

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN SUPERIOR
DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**INCORPORACIÓN DE NITRATO Y DURACIÓN DE LAS RESERVAS DE
NITRÓGENO EN LA MACROALGA PERENNE *EISENIA ARBOREA***

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

MARIANA SÁNCHEZ BARREDO

Ensenada, Baja California, México, agosto de 2009.

RESUMEN de la tesis de **Mariana Sánchez Barredo**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en Ecología Marina. Ensenada, Baja California. Agosto 2009.

INCORPORACIÓN DE NITRATO Y DURACIÓN DE LAS RESERVAS DE NITRÓGENO EN LA MACROALGA PERENNE *EISENIA ARBOREA*

Resumen aprobado por:

Dra. Lydia Betty Ladah
Directora de tesis

Eisenia arborea es un sargazo que subsiste aproximadamente dos meses bajo condiciones de limitación ambiental de nutrientes nitrogenados. Estas condiciones ocurren durante el verano, en el límite sur de su distribución en las costas de Baja California Sur, en donde es el único sargazo presente.

Para conocer la razón de la tolerancia de *E. arborea* a la limitación ambiental de nitrógeno se abordaron dos posibles explicaciones: *E. arborea* puede incorporar nitrato que, mediante pulsos rápidos de agua más fría, se encuentra brevemente disponible en el ambiente, o bien, subsista con reservas internas de nitrógeno que se agotan lentamente. Para explorar la primera posibilidad se hicieron, en el laboratorio, estudios de consumo de nitrato a diferentes concentraciones, bajo condiciones controladas de luz y de temperatura. Para explorar la segunda posibilidad, se realizaron dos estudios (febrero y mayo de 2008) de duración de reservas de nitrógeno, y la posterior recuperación de éstas mediante fertilizaciones semanales, con pulsos de nitrato (200 μM por 5 h).

El consumo de nitrato en *E. arborea* siguió una tendencia lineal, que se mantuvo al menos 3 horas en un intervalo de concentraciones entre 14 y 32 μM , y no agotó los nitratos del medio en tres horas, en ninguna de las concentraciones utilizadas.

Las reservas de nitrógeno en *E. arborea* decayeron hasta un 1% en un máximo de 4 semanas cuando no hubo nitrato en el medio. El estudio de recuperación de las reservas indicó que con fertilizaciones semanales el %N promedio en *E. arborea* se mantuvo constante en 1.3%. Cuando *E. arborea* no estuvo sometida a la fertilización semanal, el %N decayó significativamente hasta ser menor al 1%.

A partir de este estudio se concluyó que las reservas de *E. arborea* posiblemente no son suficientes para subsistir dos meses sin aporte de nutrientes nitrogenados y que es factible que *E. arborea* pueda aprovechar los pulsos de nitrato para mantener constante el %N en el tejido .

Palabras clave: *Eisenia arborea*, nitrógeno, consumo de nitrato.

ABSTRACT of the thesis presented by **Mariana Sánchez Barredo** as a partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCE degree in Marine Ecology. Ensenada, Baja California, México. August 2009.

NITRATE UPTAKE AND NITROGEN RESERVES ON THE PERENNIAL KELP *ESIENIA ARBOREA*

Eisenia arborea, the kelp with the southern-most distribution in the Northern hemisphere, survives for over two months at its southern limit during warm summers with low ambient nutrient conditions and during “El Niño” conditions, whereas nearby populations of kelps, such as the well studied *Macrocystis pyrifera*, die.

E. arborea tolerance to environmental nitrogen shortage was explored. Two hypotheses were proposed: 1) *E. arborea* can consume nitrate from the rapid (on the order of hours) pulses of cool nutrient-rich water, due to internal wave activity; or 2) that *E. arborea* can form internal nitrogen reserves that last for the 2 months of warm nutrient poor conditions. The first possibility was explored by measuring nitrate uptake by *E. arborea* at different initial nitrate concentrations, under controlled conditions of light and temperature in the laboratory. In order to explore the second possibility, two nitrogen reserve experiments (February and May) were performed on reserve duration under nutrient poor conditions, and their recovery when exposed to weekly fertilizations of nitrate in pulses (200 μ M; 5 h).

In laboratory experiments, the nitrate consumption by *E. arborea* followed a linear tendency for at least 3 hours. *E. arborea* did not exhaust the nitrate in three hours, under any concentration. The nitrogen reserves of *Eisenia* fell to 1%, lasting up to 4 weeks under nitrogen poor conditions. The nitrogen reserve recovery experiments indicated that with weekly fertilizations, the average %N in *E. arborea* blade remained constant at 1.3%, whereas without continuous fertilizations, the %N was reduced significantly to less than 1%.

From this study, we conclude that the reserves of *E. arborea* are not sufficient to allow the kelp to subsist two months without input of nitrogen in the field. The results support the conclusion that *E. arborea* may take advantage of the pulses of nitrate lasting on the order of hours to maintain or fill tissue nitrogen reserves for survival during warm summers at its southern limit.

Keywords: *Eisenia arborea*, nitrate uptake, nitrogen reserves

Dedicatorias

A Dios, que avanzó conmigo otro paso del camino

A mis padres, mi mejor, mas hermosa y grande bendición

A mi abuela, hoy que se cumplen 10 años de tu partida

Agradecimientos

A Lydia Ladah. Mil gracias por esta aventura asombrosa y caótica a la vez. Por depositar tu confianza en mí, por todo tu tiempo, paciencia, enseñanzas y cariño. Eres la mejor directora de todos los tiempos.

Al Dr. José Zertuche por las facilidades prestadas para la parte experimental de este trabajo, y sus valiosos consejos dentro y fuera del laboratorio.

A mis tíos Rebeca y Rogelio. Gracias por brindarme hogar y familia. Por recibirme amorosamente, como una hija más. Los quiero mucho

A Carlos Arturo: Gracias por la complicidad y cariño de hermanos. Vamos siempre juntos, siempre adelante.

A Thalís, el rayito de sol constante, noble y hermoso. Más que una amiga, una hermana. Gracias por una amistad incomparable (y por las toneladas de quesadillas).

A Diana. Mi *parcera* de todos los días. Ha sido un placer conocerte y compartir cultura y tradiciones. Espero que siempre seamos la misma mala influencia mutua.

A Edgar. Sobran las palabras contigo.

A Pepe Guzmán. Imposible hacer ni un pedacito de esta tesis sin ti Pepito, siempre presente, siempre dispuesto y amable. No alcanzo a expresar mi gratitud.

A mi excelente comité de tesis un agradecimiento especial: Dr. Gilberto Gaxiola Castro, Dra. M. del Pilar Sánchez Saavedra y Dr. José Antonio Zertuche González. Gracias por sus invaluable enseñanzas y consejos.

Al CONACyT por el apoyo económico

CONTENIDO

	Página
Resumen español	i
Resumen inglés	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	v
Lista de Figuras	vii
Lista de Tablas	ix
Capítulo I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 Aspectos generales	1
I.2 Nitrógeno en el medio marino	2
I.3 Importancia del nitrógeno	3
I.4 Incorporación de nutrientes nitrogenados	3
I.5 Formación de reservas de nitrógeno	4
I.6 <i>Eisenia arborea</i>	5
I.7 Hipótesis	7
I.8 Objetivos	7
I.8.1 Objetivos generales	7
I.8.2 Objetivos particulares	7
Capítulo II. MÉTODOS	9
II.1 Colecta y almacenamiento	9
II.2 Distribución de nitrógeno en el tejido de <i>Eisenia arborea</i>	10
II.3 Incorporación de nitrato	13
II.3.1 Selección del tejido	13
II.3.2 Condiciones de cultivo en laboratorio	14
II.4 Duración de las reservas	15
II.5 Recuperación de las reservas	15
Capítulo III. RESULTADOS	17
III.1. Distribución de nitrógeno en el tejido	17
III.1.1 Distribución del nitrógeno en las hojas de <i>Eisenia arborea</i>	17
III.1.2 Distribución del nitrógeno en las secciones del alga <i>Eisenia arborea</i>	19
III.2 Incorporación del nitrato en el tiempo	20
III.3 Reservas de nitrógeno de <i>Eisenia arborea</i>	23
III.4 Recuperación de las reservas de nitrógeno	24
Capítulo IV. DISCUSIÓN	33
IV.1 Distribución de nitrógeno en el tejido	34
IV.2 Incorporación del nitrato en el tiempo	35
IV.3 Reservas de nitrógeno de <i>Eisenia arborea</i>	35

CONTENIDO (continuación)	
IV.4 Recuperación de las reservas	37
Capítulo V. CONCLUSIONES	39
Capítulo VI. PROYECCIONES A FUTURO	40
LITERATURA CITADA	41

LISTA DE FIGURAS

	Página	
Figura 1	Esquema de la ubicación de los individuos de <i>Eisenia arborea</i> sujeta al fondo de los estanques de cultivo con sogas y piedras y la localización de los medidores de luz (L) y temperatura (T).	9
Figura 2	Mediciones de a) Temperatura e b) Irradiancia en uno de los estanques de cultivo de <i>Eisenia arborea</i> , durante el experimento de agotamiento de reservas de nitrógeno, realizado entre mayo y agosto de 2009. Los estanques se mantuvieron sombreados con malla que deja pasar 20% de la luz incidente.	11
Figura 3	Representación de las tres secciones de una hoja de <i>Eisenia arborea</i> y la zona de muestreo para conocer su composición.	12
Figura 4	<i>Eisenia arborea</i> . Las flechas indican cada una de las secciones que se analizaron.	13
Figura 5	Distribución de %N (a); %C (b) y C/N (c) en las tres secciones de la hoja de <i>Eisenia arborea</i> , antes del periodo de limitación de nutrientes nitrogenados en el medio. N = 4; \pm 1 EE. La comparación entre secciones de la hoja se realizó con ANOVA de una vía. No hay diferencias significativas.	18
Figura 6	Distribución y comparación de %N (a); %C (b) y C/N (c) en las cuatro secciones de <i>Eisenia arborea</i> , antes y después de permanecer siete semanas bajo limitación de nutrientes nitrogenados. El asterisco (*) indica $p < 0.05$; prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnov. No hay diferencias significativas. N = 2; \pm 1 EE.	21
Figura 7	Incorporación de nitrato en el tiempo por <i>Eisenia arborea</i> , bajo condiciones controladas de laboratorio (irradiancia 300 μ cuanta $m^{-2}s^{-1}$; temperatura 15 °C).	22
Figura 8	Porcentaje de nitrógeno en el tejido seco de <i>Eisenia arborea</i> (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). El asterisco (*) indica $p < 0.05$, cuando el %N del tejido significativamente diferente al del primer día. Se emplearon análisis ANOVA y <i>a posteriori</i> Tukey para comprobar en que día la razón %N disminuyó significativamente. El panel a corresponde al experimento realizado en febrero-abril (N = 2, \pm 1 EE) y el panel b) al realizado en mayo-julio (N = 3, \pm 1 EE).	25
Figura 9	Porcentaje de carbono en el tejido seco de <i>Eisenia arborea</i> (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). (a) corresponde al experimento realizado en febrero-abril (N = 2, \pm 1 EE) y (b) al realizado en mayo-julio (N = 3, \pm 1 EE). No hay diferencias significativas; ANOVA de una vía.	26

LISTA DE FIGURAS (CONTINUACIÓN)

- Figura 10** Razón C/N del tejido seco de *Eisenia arborea* (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). El asterisco (*) indica $p < 0.05$, cuando la razón C/N del tejido significativamente diferente a la del primer día. Se emplearon análisis ANOVA y *a posteriori* Tukey para comprobar en que día la razón C/N disminuyó significativamente. El (a) corresponde al experimento realizado en febrero-abril ($N = 2, \pm 1$ EE) y (b) al realizado en mayo-julio ($N = 3, \pm 1$ EE). **27**
- Figura 11** Porcentaje de nitrógeno en el tejido *Eisenia arborea* (barras) en los días subsecuentes a la fertilización inicial: nitrato $200 \mu\text{M}$ por 5 h (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato $200 \mu\text{M}$; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). Los asteriscos (***) indica $p < 0.001$, cuando el %N del tejido fue significativamente diferente al que había después de la primera fertilización. (ANOVA de una vía y *a posteriori* Tukey) ($N = 3, \pm 1$ EE). **30**
- Figura 12** Porcentaje de carbono en el tejido *Eisenia arborea* (barras) en los días subsecuentes a la primera fertilización inicial: nitrato $200 \mu\text{M}$ por 5 h (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato $200 \mu\text{M}$; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). No hay diferencias significativas, ANOVA de una vía. **31**
- Figura 13** Razón C/N del tejido de *Eisenia arborea* (barras) en los días subsecuentes a la primera fertilización (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato $200 \mu\text{M}$; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). Los asteriscos (***) indican $p < 0.001$, cuando la razón C/N del tejido fue significativamente diferente al que había después de la primera fertilización. (ANOVA de una vía y *a posteriori* Tukey) ($N = 3, \pm 1$ EE). **32**

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla I	Resultados del análisis de varianza de una vía para comparar el %N, %C y razón C/N entre las secciones basal, media y apical de las hojas de <i>Eisenia arborea</i> , antes del periodo de empobrecimiento. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, que comprueba homogeneidad de varianzas.	17
Tabla II	Resultados del análisis no paramétrico Kruskal-Wallis para comparar el %N, %C y razón C/N entre las cuatro secciones de <i>Eisenia arborea</i> antes y después de estar limitada por nitrógeno durante siete semanas.	19
Tabla III	Resultados de la prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnov de la comparación del contenido porcentual de nitrógeno, carbono y razón C/N en las cuatro secciones de <i>Eisenia arborea</i> , antes y después de 7 semanas en condiciones de limitación de nutrientes nitrogenados. Con cursivas se muestran los factores con diferencias significativas.	20
Tabla IV	Valores de la regresión lineal de las curvas de incorporación de nitrato por <i>Eisenia arborea</i> . Con cursivas se muestran los resultados significativos.	22
Tabla V	Resultados del análisis de varianza de una vía para comparar el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N a través del tiempo de los dos experimentos (febrero y mayo) de agotamiento de reservas de nitrógeno de <i>Eisenia arborea</i> bajo limitación ambiental de nitrato. Las diferencias significativas se indican en cursivas. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los resultados con diferencias significativas.	24
Tabla VI	Resultados de la prueba t-student para comparar el porcentaje de nitrógeno en el tejido, antes de la fertilización inicial (nitrato 200 µM; 5 horas) y una semana después de ésta.	24
Tabla VII	Resultados del análisis de varianza de una vía para comparar, según el tiempo, el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N cuando el estanque fue fertilizado con nitrato semanalmente y cuando no se fertilizó después de la inicial. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los factores con diferencias significativas.	28
Tabla VIII	Resultados del análisis de varianza de dos vías, interacción tiempo-tratamiento (fertilizado semanalmente y no fertilizado después de la fertilización inicial), comparando el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N de <i>Eisenia arborea</i> . Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los factores con diferencias	29

significativas.

I INTRODUCCIÓN

Eisenia arborea es un sargazo perteneciente a la familia Alariaceae (Yoon *et al.*, 2001). Se distribuye desde Vancouver, Canadá hasta Bahía Magdalena, México, lugar que marca el límite sur de la distribución de sargazos en el Pacífico Norte. En esa región, *Eisenia arborea* es el único sargazo presente y en verano se registran temperaturas mayores a 20 °C y concentraciones de nitrato menores a 1 µM (Edwards y Hernández-Carmona, 2005; Matson y Edwards, 2007) que son desfavorables para los sargazos (Dayton, 1985). Estas características hacen suponer que esta especie sobrevive bajo condiciones de limitación de nutrientes en esta época del año. Por lo anterior, debe de tener estrategias adaptativas diferentes a otros sargazos que le permitan sobrevivir el verano. Este estudio se centra en la evaluación de la incorporación de nitrato en condiciones controladas en el laboratorio y de la capacidad de almacenamiento de nitrógeno en forma de reservas de *Eisenia arborea*.

I.1 Aspectos generales

Las macroalgas, como los sargazos, son productores primarios, que participan en el ciclo del carbono, proveen alimento a una amplia variedad de especies y sirven como refugio a otros organismos (Dayton, 1985). Los sargazos pertenecen al orden de las Laminariales. Habitan desde la zona intermareal hasta profundidades de 100 metros, aunque la mayoría se encuentran a menos de 30 metros y son abundantes en aguas frías y templadas (Dayton, 1985; Schiel y Foster, 2006).

La distribución, la sobrevivencia, el crecimiento y la reproducción de las macroalgas es influenciada por varios factores. Por ejemplo, la luz regula la fotosíntesis y la producción de pigmentos (Rosenberg y Ramus, 1982a; Markager y Sand-Jensen, 1992; Bidigare *et al.*, 1993; Fairhead y Chesire, 2004). La temperatura influye en los procesos enzimáticos (van den Hoek, 1975;

Gerard, 1997; Korb y Gerard, 2000a) y determina la distribución latitudinal de los sargazos desde el punto de vista biogeográfico (Steneck *et al.*, 2002). Los nutrientes como el fósforo y el nitrógeno tienen un importante papel en el desarrollo y la sobrevivencia de las macroalgas.

I.2 Nitrógeno en el medio marino

Los nutrientes nitrogenados en las zonas costeras de Baja California son aportados principalmente por las surgencias, que transportan a la superficie agua más profunda, fría y rica en nutrientes (Mann y Lazier, 1996; Mark *et al.*, 2006). Debido a esto, la concentración de nitrato, principal nutriente nitrogenado en zonas templadas, está relacionado inversamente con la temperatura (Zimmerman y Kremer 1984; Ladah, 2003). En Baja California, las concentraciones superficiales de nitrato superiores a 10 μM son indicadoras de surgencias (Zaitsev, 2003). En el sur de California una surgencia, en promedio, dura 11.4 días y la temperatura superficial del agua disminuye alrededor de 4.7 °C (Dorman y Palmer, 1981, citado en Zimmerman y Kremer, 1984). Otros fenómenos físicos naturales que proveen nutrientes a la costa son: los remolinos a mesoescala (Roughan *et al.*, 2005), la mezcla debido al rompimiento de ondas internas (Witman *et al.*, 1993; Leichter *et al.*, 2003), las descargas pluviales (Paerl *et al.*, 1990; Paerl, 1997; Boyer *et al.*, 2006) y el aporte de nitrógeno por desembocadura de ríos (Mitsch *et al.*, 2001; Howarth *et al.*, 2002; Darnaude *et al.*, 2002). Un aporte más de nutrientes está dado por las actividades antropogénicas y sus desechos (Mallin *et al.*, 1993). Se conoce por estudios recientes (Ladah *et al.*, en revisión) que en algunos mantos de sargazos en Baja California Sur, existe un aporte de nitrato (hasta 10 μM), con duración entre minutos y horas, generado por ondas internas, que traen hacia la zona costera agua proveniente de abajo de la termoclina.

I.3 Importancia del nitrógeno

Las macroalgas marinas necesitan nutrientes nitrogenados para su sobrevivencia (Hanisak, 1983), ya que son la fuente de nitrógeno para la formación de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes orgánicos (Lobban y Harrison, 1994). La limitación del nitrógeno inorgánico en productores primarios da lugar a la disminución de la clorofila, del nitrógeno en el tejido y de la proteína por célula, y en consecuencia la disminución de la tasa fotosintética, el crecimiento, la producción de aminoácidos y la síntesis de proteínas (Turpin, 1991). Cuando disminuye el nitrógeno en el tejido (< 1% en peso seco) los macroalgas se blanquean o pierden color, debido a la pérdida de complejos pigmentos-proteínas (Hanisak, 1990; Rico y Fernández, 1996).

I.4 Incorporación de nutrientes nitrogenados

La incorporación de nutrientes nitrogenados en las macroalgas varía en función de algunas variables ambientales, entre las cuales destacan la temperatura y la luz (Lobban y Harrison, 1994; Nishihara *et al.*, 2005). La temperatura es importante debido a que controla la mayoría de las tasas enzimáticas en las macroalgas. La irradiancia, de forma indirecta, afecta también la incorporación de nutrientes (Kopczak, 1994; Nishihara *et al.*, 2005). En la fase luminosa de la fotosíntesis se produce el ATP necesario para el transporte activo de nitrato y nitrito y se crean esqueletos de carbono en los cuales se pueden incorporar los nutrientes (Lobban y Harrison, 1994).

La presencia de más de una forma química de nitrógeno en el medio también afecta su incorporación por las macroalgas (Goldman y Glibert, 1982; McGlathery, 1996). La relación entre la concentración de amonio y nitrato en el medio puede influir en la incorporación de estos nutrientes, pues el amonio puede reducir la actividad de la enzima nitrato-reductasa y en consecuencia el consumo de nitrato (O'Brien y Wheeler, 1987). Sin embargo esto no se observa

en todas las especies (Nishihara *et al.*, 2005). El uso preferencial del amonio sobre el nitrato ahorra energía, pues el nitrato debe ser reducido a amonio para ser incorporado en los aminoácidos (Lobban y Harrison, 1994). Este ahorro energético es de especial utilidad en aguas polares que reciben escasa irradiancia (Korb y Gerard, 2000a). Además de la ventaja energética, hay que considerar la abundancia del amonio en el ambiente. En aguas profundas, estuarinas o en bahías semi-cerradas, el amonio es una fuente importante de nitrógeno (Paerl, 1997). Sin embargo, en aguas con corrientes costeras fuertes y bien oxigenadas, como en las costas rocosas expuestas de California, las concentraciones de nitrato sobrepasan notablemente a las de amonio (Fujita *et al.*, 1989).

I.5 Formación de reservas de nitrógeno

Mientras no están limitadas por nutrientes nitrogenados ($\text{NO}_3 < 1 \mu\text{M}$, según Gerard (1982)) los sargazos tienen la capacidad de formar reservas de nitrógeno, de tal forma que les sea posible continuar con su desarrollo cuando hay limitación de nutrientes nitrogenados (Gerard, 1982; Fujita *et al.*, 1989; Korb y Gerard, 2000a). Las reservas de nitrógeno se crean bajo diferentes formas de especies químicas: como ion, como aminoácidos libres (Naldi y Wheeler, 1999) o como cuerpos proteínicos (Pueschel y Korb, 2001).

Las características de formación de reservas de nitrógeno de las macroalgas varían entre poblaciones y especies, optimizando su supervivencia y crecimiento según los regímenes locales de abastecimiento de nutrientes y las adaptaciones a vivir bajo éstos (Pedersen y Borum, 1997). Las macroalgas de los océanos Ártico y Antártico, presentan condiciones similares de luz y temperatura, pero difieren en cuanto a la disponibilidad de nitrógeno, por lo anterior tienen estrategias adaptativas diferentes. En el Ártico donde escasean los nutrientes nitrogenados en el ambiente, las algas forman reservas de nitrógeno, pero no en

el Antártico, donde hay nitrato disponible todo el año y las algas no requieren acumularlo (Korb y Gerard, 2000a; 2000b).

De los sargazos que viven en las costas de Baja California, solo se han estudiado las reservas de nitrógeno de la especie *Macrocystis pyrifera* (Gerard, 1982). En un ambiente carente de nitrato ($<1.0 \mu\text{M}$), el porcentaje de nitrógeno total (%N) en el tejido seco disminuye, en menos de 4 semanas, desde 2.6% (valor medido después que el alga ha estado al menos un mes bajo concentraciones de nitrato superiores a $1.0 \mu\text{M}$), hasta valores de 1%, cuando el alga se considera limitada por nitrógeno (Gerard, 1982). Sin embargo, existe poca información acerca de otros sargazos. Entre ellos está el sargazo del género *Eisenia*, que se distribuye más al sur que cualquier otro sargazo y que brinda alimento y refugio a distintas especies de organismos de valor comercial, entre ellas el abulón, la langosta y el erizo de mar.

1.6 *Eisenia arborea*

Destaca la presencia de *Eisenia arborea* en el límite sur de su distribución, ya que es el único sargazo existente en esa región, donde en la costa, la temperatura superficial del agua en el verano se aproxima a los $28 \text{ }^\circ\text{C}$ (Ladah *et al.*, en revisión). Lo anterior sugiere que durante ese periodo, la concentración de nitrato en el ambiente era menor a $1.0 \mu\text{M}$, considerando que en Baja California no hay nitrato detectable en aguas superficiales con temperatura superior a $19 \text{ }^\circ\text{C}$ (Hernández-Carmona *et al.*, 2001; Ladah, 2003; Ladah *et al.*, en revisión). *Eisenia* sobrevivió los veranos de 2004 y 2006, en aguas someras (8 m) donde la temperatura llegó a los $26 \text{ }^\circ\text{C}$, sin presentar los efectos negativos que se observan en otros sargazos (blaqueamiento). Durante este tiempo, el nitrógeno en su tejido se mantuvo arriba de 2.5% (Ladah *et al.*, en revisión), valor inesperado por condiciones tan cálidas y supuestamente pobres en nutrientes. Se ha observado que *Eisenia arborea* también subsiste periodos de

eventos El Niño, en Baja California mientras que *Macrocystis* muere, tal como ocurrió en el verano de 1997 (Hernández-Carmona *et al.*, 2001).

La explicación a la resistencia de *Eisenia arborea* a las condiciones de altas temperatura y baja concentración de nutrientes ya mencionadas se desconoce, a pesar de que ha despertado interés en la especie (Matson y Edwards, 2007). En este trabajo, se estudiaron dos posibles explicaciones: la primera es que *Eisenia arborea* tenga tasas altas de incorporación de nitrato, que le permitan aprovechar los pulsos rápidos (minutos a horas) de agua más fría (19 °C) que tiene concentraciones de nitrato detectables (>1 µM) observado en verano en San Juanico, Baja California Sur (Ladah *et al.*, en revisión). La otra explicación posible es que forme reservas de nitrógeno que se agoten a lo largo de estos dos meses de limitación de nitrógeno en el ambiente.

Para explorar estas dos posibilidades se realizó lo siguiente:

- 1) Se midió la variación en el %N del tejido de las diferentes secciones de *Eisenia arborea* al estar un tiempo prolongado en un medio sin aporte de nutrientes nitrogenados, como aparentemente se encuentra en el límite sur de su distribución.
- 2) Se evaluó la incorporación de nitrato de *Eisenia arborea* en condiciones de laboratorio, con luz y temperatura constante. Se utilizaron concentraciones de nitrato variables, entre 14 y 32 µM, para saber si la incorporación permitiría aprovechar nitrato provisto por pulsos, como sucede con las ondas internas de alta frecuencia medida en San Juanico en verano (3 horas).
- 3) Se midió, en estanques de cultivo, el tiempo que tardan las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* en agotarse, cuando no tienen una fuente externa de nitrato para saber si duran más de cuatro semanas. El periodo de estudio se definió al considerar la duración de reservas de nitrógeno de *Macrocystis pyrifera*, ya que es el único sargazo similar estudiado en la zona por Gerard (1982).

4) Se evaluó si con pulsos breves (horas) de nitrato en estanques de cultivo, *Eisenia arborea* pudiera recuperar las reservas, después de que han sido agotadas.

I.7 Hipótesis

- *Eisenia arborea* incorpora nitrato en las concentraciones y tiempos semejantes a los pulsos de las ondas internas (10 – 30 μM ; 3 horas)
- Las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* permanecerán por encima del 1 %N en peso seco, durante más de cuatro semanas bajo limitación de nitrato (< 1 μM).

I.8 Objetivos

I.8.1 Objetivos generales

- Conocer la distribución del nitrógeno a lo largo de las hojas y en las secciones de *Eisenia arborea*, así como la variación del %N en el tejido como respuesta a la variación de nitrato en el medio.
- Estudiar la incorporación de nitrato de *Eisenia arborea* a diferentes concentraciones en tiempos cortos (horas).
- Evaluar la duración de las reservas de nitrógeno en *Eisenia arborea* bajo condiciones en cultivo controlado, sin nutrientes nitrogenados añadidos y su recuperación posterior mediante la fertilización con nitrato.

1.8.2 Objetivos particulares

- Evaluar la incorporación de nitrato en *Eisenia arborea*, en condiciones de laboratorio, a concentraciones variables del nutriente, con luz y temperatura constantes y representativas de la costa de Baja California ($300 \mu\text{mol cuanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $15 \text{ }^\circ\text{C}$).
- Conocer la duración de las reservas de nitrógeno en *Eisenia arborea* bajo escasez de nitrato ($< 1 \mu\text{M}$) en condiciones de cultivo controlado.
- Estudiar la recuperación de las reservas de nitrógeno en *Eisenia arborea*, después de que se han agotado, mediante fertilizaciones semanales con pulsos de nitrato ($200 \mu\text{M}$, durante 5 horas).

II MÉTODOS

II.1 Colecta y almacenamiento

Se colectaron ejemplares de *Eisenia arborea* de la zona submareal (entre 1 y 2 m de profundidad) de Campo Kennedy, Baja California ($31^{\circ} 42.16' N$, $116^{\circ} 40.9' W$), en febrero y mayo de 2008. Los ejemplares se recolectaron completos, junto con el substrato al cual estaba fijado el crampón.

Las algas se almacenaron en estanques exteriores de cultivo de un metro cúbico de capacidad. Cada tanque contenía 5 o 6 ejemplares de *Eisenia arborea*, sumando un peso de entre 1200 y 1600 g. Se empleó agua de mar, sin nutrientes añadidos, filtrada a $50 \mu m$ con un filtro rápido de espuma volcánica. Los estanques con *Eisenia arborea* se cubrieron con malla sombra que permite pasar el 20% de la luz incidente. Se colocaron termistores (Fig. 1) y medidores de irradiancia, para monitorear la temperatura e irradiancia a lo largo del estudio (Fig. 2a y b).

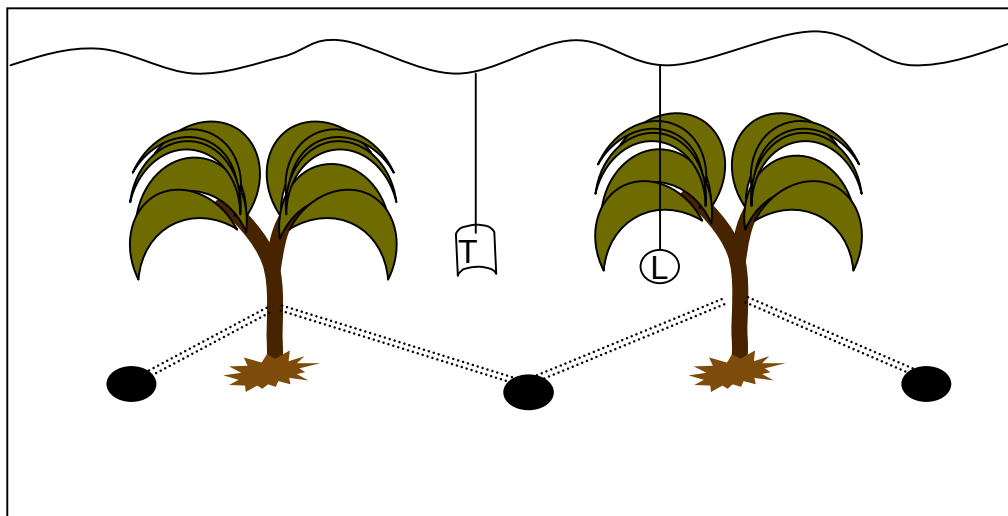


Figura 1. Esquema de la ubicación de los individuos de *Eisenia arborea* sujeta al fondo de los estanques de cultivo con sogas y piedras, así como la localización de los medidores de luz (L) y de temperatura (T).

II.2 Distribución de nitrógeno en el tejido de *Eisenia arborea*

De los organismos recién colectados del medio natural se tomaron 4 hojas del mismo individuo de *Eisenia*. Se limpiaron las hojas con servilletas de papel, se secaron a 60 °C por 72 horas, molieron y analizaron para medir el porcentaje en peso seco de C, H, y N en tres diferentes secciones de cada hoja: basal, media y apical (Fig. 3). Se comparó el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N con ANOVA de una vía para evaluar si existían diferencias entre las tres secciones de la hoja. Se realizó una prueba paramétrica por tener $N = 4$ y homogeneidad de varianzas, determinada con la prueba Cochran con $p > 0.3$

Debido a que *Eisenia* presenta especialización en sus tejidos, fue necesario determinar que sección (crampón, hoja, estipe y horqueta) refleja los cambios en las condiciones ambientales de nitrógeno y si entre ellos la respuesta es diferente. Al inicio del estudio se colectaron, en dos individuos, muestras de tejido de cada una de las cuatro secciones del alga (Fig. 4). Se empleó la parte basal de la hoja (un fragmento de 3 o 4 cm de longitud, cortado a 1 cm de la estipe). De la horqueta se tomó una porción justo en la intersección, del crampón se tomó la muestra a 4 cm de la estipe y de esta última, un corte transversal a la mitad de su longitud. Todas las secciones se limpiaron con servilletas de papel, se secaron a 60 °C por 72 horas, molieron y analizaron para determinar el porcentaje en peso seco de C, H, y N. Se comparó entre las cuatro secciones la prueba no paramétrica Kruskal Wallis por tener $N = 2$.

Todos los análisis de contenido de C, N, y H en el tejido algal se realizaron en un equipo “*Organic Elemental Analyzer – CHN [Exeter Analytical](#)*” modelo CEC 440HA en el ‘*Core Analytical Laboratory, Marine Science Institute, UCSB*’ en Santa Barbara, California, EUA. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica v. 6.0 (Statsoft, Inc 1984-2001).

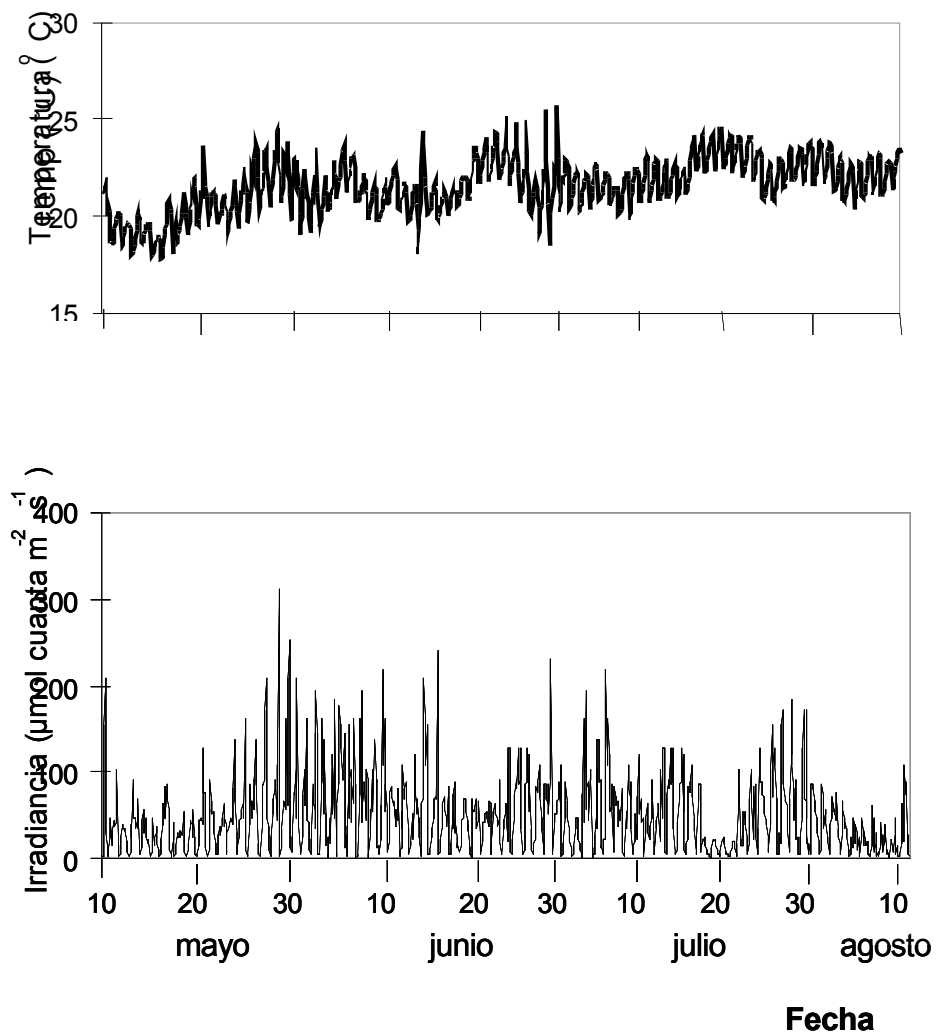


Figura 2. Mediciones de a) Temperatura y b) Irradiancia en uno de los estanques de cultivo de *Eisenia arborea*, durante el experimento de agotamiento de reservas de nitrógeno, realizado entre mayo y agosto de 2009. Los estanques se mantuvieron sombreados con malla que permite pasar 20% de la luz incidente.

Se mantuvieron los individuos por siete semanas en agua sin nutrientes nitrogenados añadidos (esquema del estanque, Fig. 1). Se colectaron de nuevo, por duplicado (individuos diferentes), muestras de tejido de cada una de las cuatro secciones y se repitió la comparación entre ellos (prueba no paramétrica Kruskal Wallis por tener $N = 2$) para evaluar si había diferencias entre las secciones de la alga, después del agotamiento de nutrientes.

Para conocer que parte del alga mostró diferencias significativas antes y después de las siete semanas en agua sin nutrientes nitrogenados añadidos, se comparó, para cada sección por separado, el contenido porcentual de nitrógeno, carbono y razón C/N antes y después del periodo de empobrecimiento. Se empleó la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov, por tener $N = 2$.

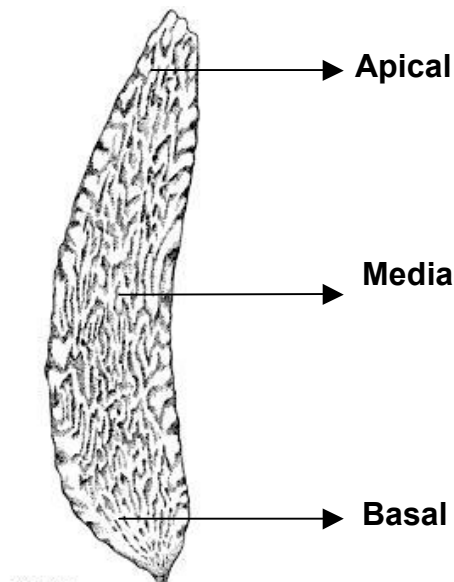


Figura 3. Representación de las tres secciones de una hoja de *Eisenia arborea* y la zona de muestreo para conocer su composición.

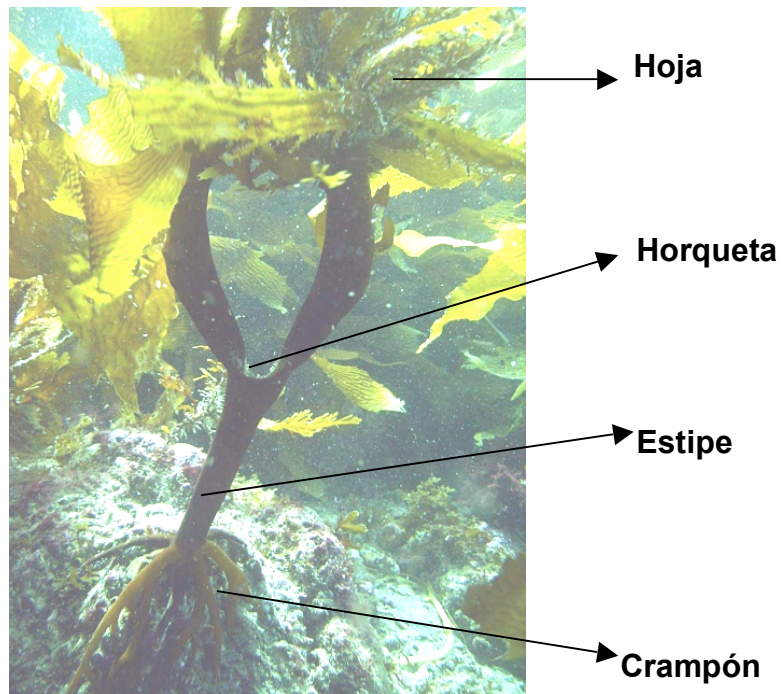


Figura 4. *Eisenia arborea*. Las flechas indican cada una de las secciones que se analizaron.

II.3 Incorporación de nitrato

II.3.1 Selección del tejido

Previo a los experimentos de incorporación de nitrato por *Eisenia arborea*, las algas se mantuvieron por 30 días en los estanques previamente descritos, con agua sin nutrientes nitrogenados añadidos, para agotar sus reservas de nitrógeno. Durante estos ensayos no se realizó recambio de agua de mar.

Eisenia arborea. Se empleó la parte basal de la hoja, un fragmento de 3-4 cm cortado a un cm del estipe. Se eligieron hojas no reproductivas, se eliminaron las epifitas limpiando las hojas con servilletas de papel y se depositó el tejido durante cinco días en agua de mar filtrada y esterilizada.

II.3.2 Condiciones de cultivo en laboratorio

Los experimentos se llevaron a cabo en un incubador a temperatura de 15 °C e irradiancia de 300 $\mu\text{mol cuantam}^{-2}\text{s}^{-1}$ por considerarse características típicas de la zona submareal en esta región. El medio usado fue agua de mar filtrada a 1 μm , irradiada con luz ultravioleta (UV), esterilizada en autoclave (120 °C, 15 min) y fertilizada con nitrato de sodio con un intervalo de concentraciones entre 0 y 30 μM con 3 réplicas para cada concentración y cada especie. En cada matraz se colocaron 10 g de hojas (parte basal, proveniente de diferentes individuos) de *Eisenia arborea*. Después que se agregó el alga al matraz, se colectaron muestras de agua cada 15 ó 30 minutos durante 3 horas, se pasaron por filtros GFF y se almacenaron congelados en tubos Falcon de 30 mL para su posterior análisis. Como control, para confirmar que la disminución de nitrato en el agua era debido a la incorporación por el alga, se incubaron matraces con el mismo medio, pero sin alga.

El promedio de las tres réplicas de la concentración de nitrato se graficó en función del tiempo. A fin de tener una comparación cuantitativa entre la incorporación de ambas especies se calculó la tasa de incorporación a los 15 minutos de incubación con nitrato (ecuación 1).

$$T_c = (S_0V_0 - S_iV_i)/(t \cdot p)$$

Ecuación 1

Donde

T_c = Tasa de incorporación ($\mu\text{mol h}^{-1}\text{g}^{-1}$)

S_i = concentración final (μM)

V_i = volumen final (L)

S_0 = concentración inicial (μM)

V_0 = volumen inicial (L)

t = tiempo (h)

p = peso del alga (g).

II.4 Duración de las reservas

Para monitorear las variaciones del %N, %C y la razón C/N y evaluar la duración de las reservas de nitrógeno durante el tiempo que *Eisenia arborea* se encontró en estanques exteriores sin nutrientes nitrogenados añadidos, cada semana se cortaron 3 hojas de individuos escogidos aleatoriamente. De éstas se conservó la parte basal para su secado (60 °C, 72 horas) molido y posterior análisis CNH. También se analizó cada semana la concentración de nitratos en el estanque.

II.5 Recuperación de las reservas

Para evaluar la recuperación de las reservas de nitrógeno de *Eisenia*, después de cinco semanas en agua de mar sin nutrientes añadidos, un estanque (un metro cúbico de capacidad, con 22 individuos de *E. arborea* de entre 120 y 400 g cada uno) se fertilizó con un pulso nitrato de 200 µM durante 5 horas. Después de esta fertilización inicial, el agua se descartó y las algas se enjuagaron con agua de mar filtrada a 50 µM, para eliminar residuos de nitrato. Los ejemplares se separaron al azar en cuatro estanques, con 5 o 6 individuos completos en cada estanque, procurando que la biomasa total de *Eisenia arborea* por estanque estuviera entre los 1200 y 1800 g. Después de la fertilización inicial, se siguieron dos tratamientos, con dos estanques para cada uno. El primer tratamiento consistió en la fertilización semanal en pulsos de nitrato (200 µM; 5 horas, (estanques 1 y 2) mientras que en el segundo tratamiento no hubo adición de nitrato (estanques 3 y 4).

Para el análisis CNH del tejido, se colectaron 3 hojas (parte basal) por estanque para monitorear semanalmente la variación del %N, %C, y razón C/N. La comparación de estas variables, para cada uno de los tratamientos, se efectuó con la prueba ANOVA de una vía, y prueba *a posteriori* Tukey para evaluar en que día hubo cambios significativos. Para comparar la interacción entre tiempo y

tratamiento se empleó la prueba ANOVA de dos vías. Se tomaron muestras de agua para el análisis de nitrato en el estanque cada semana.

III RESULTADOS

III.1. Distribución de nitrógeno en el tejido

III.1.1 Distribución del nitrógeno en las hojas de *Eisenia arborea*

Antes del periodo de empobrecimiento el contenido de nitrógeno a lo largo de una hoja (Fig. 5a-c; tabla I), entre las secciones basal, media y apical, (Fig. 4) no fue significativamente diferente (ANOVA, $F_{2,9} = 0.66$; $p = 0.54$). Tampoco el porcentaje de carbono (ANOVA, $F_{2,9} = 1.72$; $p = 0.23$) ni la razón C/N (ANOVA, $F_{2,9} = 0.38$; $p = 0.69$).

Tabla I. Resultados del análisis de varianza de una vía para comparar el %N, %C y razón C/N entre las secciones basal, media y apical de las hojas de *Eisenia arborea*, antes del periodo de empobrecimiento. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, que comprueba homogeneidad de varianzas.

	SS	Grados de libertad	MS	F	p	Cochran	p Cochran
Nitrógeno	0.138	2	0.07	0.66	0.542	0.63	0.32
Error N	0.949	9	0.11				
Carbono	15.14	2	7.57	1.73	0.232	0.45	0.62
Error C	39.49	9	4.39				
C/N	2.14	2	1.07	0.38	0.693	0.65	0.34
Error C/N	25.21	9	2.80				

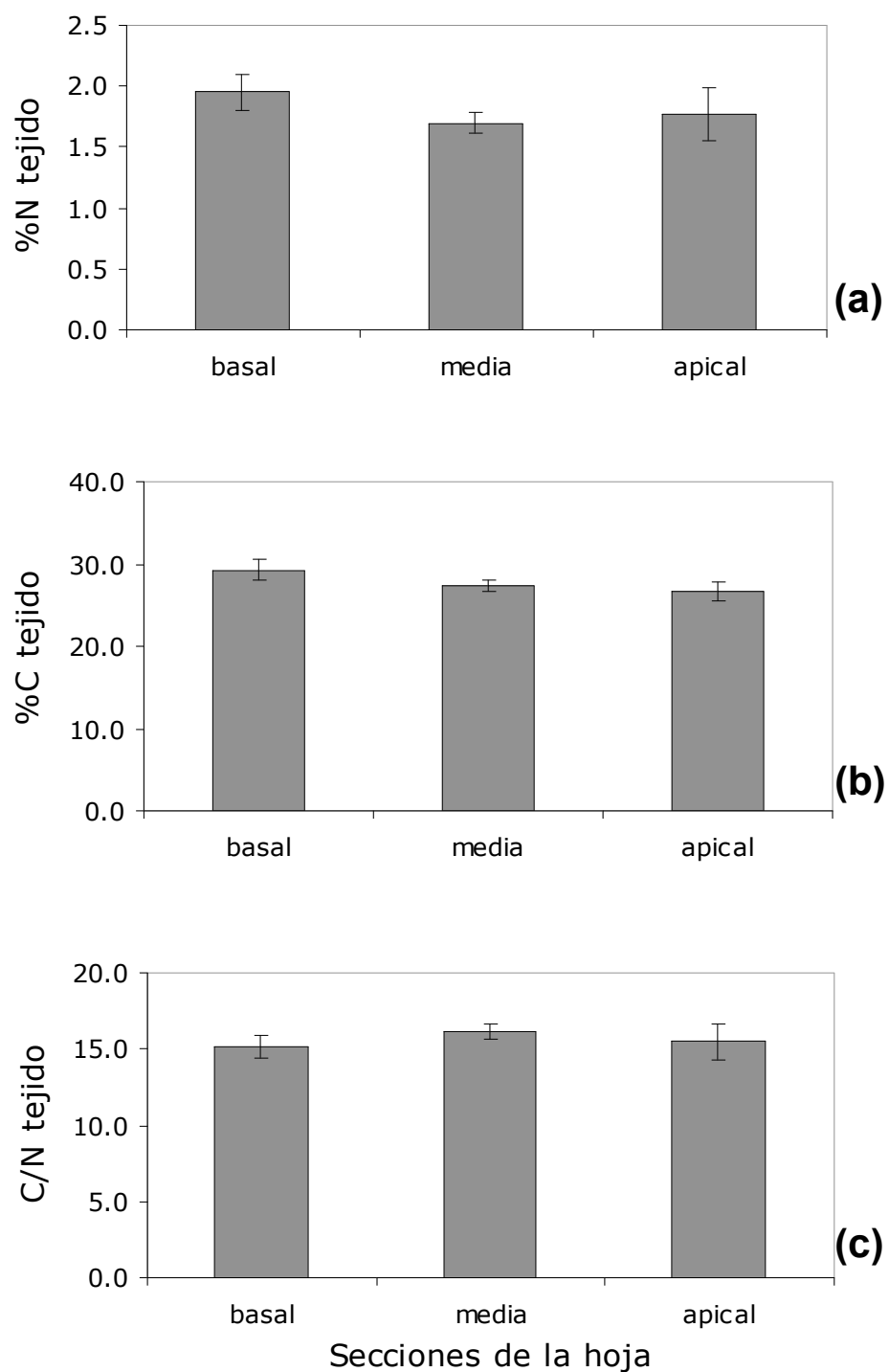


Figura 5. Distribución de %N (a); %C (b) y C/N (c) en las tres secciones de la hoja de *Eisenia arborea*, antes del periodo de limitación de nutrientes nitrogenados en el medio. N = 4; ± 1 EE. La comparación entre secciones de la hoja se realizó con ANOVA de una vía. No hay diferencias significativas.

III.1.2 Distribución del nitrógeno en las secciones del alga *Eisenia arborea*

El contenido de nitrógeno promedio en muestras de crampón, estipe, horqueta y hojas de *Eisenia*, antes de estar limitada por nutrientes nitrogenados durante siete semanas, fue 1.7 - 2.1% (Fig. 6a), sin diferencias significativas entre las secciones del alga (Kruskal-Wallis; $H_{3,10} = 4.66$; $p = 0.20$; Tabla II). El %C y el razón C/N (Fig. 6 b y c) tampoco fueron significativamente diferentes. Cuando se comparó el %N en el tejido entre las secciones de *Eisenia arborea* después de las siete semanas de estar en medio limitado, no se encontraron diferencias significativas, tampoco las hubo en el %C y razón C/N (Tabla II).

Tabla II. Resultados del análisis no paramétrico Kruskal-Wallis para comparar el %N, %C y razón C/N entre las cuatro secciones de *Eisenia arborea* antes y después de estar limitada por nitrógeno durante siete semanas.

		Grados de Libertad	N	H(3,N=10)	p
Antes	%N	3	10	4.66	0.20
	%C	3	10	0.87	0.83
	Razón C/N	3	10	6.19	0.10
Después	%N	3	10	7.85	0.05
	%C	3	10	7.28	0.06
	Razón C/N	3	10	6.49	0.09

Transcurridas siete semanas en medio empobrecido de nitrógeno, el %N del tejido de *Eisenia arborea* fue en promedio 0.9 - 1.9% según la sección del alga (Fig. 6a, Tabla III). Al comparar entre antes y después del periodo de limitación para cada sección, el %N no varió significativamente en el crampón, la horqueta y el estipe (Kolmogorov-Smirnov, $p > 0.1$; Tabla III). Sin embargo, para la hoja, antes del limitación, el promedio del %N era más alto (1.85%) y decayó significativamente hasta 0.95% (Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.05$; Tabla III).

Antes y después del periodo de limitación de nitrógeno, el porcentaje de carbono y la razón C/N, no presentaron diferencias significativas para ninguna sección

(Tabla III; Figura 6b), mientras que, al igual que el nitrógeno, la razón C/N fue estadísticamente mayor en la hoja (Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.05$, Tabla III; Fig. 6c).

Tabla III. Resultados de la prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnov de la comparación del contenido porcentual de nitrógeno, carbono y razón C/N en las cuatro secciones de *Eisenia arborea*, antes y después de 7 semanas en condiciones de limitación de nutrientes nitrogenados. Con cursivas se muestran los factores con diferencias significativas.

	Sección del alga	Max. Diferencia		p	Media antes	Media después	N	N
		Pos.	Neg.					
% Nitrógeno	Crampón	-0.50	0.50	$p > 0.10$	1.85	1.89	2	2
	Horqueta	0.00	0.50	$p > 0.10$	2.04	1.48	2	2
	Estipe	0.00	0.50	$p > 0.10$	1.73	1.45	2	2
	Hoja	0.00	1.00	$p < 0.05$	1.55	0.93	4	4
% Carbono	Crampón	-0.50	0.50	$p > 0.10$	32.55	31.57	2	2
	Horqueta	-0.50	0.50	$p > 0.10$	32.28	32.16	2	2
	Estipe	-0.50	0.50	$p > 0.10$	28.87	30.11	2	2
	Hoja	-0.50	0.25	$p > 0.10$	33.09	35.62	4	4
Razón C/N	Crampón	-0.50	0.50	$p > 0.10$	17.80	17.87	2	2
	Horqueta	-0.50	0.00	$p > 0.10$	16.02	25.57	2	2
	Estipe	-1.00	0.00	$p > 0.10$	16.53	20.77	2	2
	Hoja	-1.00	0.00	$p < 0.05$	21.31	38.52	4	4

III.2 Incorporación del nitrato en el tiempo

En el transcurso de tiempo de los experimentos de incorporación de nitrato, el agua utilizada en los tratamientos utilizados como control (sin tejido algal) presentó disminuciones mínimas en la concentración del nitrato inicial ($< 3\%$), por consiguiente la reducción de nitrato en los experimentos se le atribuye a la incorporación por el alga, ya que tanto el medio de incubación como los matraces fueron esterilizados previamente.

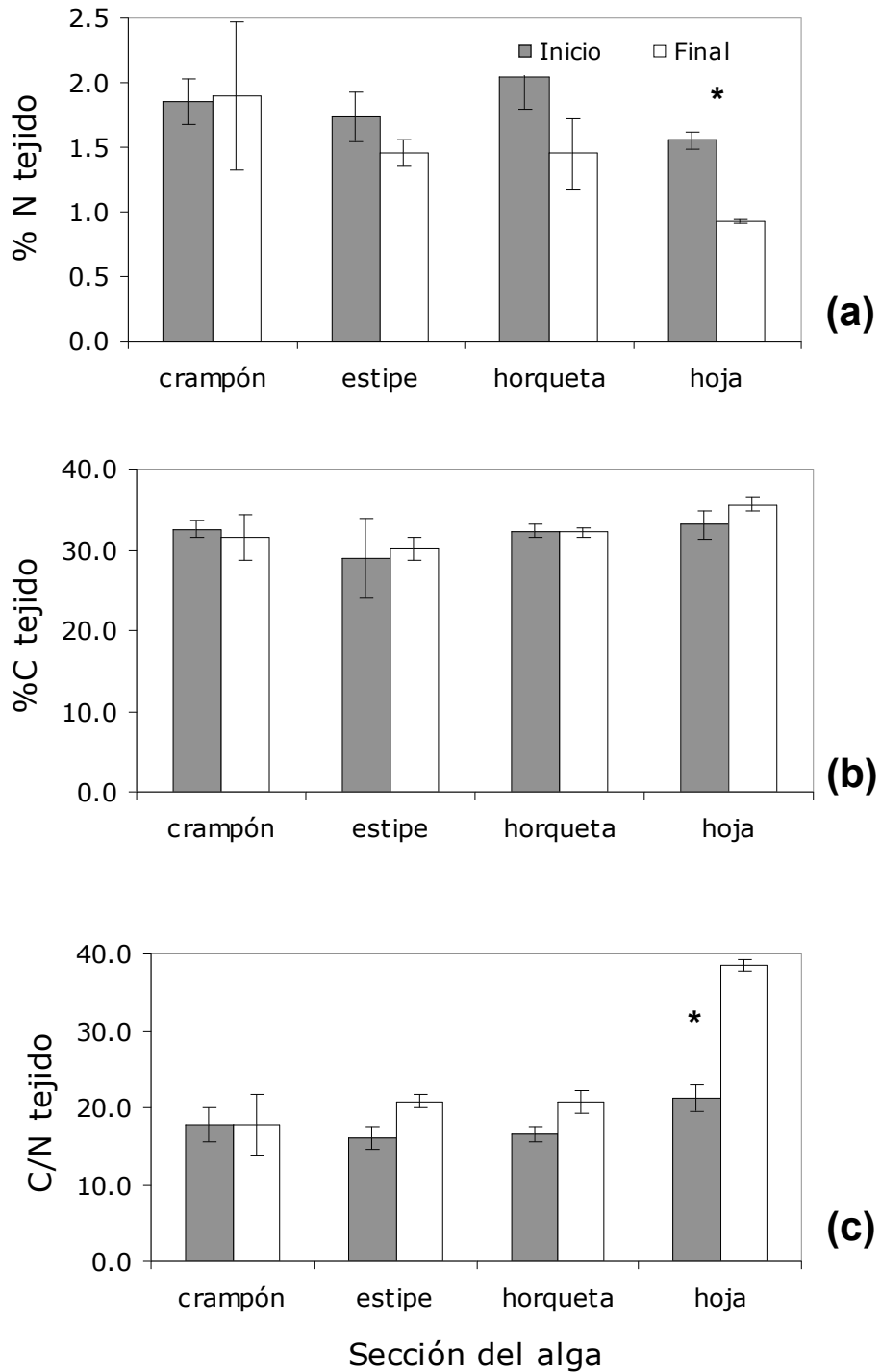


Figura 6. Distribución y comparación de %N (a); %C (b) y C/N (c) en las cuatro secciones de *Eisenia arborea*, antes y después de permanecer siete semanas bajo limitación de nutrientes nitrogenados. El asterisco (*) indica $p < 0.05$; prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnov. No hay diferencias significativas. $N = 2$; ± 1 EE.

En cada ensayo realizado, el decremento del nitrato en el agua fue constante a través del tiempo (Fig. 7). Esta tendencia lineal fue corroborada mediante la regresión lineal correspondiente (Tabla IV) e indica que la incorporación de nitrato no se detiene o disminuye tres horas después del inicio de la incubación con el nutriente. El nitrato del medio no se agotó en ninguno de los ensayos, sólo se redujo hasta ser aproximadamente el 30% del encontrado al inicio (Fig. 7). La tasa de incorporación de nitrato (ver ecuación 1) fue de $0.13 \mu\text{mol h}^{-1}\text{g}_{\text{ph}}^{-1}$ y $0.41 \mu\text{mol h}^{-1}\text{g}_{\text{ph}}^{-1}$ a concentraciones de nitrato de $12 \mu\text{M}$ y $32 \mu\text{M}$, respectivamente.

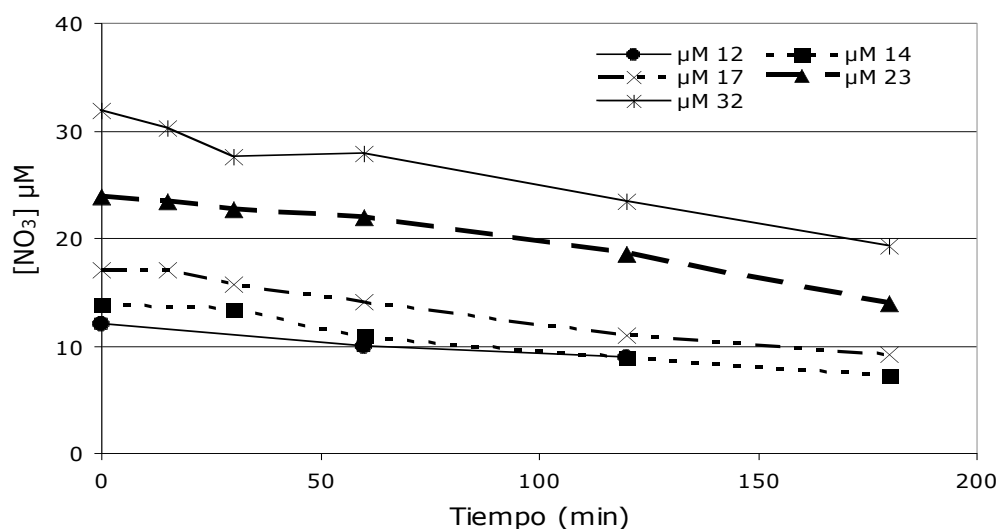


Figura 7. Incorporación de nitrato en el tiempo por *Eisenia arborea*, bajo condiciones controladas de laboratorio (irradiancia $300 \mu\text{mol cuanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$; temperatura $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

Tabla IV. Valores de la regresión lineal de las curvas de incorporación de nitrato por *Eisenia arborea*. Con cursivas se muestran los resultados significativos.

Concentración inicial de Nitrato (μM)	Pendiente	Ordenada al origen	R^2	p
14	<i>-0.04</i>	<i>17.14</i>	<i>0.96</i>	<i>0.002</i>
17	<i>-0.04</i>	<i>13.81</i>	<i>0.97</i>	<i>0.0001</i>
23	<i>-0.05</i>	<i>24.40</i>	<i>0.96</i>	<i>0.0002</i>
32	<i>-0.06</i>	<i>31.12</i>	<i>0.97</i>	<i>0.0003</i>

III.3 Reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea*

En el primer experimento de duración de las reservas de nitrógeno de *E. arborea*, mientras que el nitrato del agua tardó tres semanas en agotarse, el %N del tejido decayó significativamente (ANOVA, $F_{6,7} = 5.32$; $p = 0.02$; tabla V) en la segunda semana (Prueba *a posteriori*, Tukey, $p = 0.03$). Después de este decremento inicial, se mantuvo alrededor de 1.1%, sin variaciones significativas en lo sucesivo (Fig. 8a). La razón C/N (Fig. 10a) siguió la misma tendencia que el %N. Se registraron diferencias significativas (ANOVA, $F_{6,7} = 7.71$; $p = 0.008$; tabla V) con respecto al valor inicial a partir de la segunda semana (Prueba *a posteriori*, Tukey, $p = 0.03$) y se mantuvo sin cambios significativas hasta la última semana.

En el segundo experimento el %N del tejido fue ligeramente superior al del primer experimento, a tiempos semejantes (Fig.10b; tabla V). El %N en el tejido fue significativamente diferente al inicial (ANOVA, $F_{3,10} = 5.79$; $p = 0.01$; tabla V), hasta el día 35 (Prueba *a posteriori* Tukey, $p = 0.04$) 26 días después que el nitrato en el agua disminuyó hasta 1 μM aproximadamente. En ambos experimentos el %N del tejido se estableció alrededor de 1% y no decayó más. En el segundo experimento, la razón C/N (Fig. 10) también siguió la misma tendencia que el %N. El decremento significativo (ANOVA, $F_{3,10} = 5.23$; $p = 0.02$; tabla V) ocurrió a los 35 días (Prueba *a posteriori* Tukey, $p = 0.01$).

El porcentaje de carbono en el tejido no presentó diferencias significativas en ninguno de los experimentos a lo largo del estudio (Tabla V; Fig. 9 a y b).

Tabla V. Resultados del análisis de variancia de una vía para comparar el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N a través del tiempo de los dos experimentos (febrero y mayo) de agotamiento de reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* bajo limitación ambiental de nitrato. Las diferencias significativas se indican en cursivas. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los resultados con diferencias significativas.

	Inicio del experimento	SS	Grados de libertad	MS	F	p	p Cochran
% Nitrógeno	<i>Febrero</i>	0.68	6	0.11	5.32	0.02	0.58
	Error	0.15	7	0.02			
	<i>Mayo</i>	0.57	3	0.19	5.79	0.01	0.62
	Error	0.33	10	0.03			
% Carbono	Febrero	19.36	6	3.23	0.30	0.92	0.82
	Error	74.19	7	10.60			
	Mayo	37.46	3	12.49	1.01	0.43	0.85
	Error	123.36	10	12.34			
Razón C/N	<i>Febrero</i>	148.09	6	24.68	7.71	0.008	0.73
	Error	22.40	7	3.20			
	<i>Mayo</i>	171.28	3	57.09	5.23	0.02	0.63
	Error	109.21	10	10.92			

III.4 Recuperación de las reservas de nitrógeno.

En la figura 11 a y b se muestra la variación de nitrógeno en el tejido para cada uno de los tratamientos donde, a) se fertilizó semanalmente siguiendo el procedimiento de la fertilización inicial y b) no se realizaron fertilizaciones posteriores a la inicial. El cambio en el nitrógeno del tejido, una semana después de la fertilización inicial no fue significativo ($t = 1.46$; $p = 0.19$; Tabla VI).

Tabla VI. Resultados de la prueba t-student para comparar el porcentaje de nitrógeno en el tejido, antes de la fertilización inicial (nitrato 200 μM ; 5 horas) y una semana después de ésta.

	Media antes	Media después	Valor t	Grados de libertad	p	N	N
% N tejido	1.34	1.18	1.46	7	0.19	6	3

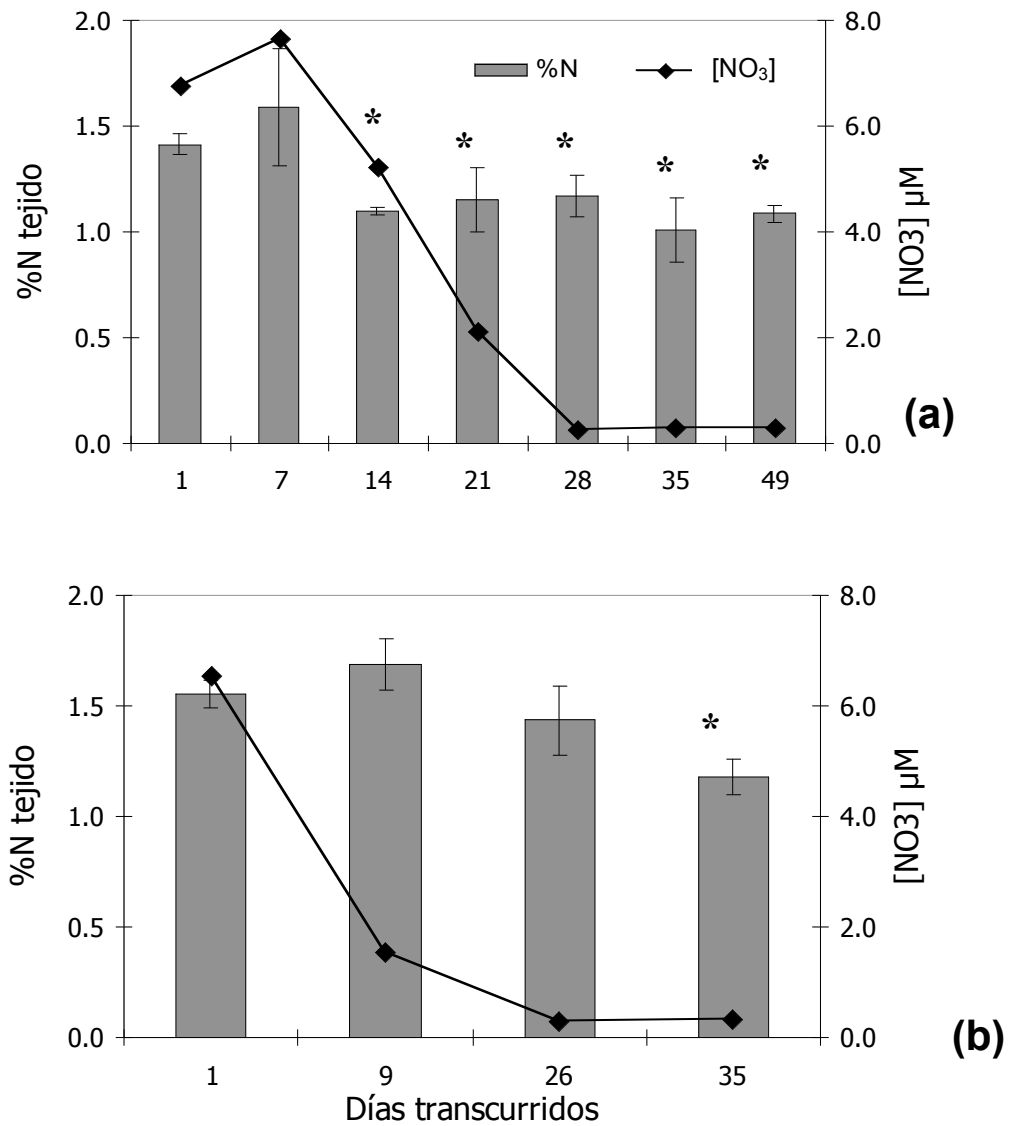


Figura 8. Porcentaje de nitrógeno en el tejido seco de *Eisenia arborea* (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). El asterisco (*) indica $p < 0.05$, cuando el %N del tejido significativamente diferente al del primer día. Se emplearon análisis ANOVA y *a posteriori* Tukey para comprobar en que día la razón %N disminuyó significativamente. El panel a corresponde al experimento realizado en febrero-abril 2008 ($N = 2, \pm 1$ EE) y el panel b) al realizado en mayo-julio 2008 ($N = 3, \pm 1$ EE).

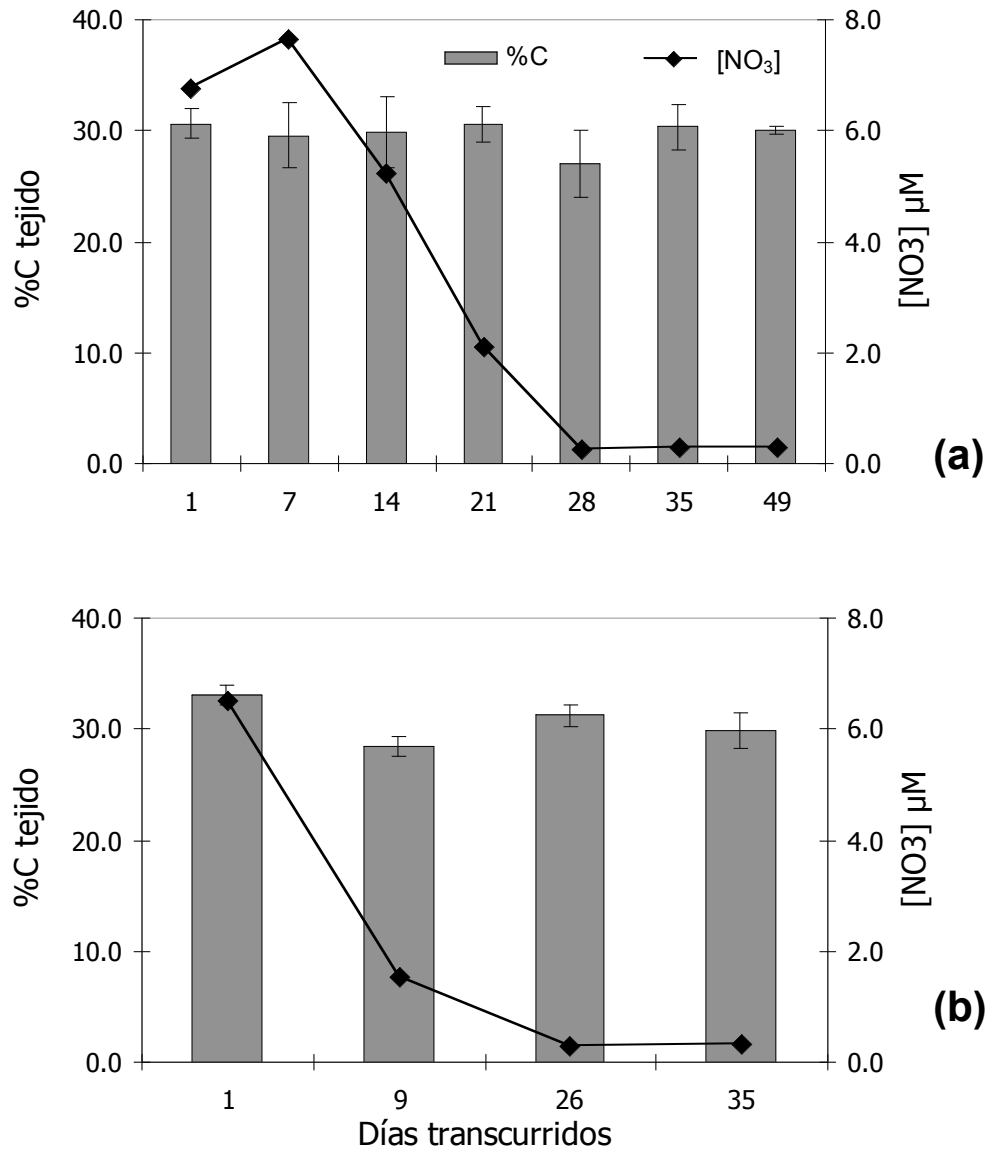


Figura 9. Porcentaje de carbono en el tejido seco de *Eisenia arborea* (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). (a) corresponde al experimento realizado en febrero-abril 2008 (N = 2, ± 1 EE) y (b) al realizado en mayo-julio 2008 (N = 3, ± 1 EE). No hay diferencias significativas; ANOVA de una vía.

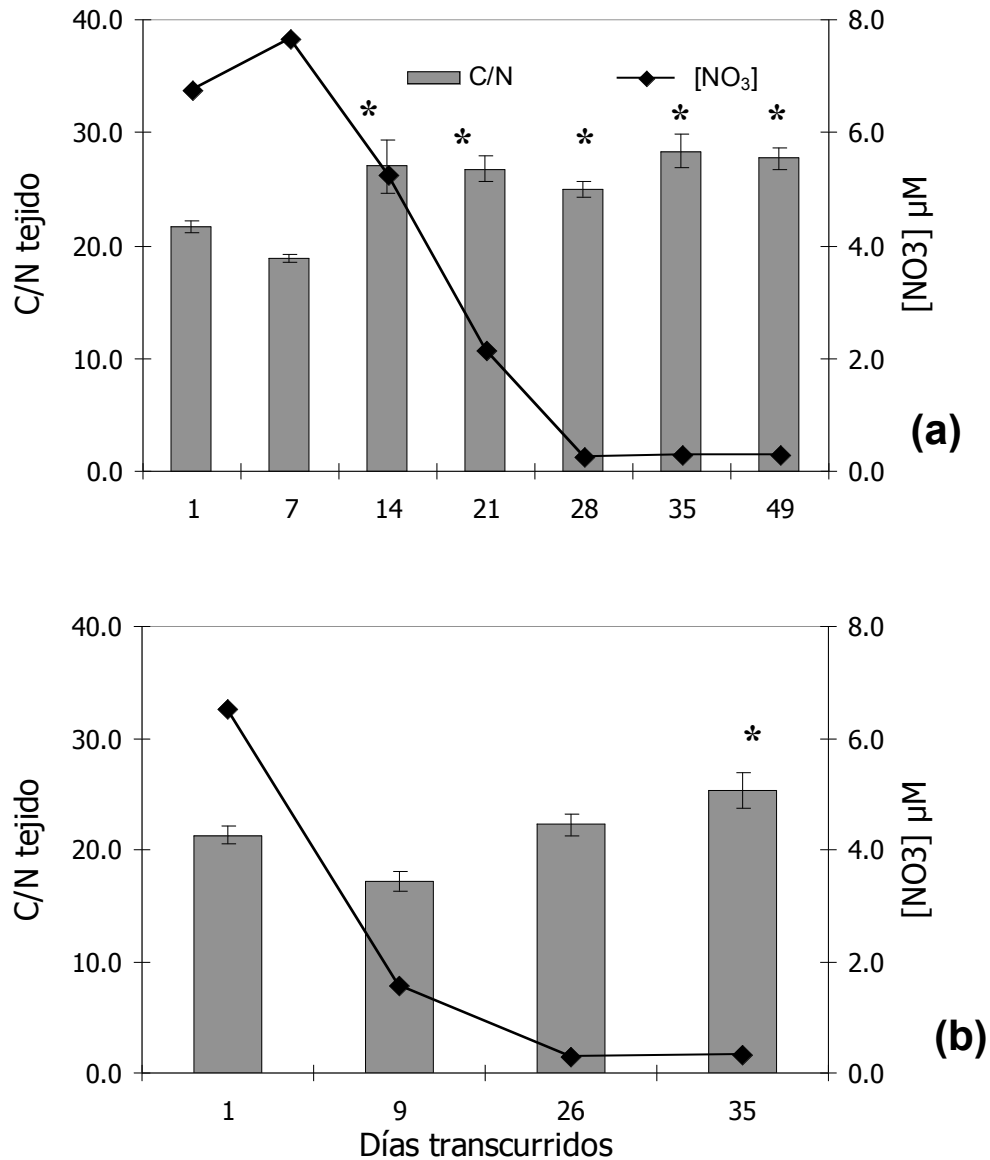


Figura 10. Razón C/N del tejido seco de *Eisenia arborea* (barras) y la concentración de nitrato en los estanques (línea). El asterisco (*) indica $p < 0.05$, cuando la razón C/N del tejido significativamente diferente a la del primer día. Se emplearon análisis ANOVA y a *posteriori* Tukey para comprobar en que día la razón C/N disminuyó significativamente. El (a) corresponde al experimento realizado en febrero-abril 2008 ($N = 2, \pm 1$ EE) y (b) al realizado en mayo-julio 2008 ($N = 3, \pm 1$ EE).

Después de la fertilización inicial, en aquellos ejemplares de *Eisenia arborea* sometidos a fertilización semanal, el porcentaje de nitrógeno en el tejido se mantuvo entre 1 y 1.5% (Fig. 10a) y no aumentó significativamente ($F_{5,11}=1.46$; $p = 0.28$; Tabla VII) a pesar de la exposición frecuente al nutriente, que nunca se agotó por completo en el estanque. Mientras que en las algas que sólo recibieron la fertilización inicial, el porcentaje de nitrógeno llegó a ser menor al 1% (Fig. 10 b) y se redujo significativamente ($F_{5,13} = 10.38$; $p < 0.001$; tabla VII) desde la segunda semana después de la fertilización inicial (prueba *a posteriori* Tukey; $p = 0.002$). El nitrato del agua en la que se encontraban, se agotó totalmente a los 21 días.

La diferencia del %N a través del tiempo entre ambos tratamientos fue significativa (ANOVA dos vías, interacción tiempo*tratamiento, $F_{4,14} = 3.24$; $p = 0.03$; tabla VIII). En el tratamiento de fertilización semanal, el %N del tejido de *Eisenia arborea* se mantuvo constante durante 50 días, mientras que el tratamiento que no recibió nutrientes adicionales disminuyó significativamente después de la fertilización inicial.

Tabla VII. Resultados del análisis de varianza de una vía para comparar, según el tiempo, el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N cuando el estanque fue fertilizado con nitrato semanalmente y cuando no se fertilizó después de la inicial. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los factores con diferencias significativas.

Tratamiento		SS	GL	MS	F	<i>p</i>	<i>p</i> Cochran
a) Fertilizado semanalmente	% Nitrógeno	0.12	5	0.02	1.46	0.28	0.79
	Error	0.18	11	0.02			
	% Carbono	25.35	5	5.07	1.20	0.37	0.41
	Error	46.47	11	4.22			
	Razón C/N	127.24	5	25.45	4.53	0.02	0.51
Error	61.74	11	5.61				
b) No fertilizado después de la fertilización inicial	% Nitrógeno	0.64	5	0.13	10.38	< 0.001	0.11
	Error	0.16	13	0.01			
	% Carbono	22.26	5	4.45	2.278	0.11	0.94
	Error	25.40	13	1.95			
	Razón C/N	513.90	5	102.78	16.28	< 0.001	0.33
Error	82.07	13	6.31				

Tabla VIII. Resultados del análisis de varianza de dos vías, interacción tiempo-tratamiento (fertilizado semanalmente y no fertilizado después de la fertilización inicial), comparando el porcentaje de nitrógeno, carbono y razón C/N de *Eisenia arborea*. Se incluye el valor p de la prueba Cochran, comprobando homogeneidad de varianzas. Con cursivas se muestran los factores con diferencias significativas.

		SS	GL	MS	F	p	P Cochran
% Nitrógeno	tratamiento	0.32	1	0.32	70.12	< 0.001	
	tiempo	0.09	4	0.02	4.90	0.01	
	<i>trat*tiempo</i>	<i>0.06</i>	<i>4</i>	<i>0.01</i>	<i>3.24</i>	<i>0.03</i>	0.66
	Error	0.06	14	0.00			
% Carbono	tratamiento	6.60	1	6.60	1.81	0.2	
	tiempo	33.68	4	8.42	2.31	0.11	
	<i>trat*tiempo</i>	<i>12.48</i>	<i>4</i>	<i>3.12</i>	<i>0.86</i>	<i>0.51</i>	0.14
	Error	50.98	14	3.64			
Razón C/N	tratamiento	239.48	1	239.48	61.85	< 0.001	
	tiempo	240.40	4	60.10	15.52	< 0.001	
	<i>trat*tiempo</i>	<i>43.88</i>	<i>4</i>	<i>10.97</i>	<i>2.83</i>	<i>0.07</i>	0.51
	Error	54.21	14	3.87			

Para ambos tratamientos el porcentaje de carbono se mantuvo sin diferencias significativas durante el experimento (Fig. 14a y b, tabla VIII). El %C no fue significativamente diferente entre las algas que fueron fertilizadas y aquellas que no lo fueron (ANOVA dos vías, interacción tiempo*tratamiento, $F_{4,14} = 0.86$; $p = 0.51$; tabla VIII).

La razón C/N presentó diferencias significativas en ambos casos (Fig. 13 a y b; tabla VIII). Cuando fue fertilizada semanalmente (Fig. 13a) se registró un aumento significativo en la última semana del experimento (Tukey; $p = 0.02$). Cuando no se recibieron fertilizaciones posteriores a la inicial, ocurrió un incremento significativo en la razón C/N a los 12 días (Tukey; $p < 0.001$) y permaneció constante. La razón C/N no fue significativamente diferente entre las algas que fueron fertilizadas y aquellas que no lo fueron (ANOVA interacción tiempo*tratamiento, $F_{4,14} = 2.83$; $p = 0.07$; tabla VIII).

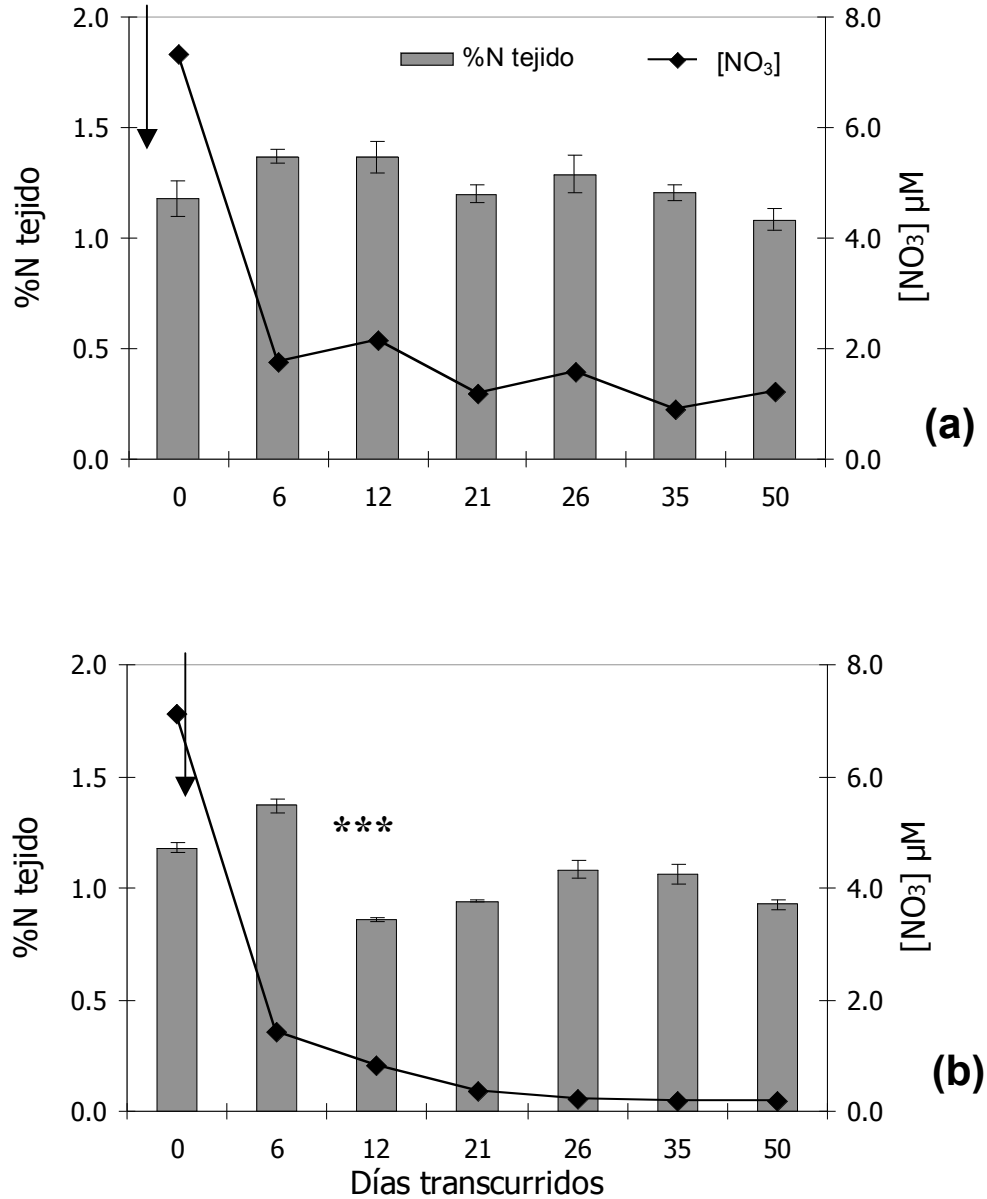
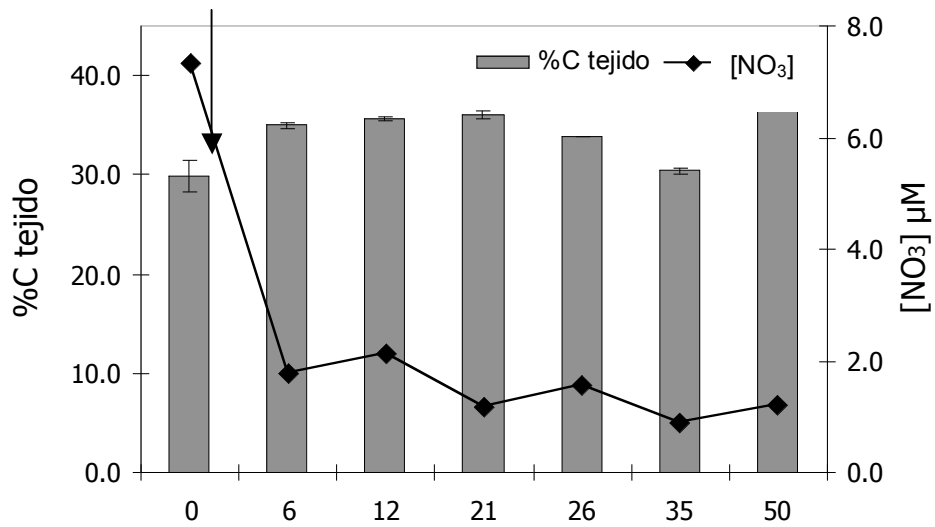
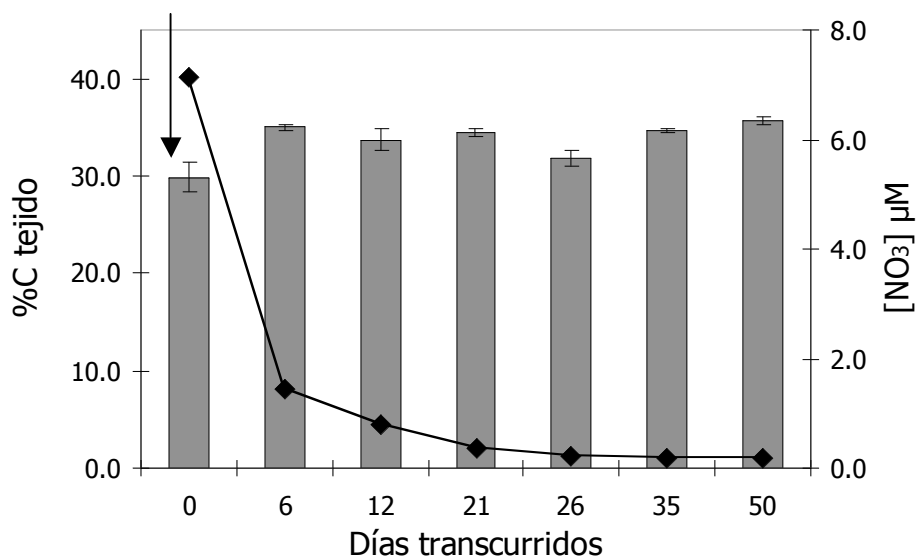


Figura 11. Porcentaje de nitrógeno en el tejido *Eisenia arborea* (barras) en los días subsiguientes a la fertilización inicial: nitrato 200 μM por 5 h (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato 200 μM; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). Los asteriscos (***) indica $p < 0.001$, cuando el %N del tejido fue significativamente diferente al que había después de la primera fertilización. (ANOVA de una vía y *a posteriori* Tukey) ($N = 3, \pm 1EE$).

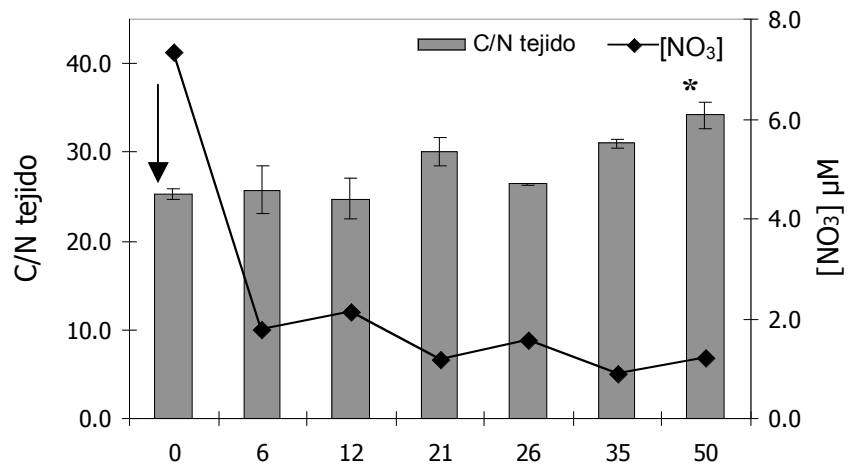


(a)

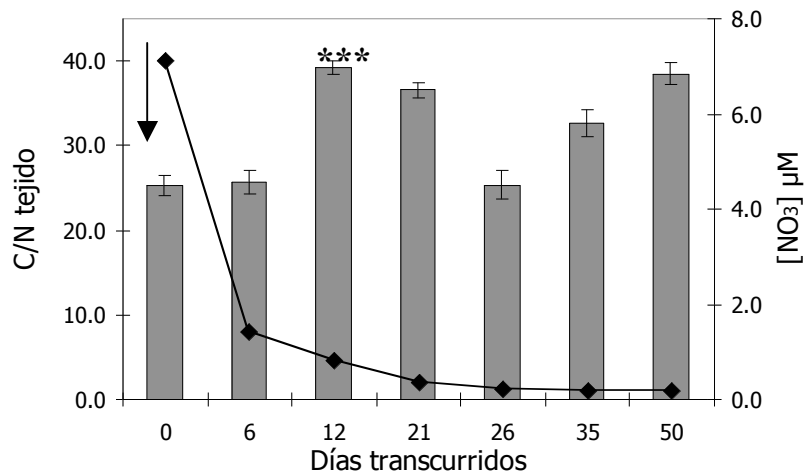


(b)

Figura 12. Porcentaje de carbono en el tejido *Eisenia arborea* (barras) en los días subsiguientes a la primera fertilización inicial: nitrato 200 μM por 5 h (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato 200 μM ; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). No hay diferencias significativas, ANOVA de una vía.



(a)



(b)

Figura 13. Razón C/N del tejido de *Eisenia arborea* (barras) en los días subsiguientes a la primera fertilización (flecha) y la concentración de nitrato en el estanque (línea). Ejemplares sometidos a fertilización semanal con nitrato 200 μM; 5 h (a). Ejemplares no sometidos a fertilizaciones posteriores a la inicial (b). Los asteriscos (***) indican $p < 0.001$, cuando la razón C/N del tejido fue significativamente diferente al que había después de la primera fertilización. (ANOVA de una vía y *a posteriori* Tukey) ($N = 3, \pm 1EE$).

IV DISCUSIÓN

Eisenia arborea es un alga que subsiste bajo condiciones de limitación de nutrientes nitrogenados ($< 1 \mu\text{M}$) asociada con altas temperaturas en el ambiente ($>20 \text{ }^\circ\text{C}$), al sur de la Península de Baja California. En este trabajo se exploraron dos explicaciones a esta tolerancia. La primera fue estudiar su incorporación de nitrato en el laboratorio para saber si puede aprovechar pulsos cortos (horas) de ese nutriente, como los que suceden por ondas internas. También se estudió la duración de las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* cuando no hay un aporte externo de nutrientes nitrogenados y la recuperación de las reservas al haber pulsos semanales de nitrato con una duración de horas. En este estudio se mostró que la tasa de incorporación de nitrato fue de $0.13 \mu\text{molh}^{-1}\text{g}_{\text{ph}}^{-1}$ y $0.41 \mu\text{molh}^{-1}\text{g}_{\text{ph}}^{-1}$ a concentraciones de nitrato de $12 \mu\text{M}$ y $32 \mu\text{M}$, respectivamente.

Las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* duran alrededor de cuatro semanas como máximo, sin aporte externo de nutrientes nitrogenados. La duración de las reservas de nitrógeno encontrado fue similar a la de otros sargazos como *Macrocystis pyrifera* (Gerard, 1982). Sin embargo, en experimentos en estanques que recibieron fertilizaciones semanales de 5 horas de duración, el %N del tejido de *Eisenia arborea* se mantuvo sin cambios significativos y arriba del 1%, que es el valor de nitrógeno crítico reportado para *Macrocystis pyrifera*. Estos resultados sugieren que la sobrevivencia y distribución de *Eisenia arborea*, en condiciones de limitación de nutrientes como los observados en San Juanico en los veranos de 2004 y 2006 (Ladah *et al.*, en revisión), puede ser debido a su habilidad de aprovechar pulsos rápidos (horas) de nutrientes.

IV.1 Distribución de nitrógeno en el tejido

El %N entre las hojas del mismo individuo, recién colectado del medio natural, fluctuó entre 1.6 y 2.05% y disminuyó hasta 1.0%. Estos valores, medidos en las hojas recién colectadas del medio natural son menores a los valores indicados por Gerard (1982) para láminas de *Macrocystis pyrifera*, en la cual estaban entre 2.2% y 3.5%N. Sin embargo fueron similares a los que mencionan Hernández-Carmona *et al.* (2001) para *Eisenia arborea* en Baja California Sur (1.59 a 2.09 %N, Isla Asunción, 1997).

En *Eisenia arborea*, el %N de la horqueta, crampón y estipe no varió después del periodo de escasez de nutrientes. En similitud el %N del crampón de *M. pyrifera*, se mantuvo, bajo limitación de nitrógeno ($< 1 \mu\text{M}$), constante en 2.4% (Gerard, 1982). Sin embargo, bajo las mismas condiciones, el %N de la estipe de *M. pyrifera* disminuyó significativamente de 1.4% a 0.7% (Gerard, 1982) mientras que en la estipe de *Eisenia arborea* en el presente estudio no se reflejó el decremento de nitrato en el medio. Esta diferencia entre los dos sargazos es posiblemente atribuible a la translocación de compuestos nitrogenados a lo largo de la estipe, proceso de fundamental importancia para *Macrocystis pyrifera* (Jackson, 1977). Debido a que *Eisenia arborea* es un alga de menor longitud que normalmente vive en la misma capa de agua, a profundidades menores a 15 m, a diferencia de *Macrocystis* que se extiende a lo largo de la columna de agua y la parte inferior puede encontrarse bajo la termoclina, donde el nitrato en el agua no es limitante, y posiblemente no usa el estipe como un sumidero de nitrógeno.

IV.2 Incorporación del nitrato en el tiempo

El estado inicial de nitrógeno de las algas es un factor de importancia que influye en la tasa de incorporación de nitrato (Fujita, 1985; Kopczak, 1994). Los ejemplares de *Eisenia arborea* utilizados en este estudio tenían un %N en el tejido de 1.3%. Lo que sugiere que se encontraba limitada por nitrógeno, ya que valores de 1.5% han sido mencionados como indicativos de “limitación moderada” de nitrógeno para *Macrocystis integrifolia* (Hurd *et al.*, 1996) mientras que 1.1% es el reportado como crítico para *Macrocystis pyrifera* (Gerard, 1982).

En este estudio, el sargazo *Eisenia arborea* presentó incorporación lineal de nitrato (entre 12 y 32 μM), por un periodo mínimo de tres horas. Esto es consistente con lo observado en *Macrocystis pyrifera*, cuyo tiempo reportado de incorporación lineal es de dos horas, como mínimo, en concentraciones de nitrato de hasta 24 μM (Kopczak, 1994). Bajo las concentraciones implementadas en este estudio, *Eisenia arborea* no presentó saturación en la tasa de incorporación de nitrato (hasta 32 μM), la cual se ha observado en *M. pyrifera* a concentraciones de 22-24 μM (Kopczak, 1994) y en otras laminariales como *Laminaria japonica* y *Kjellmaniella crassifolia* a concentraciones menores a 10 μM (Ozaki *et al.*, 2001). Esta característica le permite a *Eisenia arborea* aprovechar pulsos de nutrientes de mayor concentración que aquellas especies cuya incorporación se saturó a la misma concentración.

IV. 3 Reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea*

Las reservas de nitrógeno formadas en periodos de abundancia de nutrientes son favorables para las algas perennes, pues les permiten subsistir temporadas de nutrientes limitados (Gerard, 1982; Fujita *et al.*, 1989; Korb y Gerard, 2000a, 2000b). El %N en *Eisenia arborea* al término del período de limitación fue de 1.0 a 1.35%, comparable al que esta especie tenía en Isla Asunción, BCS al término del verano de 1998 (año El Niño) y a los valores que presenta *Macrocystis*

pyrifera cuando está estresada por limitación de nitrógeno (Hernández-Carmona *et al.*, 2001). Eso sugiere que en el presente estudio, las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* probablemente fueron consumidas totalmente durante los experimentos. La estabilización del %N en 1.0 % después de 21 y 35 días en agua sin nutrientes sugiere que el nitrógeno crítico de *E. arborea* es similar al reportado para *Macrocystis pyrifera* (Gerard, 1982).

Los valores de nitrógeno de *Eisenia arborea* al ser colectada en el medio natural en mayo del 2008 fueron de 1.6% a 2.05%, menores que los de *M. pyrifera* tomados en el mes de enero, que fueron de 2.2% a 3.5% (Gerard, 1982). De la concentración inicial depende la duración de las reservas de nitrógeno, que tardarán más tiempo en agotarse mientras más alto sea el %N en el tejido. Estos valores iniciales en *Eisenia* son bajos si se comparan con aquellos encontrados en San Juanico durante el verano de 2004 donde se reportaron entre 2% y 3% (Ladah *et al.*, en revisión). Sin embargo son representativos si se comparan con los datos de Hernández-Carmona *et al.* (2001), tomados en Isla Asunción, en 1997, donde se reportan en el mismo rango que los del presente estudio. La diferencia en estos valores pudiera ser por que estuvieron, previamente a su recolección, bajo un régimen de nutrientes insuficiente para saturar las reservas. Sin embargo las algas fueron colectadas en mayo, mes de surgencias, mientras la temperatura del agua del mar era de 11 °C (José Guzmán, comunicación personal), así que aunque no tenemos datos de nitrato en el medio natural en el periodo previo a la recolección, es muy poco probable que fueran limitantes, ya que en Baja California, las concentraciones de nitrato inferiores a 1.0 µM se encuentran en temperaturas superiores a 16 °C (Ladah 2003).

Una explicación alternativa es un patrón diferente de formación de reservas e incorporación de las mismas, relacionado con el régimen de nutrientes en la zona. Ésto se ha estudiado entre especies diferentes (Korb y Gerard, 2000a) y también con una misma especie, como es el caso concreto de poblaciones aisladas de *M. pyrifera* que tienen una respuesta muy diferente en crecimiento,

incorporación y formación de reservas de nitrógeno, según la disposición local de nitrato (Kopczak *et al.*, 1991). Posiblemente las poblaciones de *Eisenia* de San Juanico tienen reservas de nitrógeno más duraderas, como adaptación al régimen de nutrientes de Baja California Sur.

IV.4 Recuperación de las reservas

Después de la fertilización, el %N no aumentó significativamente. Esto pudiera ser porque el análisis de %N se realizó una semana después de fertilizar y es posible que en ese tiempo el alga haya crecido y usado una parte del nitrógeno incorporado al fertilizar, sobre todo si se considera que siempre se mantuvo por encima del valor de nitrógeno crítico reportado para *Macrocystis pyrifera* (se desconoce el de *Eisenia arborea*). También es importante tener en cuenta que *Macrocystis*, al estar en agua sin nutrientes, disminuyó su contenido de nitrógeno del 2.4% a 1.4% en sólo una semana, así que es posible que *Eisenia arborea* haya asimilado y usado el nitrógeno en una semana. Posiblemente en mediciones realizadas inmediatamente después de la fertilización, se habría apreciado un aumento en el %N en el tejido.

Cuando las algas no volvieron a ser fertilizadas, el nitrógeno del tejido decayó hasta ser menor al 1%, valor por debajo del cual muere *Macrocystis pyrifera* (Hernández-Carmona *et al.*, 2001). La diferencia significativa entre tratamientos sugiere que los pulsos semanales de nitrato fueron aprovechados por *Eisenia arborea* y pueden evitar que el %N decaiga hasta causar la muerte del alga. Sin embargo no fueron suficientes para recuperar el %N que se encuentra en un alga no limitada por nitrógeno, por ejemplo al inicio del experimento (1.5 – 2.05 %).

En este estudio la fertilización se realizó por pulsos de cinco horas a muy alta concentración (200 μ M). Esta técnica ha sido sugerida por Hanisak (1990) puesto que la mayoría de las algas no se mantienen expuestas de forma

constante en altas concentraciones de nutrientes por periodos prolongados, por lo tanto hacerlo así genera un gasto innecesario y además provee nutrientes para algas oportunistas como epifitas. A pesar de que no es realista pensar en concentraciones de nitrato de 200 μM en el ambiente natural, se empleó una concentración tan alta para asegurar que estuviera por arriba de la saturación de la tasa de incorporación del alga durante la fertilización pues de esta forma se garantiza que el alga incorporará nitrato a su máxima tasa posible. Sin embargo, la concentración de saturación es desconocida hasta este momento, aunque para otros sargazos se ha reportado entre 10 y 24 μM (Kopczak, 1994; Ozaki *et al.*, 2001). También es posible que debido a la baja velocidad de incorporación de nitrógeno de *Eisenia arborea*, las cinco horas que duró la fertilización hayan sido insuficientes para incorporar el nitrato necesario para incrementar el %N hasta alcanzar el contenido inicial (1.0 % a 1.6 %N). Sin embargo, este tiempo sí fue suficiente para mantener el %N significativamente mayor al encontrado en los ejemplares que sólo se fertilizaron una vez y es representativo de la duración de los pulsos observados en San Juanico: durante mareas vivas en verano, alrededor de 3 horas continuas de bombeo de agua fría por ondas internas (Ladah *et al.*, en revisión).

Wheeler y North (1980) reportaron que *M. pyrifera* previamente sometida a escasez de nitrógeno requirió 10 días creciendo en agua con nitrato entre 17 y 26 μM para recuperar el %N previo al empobrecimiento. Dicho incremento fue de 1.4 a 2.2 %N y la concentración de saturación de la tasa de incorporación para *M. pyrifera* es de 22-24 μM . Estudios de incorporación a estas concentraciones y por periodos más prolongados son necesarios para concluir si el tiempo fue el factor limitante para evaluar la capacidad de acumulación de N en el tejido de *Eisenia arborea*, o el alga estaba dañada irreversiblemente y por eso no se recuperaron sus reservas.

V. CONCLUSIONES

La tasa de incorporación de nitrato de *Eisenia arborea* fue lineal, en el tiempo e intervalo de concentraciones usado en este estudio (3 horas; 12-32 μM). Se acepta la hipótesis de que *Eisenia arborea* incorpora nitrógeno durante el aporte de nitrato debido a las ondas internas.

Las reservas de nitrógeno de *Eisenia arborea* son suficientes para subsistir un periodo de tres a cuatro semanas en ausencia de nutrientes nitrogenados en el medio y son insuficientes para subsistir los dos meses bajo aparente limitación de nitrato en el ambiente ($< 1 \mu\text{M}$) observados durante los veranos 2004 y 2006 en San Juanico.

Los resultados obtenidos en las fertilizaciones indican que Los ejemplares de *Eisenia arborea* que recibieron una sola fertilización presentaron reducción en el %N del tejido, a diferencia de los que fueron sometidos a fertilización semanal, que mantuvieron el %N constante (1.3 %N). Lo anterior, sumado a que la incorporación de nitrato por *Eisenia arborea* es inmediata y constante, durante al menos tres horas, sugiere que la subsistencia de *Eisenia arborea* se debe a la capacidad de aprovechar pulsos, de al menos unas horas de la concentración de nutrientes en el medio.

VI. PROYECCIONES A FUTURO

Se sugiere repetir los experimentos de incorporación, prolongando el tiempo de exposición al nutriente e incrementando las concentraciones para conocer por cuanto tiempo se mantiene la tendencia lineal en la incorporación y el punto de saturación por concentración de nitrato.

En este estudio los ensayos de incorporación se hicieron a temperatura constante (15 °C). Se propone hacerlos a temperaturas variables, para observar si la incorporación presenta variaciones a temperaturas altas como las que se encuentran en las localidades sureñas.

Se sugiere hacer un estudio de incorporación de nitrato y agotamiento de reservas, pero con ejemplares colectado en el límite sur de distribución de la especie, para saber si se han formado diversos ecotipos, como adaptación al régimen local de nutrientes, y al mismo tiempo compararlos a los del norte de la península, y hacer el mismo con ejemplares de *Macrocystis pyrifera* de las dos zonas.

Ya que se comprobó que es en el %N de la hoja donde se observan las variaciones ambientales de nitrato, se sugiere hacer un estudio en laboratorio de fertilización semanal de hojas de *Eisenia arborea*, bajo condiciones de temperatura e irradiancia encontradas en el medio natural, empleando ejemplares sanos, para saber si dichos pulsos también son suficientes para mantener saludable a un alga que no ha pasado por estrés a causa de limitación ambiental de nutrientes.

En el estudio actual se llegó a la conclusión de que la tolerancia de *Eisenia* a escasos nutrientes nitrogenados en el medio obedece a aprovechamiento de pulsos rápidos (horas) en lugar de reservas que se agotan lentamente, por tal motivo es recomendable hacer un experimento en campo, similar al que permitió

comprobar que *Ulva* (Perez-Mayorga, datos no publicados) puede incrementar el %N de su tejido por dichos pulsos.

LITERATURA CITADA

Bidigare R.R., M.E. Ondrusek, M.C. Kennicutt, R. Iturriaga, H.R. Harvey, R.W. Hoham y S.A. Macko. 1993. Evidence for a photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. *Journal of Phycology*. 29: 427-434 p.

Boyer E.W., R.W. Howarth, J.P.A. Green y Charles J. Vörösmarty. 2006. Riverine nitrogen export from the continents to the coasts. *Global Biogeochemical Cycle*. 20: GB1S91-GB002537 p.

Darnaude A.M., C. Salen-Picard, N.V.C. Polunin, M.L. Harmelin-Vivien. 2002. Trophodynamic linkage between river runoff and coastal fishery yield elucidated by stable isotope data in the Gulf of Lions (NW Mediterranean). *Oecologia*: 138: 325–332 p.

Dayton P.K. 1985. Ecology of kelp communities. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 16: 215-245 p.

Edwards M.S., G. Hernández-Carmona. 2005. Delayed recovery of giant kelp near its southern range limit in the North Pacific following El Niño. *Marine Biology*. 147: 273–279 p.

Fairhead V.A., A.C. Cheshire. 2004. Seasonal and depth related variation in the photosynthesis–irradiance response of *Ecklonia radiata* (Phaeophyta, Laminariales) at West Island, South Australia. *Marine Biology*. 145: 415–426 p.

Fujita R.M. 1985. The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 92: 283-301 p.

Fujita R.M., P.A. Wheeler, R.L. Edwards. 1989. Assessment of macroalgal nitrogen limitation in a seasonal upwelling region. *Marine Ecology Progress Series*. 53:293-303 p.

Gerard V.A. 1982. Growth and utilization of internal nitrogen reserves by the Giant Kelp *Macrocystis pyrifera* in a low-nitrogen environment. *Marine Biology*. 66: 27-35 p.

Gerard, V.A. 1997. The role of nitrogen nutrition in high-temperature tolerance of the kelp, *Laminaria saccharina* (Chromophyta). *Journal of Phycology*. 33: 800-810 p.

Goldman J.C., P.M. Glibert. 1982. Comparative rapid ammonium uptake by four species of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 27: 814-827 p.

Guzmán, J. Comunicación personal....

Hanisak M.D. 1983. The nitrogen relationships of marine macroalgae. En E. J. Carpenter & D. G. Capone (eds.), Nitrogen in the Marine Environment. Academic Press, New York: 699-730 pp.

Hanisak M.D. 1990 The use of *Gracilaria tikvahiae* (Gracilariales, Rhodophyta) as a model system to understand the nitrogen nutrition of cultured seaweeds. *Hydrobiologia* 204/205: 79-87 p.

- Jackson G.A., 1977. Nutrients and production of giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, off southern California. *Limnology and Oceanography*. 22: 979-995 p.
- Hernández-Carmona G., D. Robledoy E. Serviere-Zaragoza. 2001. Effect of nutrient availability on *Macrocystis pyrifera* recruitment and survival near its southern limit off Baja California. *Botanica Marina*. 44: 221-229 p.
- Howarth R.W., A. Sharpley y D. Walker. 2002. Sources of nutrient pollution to coastal waters in the United States: Implications for achieving coastal water quality goals. *Estuaries*. 25: 656-676 p.
- Hurd C.L., P. J. Harrison y L. D. Druehl. 1996. Effect of seawater velocity on inorganic nitrogen uptake by morphologically distinct forms of *Macrocystis integrifolia* from wave-sheltered and exposed sites. *Marine Biology* 126: 205-214 p.
- Kopczak C.D., R.C. Zimmerman y J.N. Kremer. 1991. Variation in nitrogen physiology and growth among geographically isolated populations of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. *Journal of Phycology*. 27: 149-158 p.
- Kopczak C.D. 1994. Variability of nitrate uptake capacity in *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyta) with nitrate and light availability. *Journal Phycology*. 30: 573-580 p.
- Korb R.E., V.A. Gerard. 2000a. Nitrogen assimilation characteristics of polar seaweeds from differing nutrient environments. *Marine Ecology Progress Series*. 98: 83-92 p.
- Korb R.E., V.A. Gerard. 2000b. Effects of concurrent low temperature and low nitrogen supply on polar and temperate seaweeds. *Marine Ecology Progress Series*. 98: 73-82 p.
- Ladah L.B. 2003. The shoaling of nutrient-enriched subsurface waters as a mechanism to sustain primary productivity off Central Baja California during El Niño winters. *Journal of Marine Systems*. 42: 145–152 p.
- Ladah L., Leichter, J., Filonov, A. En revisión. High frequency thermocline shoaling in kelp beds at their southern limit of distribution in the Northeastern Pacific.
- Leichter, J.J., H. Stewart, y S.L. Miller. 2003. Episodic nutrient transport to Florida coral reefs. *Limnology and Oceanography*. 48: 1394-1407 p.
- Lobban C.S., P.J. Harrison. 1994. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge University Press. New York. 358 pp.
- Mallin M.A., H.W. Paerl, J. Rudek, P.W. Bates. 1993. Regulation of estuarine primary production by watershed rainfall and river flow. *Marine Ecology Progress Series*. 93: 199-203 p.
- Mann K.H., J.R.N. Lazier. 1996. Dynamics of Marine Ecosystems: Biological-Physical Interactions in the Oceans. Segunda Edición. Blackwell Science. Londres. 394 pp.

- Mark H., M.H. Pickett, B.Franklin y F.B. Schwing. 2006. Evaluating upwelling estimates off the west coasts of North and South America. *Fisheries Oceanography*. 15: 256–269 p.
- Markager S. y K. Sand-Jensen. 1992. Light requirements and depth zonation of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series*. 88: 83-92 p.
- Matson P.G. y M.S. Edwards. 2007. Effects of ocean temperature on the southern range limits of two understory kelps, *Pterygophora californica* and *Eisenia arborea*, at multiple life-stages. *Marine Biology*. 151:1941–1949 p.
- McGlathery K.J. 1996. Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*. 32: 393-401 p.
- Mitsch W.J., J.W. Day, J.W. Gilliam, P.M. Groffman, D.L. Hey, G.W. Randall y N. Wang. 2001. Reducing Nitrogen Loading to the Gulf of Mexico from the Mississippi River Basin: Strategies to Counter a Persistent Ecological Problem. *BioScience*. 51: 373-388 p.
- Naldi M.y P.A. Wheeler. 1999. Changes in nitrogen pools in *Ulva fenestrata* (chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment. *Journal of Phycology* 35:70-77 p.
- Nishihara G.N., R. Terada, T. Noro. 2005. Effect of temperature and irradiance on the uptake of ammonium and nitrate by *Laurencia brongniartii* (Rhodophyta, Ceramiales) *Journal of Applied Phycology*. 17:371-377 p.
- O'Brien MC, Wheeler PA. 1987. Short term uptake of nutrients by *Enteromorpha prolifera* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 23: 547-556.
- Ozaki A., H. Mizuta y H. Yamamoto. 2001. Physiological differences between the nutrient uptakes of *Kjellmaniella crassifolia* and *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). *Fisheries Science* 3: 415-419 p.
- Paerl H.W. 1997. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: Importance of atmospheric deposition and groundwater as “new” nitrogen and other nutrient sources. *Limnology and Oceanography*. 42: 1154-1165 p.
- Paerl H.W., J. Rudek y M.A. Mallin. 1990. Stimulation of phytoplankton production in coastal waters by natural rainfall inputs: nutritional and trophic implications. *Marine Biology*. 107: 247-254 p.
- Pedersen M.F. y Borum Jens. 1997. Nutrient control of estuarine macroalgae: Growth strategy and the balance between nitrogen requirements and uptake. *Marine Ecology Progress Series* .161: 155–163 p.
- Pueschel C.M. y R.E. Korb. 2001. Storage of nitrogen in the form of protein bodies in the kelp *Laminaria solidungula*. *Marine Ecology Progress Series*. 218: 107–114 p.
- Rosenberg G y J. Ramus. 1984. Uptake of inorganic nitrogen and seaweed surface area:volume ratios. *Aquatic Botany*. 19: 65-72 p.

- Rosenberg G. y J. Ramus. 1982a. Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): Photosynthesis and antenna composition. *Marine Ecology Progress Series*. 8: 233-241 p.
- Roughan, M., E. J. Terrill, J. L. Largier, and M. P. Otero. 2005. Observations of divergence and upwelling around Point Loma, California, *Journal of Geophysical Research* 110: C04011, doi:10.1029/2004JC002662.
- Schiel D.R. y M.S. Foster. 2006. The population biology of large brown seaweeds: ecological consequences of multiphase life histories in dynamic coastal environments *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 37:343-72 p.
- Steneck R.S., M.H. Graham, B.J. Bourque, D. Corbett, J.M. Erlandson, J.A. Estes M.J. Tegner. 2002. Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future. *Environmental Conservation*. 29: 436-459 p.
- Turpin D. 1991. Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. *Journal of Phycology*. 27: 14- 20 p.
- Van den Hoek, C. 1975. Phytogeographic provinces along the coasts of the Northern Atlantic Ocean. *Phycologia*. 14: 317-330 p.
- Wheeler, P. A. y W. J. North. 1980. Effect of nitrogen supply on nitrogen content and growth rate of juvenile *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) sporophytes. *Journal of Phycology*. 16:577-82 p.
- Witman, J.D., J.J. Leichter, S.J. Genovesey D.A. Brooks. 1993. Pulsed phytoplankton supply to the rocky subtidal zone: influence of internal waves. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 90: 1686-1690 p.
- Yoon H.S., J.Y. Lee, S.M. Boo y D. Bhattacharya. 2001. Phylogeny of Alariaceae, *Laminariaceae*, and *Lessoniaceae* (Phaeophyceae) based on plastid-encoded RuBisCo spacer and nuclear-encoded ITS sequence comparisons. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 21: 231-43 p.
- Zaytsev, O., R. Cervantes-Duarte, O. Montante y A. Gallegos-Garcia. 2003. Coastal Upwelling Activity on the Pacific Shelf of the Baja California Peninsula. *Journal of Oceanography*. 59: 489-502.
- Zimmerman, R.C y N.J Kremer. 1984. Episodic nutrient supply to a kelp forest ecosystem in Southern California. *Journal of Marine Research*. 42: 591-604 p.