Ecología de aguas continentales

PRÁCTICAS DE LIMNOLOGÍA

Mª Rosario Vidal-Albarca Gutiérrez
Mª Luisa Suárez Alonso
Rosa Gómez Cerezo
Mª del Mar Sánchez Montoya
Luis Ramírez-Díaz

COLABORADORAS
Carmen Molina Sempere
Maravillas Pardo Mesas

Práctica 6

Estima de la producción primaria en ecosistemas acuáticos mediante cambios de biomasa del perifiton.

UNIVERSIDAD DE **MURCIA**

Diseño: lunnarstudio.com

PRÁCTICA 6

Estima de la producción primaria en ecosistemas acuáticos mediante cambios de biomasa del perifiton.

1 INTRODUCCIÓN

Uno de los aspectos funcionales de los ecosistemas acuáticos que más interés despierta es el estudio de su producción primaria.

La estima de la producción primaria de un ecosistema, aporta información sobre la cantidad de biomasa y de oxígeno en exceso, producido en el proceso fotosintético, que queda disponible para el resto de organismos acuáticos. Son varios los métodos de medida de producción primaria en el medio acuático descritos en la literatura, todos ellos basados en tres aproximaciones diferentes:

- **Medidas en muestras de comunidades naturales en condiciones aisladas**, bien expuestas en su propio medio (medidas "in situ") o en el laboratorio bajo condiciones experimentales.
- **Medidas directas en el medio sobre comunidades no aisladas** como por ejemplo variaciones de la concentración de O_2, CO_2 y pH durante períodos cortos de tiempo. Estas medidas tienen la ventaja de dar una idea del metabolismo global de la comunidad.
- **Medidas indirectas** donde las estimas se obtienen a partir del análisis de los cambios que tienen lugar durante períodos de tiempo más largos. Por ejemplo estudiando las variaciones de biomasa, el descenso en los niveles de nutrientes, el consumo de O_2 o acumulación de CO_2.

Normalmente las medidas de producción primaria han estado asociadas siempre al fitoplancton, desestimando el papel del perifiton en los ecosistemas acuáticos, a pesar de que tanto él como los macrófitos están considerados como una de las principales fuentes de producción primaria en los sistemas fluviales (tablas I y II). Probablemente la falta de una metodología sencilla y precisa sea la razón por la que el perifiton no haya sido utilizado, de forma tradicional, como un indicador de la producción primaria en los

medios acuáticos continentales. Sin embargo, se pueden obtener *estimas válidas de producción primaria a través de las tasas de acumulación de biomasa y clorofila, en un tiempo determinado sobre sustratos artificiales de superficie conocida (mg /cm^2/día ó g/m^2/año).*

Este método es especialmente adecuado en situaciones en que la colonización es relativamente rápida y el tiempo de exposición coincide con el período de crecimiento instantáneo del perifiton. La fase de crecimiento logarítmico que tiene lugar tras la colonización permite obtener una medida, bastante precisa, de la producción primaria neta de la comunidad en un momento determinado, siempre que el efecto de los herbívoros sea poco acusado.

Aunque los métodos basados en la colonización de sustratos artificiales presentan varias fuentes de error (influencia de la tasa de colonización, rápida renovación de los individuos, etc.), los valores de producción primaria así obtenidos son útiles en estudios de ecología comparada.

2 ALGUNAS DEFINICIONES ÚTILES

Biomasa (B): peso del material vivo presente por unidad de superficie en un momento dado. Es necesario definir si la biomasa medida hace referencia a todo el conjunto de la biocenosis o a un componente de la misma, por ejemplo biomasa de herbívoros, de peces, de productores primarios, etc. Se expresa en Kg/m^2 o g/m^2.

Producción primaria (PP): hace referencia a la cantidad de materia orgánica generada por fotosíntesis, o bien, la energía que ello representa. Es el **incremento de biomasa** de los organismos fotosintetizadores en un tiempo dado. Puede ser expresado en unidades de energía (julio/m^2/día) o de materia orgánica seca (Kg/ha/año, etc.).

> *Se habla en términos de una mayor o menor productividad primaria cuando se hace referencia a la producción primaria de un ecosistema (P) en relación a la biomasa de productores (B):* ***P/B.***

Producción primaria bruta (PPB): es la cantidad total de energía en un ecosistema. Representa el cambio de biomasa observado más la suma de todas las pérdidas por excreción, respiración, muerte o depredación.

Producción primaria neta (PPN): representa la acumulación de materia orgánica o energía, es decir, el cambio de biomasa observado más todas las pérdidas a **excepción de la respiración (R),** es igual a PPB-R. La producción neta es el material orgánico o energía disponible para su explotación por los productores secundarios o consumidores.

3 OBJETIVOS DE LA PRÁCTICA

a. Aprendizaje y discusión de algunos métodos de medida de la producción primaria en los ecosistemas acuáticos.

b. Puesta en práctica de algunos estimadores de biomasa en comunidades perifíticas.

c. Interpretación y discusión de los resultados obtenidos de los estudios comparativos de producción primaria.

4 MATERIAL

- Sustratos artificiales. Son útiles los ladrillos de superficie mate (5 cm x 5 cm).
- Cepillo del tamaño de uno dental de uso común.
- Frasco lavador.
- Bolsas de plástico herméticas o frascos de cristal para la recogida de las muestras.
- Cámara fría transportable.
- Embudo Büchner.
- Filtros de papel Whatman (GF/A y GF/F).
- Crisoles para horno.
- Horno.
- Estufa.
- Baño de agua.
- Espectrofotómetro.
- Metanol.
- Material de vidrio y papel de parafina

5 PROCEDIMIENTO

Trabajo en el campo: exposición, colonización y recolección de los sustratos artificiales con las muestras de perifiton.

a. Sumergir 4-5 ladrillos pequeños (para obtener varias réplicas) de superficie lisa y dimensiones 5 cm x 5 cm aproximadamente, en cada uno de los diferentes ambientes a estudiar y bajo similares condiciones físicas del medio (velocidad de corriente, profundidad y transparencia del agua).

b. Los sustratos artificiales se retiran del medio después de 10-15 días de exposición. El perifiton se recoge de los sustratos usando un pequeño cepillo y agua destilada para lavar y arrastrar el material colonizado (ver figura 1).

c. Estas muestras se mantienen en frío y en oscuridad hasta su llegada al laboratorio.

Trabajo en el laboratorio: estima de la biomasa del perifiton a través del análisis de la cantidad de materia orgánica presente (Peso seco libre de cenizas: PSLC) y del contenido en clorofila "a".

d. Las muestras se filtran usando el embudo Büchner y el papel Whatman GF/A (9 cm de diámetro). El filtro se corta por la mitad y, cada una de las partes, se utiliza para medir el **peso seco sin cenizas** y el contenido en **clorofila "a"** (ver figura 1). Para esta última medida, la mitad de filtro correspondiente se introduce en un vaso de precipitado y se conserva en el congelador durante 24 horas, para conseguir la ruptura celular.

e. ***Peso seco libre de cenizas (PSLC ó AFDW)***

1º Tomar las muestras a analizar y situarlas en crisoles para introducirlas en la estufa a 60°C durante 48 h.

2º Después de enfriarlas en el desecador, se pesa cada una de las muestras (así se obtiene el peso seco, **PS**).

3º Introducirlas en el horno a 500°C durante 4h (2h para alcanzar la temperatura y 2h de combustión) para quemar toda la materia orgánica.

4º Enfriar las muestras en el desecador y pesarlas de nuevo. Así se obtiene el peso del material inorgánico **(PI).**

Cálculos:

$$PSLC\left(\frac{g}{m^2}\right) = \frac{(PS - PI)\ .\ 2^*}{superficie\ del\ sustrato\ muestreada}$$

* dado que se ha utilizado la mitad del filtro

5º Anotar los resultados en la hoja de trabajo.

f. ***Extracción de clorofila "a"***

La clorofila es un indicador útil de la biomasa vegetal del perifiton contenida en una muestra.

1º Después de un día en el congelador situar la mitad de los filtros correspondientes en un vaso de precipitado pequeño y añadirle 20 ml de metanol.

2º Colocar las muestras en el baño de agua caliente a 80-85°C y dejar que hiervan durante unos 2 minutos, **nunca más de 4.**

3º Retirar las muestras del baño, decantar el extracto en una probeta graduada y taparla con papel de parafina para evitar la evaporación del metanol. Repetir la extracción con el metanol las veces necesarias hasta que el extracto quede incoloro, añadiendo los sucesivos extractos en la misma probeta.

4º Filtrar el volúmen del extracto con Whatman GF/F. Recoger el filtrado y llevarlo a 40, 60, 80, 100, ó 150 ml (dependiendo del volúmen de extracto que se haya obtenido) con metanol. Anotar el volúmen final del extracto y tapar la muestra con papel de parafina.

5º Ajustar el espectrofotómetro a 0 con metanol. Medir la absorbancia de los extractos a 750 nm (A_{750}) (pico de absorción no selectivo de otros materiales distintos de la clorofila, corrección de turbidez) y a 666 nm (A_{666}) (rango de absorción de la clorofila "a"). Si fuera necesaria la dilución de alguna muestra, hacerlo con metanol.

Es interesante diferenciar entre la medida de absorción de la clorofila "a" y la de sus productos de degradación, los **feopigmentos**, que se obtienen tras la muerte de las células vegetales. Esta diferencia se obtiene del cambio relativo de absorbancia observado después de la acidificación de la muestra (con lo que se degrada la clorofila "a"), así:

6º Una vez medida cada muestra añadir, en la misma cubeta del espectrofotómetro una gota de ácido clorhídrico. Mezclar bien y trás unos segundos volver a medir sus absorbancias (A_{666f} y A_{750f}).

Cálculos:

Clorofila "a" (mg) = $219.2^{*} (D_{666} - D_{666\,f}) \times$ volúmen extracto $\times\, 2_{(\text{mitad filtro})*}$

Feopigmentos (mg) = $(219.2^{*} (D_{666\,f} \times 3.8^{**}) - D_{666}) \times$ vol extracto $\times\, 2_{(\text{mitad filtro})*}$

* Relación entre el coeficiente de absorción de la clorofila "a" pura y los feopigmentos.

** Factor de corrección del valor de absorción de feopigmentos.

$D_{666} = A_{666} - A_{750}$

$D_{666\,f} = A_{666\,f} - A_{750\,f}$

7º Anotar los resultados en la hoja de trabajo.

Trabajo de gabinete:

g. Calcular la producción primaria neta y el **índice de autótrofos (IA)**, según se indica en la hoja de trabajo. El índice de autótrofos da una idea de la proporción de organismos autótrofos frente a los heterótrofos, es decir de la naturaleza trófica de la comunidad perifítica.

Los valores normales del índice de autótrofos se encuentran entre 50 y 200. Valores superiores indican asociaciones heterotróficas o una baja calidad del agua. A pesar de que este índice se ve afectado por la cantidad de material muerto presente en la muestra (sobreestimándolo) resulta una medida útil para describir cambios producidos en la comunidad o entre diferentes puntos de muestreo.

6 ELEMENTOS DE DISCUSIÓN Y SUGERENCIAS

a. A la vista de los resultados obtenidos, sobre la producción primaria de los diferentes ambientes estudiados ¿Qué conclusiones se pueden obtener? ¿De qué tipo de producción se trata?

b. ¿Se podría deducir la producción primaria neta de los humedales estudiados en base a los resultados expuestos? ¿Y la producción primaria neta anual? ¿Por qué?

c. En el caso de querer obtener una estima de la producción neta anual de los humedales en cuestión, ¿Qué tipo de programa de muestreo habría que diseñar?

d. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de biomasa, clorofila y feopigmentos, ¿Se podría hacer alguna indicación sobre la fase de desarrollo en que se encuentra la comunidad perifítica?

e. ¿Qué sugieren los valores del índice IA (índice de autótrofos), obtenidos?

f. ¿Qué inconvenientes presenta el método empleado para estimar la producción primaria?

7 BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1971. (14th ed). ***Standard methods for the examination of water and waste water.*** Washington.

- GOLDMAN, C.R. (Ed.). 1966. ***Primary Productivity in Aquatic Environments.*** I.B.P. PF Symp. Pallanza, Italia. University California Press. Berkeley.

- GÓMEZ, N; J. C. DONATO; A. GIORGI.; H. GUASCHI.; P. MATEO.; S. SABATER. 2009. La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. In: ELOSEGUI, A.; S. SABATER (Eds.). ***Conceptos y técnicas en ecología***. Fundación BBVA.Bilbao.

- HALL, C.A.S.; R. MOLL. 1975. Methods of Assessing Aquatic Primary Productivity. In: LIETH, H.; R.H. WHITTAKER (Eds.). ***Primary Productivity of the Biosphere.*** Springer-Verlag. New York.

- VOLLENWEIDER, R.A (Ed.). 1974. ***A manual on methods for measuring Primary Production in Aquatic Environments.*** IBP Handbook, nº.12. Blackwell Sc. Publ. Oxford.

- WETZEL, R.L. 1979. ***Periphyton measurements and applications. Methods and measurements of periphyton communities: A review.*** ASTM STP 690. Ed. American Society for Testing and Materials. Filadelfia.

8 LECTURAS COMPLEMENTARIAS

- EDWARDS, R.W.; M. OWENS. 1965. The oxygen balance of stream. In: GOODMAN, G.T.; R.W. EDWARDS; J.M. LAMBERT (Eds.). ***Ecology and the Industrial Society.*** Symp. Brit. Ecol. Soc., 6: 149-172. Blackwell Sc. Publ. Oxford.

- ODUM, 1957. Trophic structure and productivity of Silver Springs Florida. ***Ecol. Monogr.***, 27: 55-112.

- WETZEL, R.G. (Ed.). 1983. ***Periphyton of freshwater Ecosystems.*** Proc. First. Internat. Works. Periphyton Freshw. Ecosys. Växjö. Sweden, 14-17 Sep. 1982.

- WESTLAKE, D.F. 1966. Some basic dat for investigations of the productivity of aquatic macrophytes. In: GOLDMAN, C.R. (Ed.). ***Primary Productivity in Aquatic Environments.*** Proc. I.B.P. PF. Symp: 231-247. University California Press. Berkeley.

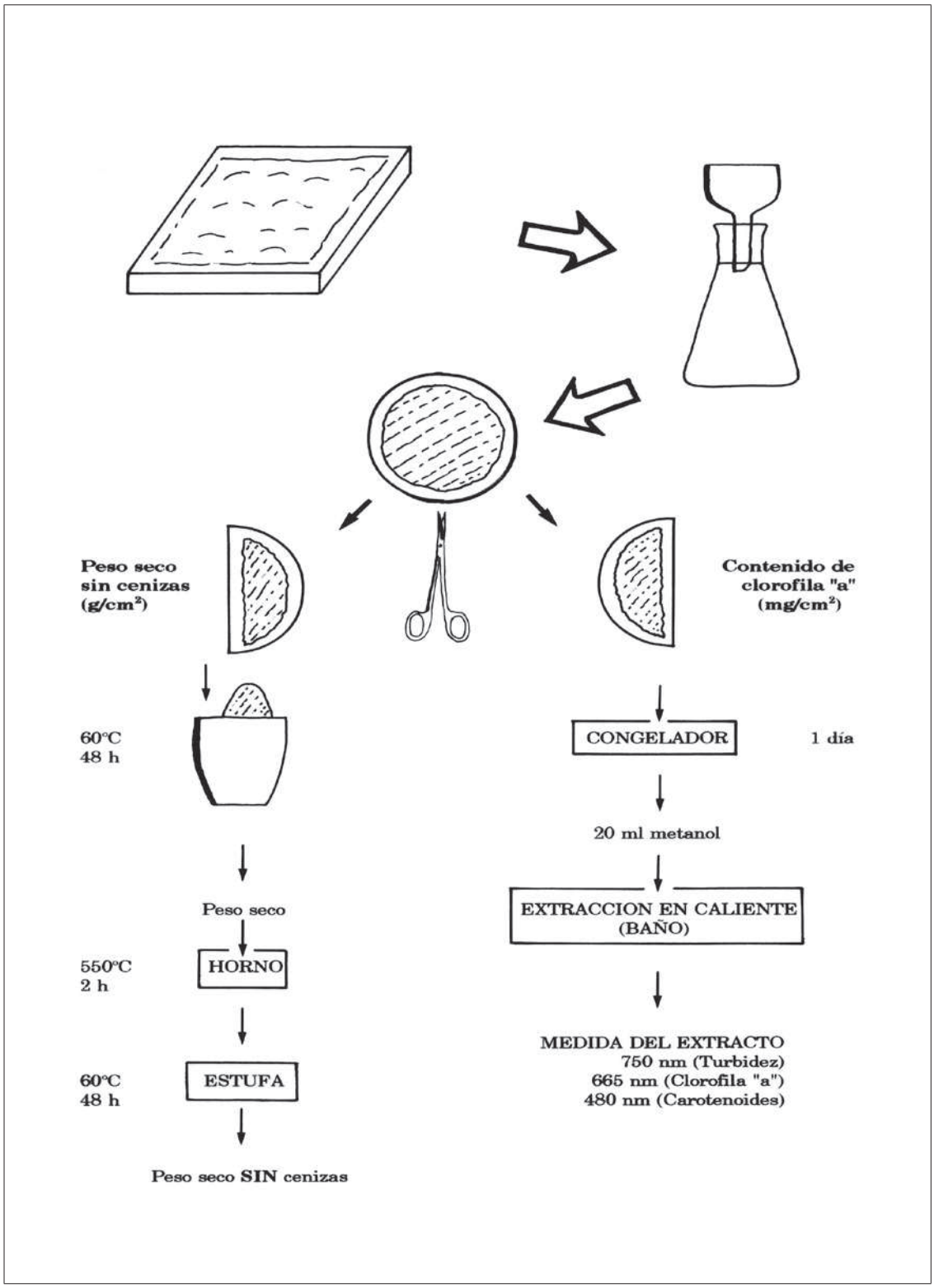
TABLA I:
VALORES TÍPICOS DE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA NETA ANUAL DE DIFERENTES COMUNIDADES ACUÁTICAS EN AMBIENTES PRODUCTIVOS. (WESTLAKE, 1966).

COMUNIDADES ACUÁTICAS	PRODUCCIÓN PRIMARIA NETA ANUAL (TONELADAS MATERIA ORGÁNICA SECA/ha/año)
Fitoplancton marino	1 - 4.5
Fitoplancton dulceacuícola	1 - 9
Macrófitos dulceacuícolas sumergidos	4 - 20
Macrófitos marinos sumergidos	25 - 40
Macrófitos marinos emergentes (marismas)	25 - 85?
Macrófitos dulceacuícolas emergidos (humedales de interior, tipos caña o carrizo)	30 - 85

TABLA II:
VALORES DE BIOMASA DE LAS COMUNIDADES DE PRODUCTORES PRIMARIOS EN AMBIENTES ACUÁTICOS PRODUCTIVOS (ODUM, 1957; EDWARDS & OWENS, 1965).

COMUNIDAD DE PRODUCTORES PRIMARIOS	BIOMASA (g peso seco/m^2)
Fitoplancton	10 - 100
Macrófitos	200 - 10000
Perifiton	100 - 500

FIGURA 1: ESQUEMA METODOLÓGICO



HOJA DE TRABAJO

FECHA ANÁLISIS:	MUESTRA:	RÉPLICA:
Peso seco libre de cenizas (PSLC)	***Clorofila "a"***	
PS(Peso seco)(mg)=	Vol. extracto (ml)=	
	A_{666}=	$A_{666\,f}$=
	A_{750}=	$A_{750\,f}$=
PI(Peso materia inorgánica)(mg)=	D_{666}= A_{666} - A_{750}=	
	$D_{666\,f}$= $A_{666\,f}$ - $A_{750\,f}$=	
	Clorofila "a" (mg) =	
PSLC (mg)= (PS-PI) x 2=	219.2 (D_{666}-D_{666f}) x vol. extracto x 2=	
	Feopigmentos (mg) = (219.2 ($D_{666\,f}$ x 3.8) - D_{666}) x vol. extracto x 2=	
Estimas de biomasa (B)		
Biomasa medida como PSLC (mg/m^2)=	Biomasa medida como contenido en clorofila "a" (mg/m^2)=	
Produccion primaria neta del perifiton (PPN)		
PPN medida como PSLC (mg/m^2/día)=	PPN medida como contenido en clorofila "a" (mg/m^2/día)=	
Estado trofico: Indice de autotrofos (IA)		
IA = P/C =		
P = PSLC (mg/m^2) =		
C = Clorofila "a" (mg/m^2) =		