
El valor indicador del biofilm de la superficie del sedimento

Introducció

En capítols anteriors s'ha vist com la composició de pigments permetia conèixer de manera indirecta la composició de grups algals del màxim profund de clorofil·la dels estanys en poblacions fotosintèticament actives. La interpretació de la composició de pigments en el biofilm del sediment però, no es pot realitzar de la mateixa manera que s'ha fet en el cas de la columna d'aigua. La degradació diferencial que pateixen els pigments, i de manera general la matèria orgànica durant la senescència, sedimentació i posterior deposició, dificulta la utilització de quocients entre pigments que permetin el càlcul de les contribucions relatives dels diferents grups algals.

A la superfície del sediment els pigments hi poden arribar per varies rutes (Leavitt, 1993). La primera font d'entrada és per sedimentació des de la columna d'aigua de les poblacions planctòniques. Aquesta ruta es veu modulada per l'acció de determinats processos de degradació durant la sedimentació que inclouen: la digestió per herbívors (p.e. Daley, 1973; Leavitt i Brown, 1988), el metabolisme enzimàtic que té lloc durant la senescència (Daley i Brown, 1973; Owens i Falkowski, 1982), la foto-oxidació i l'oxidació química i microbiològica (Daley, 1973; Carpenter *et al.*, 1986; Leavitt i Carpenter, 1990a; Hurley i Armstrong, 1991). En aquells estanys en què la llum arriba al sediment, una altra font d'entrada de pigments serà la producció bentònica (Leavitt i Carpenter, 1989). En alguns estanys, depenent de la morfometria de la cubeta i de les característiques de la conca, també es poden donar entrades de material pigmentat que prové de la producció litoral i de material al·lòcton (Sanger i Gorham, 1970b). El registre sedimentari resultant integra tots aquests processos en un senyal determinat que s'ha d'intentar desxifrar.

La interpretació del registre sedimentari es veu obstaculitzada per l'escassa informació sobre taxes i productes de degradació específics (Hurley i Armstrong, 1990). En el registre sedimentari és possible detectar tant pigments que no han patit encara cap transformació i que actuarien directament d'indicadors de grup, com molècules que han patit alguna transformació i que poden ser indicadors d'interaccions tròfiques, de canvis en la productivitat i de processos diagenètics (Leavitt, 1993). També hi ha una part de productes de degradació que no són detectables utilitzant tècniques espectrofotomètriques.

En aquest capítol, presentem l'estudi de l'origen del senyal de pigments en el biofilm del sediment superficial d'un conjunt d'estanys representatius dels estanys d'alta muntanya dels Pirineus. Es va examinar la relació entre la composició de pigments i variables ambientals per esbrinar a quin ambient de deposició es podia associar el senyal pigmentari. L'aparent diversitat de vies de formació de productes de degradació, o la pèrdua de senyal quan els productes de degradació no eren detectats amb el mètode utilitzat, va fer necessari explorar la relació del senyal de pigments entre els compartiments adjacents al biofilm (columna d'aigua i sediment profund) tot suposant que el sistema estava en una mena d'estat quasi estacionari.

Protocol de mostreig dels testimonis de sediment, variables mesurades i mètodes d'anàlisi

Es van prendre testimonis de sediment en 75 dels 82 estanys visitats (Taula 4.1, Capítol 4). Els testimonis de sediment es van obtenir en el punt de màxima profunditat de l'estany, utilitzant un mostrejador de gravetat (Glew, 1991) que consistia en un tub de 8 cm de diàmetre i 50 cm de longitud, equipat amb uns pesos i una tanca superior mòbil que permetia mantenir un flux d'aigua per dins el tub, mentre es feia baixar per la columna d'aigua de l'estany, fins a situar-lo prop de la superfície del sediment des d'on es deixava caure. Els testimonis de sediment obtinguts es van extrusionar al camp en posició vertical. Es va separar una mostra de superfície (0-0.5 cm) i una de fondària (15-17 cm), cadascuna es va dividir en diferents fraccions destinades a analitzar-hi diferents paràmetres: composició de pigments, pes sec, contingut de matèria orgànica (LOI), carboni (C) i nitrògen (N) elemental. Les mostres destinades a l'anàlisi de pigments es van transportar en fred i es van congelar (-20 °C) en arribar al vehicle de transport.

Anàlisi dels pigments

Les mostres de sediment congelades es van liofilitzar al laboratori. L'extracció dels pigments es va realitzar a partir de *ca.* 150 mg de sediment en pes sec als que s'afegia 4 mL d'acetona al 90% en varies etapes. Per tal de facilitar l'extracció dels pigments, es va sonicar la mostra mitjançant un homogeneïtzador per ultrasons, després la mostra se centrifugava i es feia passar a través d'un filtre de 0.1 µm (Whatman ANODISC 25) abans d'analitzar-la per cromatografia líquida. La instrumentació i protocol d'anàlisi cromatogràfica utilitzats va ser com en el capítol 4 injectant però un volum inferior de mostra (40 µL). Les concentracions de pigment es van expressar en nmol g⁻¹ de matèria orgànica (MO), per evitar les falses diferències degudes a la variació en el flux de deposició de material mineral.

Altres paràmetres mesurats a partir de les mostres de sediment

El contingut de matèria orgànica del sediment (LOI) es va analitzar amb el mètode de Dean (1974). La fracció orgànica de carboni i nitrogen es determinava utilitzant un analitzador elemental Carlo-Erba (Serveis Científico-Tècnics; Universitat de Barcelona), per diferència entre el carboni i nitrogen total i la fracció inorgànica de carboni i nitrogen obtinguda després de cremar la mostra a 550 °C per treure'n la fracció orgànica (p.e. Hurley i Armstrong, 1990).

Resultats

Contingut de matèria orgànica del sediment i grau de compactació

El sediment profund era més compactat (Figura 5.1a) i presentava un contingut de matèria orgànica una mica inferior (Figura 5.1b) que les mostres del biofilm superficial.

Malgrat no disposar de datació, es va assumir que la mostra de sediment presa entre 15-17 cm de profunditat en el testimoni hauria de correspondre a l'època pre-industrial, ja que les taxes de sedimentació en estanys d'aquestes característiques (conques petites i poc vegetades) són baixes. Fins ara, mai s'ha trobat cap estany d'alta muntanya a Europa amb el període industrial a més de 10 cm de profunditat en el sediment (p.e. Battarbee *et al.*, 2002). Es va mirar el contingut en partícules de sutge (SCP) com a indicador del període industrial, cap dels sediments profunds en presentava.

Pigments en el biofilm de la superfície del sediment

El nombre de pics en els cromatogrames dels extractes obtinguts a partir de les mostres del biofilm era pràcticament el doble ($n = 109$) que el detectat en les mostres de la columna d'aigua ($n = 59$). Una tercera part d'aquests pics es van identificar com a pigments indicadors de cloròfits, crisòfits, criptòfits, dinoflagel·lades, diatomees o cianobacteris i també alguns propis de bacteris bruns del sofre i de bacteris vermells del sofre. Se sap que es tractava de bacteris bruns perquè es va detectar un conjunt d'homòlegs de la bacterioclorofil·la-e, pigment que apareix en aquest grup de clorobiàcies i no en bacteris verds del sofre que en canvi tenen bacterioclorofil·la-c, també amb els seus corresponents homòlegs (p.e. Pfennig, 1977).

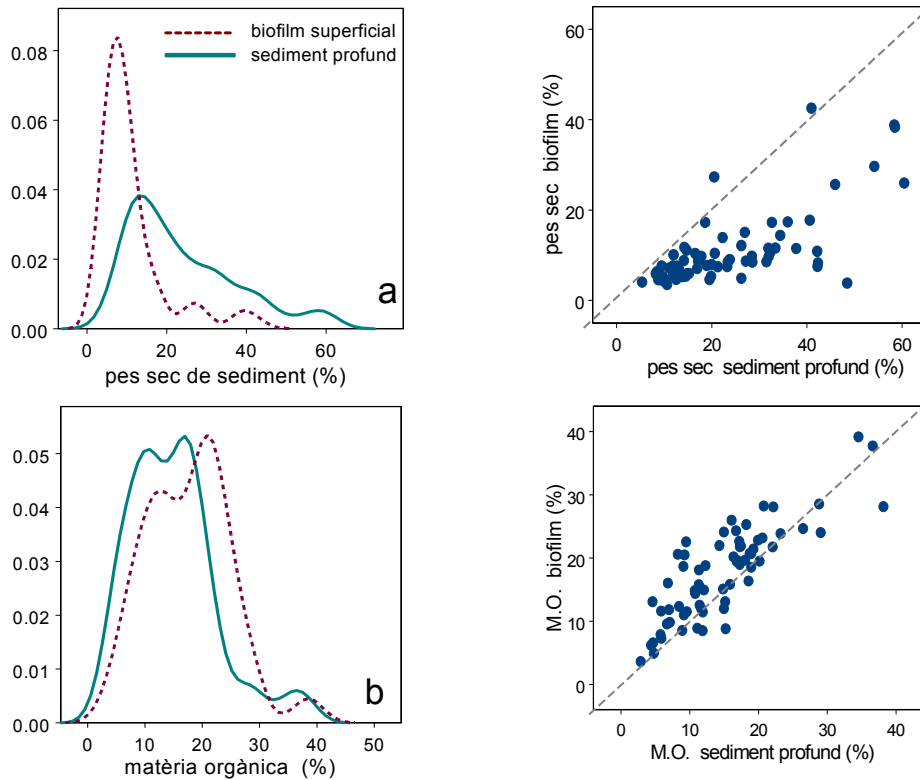


Figura 5.1. Funció de densitat de probabilitat del pes sec del biofilm del sediment i profund (a). Funció de densitat de probabilitat del contingut de matèria orgànica en el biofilm de la superfície del sediment i en el sediment profund (b).

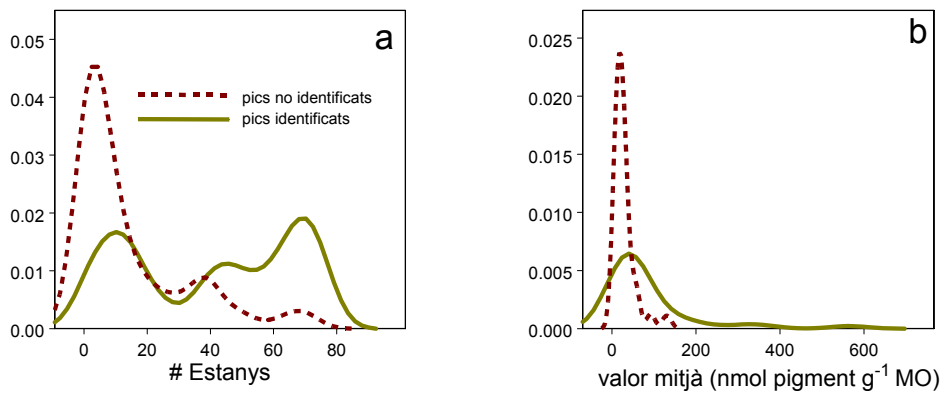


Figura 5.2. Funció de densitat de probabilitat del nombre d'estanys en que apareix cada grup de pigments (a). Funció de densitat de probabilitat de la concentració mitjana en que apareixen els diferents grups de pigments (b). La línia contínua representa els pigments identificats, la discontinua els no identificats.

La major part dels pigments no identificats apareixien en un nombre reduït d'estanys (Figura 5.2a) i ho feien generalment en concentracions molt baixes (Figura 5.2b). Aquests pigments no identificats, principalment carotenoides, es van excloure de l'estudi, tot i que la seva contribució al conjunt de carotenoides es va tenir en compte en una variable anomenada carotenoides totals (TC).

Algunes de les xantofil·les més característiques que havien aparegut de manera freqüent i en concentracions elevades en caracteritzar el màxim profund d'estiu (DCM) eren menys freqüents al biofilm (Figura 5.3). Aquest fet delatava la seva labilitat, com en el cas de la peridinina (dinoflagel·lades), violaxantina (crisòfits i cloròfits), neoxantina (cloròfits) i mixoxantofil·la (cianobacteris), que apareixien en un nombre inferior d'estanys que altres pigments indicadors dels mateixos grups com ara la diadinoxantina (dinoflagel·lades), fucoxantina (crisòfits i diatomees), luteïna (cloròfits) i zeaxantina (cianobacteris i cloròfits). Aquest resultat suggeria l'existència de processos de degradació diferencial que actuaven sobre els primers i que en reduïen la concentració fins a valors per sota el límit de detecció amb el mètode d'anàlisi utilitzat.

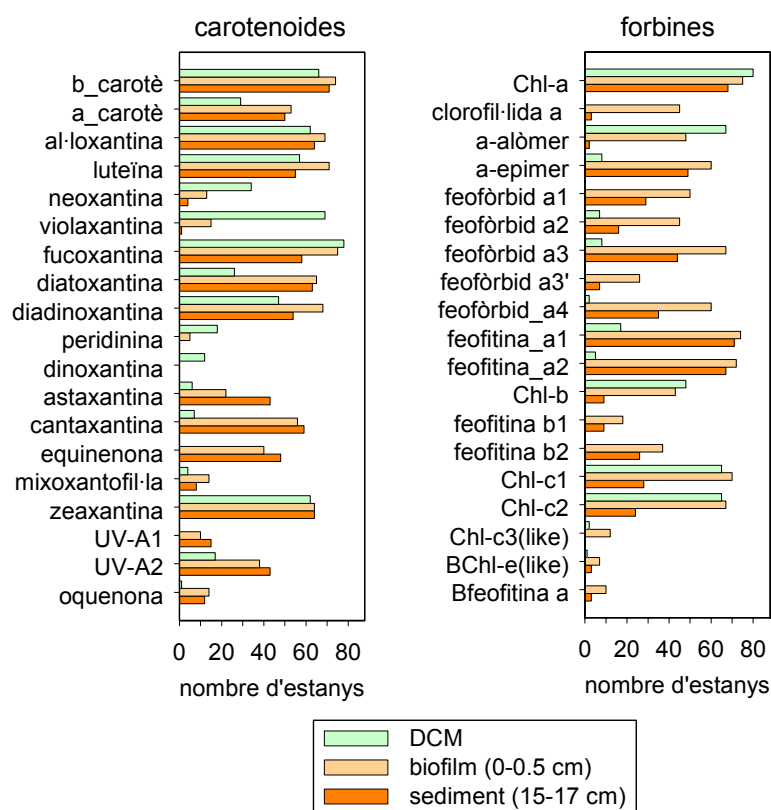


Figura 5.3. Distribució dels pigments identificats en funció del nombre d'estanys en què van aparèixer en les mostres de la columna d'aigua del màxim profund de clorofil·la (DCM), biofilm del sediment (0-0.5 cm) i sediment profund (15-17 cm).

Dins el grup de les forbines o pigments clorofil·lics, a banda de la Chl-a i dels ja esmentats homòlegs de la bacterioclorofil·la-e, es va identificar Chl-b, Chl-c1 i c2. La Chl-c3 fou identificada temptativament, per aquest motiu porta el sufix *-like*. Tots aquests pigments apareixien tant en el DCM com en el biofilm del sediment en un nombre elevat d'estanys, en canvi ho feien en un nombre inferior al sediment profund. Es va identificar un elevat nombre de pigments derivats de la Chl-a (alòmers, epímers, clorofil·lida, feofitines i feofòrbids), dues formes de feofitina-b i una bacteriofeofitina-a. La distribució d'aquests productes de degradació en els diferents compartiments, llevat de l'alòmer de la Chl-a, mostrava un patró diferent ja que apareixien en un nombre baix d'estanys al DCM i en canvi ho feien en un nombre elevat al sediment.

Les relacions entre pigments en els diferents compartiments es van estudiar a partir d'una anàlisi de components principals (PCA) (Legendre i Legendre, 1998) amb el programa d'ordenació CANOCO (Ter Braak, 1988). Els dos primers components de l'anàlisi explicaven un 66.6% de la variància en la composició de pigments (Taula 5.1). Les mostres se segregaven en el pla format per aquests dos primers components segons el compartiment al que pertanyien: columna d'aigua en el màxim profund de clorofil·la (DCM), biofilm (0-0.5 cm) i sediment profund (15-17 cm) (Figura 5.4).

Taula 5.1. Anàlisi de components principals (PCA) de la concentració de pigments expressada en percentatges respecte la suma de pigments identificats en cada compartiment. Els estanys Helado del Monte Perdido (#12), Bleu (#14), Urdiceto (#21), Bachimala Sup. (#24), Chelau Sup. (#26), Lliterola (#29), Puis (#33), Gran de Mainera (#47), Canals Roges (#66), Estagnol, (#79) i Redon (#80) es van excloure de l'anàlisi per manca de dades en alguna variable.

Components	1	2	3	4	Variància total
------------	---	---	---	---	-----------------

Valors propis :	0.543	0.123	0.075	0.04	1
-----------------	-------	-------	-------	------	---

Pes dels pigments en cada component :

Nom sencer	Codi				
β,β -carotè	Pb_carot	0.786	0.410	0.259	-0.813
β,ε -carotè	Pa_carot	-0.345	0.321	0.741	0.471
Al·loxantina	PAllox	0.228	-0.381	0.906	0.325
Luteïna	PLut	0.355	-0.261	1.115	-1.159
Neoxantina	PNeox	-0.732	0.402	0.326	0.110
Violaxantina	PViolax	-0.778	0.367	0.334	0.503
Fucoxantina	PFucox	-0.831	-0.290	-0.922	0.249
Diatoxantina	PDiato	0.711	1.279	-0.375	-0.090
Diadinoxantina	PDiadin	0.215	-0.297	-0.274	0.059

5. EL VALOR INDICADOR DEL BIOFILM DE LA SUPERFÍCIE DEL SEDIMENT

Peridinina	PPerid	-0.645	0.423	0.065	0.313
Dinoxantina (-like)	PDino-li	-0.686	0.600	0.111	0.441
Astaxantina	PAstax	0.260	-0.282	0.573	0.496
Cantaxantina	PCantha-	0.074	0.076	0.710	0.079
Equinenona	PEquin	-0.040	0.550	0.047	0.294
Mixoxantofil·la	PMyxo-li	-0.256	0.269	-0.114	0.175
Zeaxantina	PZeax	0.369	0.137	0.824	-0.773
UV-A1	PUVA1	-0.022	0.035	0.542	0.292
UV-A2	PUVA2	0.201	-0.203	0.521	0.434
Oquenona (-like)	POken-li	-0.185	0.006	0.515	-0.319
Clorofil·la a	PChla	-1.123	-0.114	-0.263	-0.330
Clorofil·lida a	PChlida	-0.527	0.200	-0.856	-0.354
Alòmer Chl-a	PAllomer	-0.689	0.182	0.311	1.340
Epímer Chl-a	PEpimer	0.172	0.312	-0.397	0.024
Feofòrbid a1	PPhia1	0.150	-0.268	-0.108	0.460
Feofòrbid a2	PPhia2	-0.165	-0.062	0.155	0.343
Feofòrbid a3	PPhia3	0.130	-0.134	-1.023	-0.431
Feofòrbid a3'	PPhia3.	-0.432	0.301	-0.580	0.103
Feofòrbid a4	PPhia4	0.286	-0.131	-0.466	-0.098
Feofitina a1	PPhya1	1.023	-0.652	-0.426	-0.004
Feofitina a2	PPhya2	0.978	-0.478	-0.138	0.048
Clorofil·la b	PChlb	-0.546	0.103	0.682	-0.321
Feofitina b1	PPhyb1	-0.012	-0.006	0.491	-0.193
Feofitina b2	PPhyb2	0.205	-0.152	0.413	-0.397
Clorofil·la c1	PChlc1	-0.909	0.219	-0.336	0.631
Clorofil·la c2	PChlc2	-0.873	0.152	-0.148	0.279
Clorofil·la c3 (-like)	PChlc3_1	-0.668	0.622	0.059	0.485
Bacteriolorofil·la e (-like)	PBchle_1	-0.109	-0.114	0.439	-0.067
Bacteriofeofitina a	PBfeofit	-0.674	0.605	0.130	0.367

A un extrem del gradient definit pel primer component se situaven les mostres del DCM i a l'altre les del sediment profund, mentre les del biofilm es distribuïen al llarg de tot el gradient dibuixat per aquest primer component. Les feofitines a1 i a2, el β,β -carotè i la diatoxantina, eren els pigments amb més pes alhora de correlacionar-se amb el sentit positiu del primer component, mentre altres pigments com la Chl-a, clorofil·les c1 i c2, fucoxantina, violaxantina i neoxantina, ho feien amb el sentit negatiu. Aquest primer eix, segregava els pigments entre aquells associats a comunitats fotosintèticament actives (valors negatius de l'eix) que inclouen mostres del DCM i algunes del biofilm on probablement hi havia creixement algal i la resta (valors positius de l'eix) que inclouen la resta de mostres del biofilm, on probablement predominaven els processos de degradació, i totes les del sediment profund.

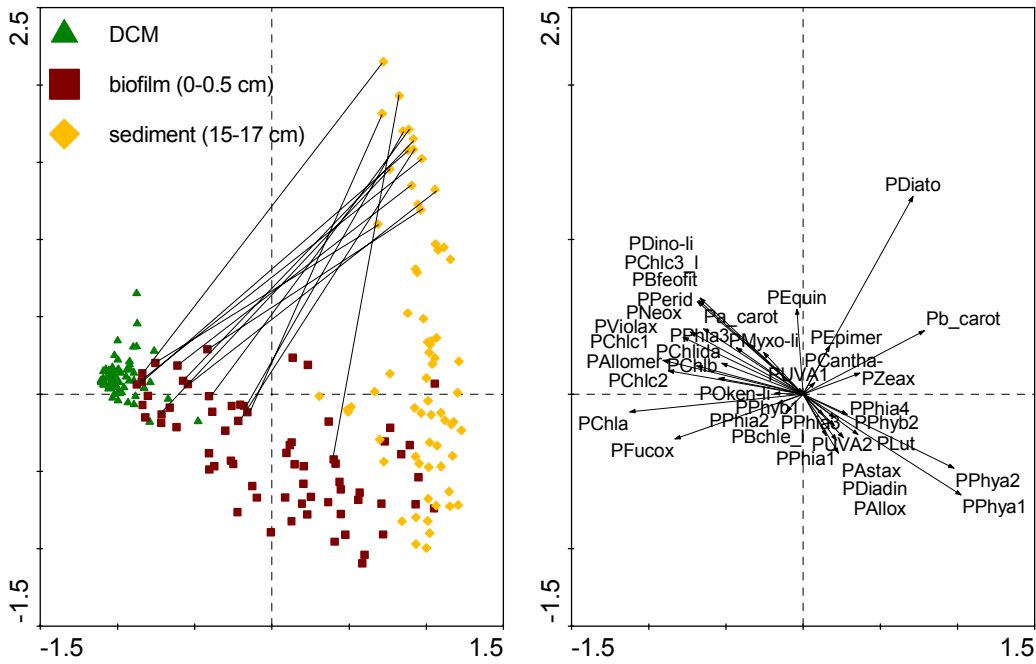


Figura 5.4. Anàlisi de components principals (PCA) de la concentració de pigments expressada en percentatges respecte la suma de pigments identificats en cada compartiment. Les línies uneixen les mostres del sediment profund amb valors més positius en el segon eix amb les corresponents del biofilm per un mateix estany.

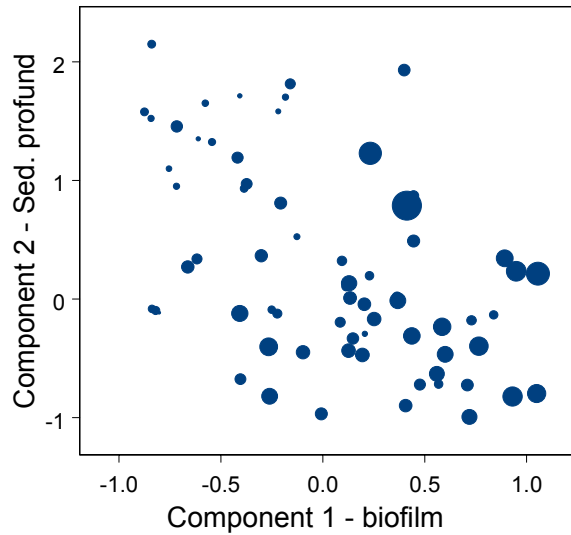


Figura 5.5. Relació entre els valors de les mostres del biofilm en el primer component de l'anàlisi PCA i el valor de les mostres del sediment profund en el segon component. La mida dels punts és proporcional a la fondària màxima dels estanyos.

Els pigments associats al segon component eren la diatoxantina en sentit positiu i la feofitina a1 i a2 en sentit negatiu. A aquest segon component hi responien principalment les mostres que pertanyien al sediment profund. Els estanys amb valors més positius per les mostres del sediment profund en el segon component, coincidien amb els que presentaven valors més negatius per les mostres del biofilm en el primer component (vegeu línies de connexió en la figura 5.4). És a dir, coincidien amb els estanys amb comunitats fotosintèticament actives en el biofilm. En aquests estanys, la composició de pigments de les mostres del biofilm era molt diferent de la composició en les mostres del sediment profund. En canvi, els estanys que no presentaven creixement en el biofilm tenien una composició de pigments més semblant entre les mostres del biofilm i les del sediment profund. Per aquest motiu hi havia una relació inversa entre els valors del biofilm en el primer component i els del sediment profund en el segon ($r^2 = 0.255$, $p < 0.0001$) (Figura 5.5)

Relació del senyal de a-forbines amb variables ambientals en el biofilm del sediment

La variabilitat en el senyal de preservació dels pigments en el conjunt d'estanys es va estudiar utilitzant les a-forbines ja que, a diferència del que passava amb els carotenoides, per les a-forbines es tenia identificats i caracteritzats els productes de degradació. Utilitzant una anàlisi de redundàncies (RDA) (Ter Braak, 1994) amb el programa d'ordenació CANOCO (Ter Braak, 1988), es va investigar quines variables ambientals (Taula 4.4, Capítol 4) podien explicar millor la composició relativa d'a-forbines que s'havia trobat en el biofilm del sediment dels estanys. Per evitar la redundància estadística entre variables es va utilitzar el procediment de *forward selection* durant l'anàlisi, comprovant la significació de cada variable amb un test de permutacions de Monte Carlo (999 permutacions; criteri de Bonferroni per admetre la significació).

Després d'eliminar la redundància, la combinació mínima de variables que millor explicava la composició d'a-forbines estava formada per les següents variables ordenades segons el percentatge de variància exclusiva explicada: fondària de l'estany (Depth; 8.8%), concentració de calci a la columna d'aigua (Ca; 8%), percentatge de llum superficial incident al punt més profund de l'estany ($I_0(Z_{max})$; 7%), presència/absència de *Potamogeton* sp. a l'estany (Pot sp.; 6.2%) i percentatge de sòl de la conca recobert per prats alpins (Meadow; 6%) (Taula 5.2, Figura 5.6a). Un 49% de la variància en les dades era explicada per aquestes cinc variables que compartien un 13% d'aquesta variància.

Els feofòrbids, principalment el feofòrbid a1 i a2, apareixien correlacionats amb la fondària dels estanys (Depth). Les feofitines a1 i a2 ho estaven amb la presència de prats a la conca (Meadow). Per altra banda, la clorofil·la a, clorofil·lida, alòmers i epímers de Chl-a i el feofòrbid a3', es correlacionaven amb la concentració de calci (Ca) i amb el percentatge de llum que arribava al fons ($I_0(Z_{max})$). El primer eix explicava un 40.3% de variància i es pot interpretar com un eix de preservació respecte degradació ja que la Chl-a apareix en un extrem de l'eix i els feopigments en l'altre. La variable presència/absència

de *Potamogeton* sp. no presentava cap correlació amb els dos primers eixos i en canvi apareixia correlacionada positivament amb el tercer i quart. La distribució de les variables ambientals en els eixos obeïa a la correlació amb la composició d'a-forbines i no a la correlació entre elles tal i com es pot veure en un PCA realitzat amb les variables ambientals (Figura 5.6b).

Taula 5.2. Resultats del RDA sobre la composició de pigments derivats de la Chl-a en percentatges respecte el total de a-forbines i les variables ambientals significatives. Els estanys Helado del Monte Perdido (#12), Bleu (#14), Urdiceto (#21), Bachimala Sup. (#24), Chelau Sup. (#26), Lliterola (#29), Puis (#33), Gran de Mainera (#47), Canals Roges (#66), Estagnol, (#79) i Redon (#80) es van excloure de l'anàlisi per manca de dades en alguna variable.

Eixos	1	2	3	4	Variància total
Valors propis :	0.403	0.046	0.028	0.01	1
Correlacions derivats-ambient :	0.784	0.638	0.484	0.422	
Percentatge acumulat de variància					
Dels derivats de Chl-a :	40.3	44.9	47.7	48.8	
De la relació derivats-ambient:	82.6	92.1	97.9	100	
Suma de tots els valors propis					1
Suma de tots els valors propis canònics					0.488
Correlacions de les variables ambientals amb els eixos					
Ca	0.471	-0.147	0.341	-0.047	
Depth	-0.544	0.289	0.154	-0.193	
Pot sp.	0.004	-0.057	0.299	0.306	
Meadow	-0.328	-0.182	-0.085	0.136	
Io(Z _{max})	0.515	0.262	0.013	0.261	

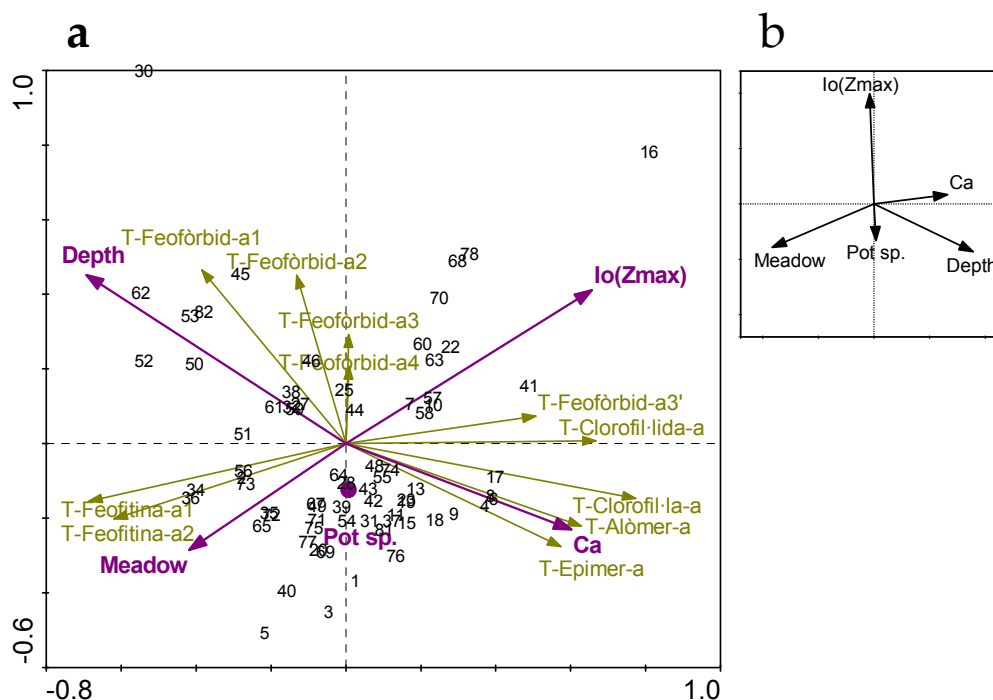


Figura 5.6. Diagrama d'ordenació que mostra la combinació lineal de variables que descriuen els principals gradients de variació en la composició relativa d'a-forbines (%) en els dos primers eixos de l'anàlisi RDA (a). Anàlisi de components principals (PCA) de les variables ambientals seleccionades amb l'anàlisi RDA (b). Els noms complets de les variables ambientals, les unitats i les transformacions aplicades a cada variable es troben a la taula 4.4 del capítol 4. La variable binària *Potamogeton* sp. (Pot sp.) s'ha representat a partir del valor del centroid. Els estanys Helado del Monte Perdido (#12), Bleu (#14), Urdiceto (#21), Bachimala Sup. (#24), Chelau Sup. (#26), Lliterola (#29), Puis (#33), Gran de Mainera (#47), Canals Roges (#66), Estagnol, (#79) i Redon (#80) es van excloure de l'anàlisi per manca de dades en alguna variable.

Pigments indicadors en el biofilm del sediment i la seva relació amb variables ambientals

Per estudiar la relació entre pigments indicadors de grup i variables ambientals, es van seleccionar un subconjunt de pigments intentant mantenir un representant de cada grup algal i també de bacteris fotosintètics, però descartant aquells pigments de grups planctònics que, tot i aparèixer de manera freqüent en el DCM, pràcticament no es detectaven al biofilm del sediment (violaxantina, neoxantina i peridina). Els pigments que es van tenir en compte com a indicadors de la presència de bacteris fotosintètics van ser els homòlegs de la Bchl-e reunits amb el nom Bchle-like (clorobiàcies brunes) i la Bfeofitina-a i l'oquenona (cromatiàcies).

Taula 5.3. Resultats del RDA sobre la composició de pigments indicadors en el biofilm del sediment i les variables ambientals significatives. Els estanys Helado del Monte Perdido (#12), Bleu (#14), Urdiceto (#21), Bachimala Sup. (#24), Chelau Sup. (#26), Lliterola (#29), Puis (#33), Gran de Mainera (#47), Canals Roges (#66), Estagnol, (#79) i Redon (#80) es van excloure de l'anàlisi per manca de dades en alguna variable.

Eixos	1	2	3	4	Variància total
Valors propis :	0.134	0.078	0.033	0.014	1
Correlacions pigment-ambient :	0.786	0.709	0.508	0.445	
Percentatge acumulat de variància					
Dels pigments indicadors :	13.4	21.2	24.6	26	
De la relació pigment-ambient:	49.5	78.2	90.5	95.8	
Suma de tots els valors propis					1
Suma de tots els valors propis canònics					0.272
Correlacions de les variables ambientals amb els eixos					
Alk	-0.215	0.277	-0.077	-0.081	
Si	-0.360	-0.013	-0.013	-0.016	
Depth	0.530	-0.297	0.108	-0.134	
Zooplànton	0.198	0.188	-0.447	-0.101	
C_area	0.017	0.419	0.135	-0.299	
Con_wood	0.126	0.530	-0.026	0.205	

Es va realitzar un RDA amb les concentracions de pigments indicadors ($\text{nmol g}^{-1} \text{MO}$) i les variables ambientals (Taula 4.4, Capítol 4). Utilitzant el procediment de *forward selection* es van seleccionar un subconjunt de variables ambientals significatives. Aquestes variables eren, per ordre de percentatge de variància explicada exclusiva per cadascuna d'elles: la fondària de l'estany (Depth; 6.2%), la concentració de silici de l'aigua de l'estany (Si; 5.8%), el percentatge de sòl de la conca recobert de bosc de coníferes (Con-Wood; 5%), la densitat de zooplàncton (Zooplànton; 3.8%), l'àrea de la conca (C_area; 3.3%) i l'alcalinitat de l'aigua de l'estany (Alk; 3.2%) (Figura 5.7a). El primer eix en l'anàlisi de redundàncies explicava un 13.4% de la variància (Taula 5.3). Correlacionat positivament a aquest primer eix trobàvem la fondària com a variable més important, i més feblement altres variables com Zooplàncton. La concentració de silici en l'aigua hi estava correlacionada negativament. El segon eix explicava un 7.8% de la variància. Correlacionades positivament a aquest segon eix apareixien les variables Con-Wood, C_area i més feblement Alk. La variable Depth estava correlacionada negativament amb el segon eix. Els tercer i quart eixos explicaven un percentatge molt baix de variància. La variable Zooplàncton estava correlacionada negativament amb el tercer eix.

Les relacions més importants entre pigments indicadors i variables ambientals eren: la correlació entre astaxantina i cantaxantina (indicadors de zooplàncton) amb la fondària de l'estany; fucoxantina i diatoxantina (diatomees), mixoxantofil·la i zeaxantina (cianobacteris) amb la concentració de silici; oquenona, bacterioclorofil·la e, bacteriofeofitina a (bacteris fotosintètics) amb estanys d'aigües més alcalines situats en conques grans i forestades.

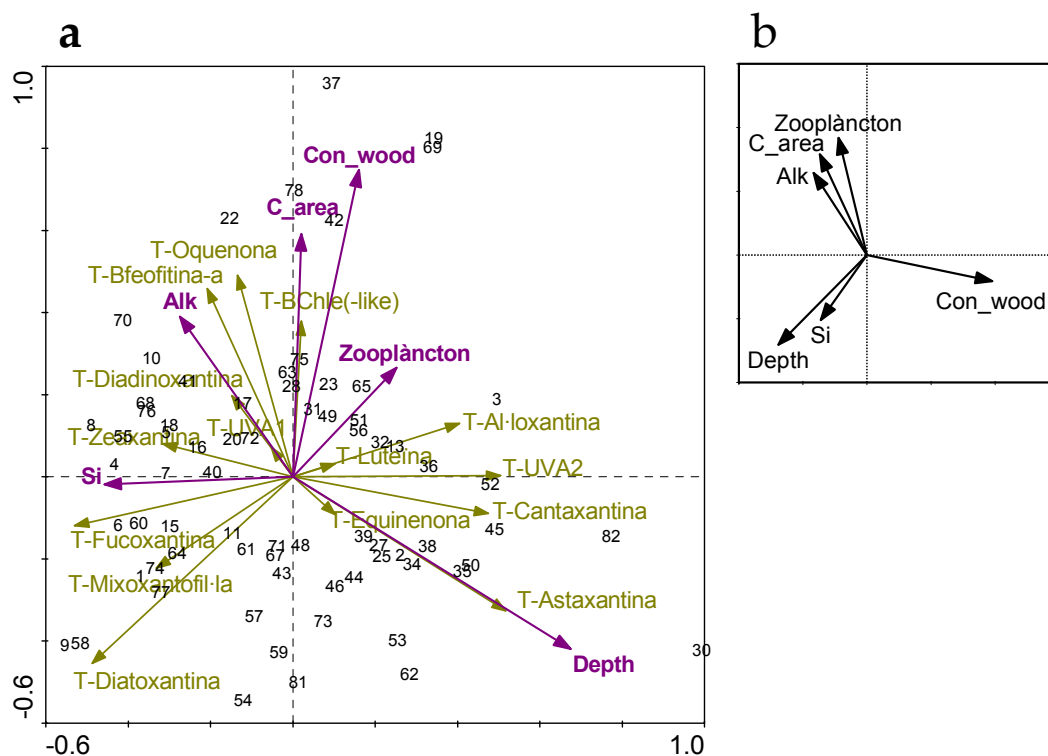


Figura 5.7. Diagrama d'ordenació que mostra la combinació lineal de variables que descriuen els principals gradients de variació en la composició de pigments indicadors en el biofilm del sediment en els dos primers eixos de l'anàlisi RDA; les concentracions de pigment ($\times 10^{-4}$ nmol g^{-1} MO) es van transformar utilitzant el $\log(x+1)$ (a). Anàlisi de components principals (PCA) amb les variables ambientals seleccionades a partir de l'anàlisi RDA (b). Els noms complets de les variables ambientals, les unitats i les transformacions aplicades a cada variable es troben a la taula 4.4 del capítol 4. Els estanys Helado del Monte Perdido (#12), Bleu (#14), Urdiceto (#21), Bachimala Sup. (#24), Chelau Sup. (#26), Lliterola (#29), Puis (#33), Gran de Mainera (#47), Canals Roges (#66), Estagnol, (#79) i Redon (#80) es van excloure de l'anàlisi per manca de dades en alguna variable.

Discussió

Les rutes que segueixen els pigments fins arribar al sediment on formaran part del registre sedimentari han estat objecte d'estudi per part de diversos autors a partir d'estudis de caire experimental tant al laboratori (Daley i Brown, 1973; Daley, 1973) com en estudis de camp (Carpenter *et al.*, 1986; Leavitt *et al.*, 1989; Hurley i Armstrong, 1990). Aquests estudis ens donen una visió del sediment superficial com un acumulador de la història del llac a través de diferents vies (Figura 5.8): (i) la de la sedimentació sestònica, (ii) la dels herbívors i (iii) l'activitat del biofilm. Aquestes rutes es troben força ben definides tot i que la seva comprensió resulta complexa degut al nombre d'interconnexions entre els factors, tant biòtics (p.e. presència d'herbívors, microorganismes heterotròfics) com abiòtics (p.e. pH, oxigen, llum, paràmetres morfomètrics dels estanys, característiques de la conca), que modulen els diferents processos i la dificultat d'extrapolar aquests processos a un nombre elevat d'estanys.

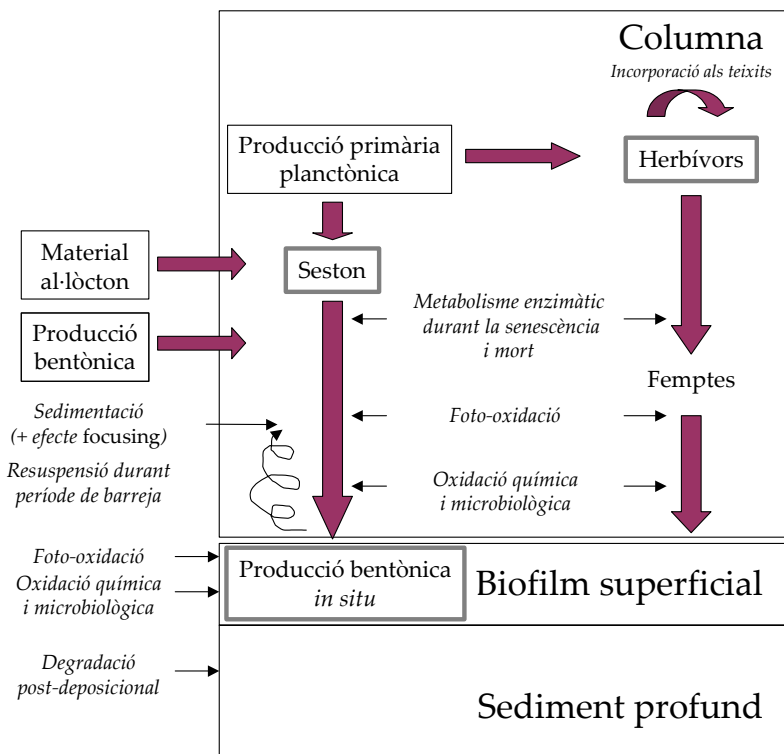


Figura 5.8. Esquema de les rutes que segueixen els pigments dels organismes fotosintètics fins a arribar a dipositar-se en el sediment. En cursiva apareixen els processos que alteren la molècula de pigment i per tant l'amplitud del seu senyal.

Sedimentació sestònica: efecte de la degradació diferencial en el pas de la columna d'aigua al sediment

Pigments comuns en tots els grups

La Chl-a i el β,β -carotè són l'única parella de pigments que és comú en tots els grups algals (Rowan, 1989). El nombre d'estanys en els que es detectava Chl-a i β,β -carotè no era el mateix en els tres compartiments (DCM, biofilm i sediment profund) (Figura 5.3). Unes diferències tan sensibles en la detecció d'aquests pigments en el conjunt d'estanys només es podien explicar per un efecte de degradació diferencial. El quocient entre la concentració d'a-forbines (que inclouen la Chl-a i els derivats detectables d'aquesta) (Daley i Brown, 1973) i de β,β -carotè en cada compartiment disminuïa des de la columna en direcció al sediment profund (Figura 5.9a). El salt més gran en el valor del quocient es produïa entre la columna d'aigua (DCM) i el biofilm. La degradació d'a-forbines a compostos incoloros durant la deposició era superior que la de β,β -carotè i les diferències en la taxa de degradació entre uns i altres es reduïen durant la degradació post-deposicional o diagènesi, resultats que coincidien amb els trobats per altres autors en llacs de caràcter eutròfic (p.e. Moss, 1968; Hurley i Armstrong, 1991) i també en sediment marí (p.e. Repeta i Gagosian, 1984).

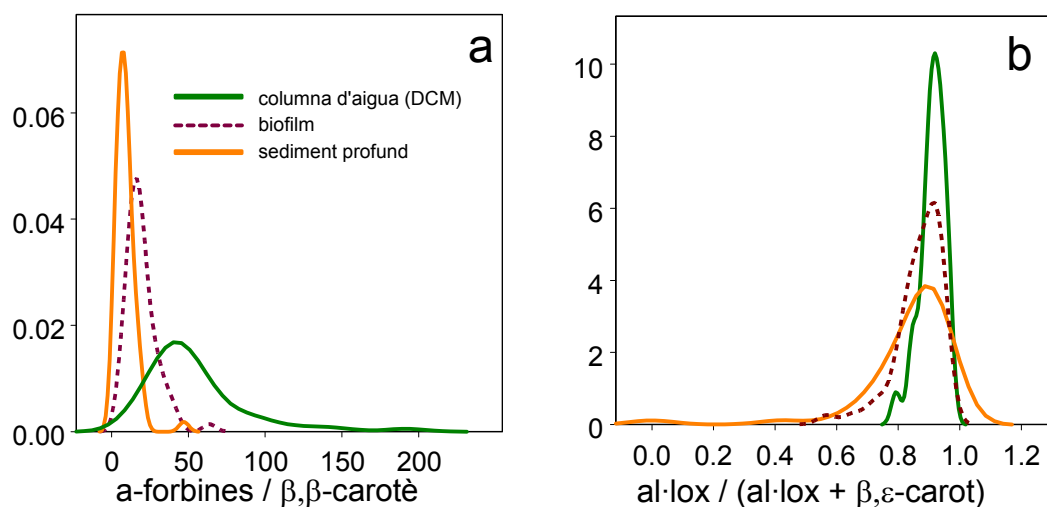


Figura 5.9. Funció de densitat de probabilitat de diferents quocients molars en els compartiments de l'estany segons la llegenda. Quocient molar entre les a-forbines i el β,β -carotè (a). Quocient molar entre l'al·loxantina i la suma d'al·loxantina i β,ϵ -carotè (b). En algunes mostres de la columna d'aigua no es va detectar β,ϵ -carotè tot i que sí que hi havia al·loxantina, aquestes mostres no s'han inclòs en el gràfic.

Pigments amb informació taxonòmica de grups planctònics

En carotenoides, l'estabilitat de la molècula de pigment depèn de la seva estructura molecular i en particular disminueix amb el nombre de grups funcionals (Sinninghe Damsté i Koopmans, 1997) (Taula 5.4). En el conjunt d'estanys estudiats, els carotenoides amb un major nombre de grups funcionals coincidien amb els que presentaven diferències més grans entre compartiments (DCM, biofilm i sediment profund) pel que feia al nombre d'estanys en què s'havien detectat (Figura 5.3).

Entre els grups algals preferentment planctònics trobàvem els crisòfits, criptòfits i dinoflagel·lades. Entre aquests, les proporcions en què arribaven al sediment superficial els pigments indicadors d'un mateix grup no eren les mateixes que les mesurades en el DCM. Els dos pigments indicadors de criptòfits, l'al·loxantina i l' β,ϵ -carotè, eren l'únic cas que permetia estudiar en carotenoides l'efecte de la degradació diferencial entre xantofil·les i carotens. Els canvis en la relació pels altres pigments, en ser compartits per varis grups algals, no es podien atribuir exclusivament a l'efecte de la degradació diferencial. El valor del quocient $\text{al}\cdot\text{lox}/(\text{al}\cdot\text{lox} + \beta,\epsilon\text{-carot})$ era molt semblant entre compartiments en la major part d'estanys. En el sediment, sobretot en el sediment profund, el quocient presentava més dispersió, cap a valors molt baixos, que no pas a la columna d'aigua (Figura 5.9b). Aquest fet indicava que la degradació afectava comparativament en major grau l'al·loxantina que al β,ϵ -carotè en direcció al sediment profund. La bona preservació d'aquests dos pigments d'origen planctònic en els diferents compartiments era deguda a la seva baixa labilitat (Taula 5.4).

En canvi, el senyal de violaxantina en el cas de crisòfits i el de peridina en el cas de dinoflagel·lades, es perdia en el biofilm de molts estanys, tot i que aparentment es conservava el senyal dels altres dos pigments indicadors dels mateixos grups, fucoxantina (crisòfits) i diadinoxantina (dinoflagel·lades) (Figura 5.3). Tenint en compte que el grau de labilitat d'aquestes parelles de pigments és molt semblant (Hurley i Armstrong, 1990), els resultats ens suggerien que l'origen de la fucoxantina i de la diadinoxantina detectades en concentracions no gens menyspreables al biofilm no podia ser planctònic.

Un altre conjunt de pigments que mostrava indicis de degradació diferencial en els tres compartiments eren els pigments indicadors de cloròfits (luteïna, violaxantina, neoxantina i Chl-b). En el sediment profund pràcticament es perdia el senyal de neoxantina i violaxantina, mentre que en el superficial es detectaven en un nombre reduït d'estanys en comparació amb la luteïna o la Chl-b. Probablement la raó d'aquest patró de distribució era el major grau de labilitat de la primera parella de pigments respecte la segona. En l'anàlisi de redundàncies (RDA) (Figura 5.7a), la luteïna s'associava preferentment amb els pigments de grups planctònics (p.e. al·loxantina). L'augment en la detecció de luteïna en el pas de la columna al biofilm podia ser degut a què la mostra del sediment superficial incloïa tant producció planctònica integrada en l'eix vertical i en el temps, com la producció del biofilm (producció bentònica *in situ*) ja que el fet de detectar pigments tan làbils com la violaxantina i neoxantina en el sediment superficial així ho indicarien.

Taula 5.4. Classificació dels carotenoides detectats en el biofilm del sediment dels estanys examinats dels Pirineus segons el nombre de grups funcionals que presenta la seva estructura molecular.

Carotenoide	Grups Funcionals	Afinitat
β,β -carotè	0	Plantes superiors, algues, alguns bacteris fotòtrofs
β,ϵ -carotè	0	Criptòfits, alguns cloròfits
Al·loxantina	2	Criptòfits
Fucoxantina	5	Diatomees i crisòfits
Diatoxantina	2	Diatomees i crisòfits
Diadinoxantina	3	Dinoflagel·lades, euglenòfits, crisòfits i diatomees
Peridina	6	Dinoflagel·lades
Equinenona	1	Cianobacteris
Zeaxantina	2	Cianobacteris, cloròfits
Cantaxantina	2	Cianobacteris, cladòcers
Mixoxantofil·la	3	Cianobacteris
Escitonemina	4	Cianobacteris colonials
Luteïna	2	Cloròfits, euglenòfits i plantes superiors
Neoxantina	4	Cloròfits, euglenòfits i plantes superiors
Violaxantina	4	Crisòfits, cloròfits, euglenòfits i plantes superiors
Oquenona	2	Cromatiàcies
Astaxantina	4	Crustacis

Finalment, el senyal de pigments indicadors de bacteris fotosintètics apareixia associat a estanys poc profunds situats en conques grans i forestals probablement amb aportacions superiors de matèria orgànica d'origen al·lòcton. La descomposició d'aquesta matèria en el sediment creava condicions d'anòxia prou persistents per permetre el desenvolupament de clorobiàcies i cromatiàcies en les capes amb irradiància suficient i properes al sediment.

Factors ambientals relacionats amb la composició de feopigments en el biofilm: pH del medi, fondària de l'estany i característiques de la conca

Els estanys més profunds o amb un percentatge elevat de prats alpins a la conca presentaven en el biofilm del sediment una proporció més alta de feofitines i feofòrbids, mentre que els estanys amb concentracions de calci elevades o amb un percentatge de llum superficial incident en el biofilm més elevat, presentaven un percentatge més elevat d'alòmers, epímers i clorofil·lida i també ho era la presència de Chl-a intacta (Figura 5.6a). Tenint en compte que la composició de pigments en l'anàlisi de redundàncies s'havia expressat en valors relatius respecte el total d'a-forbines, la Chl-a en l'anàlisi es podia interpretar com un índex de preservació (ja que la *clorofil·la a* de la figura 5.6a era igual al valor del quocient molar Chl-a/a-forbines expressat com un percentatge). La disminució del valor de l'índex de preservació en direcció al sediment profund era indicadora de la formació de productes de degradació (feopigments i altres) en detriment de la Chl-a original (Figura 5.10a). Les diferències més notables en la funció de densitat de

probabilitat de l'índex es trobaven entre el sediment profund i els altres dos compartiments (DCM i biofilm). Aquests darrers, presentaven un elevat grau de dispersió del valor de l'índex ja que en aquells estanys en què arribava llum suficient al biofilm hi podien coexistir processos de degradació i de síntesi de Chl-a, mentre que els valors en el sediment profund eren més constants i molt baixos ja que hi predominaven els processos de degradació.

La llum és un factor que afecta positivament la producció i negativament la preservació per l'acció destructora que té en combinació amb l'oxigen sobre la molècula de pigment (Daley, 1973; Carpenter *et al.*, 1986; Leavitt i Carpenter, 1990a; Hurley i Armstrong, 1991). La correlació positiva que presentava en el RDA (Figura 5.6a) l'índex de preservació amb el percentatge de llum que potencialment incidia al biofilm relacionava aquesta millor preservació amb una producció *in situ*.

Per altra banda, els aportats de material orgànic al·lòcton pigmentat al sediment dels llacs habitualment es consideren negligibles (Leavitt, 1993), els únics pigments que poden arribar al sediment provenint de fonts al·lòctones són les feofitines (Sanger i Gorham, 1970). En aquest sentit, la relació detectada en alguns estanys entre una proporció més elevada de feofitines al sediment i una proporció elevada de prats a la conca podria estar relacionada amb una major importància en termes relatius dels aportats al·lòctons en aquests estanys.

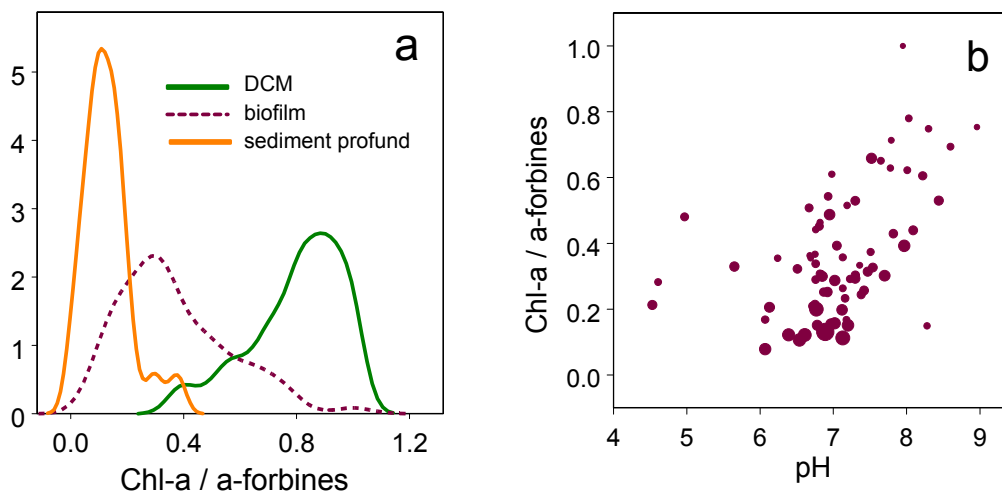


Figura 5.10. Funció de densitat de probabilitat de l'índex de preservació de la Chl-a (quocient molar entre la Chl-a i les a-forbines) (a). Relació entre l'índex de preservació de la Chl-a en les mostres del biofilm del sediment (Chl-a/a-forbines) i el pH del medi (b). La mida del símbol en el segon gràfic és proporcional a la fondària de l'estany.

El procés de formació de feofitines depèn en part del pH del medi (Daley i Brown, 1973). Als estanys dels Pirineus també s'observava aquesta dependència. En el RDA (Figura 5.6a), l'índex de preservació de la Chl-a apareixia relacionat amb l'alcalinitat, que en l'anàlisi era representada per la variable concentració de calci (Ca). En una regressió múltiple realitzada utilitzant l'índex de preservació de la Chl-a com a variable dependent (Taula 5.5), un 30% de la variància en l'índex venia explicada de manera compartida pel pH, la fondària de l'estany (Depth), el percentatge de llum que arribava al biofilm ($I_0(Z_{max})$) i el percentatge de prats a la conca (Meadows). El pH era la variable que explicava, de manera exclusiva, un percentatge més alt de variància (17%) mentre que el percentatge explicat de manera exclusiva per cadascuna de la resta de variables oscil·lava entre el 4 i el 6%. Les variables seleccionades figuren dins el grup de factors abiòtics amb un paper clau en els diferents processos que actuen sobre el material pigmentat fins a donar lloc al registre sedimentari. Els resultats mostraven que era la combinació d'aquestes variables el que exercia una major influència sobre la formació de productes de degradació en el biofilm del sediment dels estanys i que el pH del medi era el factor amb una major influència addicional (Figura 5.10b).

Taula 5.5. Partició de la variància de l'índex de preservació de la Chl-a (Chl-a/a-forbines) en mostres del biofilm amb les variables ambientals seleccionades amb el RDA (Figura 5.6a) utilitzant una anàlisi de regressió múltiple. S'han exclòs els estanys amb pH per sota de 6 (Figura 5.10b).

	coeficient	<i>p</i> -valor	Variància explicada (%)
intersecció	-0.524	0.008	
pH	0.139	<0.001	17
Depth	-0.004	0.001	6.4
Meadows	-0.002	0.001	6.3
$I_0(Z_{max})$	0.003	0.012	4
Variància compartida			30.3
Variància total			64
$F_{4, 65} = 28.9, p < 0.001$			

La ruta dels consumidors: el senyal d'herbivorisme

L'efecte de l'herbivorisme sobre les poblacions algals es tradueix en l'aparició de feofòrbids que són detectables en el sediment (p.e. Daley, 1973; Carpenter i Bergquist, 1985; Welschmeyer i Lorenzen, 1985; Leavitt i Carpenter, 1990b). L'astaxantina i en menor proporció la cantaxantina, són els dos carotenoides que es troben en concentracions més elevades en el zooplàncton (Capítol 1, Figura 1.8) (Goodwin, 1983; Foss *et al.*, 1987; Andersson *et al.*, 2003; Lotocka *et al.*, 2004).

En els estanys dels Pirineus, tan els pigments indicadors d'herbivorisme (feofòrbids a1 i a2) com els indicadors de zooplàncton (astaxantina i cantaxantina) apareixien relacionats amb la fondària dels estanys (Figura 5.6a i 5.7a). Aquest resultat era esperable tenint en compte que una major fondària significa més volum per unitat de superfície del sediment i per tant, una major proporció de senyal de les comunitats planctòniques al sediment encara que hi hagués una mateixa concentració. En canvi, la concentració de zooplàncton en la columna d'aigua (expressada en individus m^{-3} , Taula 4.4), era independent del senyal de pigments indicadors de zooplàncton en el sediment (Figura 5.7a) ja que no incorporava en el càlcul les diferències de volum d'aigua entre estanys i a més a més una era una mesura puntual d'un any concret i l'altra integrava un espai de temps considerable. Els resultats suggerien que la variació en la fondària de l'estany era molt més important en explicar el senyal de pigments indicadors de zooplàncton en el sediment que la pròpia variació en la concentració de zooplàncton.

El senyal del biofilm

Diagènesi en el biofilm

La clorofil·lida és un producte d'alteració de la molècula de Chl-a que es forma per l'acció de l'enzim clorofil·lassa (Daley, 1973). Aquest enzim es pot activar de manera artificial durant el procediment d'extracció (Jeffrey *et al.*, 1997), però també sembla ser que és més actiu en algunes espècies de diatomees (Jeffrey i Hallegraeff, 1987), grup que en estanys d'alta muntanya està representat majoritàriament per espècies bentòniques. La clorofil·lida i altres productes d'alteració de la molècula de Chl-a, com ara alòmers i epímers, van ser detectats en un nombre considerable dels estanys examinats. Es podia descartar però, que fossin un artefacte del mètode d'anàlisi ja que no havien estat detectats en analitzar cultius de microalgues utilitzant el mateix mètode. En el cas particular de la clorofil·lida, la seva presència podia ser indicadora de l'existència de comunitats de diatomees bentòniques (epifítiques o epipèliques) que havien entrat en procés de senescència. La desaparició del senyal d'aquest derivat en el sediment profund era un indicatiu de la labilitat de la molècula de clorofil·lida que evidenciava el seu escàs interès paleolimnològic.

El nombre d'estanys en què es detectaven epímers era molt superior en el sediment, tant superficial com profund, respecte a la columna d'aigua i en canvi, en el cas dels alòmers, les diferències més destacables es trobaven en el sediment profund, on hi havia una menor detecció si es comparava amb la detecció a la columna i el sediment superficial (Figura 5.3). Aquests resultats indicaven per una banda que la presència d'alòmers era possible en poblacions fotosintèticament actives com les del DCM i biofilm, però que es degradaven amb facilitat un cop dipositats en el sediment. En canvi, els epímers podrien ser productes post-deposicionals més estables que es formarien al sediment.

Pigments indicadors de diatomees i cianobacteris

Els grups algals més representatius de les comunitats epipèliques i bentòniques en general són diatomees i cianobacteris (Margalef, 1983). Les diatomees comparteixen alguns pigments indicadors amb altres grups algals exclusivament planctònics, concretament comparteixen la fucoxantina de crisòfits i la diadinoxantina de dinoflagel·lades. La presència d'aquests dos pigments en el biofilm probablement era indicadora de la presència de diatomees que creixien *in situ*, ja que la seva labilitat feia difícil pensar en un origen planctònic. Durant el període de mostreig, la zona fòtica arribava al fons de l'estany en alguns casos, aquest fet podia permetre el desenvolupament de comunitats d'organismes fotosintètics en el biofilm del sediment superficial. Els pigments indicadors de diatomees que caracteritzaven les mostres del biofilm en estanys en que hi havia comunitats fotosintèticament actives eren la clorofil·lida a, les clorofil·les c1 i c2, la fucoxantina i la diadinoxantina (PCA, Figura 5.4), mentre que en el sediment profund d'aquests mateixos estanys, el pigment indicador de diatomees que caracteritzava les mostres era la diatoxantina. Això era degut a la major estabilitat de la molècula de diatoxantina respecte els altres indicadors de diatomees (Taula 5.4). Un altre aspecte a comentar en relació als pigments indicadors de diatomees, era la correlació que presentaven amb la concentració de silici en l'aigua dels estanys (RDA, Figura 5.7a). Aquesta correlació es podria explicar pel fet que les diatomees tenen, respecte altres grups algals, uns requeriments més alts d'aquest element degut a que presenten un esquelet silícic que constitueix la unitat estructural bàsica de la seva paret cel·lular (Reynolds, 1984).

L'origen planctònic o bentònic del senyal de pigments indicadors de cianobacteris (mixoxantofil·la, equinenona, zeaxantina i cantaxantina) era difícil de determinar. En general es tracta de pigments poc làbils i per tant en aquest sentit els detectats en el biofilm tant podien venir de producció planctònica com d'una producció bentònica *in situ*. L'anàlisi de redundàncies (Figura 5.7a) mostrava que la cantaxantina i l'equinenona estaven relacionades amb la fondària dels estanys, mentre les altres dues ho estaven amb els pigments de diatomees. Una possible hipòtesi per interpretar aquestes associacions contraposades és el fet que tant la cantaxantina com l'equinenona són pigments que també es poden trobar en els teixits d'alguns crustacis del plàncton i del bentos (Goodwin, 1983; Foss *et al.*, 1987; Andersson *et al.*, 2003; Lotocka *et al.*, 2004). L'augment trobat en el pas de la columna al sediment, tan superficial com profund, en la detecció dels pigments indicadors relacionats amb crustacis i cianobacteris, és un patró que no s'ha enregistrat amb cap altre conjunt de pigments. Aquests resultats suggerien que el senyal de cantaxantina i d'equinenona que quedava enregistrat al sediment podria estar més vinculat a un senyal d'activitat per part de crustacis que no pas a la presència de cianobacteris. Els pigments indicadors de cianobacteris al sediment quedarien restringits a la mixoxantofil·la i la zeaxantina. També era difícil de determinar l'origen dels dos pigments que absorbeixen en l'UVA i que apareixien dissociats en l'anàlisi de redundàncies, caldria en primer lloc esbrinar si existeixen grups algals d'origen planctònic que els puguin sintetitzar.

Aplicació en estudis paleolimnològics

Els criteris per seleccionar els pigments indicadors de més interès en paleolimnologia són fonamentalment dos: que el pigment presenti especificitat de grup o que la seva formació es pugui associar amb algun procés (p.e. herbivorisme), i que sigui poc làbil per permetre que el senyal perduri en el registre sedimentari.

L'aproximació regional que es va donar a aquest treball no permetia aprofundir en les taxes dels processos que actuaven sobre el senyal pigmentari; però en canvi, permetia relacionar el senyal amb un ambient de deposició i així poder identificar els factors que jugaven un paper més rellevant. Aquest aspecte és molt més útil en la seva aplicació en estudis paleolimnològics, ja que en cada mostra de sediment que analitzem hi haurà un senyal generat durant uns quants anys (habitualment desenes), de manera que el que cerquem és una reconstrucció de l'ambient deposicional i diagenètic predominant, més que no pas l'estima de la taxa d'algun dels processos en particular. Per altra banda, aquesta aproximació espai per temps presenta alguns perills, en el sentit que el rang de variació d'alguns factors entre diferents estanys pot ser força més gran que en un mateix estany al llarg de la seva història i, per tant, algunes de les relacions trobades entre factors i pigments indicadors poden no tenir sentit en la reconstrucció de canvis ambientals en un mateix estany.

El senyal sestònic respecte del senyal del biofilm

Els pigments indicadors de grups algals planctònics que complien algun dels criteris abans anomenats eren l'al·loxantina com a pigment indicador de criptòfits i la luteïna com indicador de cloròfits. No es va trobar cap pigment indicador ni de crisòfits ni de dinoflagel·lades que persistís en el sediment, tot i ser els primers el grup que domina les comunitats fitoplanctòniques de molts estanys dels Pirineus (Capítol 4). Els pigments indicadors de bacteris fotosintètics (bacteriolorofil·les i oquenona) també mostraven un senyal consistent en el sediment superficial. Independentment de la seva labilitat, l'ambient en què es desenvolupen les comunitats que produeixen aquests pigments, presència de llum i condicions d'anòxia, probablement n'afavoreix la seva preservació. Per altra banda, els pigments indicadors de grups predominantment bentònics eren la zeaxantina i mixoxantofil·la com a indicadors de cianobacteris i la diatoxantina com a indicador de diatomees. Els resultats suggerien que el senyal de fucoxantina en el sediment era un senyal de diatomees que creixien *in situ* en el biofilm.

El gradient més pronunciat que es dibuixava a partir de la composició de pigments anava d'un senyal predominantment bentònic a un de planctònic. Un gradient tan marcat era degut a l'amplitud en el rang de penetració de la llum en els estanys mostrejats (Taula 4.2, Capítol 4). Els pigments que millor representaven aquest gradient eren l'al·loxantina (senyal planctònic) i la diatoxantina (senyal bentònic). En aquells estanys en els que al biofilm hi arribava menys d'un 10% de la llum de superfície, el valor del quocient entre aquests dos pigments en el biofilm es trobava correlacionat significativament amb la fondària de l'estany ($R^2 = 0.39$, $p < 0.0001$) (Figura 5.11a). En canvi, en els estanys on al

biofilm hi arribava més d'un 10% de la llum de superfície el quocient de l'al·loxantina respecte la diatoxantina no mostrava cap relació amb la fondària de l'estany (Figura 11b). És a dir, el quocient guanyava valor indicador quan no hi havia creixement en el biofilm. La utilització d'aquest quocient en estudis paleolimnològics podria aportar informació sobre canvis en la importància relativa d'aquests dos compartiments al llarg de la història de l'estany. Dins un mateix registre aquests canvis es podrien atribuir a variacions en la transparència de la columna d'aigua (p.e. aportis glacials) o a canvis en el nivell d'aigua de l'estany (p.e. canvis en el balanç hídric).

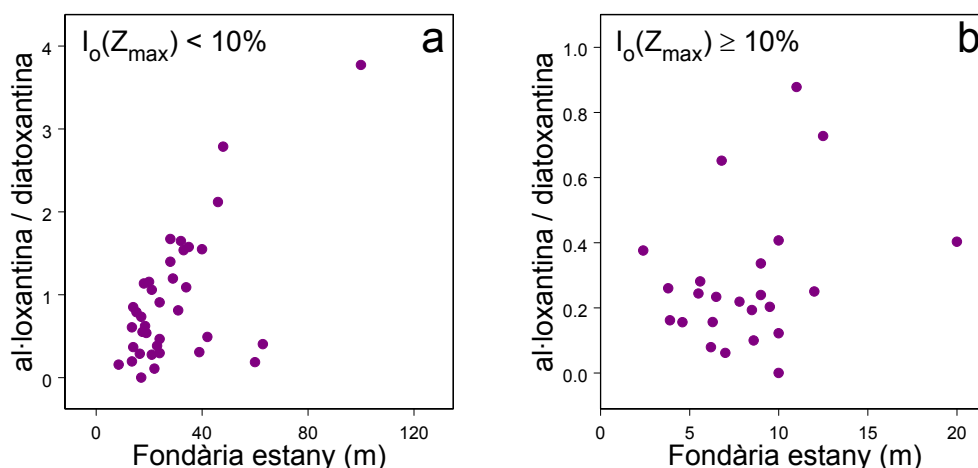


Figura 5.11. Relació del quocient molar al·loxantina/diatoxantina en el biofilm del sediment amb la fondària dels estanys. Estanys als que arriba al fons menys d'un 10% de la llum de superfície (a). Estanys als que arriba al fons més d'un 10% o un 10% de la llum de superfície (b).

El senyal d'herbivorisme

Els resultats d'aquest estudi mostraven que la principal causa de variació del senyal de pigments indicadors de zooplàncton entre els diferents estanys s'associava amb les diferències en la fondària entre estanys i en canvi era independent de la concentració de zooplàncton. Aquest resultat es va obtenir utilitzant un conjunt d'estanys distribuïts al llarg d'un rang de fondàries molt ampli (entre 2 i 123 m; Taula 4.2, Capítol 4). Alhora d'extreure'n conclusions que es puguin aplicar en estudis paleolimnològics, cal considerar que no és possible que els canvis en el nivell de l'aigua en un mateix estany al llarg de la seva història oscil·lin al llarg d'un gradient tan ampli com aquest. Per tant, la principal causa de variació del senyal de pigments de zooplàncton al llarg del temps en un mateix estany hauria de ser indicadora de canvis en la concentració de zooplàncton.

Valor paleolimnològic d'alguns quocients

Els resultats d'estudiar el comportament de l'índex de preservació de la Chl-a (Chl-a/a-forbines) en el biofilm del sediment dels estanys dels Pirineus mostraven que els factors que explicaven la variabilitat en l'índex eren principalment el pH del medi (relacionat positivament amb l'índex), però també la fondària de l'estany (negativament), la presència de prats a la conca (negativament) i la llum que arribava al biofilm del sediment (positivament) (Taula 5.5). Altres autors han trobat també una relació entre el pH del medi i el quocient 430:410, que utilitzen com a indicador de la proporció entre clorofil·les i feofitines (Guilizzoni *et al.*, 1992). Per altra banda, un augment en l'índex de preservació de la Chl-a s'ha relacionat sovint amb una disminució de la concentració d'oxigen hipolimnètic en el moment de la deposició en el sediment (Engstrom *et al.*, 1985; Swain, 1985). La interpretació paleolimnològica de l'índex obeeirà a alguns dels factors esmentats o a la seva combinació. La variació natural del pH d'un sol estany s'espera que sigui limitada degut a què als Pirineus la variació en el pH de l'aigua és deguda principalment a la litologia de la roca (Catalan *et al.*, 1993), i per tant la llum (o concentració d'oxigen hipolimnètic) i els aportos al·lòctons (desenvolupament de la vegetació a la conca) s'esperaria que fossin els principals factors de variació al llarg del temps. D'altra banda, com són aigües poc tamponades un predomini de la respiració fa baixar el pH, encara que processos alternatius de respiració facin pujar l'alcalinitat (Psenner i Catalan, 1994). Per tant, nivells més alts d'hipòxia en el fons sovint van lligats també a valors de pH més baixos.

Complementàriament a l'índex de preservació de la Chl-a, en estudis paleolimnològics s'ha utilitzat la relació entre els derivats de Chl-a i la suma de carotenoides (CD/TC). El quocient CD/TC només inclou els derivats de la Chl-a per disminuir les diferències entre numerador i denominador del quocient pel que fa a degradació diferencial. Un cop la Chl-a passava a feofitines i feofòrbids (CD) i aquests quedaven dipositats al sediment, la degradació d'aquests productes derivats de la Chl-a es produïa a taxes similars que la de carotenoides (TC) (Figura 5.12). Els canvis en aquest quocient han estat relacionats principalment amb canvis en els aportos d'origen al·lòcton respecte els d'origen autòcton, però també amb canvis en la preservació diferencial en el moment de la deposició al sediment (Sanger i Gorham, 1972; Engstrom *et al.*, 1985; Swain, 1985; Lami *et al.*, 1994; Giralt *et al.*, 2004). Utilitzant una sèrie de regressions múltiples es va determinar que, als estanys dels Pirineus, les variables significativament correlacionades amb el quocient CD/TC, calculat per les mostres del biofilm del sediment dels estanys, es restringien al pH, la presència de boscos de coníferes a la conca i l'àrea de l'estany. El pH era la variable que explicava més variància (33%, Taula 5.6) mentre que L.area i Con.wood explicaven respectivament 6.5 i 4% de variància. Aquests resultats suggerien que en la interpretació dels canvis en aquest quocient en un estany al llarg del temps calia tenir en compte no només els canvis en la proporció de material al·lòcton que entra a l'estany sinó també aquells processos relacionats amb un canvi de pH.

Taula 5.6. Partició de la variància del quocient CD/TC amb la combinació de variables ambientals que explicaven una part significativa de variància utilitzant una anàlisi de regressió múltiple. S'han exclòs els estanys amb pH per sota de 6.

	coeficient	<i>p</i> -valor	Variància explicada (%)
intersecció	3.166	<0.001	
pH	-0.353	<0.001	33.1
Area de l'estany (L.area)	0.131	0.006	6.5
Bosc de coníferes (Con.wood)	-0.012	0.027	4
Variància compartida			4.2
Variància total			47.8
$F_{3,66} = 20.1, p < 0.001$			

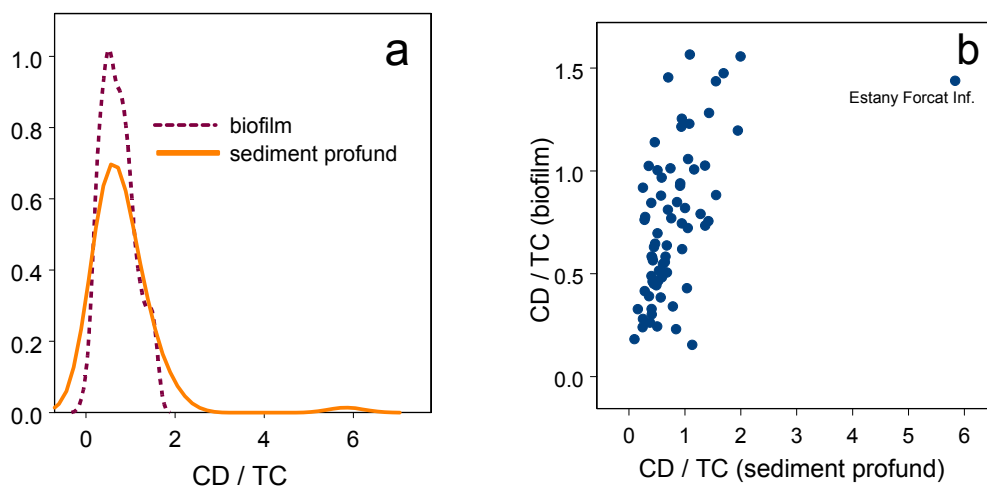


Figura 5.12. Funció de densitat de probabilitat del quocient molar entre la suma de feofitines i feofòrbids derivats de la Chl-a (CD) i la suma de carotenoides (TC) (a). Relació entre el valor del quocient al biofilm i al sediment profund (b).