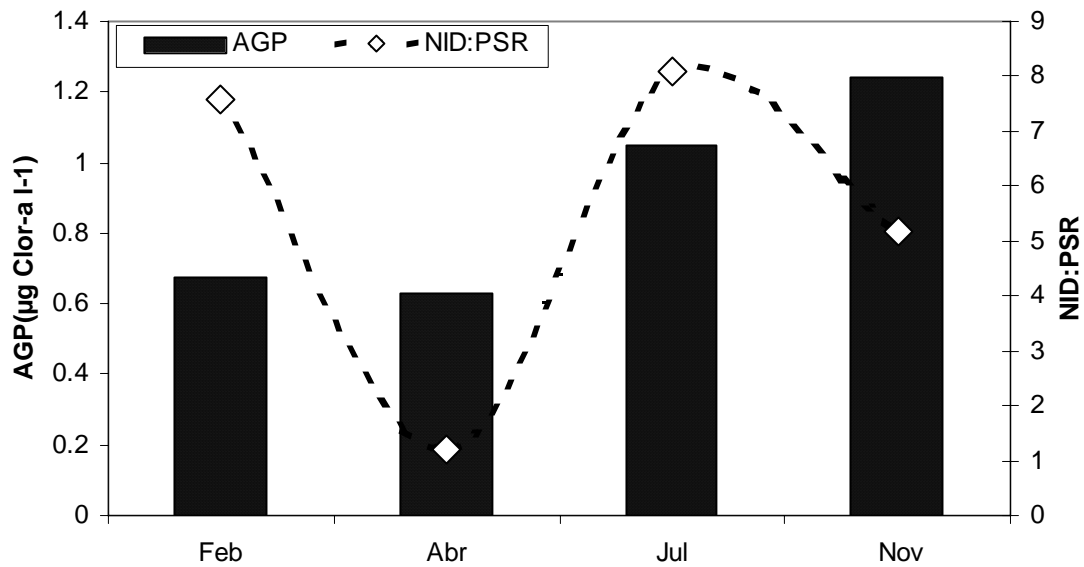


Fig. 8. Potencial de crecimiento algal (PCA) y la relación NID:FRS durante el periodo de muestreo. (La barra gris indica el periodo de estratificación).

Las regresiones lineales mostraron un bajo R^2 entre el PCA y el NID (0.0352) y entre el PCA y el DIN:FRS (0.1193). A pesar de que el R^2 más elevado se encontró entre el PCA y el FRS (0.9262), los menores PCAs se presentaron cuando las concentraciones de FRS en la capa de mezcla fueron más elevadas.

Como sucedió en los microcosmos, los nutrientes disponibles permitieron el crecimiento del fitoplancton nativo en todos los casos posibles. Por lo anterior, la explicación

más probable a esta aparente controversia sigue siendo el control descendente (top-down) por parte del zooplancton herbívoro.

El PCA del lago Alchichica presentó valores inferiores a la media en la circulación y estratificación temprana, mientras que éstos fueron mayores en la estratificación bien establecida y tardía. No hay una explicación clara para este comportamiento.

Experimentos de enriquecimiento

Se realizaron cuatro bioensayos en mesocosmos en las cuatro temporadas críticas de la hidrodinámica del Lago Alchichica (Fig. 9, Apéndice 2). La primera corresponde a febrero que incluye al periodo de mezcla donde a pesar de la adición de nutrientes no se encontraron una diferencias significativas ($p = 0.05$) entre los tratamientos por lo que se sugiere que no existió limitación. En abril las concentraciones de clorofila fueron menores a $1 \mu\text{g l}^{-1}$, sin embargo, una vez más no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos y el control por lo cual no existió limitación. Tanto en julio como en noviembre el tratamiento NP resultó significativamente ($p < 0.05$) superior al resto de los tratamientos. Los demás tratamientos no fueron significativamente diferentes del control por lo que da una verdadera co-limitación.

Tasas de crecimiento

Las tasas de crecimiento (T.C.) de los tratamientos fluctuaron entre -0.3 y 6.6 con un promedio de 1.5, 1.5 y 3.3 para N, P y N+P, respectivamente, mientras que el promedio de los controles fue de tan solo 0.8 (Fig. 10).

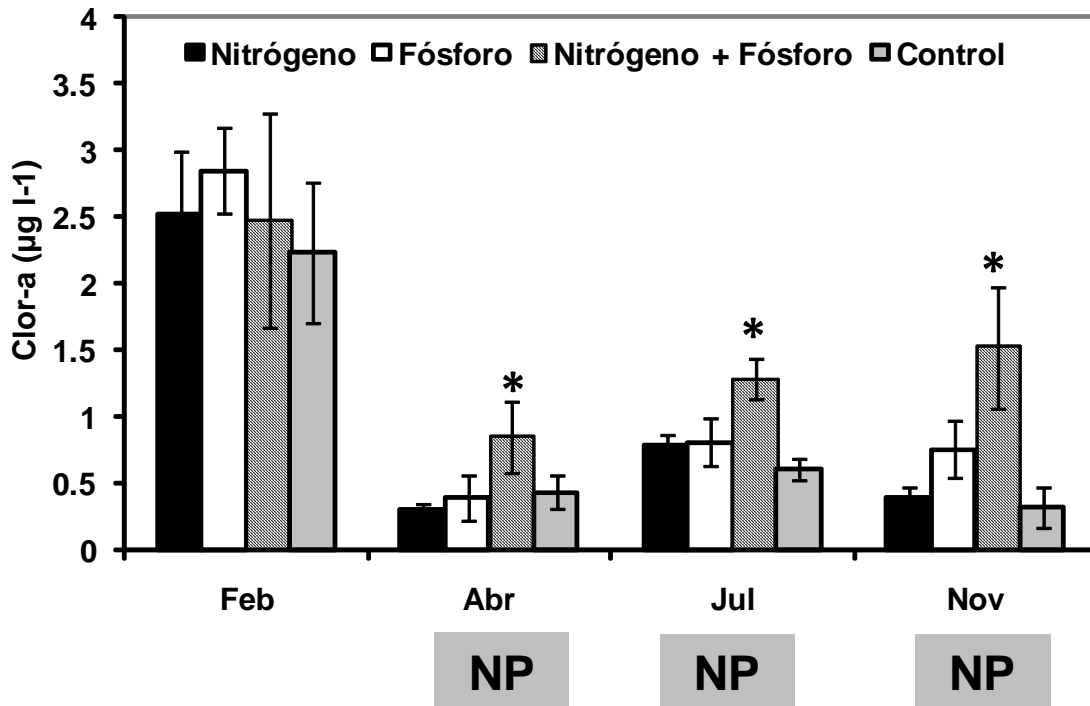


Fig. 9. Respuesta de crecimiento del fitoplancton al enriquecimiento de nutrientes llevados a cabo en mesocosmos. Respuestas obtenidas como fluorescencia de clorofila-*a*. (Las barras de error indican 1 DE de la media de las tratamientos). (Asteriscos indican diferencias significativas $-p < 0.05-$ de los controles). En la columna inferior, N indica limitación por nitrógeno, P indica limitación por fósforo y NP indica co-limitación.

Las T.C. más bajas se registraron en febrero, mientras que las más altas en noviembre. Se observó un patrón temporal definido, con un incremento gradual en las T.C. de febrero a noviembre. Las tasas más bajas correspondieron al mes en donde no se registró una limitación por nutrientes. En el resto de los tratamientos (abril, julio y noviembre) se presentó limitación

por N+P (Fig. 9), así como las T.C. mayores correspondieron a los tratamientos con adición de N+P (Fig. 10).

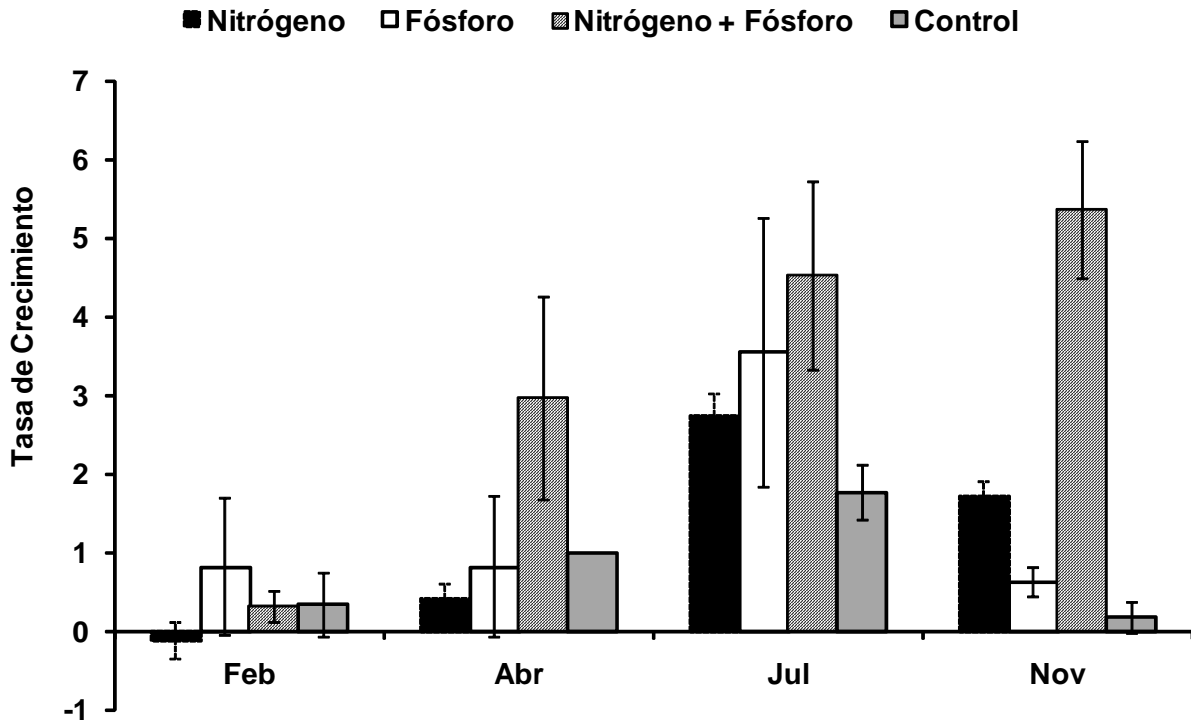


Fig. 10. Tasas de crecimiento para los distintos tratamientos realizados en mesocosmos.

Ensamble fitoplanctónico

Los taxa dominantes en los tratamientos del lago Alchichica fueron similares en la mayoría de los casos en las muestras de agua original pero los más importantes taxa no estuvieron presentes en general al final del experimento (Tabla 5). Por ejemplo *M. minutum* que se registró al inicio de todos los experimentos, no fue dominante al final de los mismos salvo en noviembre. Por otro lado, se presentaron reemplazos en la mayoría de los tratamientos. Lo más frecuente fue el reemplazo de *Oocystis submarina* por *Oocystis parva* y/o *Cryptomonas ovata*.

Tabla 5. Taxa principales de fitoplancton en las muestras iniciales y en las muestras en las que se alcanzó el crecimiento máximo (expresada como clorofila *a*) al final de la incubación en mesocosmos. (Los taxa están colocados en orden de dominancia). (Las especies en negro indican los cambios principales).

	Muestra inicial	Después de la incubación
Feb	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. alchichicana</i>	<i>C. alchichicana</i> , <i>O. parva</i> , <i>C. ovata</i>
Abr	<i>M. minutum</i> , <i>C. ovata</i> , <i>O. Submarina</i> ,	<i>C. ovata</i> , <i>O. parva</i> , <i>C. alchichicana</i>
Jul	<i>O. parva</i> , <i>M. minutum</i> , <i>O. Submarina</i>	<i>C. ovata</i> , <i>O. parva</i> , <i>O. submarina</i>
Nov	<i>M. minutum</i> , <i>O. submarina</i> , <i>C. choctawhatcheana</i>	<i>M. minutum</i> , <i>O. parva</i>

DISCUSIÓN

Diversos autores (por ejemplo, Engström-Öst et al. 2002) han encontrado que durante el decaimiento de los florecimientos de cianobacterias se liberan al agua elevadas concentraciones de amonio, nitrato y nutrimentos orgánicos, al mismo tiempo que la concentración de clorofila a disminuye. Esto explica el crecimiento el gran crecimiento desarrollado con P y N+P en junio. Un florecimiento de cianobacterias durante la estratificación y después de la mezcla profunda es una característica regular en el lago Alchichica (Alcocer y Lugo, 2003, Oliva et al. 2001), también como en otros lagos tropicales (Talling y Lemoalle 1998).

Al respecto, Falcón et al. (2002) encontraron que las tasas de fijación de nitrógeno de los consorcios de cianobacterias de los estromatolitos (tufas) del Lago Alchichica disminuyeron después del florecimiento de *Nodularia spumigena*, lo cual sugiere una respuesta estacional a la disponibilidad de nitrógeno.

El cociente de NID:FSR en el lago Alchichica fue bajo con un promedio de 6.71 durante el período de los experimentos. Los valores del cociente registrados variaron de 1.2 a 12.9 sugiriendo que el N es el nutrimento que más probablemente limitó el crecimiento del fitoplancton en el lago Alchichica. De forma contraria a lo encontrado en este estudio, Oliva et al. (2001) indican con base en el cociente N:P que era el P el nutrimento que más probablemente estaba limitando el crecimiento fitoplanctónico en el lago Alchichica. Este contraste puede deberse al hecho de que este estudio consideró solo la capa de mezcla y no toda la columna de agua como en el trabajo de Oliva et al. (2001). Sin embargo, los datos disponibles (octubre a diciembre de 2005) de las concentraciones de N y P totales en la capa de mezcla (Alcocer et al., datos no publicados) promedian un cociente de 19.4, apoyando la idea de que es el fósforo el que más probablemente sea limitante en Alchichica.

El crecimiento “sobresaliente” (cuatro veces más alto que el promedio) registrado en enero, es resultado de los nutrientes disponibles liberados al inicio del periodo de circulación que fueron acumulados en el hipolimnion durante el periodo de estratificación. Por otro lado, mientras que en los mesocosmos el PCA siempre resultó positivo, en los microcosmos el PCA mostró un crecimiento negativo en marzo ($-0.07 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) y mayo ($-0.64 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$). Hernández-Avilés et al. (2001) encontraron valores de PCA similares (i.e., 220% versus un promedio de 289% en el presente estudio), expresados como porcentaje de crecimiento relativo a los tratamientos control para el único análisis que los autores mencionados llevaron a cabo usando un inóculo de *Selenastrum capricornutum*.

El rango del PCA en el Lago Alchichica fue amplio, promediando $0.9 \pm 0.30 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ en los mesocosmos y $1.46 \pm 1.72 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ en los microcosmos. Más aún, si en los microcosmos no se considera el mes de enero, el promedio sería de $1.06 \pm 1.12 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$ lo cual podría ser considerado un crecimiento pequeño indicando que los nutrientes juegan un papel como factores limitantes del crecimiento del fitoplancton. A pesar de lo anterior, los nutrientes disponibles permitieron el crecimiento del fitoplancton nativo en los cuatro mesocosmos y en diez de los doce casos posibles en microcosmos. La explicación más probable a esta aparente controversia es que el control descendente (top-down) por parte del zooplancton herbívoro sea suficientemente alto como para evitar la utilización total de los nutrientes disponibles.

Hernández et al. (2001) observaron diferencias estacionales distintivas en el PCA de los 30 lagos mexicanos que muestrearon durante la época de secas (marzo) y de lluvias (julio). Para la mayoría de los lagos, el PCA de la época de secas fue mucho más alto que aquel de la época

de lluvias. Sin embargo, los valores de PCA encontrados en este estudio en los microcosmos para marzo ($-0.07 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) y julio ($1.28 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$), muestran para el Lago Alchichica una tendencia opuesta a la descrita por Hernández-Avilés et al. (2001). El PCA de los mesocosmos indica un comportamiento similar con valores menores en secas –febrero y abril- ($0.63\text{-}0.67 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$) que en lluvias –julio y noviembre- ($1.05\text{-}1.24 \mu\text{g Clor-}a \text{ l}^{-1}$). Webster et al. (2000) encontró que los lagos cuya fuente principal de abastecimiento es superficial, como el Lago de Pátcuaro (Alcocer y Bernal-Brooks 2002), en la estación de lluvias se diluye el agua del lago. Sin embargo, en los lagos cuya fuente principal es subterránea, como es el caso de Alchichica y muy probablemente el Lago de Zirahuén (Bernal-Brooks et al. 2002), no existen procesos claros de concentración y dilución asociados a las estaciones de secas y lluvias.

Los resultados anteriores, si se analizan en su conjunto, apoyan la idea de que existe una alternancia en la limitación por P y N en el Lago Alchichica, como fue sugerido por la amplia fluctuación en el cociente NID:FRS mencionado con anterioridad. El que se hayan observado en los microcosmos periodos de co-limitación entre los cambios en la limitación entre uno y otro nutrimento (Fig. 6) es también consistente con la prevalencia de un patrón de alternancia en el nutrimento limitante en Alchichica.

La pequeña clorofita *Monoraphidium minutum* y las clorofitas coloniales *Oocystis parva* y *O. submarina* fueron especies dominantes numéricamente durante todo el año y al inicio y fin de los experimentos principalmente en microcosmos. Las observaciones realizadas coinciden con la dinámica del fitoplancton citada por Oliva et al. (2001) con *M. minutum* como la especie numéricamente dominante a través de todo el año y *O. parva* como la especie subdominante en el Lago Alchichica. Especies menos abundante pero más grandes, incluyen a la diatomea

central *Cyclotella alchichicana* (referida como *C. quillensis* en Oliva et al., 2001) y la clorofita colonial *O. submarina*. Los mismos autores también mencionan como componentes importantes del fitoplancton, a la cianobacteria filamentosa *Nodularia spumigena*, la diatomea filamentosa *Chaetoceros elmorei* y la pequeña diatomea central *Cyclotella choctawhatcheeana*; todas las especies mencionadas fueron encontradas en los experimentos y en el lago siguieron una dinámica temporal similar la descrita por Oliva et al. (2001).

En la mayoría de los experimentos llevados a cabo en los lagos Africanos por Moss (1969), los géneros más abundantes en las muestras iniciales no estuvieron presentes al final de los experimentos. De cualquier manera, el mismo autor menciona que las condiciones dentro de los frascos experimentales están seleccionando de una variedad de especies presentes en las muestras de agua, solo a aquellas capaces de crecer dentro de frasco tan bien como en el medio ambiente.

En regiones tropicales y subtropicales, el nitrógeno ha sido identificado como el nutrimento limitante en cuerpos de agua que drenan tierras volcánicas donde el fósforo puede ser excepcionalmente abundante (Carignan y Planas 1994). Tal observación parece ser el caso del Lago Alchichica localizado en la porción central de la Cuenca Oriental, la cual es una amplia planicie de fondo marino Mesozoico cubierta por rocas volcánicas, derrames de lava y una gran cantidad de sedimentos piroclásticos, vidrio volcánico y feldespatos (Gasca 1981, Reyes 1979). Sin embargo, la vegetación nativa de los terrenos que rodean el lago ha sido reemplazada por tierras para agricultura (Fig. 1), en los cuales los campesinos dependen de la escasa lluvia y fertilización con nitrógeno para sus cultivos. Después de la cosecha, los terrenos permanecen desprovistos de vegetación y el suelo es erosionado fácilmente por el viento.

Como se menciono anteriormente, muchos estudios han señalado al nitrógeno como el nutrimento limitante para la producción de biomasa algal en lagos tropicales, salinos y dulceacuícolas (ver las revisiones de Lewis 1996 y de Talling y Lemoalle 1998). Los pocos estudios que han sido llevadas a cabo en lagos tropicales mexicanos muestran, en contraste, que el fósforo (p.ej., López López y Dávalos-Lind 1998), el nitrógeno (p.ej., Dávalos et al. 1989), o ambos (p.ej., Bernal-Brooks et al. 2003) pueden estar limitando el crecimiento algal. Desafortunadamente, ningún otro lago salino mexicano ha sido estudiado en este aspecto, para hacer posible una comparación con los resultados del presente estudio.

Aunque numerosos estudios llevados a cabo en lagos salinos tropicales (p.ej. lagos africanos, Moss 1969) y templados (p.ej., Lago Mono, Jellison y Melack 2001) han encontrado al nitrógeno como limitante, en este estudio se encontró una alternancia en el nutrimento responsable de la limitación del crecimiento algal en el Lago Alchichica sin mostrar un patrón regular temporal. El fósforo limitó el crecimiento del fitoplancton la mayoría del tiempo (41.7%). El nitrógeno fue el factor limitante el 33.3% del tiempo, mientras que el N y el P fueron co-limitantes el resto del periodo (25%). Es probable que la alternancia en el nutrimento responsable de la limitación del crecimiento fitoplanctónico en el Lago Alchichica sea una consecuencia, por un lado, de condiciones naturales (p.ej. la ubicación del lago en terrenos volcánicos jóvenes ricos en fósforo) que favorecerían la limitación por nitrógeno y, por el otro, de impactos antropogénicos (p.ej. fertilización de los terrenos agrícolas con nitrógeno) que inducirían la limitación por fósforo.

CONCLUSIONES

La hipótesis 1 se acepta parcialmente ya que si bien existió una alternancia en el elemento limitante de la producción primaria, la secuencia “lineal” planteada (i.e., no limitación durante la circulación, nitrógeno durante la estratificación temprana y fósforo durante el resto de la estratificación) no fue la esperada, presentándose una mayor alternancia. Los microcosmos no mostraron la falta de limitación durante la circulación, sin embargo a inicios de la estratificación temprana (abril) la limitación por nitrógeno favoreció que se desarrollara un florecimiento de la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Nodularia spumigena*. Después de este florecimiento (mayo y junio) se da una limitación por fósforo. Sin embargo, durante el resto del año, a lo largo de la estratificación bien establecida y tardía, se presentó casi todo el tiempo ya sea una co-limitación por nitrógeno y fósforo ó bien una limitación por nitrógeno.

En la hipótesis 2 los resultados obtenidos en los microcosmos no fueron similares en forma contundente a los de los mesocosmos. Los microcosmos concordaron en la estratificación bien establecida y tardía con los de los mesocosmos. Los mesocosmos correspondientes a la circulación indicaron una no limitación, mientras que los microcosmos sugirieron limitación por fósforo. Por otro lado, los mesocosmos de la estratificación temprana (abril) indicaron co-limitación por nitrógeno y fósforo, mientras que los microcosmos sugirieron al nitrógeno. Por lo anterior la hipótesis 2 se rechaza ya que los resultados realizados en el laboratorio no pueden ser extrapolados con certidumbre a los realizados en el campo.

La hipótesis 3 se acepta ya que asociado al periodo de circulación se da una mayor disponibilidad de nutrientes (una “no limitación”), turbulencia, menos luz y temperatura más baja lo que se refleja en un florecimiento de diatomeas (*Cyclotella alchichicana*).

Posteriormente, durante la estratificación temprana al disminuir la disponibilidad de nutrimentos (particularmente nitrógeno) y turbulencia y aumentar la luz y la temperatura se desarrolla un florecimiento de cianobacterias fijadoras de nitrógeno (*Nodularia spumigena*). Finalmente, a lo largo del resto de la estratificación, cuando los nutrientes son muy escasos, dominan en número las pequeñas clorofitas (p.ej., *Monoraphidium minutum*, *Oocystis spp.*).

BIBLIOGRAFIA

- Adame, M. F., J. Alcocer y E. Escobar. 2008. Size-fractionated phytoplankton biomass and its implications for the dynamics of an oligotrophic tropical lake. *Freshwat. Biol.* 53: 22-31.
- Alcocer, J. y A. Lugo. 2003. Effects of El niño on the dynamics of Lake Alchichica, Central Mexico. *Geofísica Internacional* 42(3): 523-528.
- Alcocer, J., A. Lugo, E. Escobar, M. R. Sánchez y G. Vilaclara. 2000. Water column stratification and its implications in the tropical warm monomictic lake Alchichica, Puebla, Mexico. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 27(5): 3166-3169.
- Ammerman, J. W., Hood R. R., Case, D. A., and J. B. Cotner. 2003. Phosphorus deficiency in the Atlantic: An emerging paradigm in oceanography. *EOS (Transactions, American Geophysical Union)* 84: 165,170.
- Arredondo, J. L., L. E. Borrego, R. M. Castillo y M. A. Valladolid. 1983. Batimetría y morfometría de los lagos "maars" de la cuenca de Oriental, Puebla, México. *Biotica* 8: 37-47.
- Axler, R. P. y Reuter, J. E. 1996. Nitrate uptake by phytoplankton and periphyton: Whole-lake enrichments and mesocosm. ¹⁵N experiments in an oligotrophic lake. *Limnology and Oceanography* 41(4): 659-671.
- Bernal-Brooks, F. W., L. Davalos-Lind and O. T. Lind. 2002. Assessing trophic state of an endorheic tropical lake: the algal growth potential and limiting nutrients. *Archives of Hydrobiology* 153 (2): 323-338.

- Bernal-Brooks, F. W., L. Davalos-Lind and O. T. Lind. 2003. Seasonal and spatial variation in algal growth potential and growth-limiting nutrients in a shallow endorehic lake: Lake Pátzcuaro (México). *Lakes y Reservoirs: Research and Management* 8: 1-11.
- Camacho, A., W. A. Wurtsbaugh, M. R. Miracle, X. Armengol, y 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. y 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.
- Cottingham, K. L. y S. E. Knigh. 1995. Effects of *Daphnia* on the response of mesotrophic lakes to experimental enrichment. *Water Science and Technology* 32(4): 157-163.
- Dávalos-Lind, L., Lind, O. T. y Doyle, R. D. 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: 99-104.
- Dodds, W. K. y Priscu, J. C. 1990. Mesocosm studies on the influence of phosphate enrichment on ammonium and nitrate flux in an oligotrophic lake. *Hydrobiologia* 206(3): 235-243.
- Elser, J. J., M. M. Elser, N. A. Mackay, y S. R. Carpenter. 1988: Zooplankton-mediated transitions between N and P limited algal growth. *Limnology and Oceanography* 33: 1-14.
- Elser, J. J., Marzolf, E. R. y Goldman, C. R. 1990: Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in the freshwaters of North America: a review and critique of experimental enrichments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 47: 1468-1477.

- Engström-Öst, J., M. Koski, K. Schmidt, M. Viitasalo, S. H. Jónasdóttir, M. Kokkonen, S. Repka y K. Sivonen. 2002. Effects of toxic cyanobacteria on a plankton assemblage: community development during decay of *Nodularia spumigena*. *Marine Ecology Progress Series* 232: 1-14.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1978. The *Selenastrum capricornutum* Printz assay bottle test: Experimental design, application, and data interpretation protocol. EPA-600/9-78-018. Corvallis Environmental Research Laboratory and U. S. EPA. 79 pp.
- Falcón, L. I., E. Escobar Briones y D. Romero. 2002. Nitrogen fixation patterns displayed by cyanobacterial consortia in Alchichica crater-lake, México. *Hydrobiologia* 467: 71-78.
- Filonov, A., I. Tereshchenko y J. Alcocer, 2006. Dynamic response to mountain breeze circulation in Alchichica, a crater lake in Mexico. *Geophysical Research Letters* 33. L07404, DOI:0.1029/2006GL025901.
- Fouilland, E., M. Gosselin, B. Mostajir, M. Levasseur, J. P. Chanut, S. Demers y S. de Mora. 2003. Effects of ultraviolet-B radiation and vertical mixing on nitrogen uptake by a natural planktonic community shifting from nitrate to silicic acid deficiency. *Limnology and Oceanography* 48: 18-30.
- Føyn, L., Magnussen, M. and Seglem, K. 1981. Automatic analysis of nutrients with on-line data processing. A presentation of the construction and functioning of the systems used at the Institute of Marine Research. *Fisken og Havet* 4: 1-39.
- Frost, P. C. y M. A. Xenopoulos. 2002. Ambient solar ultraviolet radiation and its effects on phosphorus flux into boreal lake phytoplankton communities. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1090-1095.

- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificaciones de Kôppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Gasca, A., 1981, Algunas notas de la génesis de los lagos-cráter de la cuenca de Oriental. Puebla-Tlaxcala-Veracruz. Departamento de Prehistoria, Instituto Nacional de Antropología e Historia, *Colección Científica Prehistoria* 98, México, 55 pp.
- Gerhart, D. Z. y G. E. Lickens. 1975. Enrichments experiments for determining nutrient limitation: four methods compared. *Limnol. and Oceanogr.* 20: 649-653.
- Havens, K. E. 1994. Seasonal and spatial variation in nutrient limitation in a shallow sub-tropical lake (Lake Okeechobee, Florida) as evidenced by trophic state index deviations. *Archives für Hydrobiologie* 131: 39-53.
- Havens, K. E., T. L. East, R. H. Meeker, W. P. Davis y 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).
- Henry, R., Hino, K., Tundisi, J. G. y Ribeiro, J. S. B. 1985. Responses of phytoplankton in Lake Jacaretinga to enrichment with nitrogen and phosphorus in concentrations similar to those of the River Solimoes (Amazon, Brazil). *Archiv für Hydrobiologie* 103: 453-477.
- Hernández A., J. S., F. Bernal Brooks, G. Velarde, D. Ortiz, O. T. Lind y L. Dávalos Lind. 2001. The algal growth potential and algae growth-limiting nutrients for 30 of México's lakes and reservoirs. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 27: 3583-3588.
- Horne, A. J. y D. L. Galat, 1985, Nitrogen fixation in an oligotrophic, saline desert lake: Pyramid Lake, Nevada. *Limnology and Oceanography.* 30: 1229-1239.

- Jellison, R. and J. M. Melack. 2001. Nitrogen limitation and particulate elemental ratios of seston in hypersaline Mono Lake, California, USA. *Hydrobiologia* 466: 1-12.
- Jones, A. B., B. J. Dudley y W. C. Dennison. 1998. Factors limiting phytoplankton biomass in the Brisbane River and Moretón Bay. 1998. In : Tibbets, I.R. Hall, N. J. y Dennison, W.C. eds Moreton Bay and Catchment. School of Marine Science, The University of Queensland, Brisbane. pp. 301-308.
- Kononen, K., J. Kuparinen, K. Makela, J. Laanemets, J. Pavelson y S. Nommann, 1996. Initiation of cyanobacterial blooms in a frontal region at the entrance to the Gulf of Finland, Baltic Sea. *Limnology and Oceanography*. 41(1): 98-112.
- Krebs, C. J. 1998. Ecología (Estudio de la Distribución y Abundancia), Barcelona. 753pp.
- Levine, M. A. y S. C. Whalen. 2001. Nutrient limitation of phytoplankton production in Alaskan Artic fothill lakes. *Hydrobiologia* 455: 189-201.
- Lewis, W. M. Jr. 1987. Tropical limnology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:159-84.
- Lewis, W. M., Jr. 1996. Tropical lakes: How latitude makes a difference. In: *Perspectives in Tropical Limnology*. Eds. F. Schiemer y K. T. Boland. SPB Academic Publishing. Amsterdam. pp. 43-64.
- Lewis, W. M. 2002. Causes for the high frequency of nitrogen limitation in tropical lakes. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 28: 210-213.
- Liebig J.,V. 1840. Die Organische CEIME in ihre Anwendung auf Agricultur und Physiologie. Berlag von Friedrich Biewig un Sohn, Braunschweig.

- Litchman, E. y C. A. Klausmeier. 2001. Competition of Phytoplankton under fluctuating light. *The American naturalist*. 157 (2): 170-187.
- López L., E y 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.
- Martin, D. B. and J.F. Novotny. 1975. Nutrient limitation of summer phytoplankton growth in two Missouri river reservoirs. *Ecology* 56(1): 199-205.
- Mayer, J., M. T. Dokulil, M. Salbrechter, M. Berger, T. Posch, G. Pfister, A. K. T. Kirschner, B. Velimirov, A. Steitz y T. Ulbricht (1997): Seasonal sucessions and trophic relations between phytoplankton, zooplankton, ciliate and bacteria in a hypertrophic shallow lake in Vienna, Australia. *Hydrobiologia* 342/343: 165-174.
- Morris, D. P. y W. M. Lewis Jr. 1988. Phytoplankton nutrient limitation in Colorado mountain lakes. *Freshwater Biology* 20(3): 315-327.
- Morris, D. P. y W. M. Lewis Jr. 1992. Nutrient limitation of bacterioplankton growth in lake Dillon, Colorado. *Limnology and Oceanography*.37(6): 1179-1192.
- Moss, B. 1969. Limitation of algal growth in some central African waters *Limnology and Oceanography*. 14(4): 591-601.
- Naselli F., L. y R. Barone. 1994. Relationship between trophic state and plankton community structure in 21 Sicilian dam reservoirs. *Hydrobiologia* 275/276: 197-205.

- Naselli F., L. y R. Barone. 1998. Phytoplankton dynamics in two reservoirs with different trophic state (Lake Rosamarina and Lake Arancio, Sicily, Italy). *Hydrobiologia* 369/370: 163-178.
- National Academy of Sciences (1969): Eutrophication: causes, consequences, correctives. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- OECD (1982): Eutrophication: monitoring assessment and control. Organization for Economic Cooperation and Development. París.
- Oliva, M. G., A. Lugo, J. Alcocer y 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 y M. R. Sánchez. 2001. Phytoplankton dynamics in a deep, tropical, hyposaline lake. *Hydrobiologia* 466: 299-306.
- Phillips, E. J., Aldridge, F. J., Hansen, P., Zimba, P. V., Ihnat, J., Conroy, M. y Ritter, P. 1993. Spatial and temporal variability of trophic state parameters in a shallow subtropical lake (Lake Okeechobee, Florida, USA). *Archiv für Hydrobiologie* 128(4): 437-458.
- Pinkney, J. L., T. L. Richardson, D. F. Millie y H. W. Paerl. 2001. Application of photopigment biomarkers for quantifying microalgal community composition and in situ growth rates. *Organic Geochemistry* 32: 585-595.
- Prescott, G. W. 1962. Algae of the western Great Lakes area. Wm. C. Brown company publishers. 5ª ed. 977 pp.
- Redfield, A. C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist* 46:205-211.

- Reyes, M., 1979, Geología de la cuenca de Oriental. Estados de Puebla, Veracruz y Tlaxcala, Departamento de Prehistoria, Instituto Nacional de Antropología e Historia, *Colección Científica Prehistoria* 71, México, 62 pp.
- Salas, H. J. y Martino, P. 1991. A simplified phosphorus trophic state model for warm-water tropical lakes. *Water Research* 25: 341-350.
- Sánchez R. M. 2001. Variación de la clorofila "a" fitoplanctónica y sus mecanismos de control en un lago atalashalino tropical. Tesis de Maestría en Ciencias del Mar y Limnología. ICMYL, UNAM. México. 66pp.
- Sarvala, J., K. Salonen, M. Järvinen, E. Aro, T. Huttula, P. Kotilainen, H. Kurki, V. Langenberg, P. Mannini, A. Peltonen, P. D. Plisner, . I. Vuorinen, H. Mölsä and O. V. Lindqvist. 1999. Trophic structure of Lake Tanganyika: carbon flows in the pelagic food web. *Hydrobiologia* 407: 149-173.
- Schindler, D. W. 1974. Eutrophication and recovery in experimental lakes: implications for lake management. *Science* 184: 897-899.
- Schindler, D. W. 1978. Predictive Eutrophication Models. *Limnology and Oceanography*.23: 1080-1081.
- Smetacek, V. y U. Passow. 1990. Spring bloom initiation and Sverdrup's critical-depth model. *Limnology and Oceanography*.35: 228-234.
- Smith, G. M. 1950. The freshwater algae of the United State. McGraw-Hill. 719 pp.
- Sommer U, Gliwicz Z.M., Lampert W., Duncan A. 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archives of Hydrobiology*. 106:433-471

- Sommer, U. 1989. Nutrient status and nutrient competition of phytoplankton in a shallow, hypertrophic lake. *Limnol. Oceanogr.* 34: 1162-1173.
- Sterner, R. W. and D. O. Hessen. 1994. Algal nutrient limitation and the nutrition of aquatic herbivores. *Annual Review of Ecology and Systematics* 25:1-29.
- Strickland, J. D. H. and Parsons, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada* 167: 1-311.
- Talling, J. F. y J. Lemoalle. 1998. Ecological Dynamics of Tropical Waters. Cambridge University Press, Cambridge. 441 p.
- Uthermöl, H., 1958. Zur Vervollkomung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 9: 1-13.
- Vilaclara G., Chávez M., Lugo A., González H. y Gaytán M. 1993. Comparative description of crater-lakes basic chemistry in Puebla State, Mexico. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, 25, 435–440.
- Vollenweider, R. 1966. Advances in defining critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication. *Memorie dell'Istituto Italiano di Idrobiologia* 33: 53-83
- Vollenweider, R. 1968. Scientific fundamentals of the eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication. Technical Report, NI. DAS/CSJ/68.27, OECD, Paris.
- Vollenweider, R. 1968. A manual of methods for measuring primary production in aquatic environments. 2ª ed. Blackwell Scientific Publications, London. 225 pp.

- Vollenweider, R. 1975. Input-output models, with special reference to the phosphorus loading concept in limnology. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie-Swiss Journal of Hydrology* 37: 53-84.
- Wehr, J. D. 1989. Nutrient and grazer-mediated effects on picoplankton and size structure in phytoplankton communities. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. 76(4): 643-656.
- Wetzel, R. G. y G. E. Lickens. 2000. *Limnological Analyzes* 3ª ed. Springer. 429 pp.
- Wetzel, R. G. 2001. *Limnology, Lake and River Ecosystems*. Academic Press. 1006 pp.
- Widinski, R. W., R. M. Klein, M. W. Gosses, K. K. Schnake, G. M. Groves, C. D. Smith, y C. L. Pederson. 2001. Nitrogen Limitation of algal standing crop in strip mine lakes. *Transactions of the Illinois State Academy of Sciences* 94(1): 37-53.
- Wurtsbaugh, W., W. Vincent, R. Alfaro, C. Vincent and P. Richerson. 1985. Nutrient limitation of algal growth and nitrogen fixation in a tropical alpine lake, Lake Titicaca (Peru/Bolivia). *Freshwater Biology*. 15: 185-195.

Apéndice 1

Diferencias significativas entre los tratamientos (ANDEVA de una vía y post hoc de Tukey) de los bioensayos en microcosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica. (Clor-a = Concentración de Clorofila “a” con respecto al testigo). T = testigo, P = adición de fósforo, N = adición de nitrógeno, NP = adición de nitrógeno + fósforo.

Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 10.065, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Febrero	T	N	
	N	T, NP	0.4967
	P	NP	0.43
	NP	N, P	-0.15
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 88.803, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Marzo	T	N, P	
	N	T, NP	0.97
	P	T, NP	0.78
	NP	N, P	0.13
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 154.303, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Abril	T	N, P, NP	
	N	T, N	-1.21
	P	T, N, NP	1.73
	NP	T, NP	-1.21
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 47.889, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Mayo	T	N, P	
	N	T, NP	0.81
	P	T, NP	0.88
	NP	N, P	-0.1
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 37.686, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Junio	T	N, P	
	N	T, NP	
	P	T, NP	
	NP	N, P	
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 13.503, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Julio	T	P	
	N	P	-0.13
	P	T, N, NP	0.95
	NP	P	-0.44

Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 75.284, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Agosto	T	N, P, NP	
	N	T, P	-2.13
	P	T, N, NP	2.35
	NP	T, NP	-0.39
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 12.257, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Septiembre	T	P	
	N	P	-0.53
	P	T, N, NP	1.11
	NP	P	-0.22
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 157.967, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Octubre	T	N, P, NP	
	N	T, P, NP	0.93
	P	T, N, NP	2.18
	NP	N, P	-0.01
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 42.774, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Noviembre	T	P	
	N	P	-0.16
	P	T, N, NP	3.96
	NP	P	-0.47
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 31.138, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Diciembre	T	N, P, NP	
	N	T, P	-1.43
	P	T, N, NP	1.35
	NP	T, P	-1.33
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 20.449, n = 12, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Enero	T	P, NP	
	N	P	-0.73
	P	T, N, NP	1.13
	NP	T, P	-1.22

Apéndice 2

Diferencias significativas entre los tratamientos (ANDEVA de una vía y post hoc de Tukey) de los bioensayos en mesocosmos realizados con muestras de agua de la capa de mezcla del Lago Alchichica. (Clor-a = Concentración de Clorofila “a” con respecto al testigo). T = testigo, P = adición de fósforo, N = adición de nitrógeno, NP = adición de nitrógeno + fósforo.

Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 2.393, n = 16, p > 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Febrero	T		
	N		0.30
	P		0.62
	NP		0.47
Mes	Tratamiento	*	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Abril	T		
	N		-0.12
	P		-0.04
	NP		0.42
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 4.652, n = 16, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Julio	T	NP	
	N		0.19
	P		0.36
	NP	T	0.57
Mes	Tratamiento	Diferencias significativas (F = 10.085, n = 15, p < 0.05)	Clor-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Noviembre	T	NP	
	N	NP	0.08
	P	NP	0.44
	NP	T, P, N	1.21

* No fue posible hacer el análisis estadístico correspondiente a este mes debido a que se perdieron algunos mesocosmos (n = 6) de manera que no se contó con el número de réplicas requerido (n = 9 en lugar de 16).