



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

**Universidade da Coruña
Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía**

TESIS DOCTORAL

**Relaciones entre la producción de nitrógeno orgánico y
la organización trófica del ecosistema pelágico**

**Memoria presentada por la Licenciada
Doña Marta María Varela Rozados
para optar al grado de Doctor en Biología**

A Coruña, 2 de Abril de 2004



**INSTITUTO
ESPAÑOL DE
OCEANOGRAFÍA**

Don Antonio Bode Riestra, Investigador en el Centro Oceanográfico de A Coruña del Instituto Español de Oceanografía,

HACE CONSTAR que la presente memoria titulada “**Relaciones entre la producción de nitrógeno orgánico y la organización trófica del ecosistema pelágico**”, presentada por la licenciada Marta María Varela Rozados para optar al grado de Doctor en Biología, ha sido realizada bajo mi dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para su presentación, la cual autorizo.

Para que así conste a los efectos oportunos firmo la presente en A Coruña, a 2 de Abril de 2004.

Fdo. Dr. Antonio Bode Riestra.
Director de la Tesis Doctoral.



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Doña Fuencisla Merino de Cáceres, catedrática de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía da Universidade da Coruña y tutora de la presente memoria de Tesis Doctoral titulada: “**Relaciones entre la producción de nitrógeno orgánico y la organización trófica del ecosistema pelágico**”, de la que es autora Marta María Varela Rozados y que ha sido dirigida por el Dr. Antonio Bode Riestra , investigador del Centro Oceanográfico de A Coruña del Instituto Español de Oceanografía,

AUTORIZA su presentación en la Universidad de A Coruña para su lectura y defensa.

Para que así conste, firmo la presente en A Coruña a 2 de Abril de 2004

Fdo. Fuencisla Merino de Cáceres.
Catedrática de Fisiología Vegetal del Dto. De Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía da Universidade da Coruña.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer de forma especial, a Antonio Bode, mi director, la oportunidad de introducirme en la Investigación Oceanográfica y la confianza depositada en mi durante todos estos años. Su inestimable ayuda a nivel científico, por su cuidadosa planificación, sugerencias, comentarios y su habitual disponibilidad y rapidez de las correcciones de mi trabajo, ha hecho posible la elaboración de esta memoria. Además, en el ámbito personal, su optimismo y su entusiasmo me han permitido disfrutar a lo largo de todas las etapas de su realización de muy buenos momentos. Sin duda, trabajar en este equipo ha sido un verdadero privilegio tanto profesional como personal.

En segundo lugar, quisiera agradecer al Instituto Español de Oceanografía, y en particular, al Centro Oceanográfico de A Coruña las facilidades concedidas durante estos años para realizar este trabajo. Muchas han sido las personas de esta institución que, de una manera u otra, han hecho posible la realización de esta memoria.

Manuel Varela me contagió su entusiasmo por las faenas en la mar, aunque alguna vez resultaran ser verdaderos temporales. Sus agradables charlas y tertulias han hecho más llevadero el trabajo tanto de despacho como a bordo. Siempre conté con su completa disponibilidad y amabilidad para resolver mis dudas y preguntas.

Jorge Lorenzo es la persona más entusiasta y dicharachera de nuestro equipo en Coruña. No es fácil resumir en pocas líneas toda su ayuda prestada en la preparación de las campañas, la increíble capacidad para que todo esté en su sitio y a tiempo, y las experiencias personales que he tenido la suerte de disfrutar gracias a él. Además, él ha contribuido, de manera especial, a crear un buen ambiente de trabajo como el que yo he disfrutado durante estos años.

Han sido muchas las personas que han colaborado en la obtención de los datos presentados en esta memoria, algunas de ellas coautores de los trabajos que se recogen en la misma, pero me gustaría agradecer especialmente la colaboración de Emilio Fernández, de la Universidad de Vigo, por sus comentarios, sugerencias y buenos consejos sobre mis manuscritos; y de Nicolás González, del Instituto Español de Oceanografía, por facilitarnos gran parte de los datos de los análisis de concentración de nutrientes disueltos incluidos en esta memoria.

A Valesca Pérez, de la Universidad de Vigo, le agradezco su ayuda desinteresada y en especial su disponibilidad siempre que la he necesitado. A Eva Teira, su hospitalidad y ayuda prestadas durante mi estancia en Holanda. Mi agradecimiento también para todos los integrantes de las campañas OMEX-II, GIGOVI-II, AMT-11 y RADIALCORUÑA, y tripulaciones de los buques oceanográficos Thalassa, James Clark Ross y Lura con los que compartí trabajo y buenas horas de ocio.

A Fuencisla, Jose, Geli, Federico y Carmen Prego, de la Universidad de A Coruña, por introducirme y guiarme en mis comienzos en el mundo de la investigación.

A todos mis compañeros del laboratorio, Pili, Begoña Castro, María, Leticia, Joaquín, Alex y Fran por su ayuda y colaboración en la obtención de los datos presentados en esta memoria. Tampoco me puedo olvidar de Jose Luis, Jorge, Marina, Begoña Río, Paz, Ana, Angel, Isabel G. Herráiz, Isabel González, Inma, Elvira, Marian y Harold con los que he compartido hábitat, cafés y risas a lo largo de estos años. A Jose Luis le agradezco su tiempo dedicado a escuchar mis problemas, y a que siempre me haya ayudado a verlo todo desde otro punto de vista. A Ana, su ayuda prestada en la maquetación final de la tesis. Y a Harold, por el soporte informático y, especialmente, por su cariño.

A mis amigas, Raquel, Mónica, Berta, Marí, Belén, Sara, María y Vicky, por aguantarme y estar siempre ahí, dispuestas a ayudarme y escucharme. Y como no, por las juergas hasta altas horas de la noche que me hacían desconectar del trabajo.

A Rubén, por su paciencia para soportarme, por animarme cuando más lo he necesitado, aunque fuera desde la distancia, y porque él es la persona que más me ayuda a ver las cosas complicadas de forma sencilla.

Por último, pero sobre todo gracias a mi familia. A mi madre, porque siempre está ahí para ayudarme y cuidarme, aunque a veces no me lo merezca. A mi padre, por apoyarme en todo y a mi hermano Iván, por ser la alegría de nuestra casa y ponerme contenta en un instante.

A todos, ¡muchas gracias!

...a mi familia:

mis padres,
Josefa y Manuel

mi hermano,
Iván

y a *Rubenciño*

Esta tesis fue realizada durante el disfrute de una beca de Formación de Personal Investigador del Instituto Español de Oceanografía y de una beca predoctoral del plan de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Ciencia y Tecnología para el período 1999-2004.

Los trabajos que se recogen en esta memoria fueron financiados por el proyecto europeo OMEX-II-Phase II (MAS3CT970076), los proyectos del Programa Nacional de Ciencias y Tecnologías Marinas: “INCOCEANO” (MAR1995-1901-CO03), “GIGOVI” (MAR1996-1872-CO03) y “CIRCANA” (MAR1999-1072-CO2-02), en colaboración con el programa británico AMT (*Atlantic Meridional Transect*), y el proyecto del Instituto Español de Oceanografía “RADIALES” (IEO-1007).

Además, en el transcurso de la elaboración de esta Tesis, se realizó una estancia de dos meses en el Netherlands Institute for Sea Research (NIOZ) en Texel (Holanda) financiada por el Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Relaciones entre la producción de nitrógeno orgánico y la organización trófica del ecosistema pelágico

Resumen

La liberación de nitrógeno orgánico por las comunidades microbianas tiene importantes consecuencias para los ecosistemas planctónicos debido a su relevante papel en los ciclos de la materia, en general, y del nitrógeno en particular. Existen evidencias de que las formas nitrogenadas, tanto inorgánicas como orgánicas, determinan el tipo de interacciones tróficas y también la estructura de tamaños de las comunidades de fitoplancton. El tamaño del fitoplancton es el principal factor biológico que controla la organización trófica de las comunidades planctónicas y, como consecuencia, los flujos de nitrógeno en los ecosistemas pelágicos. El estudio de la relación entre la estructura de la comunidad planctónica y el flujo de nitrógeno a través del ecosistema pelágico constituye, en la actualidad, uno de los principales retos para la oceanografía biológica. En el presente trabajo se investigó la relación entre las tasas de liberación de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) y la estructura de tamaños de fitoplancton en ambientes hidrográficos muy contrastados en la capa superficial del océano Atlántico, cubriendo tanto regiones de afloramiento como regiones oligotróficas. Además, se determinó la relación entre la liberación de NOD y la actividad del bacterioplancton. Para ello, se realizaron mediciones de la biomasa fitoplanctónica (estimada a partir de la concentración de clorofila *a*) fraccionada por clases de tamaño, y de la biomasa y la abundancia bacterianas; también se cuantificaron las tasas de absorción de nitrógeno, la liberación de NOD y la producción bacteriana. Los resultados obtenidos, y presentados en esta memoria, mostraron que las tasas de liberación de NOD variaron entre 0,01 y 59,46 nmol de N l⁻¹ h⁻¹. El porcentaje de liberación extracelular de NOD (PLE) con relación a la incorporación total de nitrógeno constituyó entre el 4 % y el 80 %. La estructura de tamaños de fitoplancton no presentó un patrón de distribución claramente definido con el porcentaje de liberación extracelular de NOD (PLE), ya que éste resultó ser una fracción muy variable de la absorción total de nitrógeno. En promedio, los valores más elevados de PLE se encontraron en los ambientes oceánicos oligotróficos (concentración de clorofila *a* < 0,25 mg m⁻³), donde la biomasa de picoplancton era dominante, confirmando, por tanto, una relación inversa entre la cantidad de NOD liberado y la absorción total de nitrógeno. Las tasas de liberación de NOD explicaron menos del 15 % de la variabilidad observada en las tasas de producción bacteriana, sugiriendo un débil acoplamiento entre el fitoplancton y el bacterioplancton a escalas de tiempo cortas (horas). Por otro lado, los balances de masas indicaron un exceso de liberación de NOD con respecto a los requerimientos bacterianos, lo que sugiere un desfase a una escala de tiempo mayor.

Palabras clave: Fitoplancton, estructura de tamaños, bacteria, producción de nitrógeno orgánico, ecosistema pelágico.

Relationships between organic nitrogen production and trophic organization of oceanic pelagic ecosystems

Abstract

The release of organic nitrogen is an important process for planktonic ecosystems, because of its relevant role in the biogeochemical nitrogen cycle. There is growing evidence that both inorganic and organic dissolved forms of nitrogen are determinant in the type of trophic interactions and size-group composition of planktonic communities. Phytoplankton-size structure is the principal controlling mechanism of the trophic organization of planktonic communities and, consequently, the cycling of nitrogen through the pelagic ecosystem. Therefore, determining the relationship between phytoplankton size structure and nitrogen flux through pelagic ecosystems is one of the major challenges of biological oceanography during the present decade. The aim of research presented here was to determine the relationship between dissolved organic nitrogen (DON) release rates and phytoplankton size over a wide range of productivity levels in the surface layer of Atlantic waters, ranging from upwelling systems to oligotrophic areas. Moreover, we determined the relationship between DON release and bacterioplankton activity. Size fractionated phytoplankton biomass (estimated from chlorophyll-*a* concentration) and bacterial abundance and biomass were measured. In addition, nitrogen uptake rates, DON release rates and bacterial production were determined. Our results show that DON release rates range between 0.01 and 59.46 mg N l⁻¹ h⁻¹. The percentage of DON release (PER) with respect to total nitrogen uptake ranged from 4 % to 80 %. Phytoplankton size structure did not show a clear relationship with PER, because of the variability of PER values. On average, the highest values for PER were found in oligotrophic oceanic waters (< 0.25 mg chlorophyll-*a* m⁻³), where picoplankton biomass dominated; this is indicative of an overall inverse relationship between the PER and the gross nitrogen uptake rates. The DON release rates accounted for less than 15 % of the variability observed in bacterial production rates, showing a weak relationship between bacterioplankton and phytoplankton compartments on short time scales (hours). However, according to the nitrogen balances calculated, there was an excess of DON release in relation to the requirements of the bacteria, suggesting an uncoupling on a larger time scale.

Keywords: Phytoplankton, size distribution, bacteria, organic nitrogen release, pelagic ecosystem.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Importancia de la materia orgánica disuelta (MOD) en el océano.....	3
1.2. Fuentes de MOD en el océano.....	6
1.3. Importancia de la cuantificación de la liberación de NOD y problemática actual.....	7
1.4. Papel del NOD en las redes tróficas planctónicas.....	8
1.5. Hipótesis.....	10
1.6. Objetivos.....	11
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
2.1. Áreas de estudio.....	15
2.2. Muestreo.....	17
2.3. Tasa de absorción de compuestos nitrogenados y liberación de NOD.....	20
2.4. Valores integrados para la capa eufótica.....	22
3. REGENERACIÓN DE AMONIO Y NITRÓGENO ORGÁNICO DISUELTO (NOD) POR EL MICROPLACTON EN EL NOROESTE DE LA PENÍNSULA IBÉRICA: RELACIÓN CON LA ESTRUCTURA DEL TAMAÑO Y LA PRODUCCIÓN DEL FITOPLACTON.....	23
3.1. Introducción.....	27
3.2. Material y métodos.....	29
3.2.1. Muestreo.....	29
3.2.2. Regeneración de amonio y liberación de NOD.....	30
3.2.3. Tasas de producción primaria fraccionada por clases de tamaño y producción de COD.....	31
3.3. Resultados.....	32
3.3.1. Condiciones oceanográficas, nutrientes y biomasa y composición de fitoplancton.....	32
3.3.2. Regeneración de amonio y liberación de NOD.....	38
3.3.3. Regeneración de nitrógeno, producción primaria y estructura de tamaños.....	41
3.4. Discusión.....	44
3.4.1. Regeneración de nitrógeno y afloramiento.....	44
3.4.2. Desacoplamiento entre la liberación de NOD y la producción de COD.....	47
3.4.3. Estructura de tamaños de fitoplancton y relación C:N de la materia orgánica disuelta.....	48

4. ABSORCIÓN DE NITRÓGENO Y LIBERACIÓN DE NITRÓGENO ORGÁNICO DISUELTO (NOD) POR LAS COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DEL OCÉANO ATLÁNTICO, CARACTERIZADAS POR LA ESTRUCTURA DE TAMAÑOS DE FITOPLANCTON.....	51
4.1. Introducción.....	55
4.2. Material y métodos.....	56
4.2.1. Muestreo.....	56
4.2.2. Concentración de clorofila <i>a</i> fraccionada por clases de tamaño, producción primaria y abundancia de fitoplancton.....	58
4.2.3. Determinaciones de nitrógeno.....	58
4.3. Resultados.....	61
4.3.1. Estructura termohalina de la columna de agua.....	61
4.3.2. Clorofila <i>a</i> y composición de las especies de fitoplancton.....	64
4.3.3. Tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD: variabilidad vertical.....	67
4.3.4. Concentración y tasas de absorción de nitrógeno, y liberación de NOD: variabilidad latitudinal.....	71
4.3.5. Relaciones entre la absorción de nitrógeno, la liberación de NOD y la estructura de tamaños del fitoplancton.....	74
4.4. Discusión.....	77
4.4.1. Absorción de nitrógeno.....	77
4.4.2. Liberación de NOD.....	80
4.4.3. Absorción de nitrógeno, liberación de NOD y estructura de tamaños del fitoplancton.....	84
5. RELACIONES ENTRE LA ABSORCIÓN Y LIBERACIÓN DE NITRÓGENO ORGÁNICO DISUELTO (NOD) Y LA PRODUCCIÓN BACTERIANA EN LA CAPA SUPERFICIAL DEL OCÉANO ATLÁNTICO.....	87
5.1. Introducción.....	91
5.2. Material y métodos.....	92
5.2.1. Muestreo.....	92
5.2.2. Nutrientes disueltos.....	94
5.2.3. Nitrógeno orgánico particulado y concentración de clorofila <i>a</i>	94
5.2.4. Tasas de incorporación de compuestos nitrogenados y liberación de NOD.....	95
5.2.5. Biomasa y producción bacteriana.....	96
5.2.6. Clasificación de las observaciones.....	97
5.3. Resultados.....	99
5.3.1. Diferencias entre las regiones muestreadas.....	99
5.3.2. Tasas de absorción de amonio y liberación de NOD.....	101
5.3.3. Absorción total de nitrógeno y liberación de NOD en zonas oceánicas.....	103
5.3.4. Acoplamiento entre la liberación de NOD y la producción bacteriana.....	106
5.3.5. Flujo de nitrógeno a través del microplancton.....	107
5.4. Discusión.....	110

5.4.1. Tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD.....	110
5.4.2. Acoplamiento entre la liberación de NOD y las bacterias en la zona eufótica...	113
6. SÍNTESIS.....	117
6.1. Liberación de NOD y estructura de tamaños de los productores primarios.....	119
6.2. Relación entre la liberación de COD y NOD.....	122
6.3. Liberación de NOD y producción bacteriana.....	123
CONCLUSIONES.....	127
BIBLIOGRAFÍA.....	131

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. IMPORTANCIA DE LA MATERIA ORGANICA DISUELTA (MOD) EN EL OCEANO.

La liberación de materia orgánica disuelta por las poblaciones microbianas tiene importantes consecuencias para los ecosistemas planctónicos, debido a su relevante papel en los ciclos de la materia en general y del carbono y nitrógeno en particular (Agustí et al. 2001). En las últimas dos décadas se ha llevado a cabo una amplia investigación en torno a la determinación de este compartimento (Suzuki et al. 1985, Sugimura y Suzuki 1988, Suzuki 1993, Álvarez-Salgado y Miller 1998, Sharp et al. 2002, Bronk 2002, Berman y Bronk 2003) dada su potencial influencia en el cambio climático global, asociado al aumento antropogénico en las concentraciones de CO₂ atmosférico. El crecimiento del fitoplancton provoca en primer término una desaparición de CO₂ al fijarlo en compuestos orgánicos. La disponibilidad de nitrógeno en el océano controla esta capacidad para fijar y secuestrar CO₂ atmosférico, ya que el nitrógeno es un elemento que ha sido considerado clásicamente como limitante de la producción primaria (Dugdale y Goering 1967). Parte de la materia orgánica producida se emplea en la respiración de los organismos en la columna de agua, mientras que otra parte se exporta como materia orgánica particulada (MOP) o disuelta (MOD) hacia las capas profundas del océano.

Históricamente, se había considerado que la materia orgánica incorporada por los productores primarios permanecía esencialmente en la fase particulada, para ser consumida posteriormente por los herbívoros, por lo que su destino último estaría determinado por el funcionamiento de la cadena trófica herbívora o clásica (Steele 1974). Sin embargo, en la actualidad, los balances de materia revelan que una fracción importante de la producción neta (esto es excluyendo la respiración) de las comunidades (>40%) podría encontrarse en forma de MOD, tanto en el caso del carbono (Teira et al. 2001b, Teira et al. 2003) como en el caso del nitrógeno (Bronk y Ward 2000, Varela et al. 2003b), siendo canalizada por organismos de pequeño tamaño a través del denominado 'bucle microbiano' (Azam et al. 1983, Azam 1998).

Durante los últimos años ha ido adquiriendo progresivamente más importancia el papel que juegan los microorganismos y la MOD en los ecosistemas pelágicos marinos (ver revisión en Sherr y Sherr 2000 y Carlson 2002). La liberación de MOD por las poblaciones microbianas constituye una de las principales fuentes de sustancias orgánicas lábiles que más contribuyen al mantenimiento de los organismos heterótrofos, como por ejemplo las bacterias (Jackson y Williams 1985, Norrman et al. 1995). Por su parte, las bacterias remineralizan el carbono y el nitrógeno, quedando estos nutrientes de nuevo disponibles para ser consumidos por niveles tróficos superiores. Por otro lado, un creciente número de trabajos ha demostrado recientemente que una cantidad importante de producción primaria y bacteriana es consumida por los herbívoros (ver revisión Nagata 2000 y trabajos citados en éste). La actividad herbívora actuaría, por tanto, como nexo de unión entre los diversos niveles tróficos y como regenerador de nutrientes, y al

mismo tiempo constituye un eficiente método de transformación de la presa en material disuelto que es liberado a la columna de agua (Fig. 1.1).

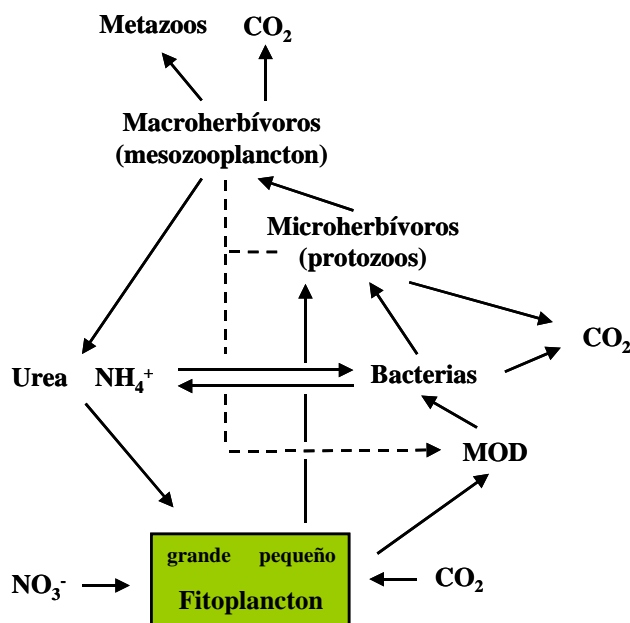


Figura 1.1. Representación esquemática de la transferencia de la materia entre los diferentes compartimentos planctónicos.

En la actualidad, se ha generado un activo debate en torno a la magnitud del balance metabólico neto de las regiones oceánicas. Varias investigaciones indican la necesidad de aportes externos de MOD para explicar un metabolismo neto heterotrófico en algunos sistemas oligotróficos del océano (Duarte et al. 2001, González et al. 2001, 2002, Serret et al. 2001, 2002). Estos trabajos han indicado que, en determinados momentos o regiones, son necesarios aportes externos de carbono orgánico disuelto (COD) para equilibrar el balance metabólico, lo que sugiere que también son necesarias fuentes alóctonas de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) (Vidal et al. 1999).

La MOD comprende un amplio espectro de compuestos químicos. El COD está constituido básicamente por carbohidratos, aminoácidos, proteínas, lípidos y sustancias húmicas (Miklestad et al. 1997, Ogawa 2000). Los carbohidratos y las sustancias húmicas constituyen la fracción mayoritaria del COD suponiendo, respectivamente, entre un 10 y un 30% (Benner et al. 1992, Pakulski y Benner 1994) y entre un 5 y un 25% (Obenosterer y Herndl 2000) del total de COD en aguas superficiales. Las sustancias húmicas, de peso molecular generalmente alto, son biológicamente refractarias (McKnight y Aiken 1998), aunque son fotoquímicamente más reactivas que otras fracciones, jugando un papel muy importante en la fotoquímica de las aguas

superficiales (Obernosterer y Herndl 2000). Por su parte, entre los componentes del NOD encontramos sustancias de alto peso molecular como proteínas (por ej. enzimas y proteínas de la pared celular), ácidos nucleicos (ADN, ARN) y sustancias húmicas. Entre los componentes de bajo peso molecular se incluyen, entre otros, urea, péptidos, aminoazúcares, purinas, pirimidinas y amidas (Antia et al. 1991). La urea y los aminoácidos libres o combinados representan entre 1-20 % del total de NOD (Jackson y Williams 1985, Bronk 2002) y constituyen importantes fuentes de nitrógeno para los organismos autótrofos y heterótrofos (Bronk 2002, Berman y Bronk 2003).

En función de su tiempo de residencia, la MOD ha sido clasificada en componentes lábiles (tiempo de residencia del orden de días), semilábiles (meses-años) y refractarios (cientos-miles de años) (Anderson y Williams 1999, Ogawa 2000, Carlson 2002). Las fracciones lábiles y semilábiles se producen en el ecosistema marino y pueden ser consumidas por las bacterias, mientras que los componentes refractarios, considerados biológicamente inertes, se originan a partir de los componentes lábiles y semilábiles mediante una serie de modificaciones químicas, o bien provienen del sistema terrestre. Históricamente, se pensaba que la MOD estaba constituida esencialmente por compuestos refractarios, sin embargo en los últimos años varias investigaciones han indicado que entre un 1 y un 24% de la MOD son compuestos lábiles (Carlson y Ducklow 1995, Jørgensen et al. 1999, Doval et al. 1999, Bronk 2002) que pueden ser fácilmente degradables. Así por ejemplo, algunas investigaciones han encontrado que las tasas de renovación de la MOD pueden llegar a ser inferiores a un día (Zubkov et al. 2000, 2001, Haga et al. 2001).

Varios estudios han detectado cambios diarios y estacionales en la concentración de MOD en las aguas superficiales marinas. Estas variaciones son el resultado tanto de procesos físicos (mezcla, advección) como biológicos (producción y consumo de MOD por las poblaciones microbianas). Así, en la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica se puede observar que durante los meses de afloramiento se acumula MOD en aguas superficiales (Álvarez-Salgado et al. 1999, Doval et al. 1997, Teira et al. 2001a, Varela et al. 2003a, Varela et al. 2003b). Además, en estudios realizados en varias Rías Baixas de Galicia (Álvarez-Salgado et al. 1996a,b, 2001), se ha encontrado una variación en las concentraciones de MOD a escalas de tiempo de 3-4 días, por lo que se interpreta que las condiciones hidrodinámicas juegan un papel crucial en el destino de la MOD producida en las rías gallegas. De esta forma, la MOD se exporta desde las rías a la plataforma en condiciones de afloramiento, mientras que en condiciones de relajación del afloramiento se acumula MOD en el interior de las rías donde es consumida.

En relación con la exportación de COD, se encontró que la contribución de un filamento de afloramiento frente a las Rías Bajas daba cuenta de la exportación de un 45 % de la producción primaria generada en la plataforma continental (Álvarez-Salgado et al. 2001). La acumulación de COD está acompañada también por acumulación de NOD, aunque en menor proporción. Doval et al. (1997) y Álvarez-Salgado et al. (1999)

determinaron un valor promedio de la relación molar C:N ~15 en la Ría de Vigo, considerablemente superior a la relación de Redfield (Redfield et al. 1963). Más recientemente, Álvarez-Salgado et al. (2001) determinaron que la mayor parte de la MOD analizada en un filamento de agua aflorada en el NO de la Península Ibérica tenía una relación C:N de 19. Estos estudios parecen indicar una mayor labilidad del NOD comparada con el COD.

1.2. FUENTES DE MOD EN EL OCÉANO.

La MOD presente en el océano puede provenir de fuentes alóctonas o autóctonas (Carlson 2002 y Berman y Bronk 2003, y referencias en éstos). Entre las fuentes externas destacan los aportes fluviales, principalmente sustancias húmicas (Alberts y Takács 1999) que se originan a partir de la descomposición de detritus de la vegetación de marisma y las descargas fluviales (Seitzinger y Sanders 1997). En los estuarios y sistemas de aguas someras una cantidad relativamente importante de MOD puede provenir de la resuspensión de los sedimentos (Burdige y Zheng 1998). Finalmente, otras fuentes alóctonas de MOD son la lluvia (Seitzinger y Sanders 1999) y el polvo atmosférico (Cornell et al. 1995).

Sin embargo, la mayor parte de la MOD presente en el océano abierto se origina *in situ* como consecuencia de la actividad directa o indirecta de los productores primarios a través de diversos procesos (Nagata 2000, Bronk 2002, Berman y Bronk 2003). Una parte es liberada por exudación directa del fitoplancton (Bronk y Ward 1999, Søndergaard et al. 2000, Meon y Kirchman 2001, Nagao y Miyazaki 2002). Otra fracción de MOD es liberada como consecuencia de lisis celular, bien sea debido a infección vírica (Bratbak et al. 1998) o muerte celular programada (apoptosis) (Agustí y Duarte 2000). La actividad herbívora también es otro mecanismo que contribuye significativamente a la liberación de MOD (Nagata 2000). En este último mecanismo, podemos diferenciar dos tipos de comunidades de herbívoros, los protozoos y el mesozoplancton. Los primeros liberan componentes disueltos como consecuencia de la predación sobre bacterias y picofitoplancton (Antia et al. 1980, Berman et al. 1987, Hasegawa et al. 2000a,b, 2001, Ward y Bronk 2001), mientras que los segundos ingieren fitoplancton de mayor tamaño (Nagata 2000). El zooplancton, mediante la excreción directa de diversas sustancias, también puede contribuir a la liberación de MOD.

Finalmente, como hemos señalado, muchos protozoos se alimentan de bacterias, de manera que éstas deben también ser consideradas como fuentes de MOD en el océano. Así, los protozoos pueden llegar a consumir más de un 80% de la producción bacteriana en las regiones oceánicas del Atlántico (Zubkov et al. 2000), dando lugar a la aparición de MOD derivada del bacterioplancton (Nagata y Kirchman 1992, McCarthy 1998). La actividad de los protozoos es particularmente importante en el océano oligotrófico, dominado por fitoplancton de pequeño tamaño, de manera que en estos

sistemas podrían esperarse altos porcentajes de liberación de MOD asociados con este tipo de interacción trófica.

1.3. IMPORTANCIA DE LA CUANTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE NOD Y PROBLEMÁTICA ACTUAL.

Algunas investigaciones sobre las tasas de absorción de nitrógeno y regeneración de amonio mediante la incubación de plancton con fuentes de nitrógeno marcado con ^{15}N (Glibert et al. 1982b, Laws 1984, Ward et al. 1989) mostraron que la cantidad total de ^{15}N inoculado al inicio de la incubación no se recuperaba al final del experimento, incluso cuando los balances de masas se corregían teniendo en cuenta la liberación de amonio no marcado durante el transcurso de la incubación. Por ello, las tasas de absorción bruta de nitrógeno estaban, en menor o mayor grado, subestimadas. Posteriormente Bronk y Glibert (1993) y Slawyk y Raimbault (1995) encontraron que cantidades significativas de nitrógeno se liberaban como NOD a la misma escala de tiempo que se medía la absorción de nitrógeno. Una de las implicaciones más inmediatas de estos resultados es que, probablemente, todas las estimaciones del índice f (producción nueva / producción total) que no tienen en cuenta la liberación de NOD estén sesgadas (Bronk et al. 1994).

Más recientemente, varias investigaciones han encontrado que la liberación de NOD supone un porcentaje variable de la absorción de nitrógeno (Slawyk y Raimbault 1995, Hu y Smith 1998, Bronk y Ward 1999, Diaz y Raimbault 2000, Hasegawa et al. 2000b, 2001, Ward y Bronk 2001, Nagao y Miyazaki 2002, Varela et al. 2003b). Sin embargo, actualmente, la cantidad total de NOD liberado es todavía objeto de controversia (Slawyk y Raimbault 1995, Pujo-Pay et al. 1997, Nagao y Miyazaki 1999, Bronk y Ward 2000, Slawyk et al. 2000, Bronk 2002, Berman y Bronk 2003).

Uno de los mayores desafíos en el estudio del NOD es la falta de técnicas precisas para cuantificar la concentración total de NOD. Todos los métodos dependen de la determinación previa de la concentración de nitrógeno disuelto total para posteriormente sustraer la concentración de nitrógeno inorgánico total (suma de amonio, nitrato y nitrito). Esta aproximación combina varios errores analíticos. No obstante, actualmente ya se dispone de numerosas medidas en distintos ambientes (ej. Berman y Bronk 2003) que, aunque obtenidas por diferentes métodos analíticos, son, en general, comparables (Sharp et al. 2002).

También la idoneidad del tipo de filtros empleados para separar las fracciones particulada y disuelta (fibra de vidrio tipo GF/F o filtros de membrana) ha sido cuestionada en numerosas ocasiones en la bibliografía (Altabet 1990, Stockner et al. 1990, Chavez et al. 1995, Slawyk y Raimbault 1995, Morán et al. 1999). La principal crítica es que los filtros de fibra de vidrio pueden dejar pasar partículas y organismos cuyo nitrógeno se contabilizaría como disuelto. No obstante, en la mayoría de los estudios se emplean filtros de tipo GF/F, al igual que los estudios sobre liberación de

COD (ej. Teira et al. 2001b). Estudios experimentales sobre la liberación de COD por plancton de distintos ecosistemas han mostrado que los filtros GF/F retienen la mayor parte del plancton de pequeño tamaño, incluyendo las bacterias (Morán et al. 1999), por lo que la posible sobrestimación de las concentraciones o tasas de liberación de MOD causada por el paso de células picoplanctónicas pequeñas ($<0.7 \mu\text{m}$) es esperable que sea una mínima fracción de los valores reales.

Con respecto a la estimación de las tasas de liberación de NOD, además de los errores inherentes a la determinación de la concentración de NOD, existen otras fuentes potenciales de error. Así por ejemplo, la contaminación de la disolución inoculada con nitrógeno no marcado, la rotura celular durante la filtración o la eliminación incompleta de nitrógeno inorgánico disuelto durante la determinación de NOD pueden causar una sobreestimación de la concentración de NOD (Bronk y Ward 2000, Slawyk et al. 2000). La realización de experimentos con análisis de valores iniciales (sin periodo de incubación), así como ensayos para testar el porcentaje de recuperación del isótopo han permitido controlar este tipo de problemas (Slawyk y Raimbault 1995, Raimbault et al. 2000, Hasegawa et al. 2000b).

1.4. PAPEL DEL NOD EN LAS REDES TRÓFICAS PLANCTÓNICAS.

Como se ha indicado en el apartado anterior, existe actualmente una controversia sobre la cantidad de NOD que es realmente liberado por el plancton en las comunidades naturales. De los estudios que han determinado el porcentaje de liberación extracelular (PLE) de NOD con respecto al nitrógeno total incorporado (Bronk y Ward, 1999, 2000, Ward y Bronk 2001, Hasegawa et al. 2000b, 2001) se concluye que este porcentaje varía, en promedio, entre el 10 y el 35%. No obstante, estos porcentajes pueden ser mucho menores o mayores dependiendo, entre otras causas, del tipo de ecosistema estudiado y de la metodología empleada. Así por ejemplo, empleando un método de recogida del NOD basado en intercambio iónico e incubaciones de 2-3 h, Bronk y Glibert (1991) encuentran valores de PLE ocasionalmente $>50\%$ en una zona sometida a afloramiento. En contraste, Slawyk et al. (1998) y Raimbault et al. (2000), empleando un método de difusión para la eliminación del nitrógeno inorgánico disuelto al final de la incubación y tiempos de incubación largos ($>6 \text{ h}$), citan valores de PLE que no superan el 20% en zonas del Pacífico subtropical. Además de las diferencias metodológicas, algunos autores atribuyen esta variabilidad a la presencia o ausencia de diferentes interacciones tróficas. Por ejemplo, Ward y Bronk (2001) concluyeron que el PLE aumentaba como consecuencia de una intensa actividad herbívora, sugiriendo que algunas de las interacciones que dan lugar a altos valores de PLE dependen de la estructura de tamaños de la comunidad.

El tamaño del fitoplancton es el principal factor biológico que controla la organización trófica de las comunidades planctónicas (Tremblay y Legendre 1994, Legendre y Rassoulzadegan 1995) y, consecuentemente, los flujos de la materia orgánica en los ecosistemas pelágicos. En último término, son las condiciones

hidrográficas predominantes en el medio marino las que determinan la distribución de tamaños de los productores primarios (Margalef 1978, Tremblay et al. 1997). Así, en las regiones altamente productivas, caracterizadas por una baja estabilidad de la columna de agua, como las áreas de afloramiento, dominará el fitoplancton de tamaño grande, se establecerá la red trófica herbívora (o clásica) y la materia orgánica producida fluirá principalmente a través del mesozooplancton, siendo finalmente transferida a niveles tróficos superiores o exportada hacia capas subsuperficiales del océano. Por el contrario los ambientes oceánicos oligotróficos, caracterizados por una alta estabilidad de la columna de agua, estarán dominados por fitoplancton de pequeño tamaño, que se encontrará bajo el control de la actividad depredadora de protozoos y otros organismos heterótrofos. En este tipo de ecosistema, las redes tróficas microbianas, basadas en múltiples interacciones tróficas y un rápido reciclado de la materia a través de los compartimentos biológicos, presentarán, en términos relativos, mayores pérdidas de materia orgánica en forma disuelta como resultado de procesos como la lisis celular del fitoplancton (Agustí y Duarte 2000, Thingstad 2000) o la depredación de los protozoos (Nagata y Kirchman 1992, Strom et al. 1997). En consecuencia, la mayor parte de la producción autotrófica será respirada dentro del bucle microbiano en la capa eufótica (Serret et al. 2001, del Giorgio y Duarte 2002).

Dentro de este marco teórico se esperaba, *a priori*, una relación estrecha entre las tasas de liberación de NOD y el tipo de red trófica dominante en el medio oceánico. En este sentido Teira et al. (2001b), analizando datos obtenidos en un amplio espectro de niveles de productividad en el Océano Atlántico, encontraron que, a medida que aumenta la contribución de fitoplancton de pequeño tamaño, aumenta el PLE de carbono orgánico recientemente fotosintetizado que fluye hacia el compartimento del COD. Sin embargo, y hasta nuestro conocimiento, no hay ninguna investigación acerca de la relación entre el PLE del NOD y la distribución de tamaños del fitoplancton.

Como ya ha sido destacado, la liberación de MOD constituye una de las principales fuentes de sustancias orgánicas lábiles que más contribuyen a la alimentación de las bacterias (Norrman et al. 1995) y por lo tanto debería, en parte, contribuir a explicar la covariación entre el fitoplancton y el bacterioplancton (Gasol y Duarte 2000). Varios estudios han encontrado un desacoplamiento a corta escala de tiempo entre la liberación de COD y la producción bacteriana (Morán et al. 2002, Teira et al. 2003). Sin embargo, es esperable un acoplamiento a una mayor escala temporal, debido al desfase temporal en las zonas templadas entre los máximos de producción de MOD, y los máximos de respiración (Serret et al. 1999, Serret et al. 2001).

Algunas investigaciones han descrito el uso de múltiples fuentes de nitrógeno por el bacterioplancton (Middelboe et al. 1995, Jørgensen et al. 1999). Varios componentes del NOD, entre ellos aminoácidos, proteínas, urea y ADN, pueden ser tomados directamente por las bacterias (Flynn y Butler 1986, Simon y Rosenstock 1992, Jørgensen et al. 1993, Volk et al. 1997, Keil y Kirchman 1999) para cubrir sus necesidades de carbono y nitrógeno (Williams et al. 1976, Wheeler y Kirchman 1986).

Como resultado de las transformaciones bacterianas se libera NOD y amonio, que es reutilizado directamente por la comunidad microbiana o nitrificado hasta nitrato. Así, Berman et al. (1999) mostraron que a partir del consumo bacteriano de NOD se liberaba amonio y urea. Sin embargo, aunque las bacterias dispongan de NOD continúan absorbiendo cantidades considerables de amonio. Middelboe et al. (1995) encontraron que varios cultivos de poblaciones bacterianas del estuario de Delaware cubrían diferentes proporciones de sus requerimientos de nitrógeno a partir de aminoácidos y amonio dependiendo de su limitación por carbono o nitrógeno, o de la fase de crecimiento. Además, Jørgensen et al. (1999) mostraron que los aminoácidos libres son el principal sustrato nitrogenado absorbido por las poblaciones bacterianas, seguido de aminoácidos combinados y amonio.

Diversos estudios han demostrado que tanto la liberación y el consumo de aminoácidos (Fuhrman 1987) como de urea (Lomas et al. 2002) están estrechamente asociados. En contraste, otros estudios (ej. Bronk et al. 1998) encontraron que la regeneración de urea es baja y altamente variable. Aunque la urea y los aminoácidos apenas suponen, entre 1-13 % de la cantidad total de NOD (Bronk 2002), desempeñan un importante papel en los flujos del nitrógeno (Berman y Bronk 2003). Por lo tanto, en una situación de equilibrio entre la producción y consumo de NOD, sería razonable esperar una covariación entre las tasas de liberación de NOD y la actividad del bacterioplancton.

1.5. HIPÓTESIS.

Sobre los antecedentes expuestos hasta el momento se plantean las siguientes hipótesis de trabajo:

- *La estructura de tamaños de los productores primarios es un factor determinante en la liberación de NOD por el plancton: se esperan mayores pérdidas de NOD con respecto a la absorción total de nitrógeno en comunidades con una alta contribución de las células pequeñas, tanto a la biomasa como a la producción primaria, debido a su mayor relación superficie-volumen y a la dominancia de los procesos microbianos en la red trófica.*
- *La liberación de NOD en comunidades naturales es proporcionalmente menor que la producción de COD, debido a la necesidad de conservación del N (elemento limitante de la producción) en la cadena trófica. Esta proporcionalidad se reflejará en valores del índice C:N de las tasas de liberación de MOD mayores que los valores C:N de la biomasa del plancton.*
- *La producción bacteriana está relacionada con la liberación de NOD, dado que el NOD recién liberado está compuesto en su mayor parte por sustratos fácilmente degradables por el bacterioplancton. Esta relación se reflejará en*

una correlación positiva entre la producción bacteriana y una correspondencia entre los requerimientos de N por las bacterias y las tasas de liberación de NOD.

1.6. OBJETIVOS.

Para la validación de las hipótesis anteriores, se estudiaron las relaciones entre la organización trófica del ecosistema pelágico, la absorción total de nitrógeno y la liberación de NOD en ecosistemas con organizaciones tróficas *a priori* distintas, incluyendo desde regiones oceánicas oligotróficas del Océano Atlántico hasta regiones con elevados niveles de producción primaria, como el sistema de afloramiento del NO de la Península Ibérica, planteándose los siguientes objetivos:

- Determinar la relación entre la estructura de tamaños de fitoplancton (inferida a partir de la contribución de las células menores y mayores de 2µm a la biomasa y a la producción primaria total) y las tasas de liberación de NOD en un amplio gradiente de niveles de productividad. **Hipótesis 1, Capítulos 3 y 4.**
- Determinar la relación entre las tasas de producción de COD y liberación de NOD. **Hipótesis 2, Capítulo 3.**
- Determinar la relación entre las tasas de producción bacteriana y la liberación de NOD. **Hipótesis 3, Capítulo 5.**

Además, se abordaron los siguientes objetivos adicionales:

- Determinar la relación entre la regeneración de nitrógeno inorgánico y la liberación de NOD. **Capítulo 3.**
- Determinar la liberación de NOD a partir de diferentes fuentes de nitrógeno. **Capítulos 3 y 4.**
- Determinar la relación entre la absorción de nitrógeno y la liberación de NOD. **Capítulo 5.**

CAPÍTULO 2

MATERIAL Y MÉTODOS

A continuación se describen brevemente el área de estudio considerada, las campañas oceanográficas realizadas, el muestreo y las variables analizadas. También se describe con cierto detalle el procedimiento experimental y analítico empleado en la medida de la absorción de nitrógeno y liberación de NOD, parte central de esta memoria. Los métodos específicos usados en cada campaña se detallan en los capítulos 3, 4 y 5.

2.1. ÁREAS DE ESTUDIO.

Con el fin de cubrir un amplio rango de ecosistemas, se realizaron experimentos para determinar las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD por la comunidad microbiana en 83 estaciones localizadas en el Océano Atlántico.

El muestreo se llevo a cabo durante 8 campañas oceanográficas realizadas entre abril 1997 y octubre de 2000. La denominación, fecha y región de muestreo de cada campaña, numero de estaciones en las que se realizaron experimentos, así como el buque oceanográfico en que se desarrolló cada una de ellas, se indican en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Características de las campañas oceanográficas en las que se realizó el muestreo.

Campaña	Buque Oceanográfico	Fecha de muestreo	Región de muestreo	n
INCOCEANO-0497	<i>Cornide de Saavedra</i>	25 Abr-04 May 97	NO Península Ibérica	7
OMEX-0898	<i>Professor Shtokman</i>	1-11 Agosto 98	NO Península Ibérica	7
GIGОВI-1098	<i>Professor Shtokman</i>	12 - 31 Agosto 98	SO Golfo de Vizcaya	10
INCOCEANO-0998	<i>Cornide de Saavedra</i>	1-15 Sept 98	NO Península Ibérica	11
RADIALCORUÑA	<i>Lura</i>	Oct 98- Nov 99	NO Península Ibérica	12
OMEX-1099	<i>Thalassa</i>	14-20 Oct 99	NO Península Ibérica	5
GIGОВI-1099	<i>Thalassa</i>	20 Oct- 8 Nov 99	NO Península Ibérica	7
AMT-11	<i>James Clark Ross</i>	9 Sept-11 Oct 00	Océano Atlántico (49° N – 35° S)	24

n : número de estaciones

La zona de transición costa-océano del NO de la Península Ibérica fue objeto de estudio durante 5 campañas oceanográficas (Figura 2.1). Las campañas INCOCEANO-0497 e INCOCEANO-0998, llevadas a cabo a bordo del B/O *Cornide de Saavedra* formaron parte del proyecto “Estudio de los procesos de intercambio entre la plataforma y la Rías Baixas gallegas: variabilidad temporal de corto término” financiado por el

Programa Nacional de Investigación en Ciencias y Tecnologías Marinas (CYTMAR). Las campañas OMEX-0898 y OMEX-1099 se realizaron a bordo del B/O *Professor Shtokman* y del B/O *Thalassa*, respectivamente, como parte del proyecto OMEX (“Ocean Margin Exchange-II- Phase II”), financiado por la Unión Europea. Finalmente, dentro del Proyecto “Obtención de una serie histórica de datos oceanográficos”, financiado por el Instituto Español de Oceanografía, se incluyeron los resultados de varios experimentos correspondientes al muestreo mensual durante un ciclo anual de una estación fija cerca de A Coruña, llevado a cabo a bordo del B/O *Lura*.

En océano abierto se llevaron a cabo investigaciones en dos tipos de campañas. Por un lado, en el Golfo de Vizcaya, se llevaron a cabo 2 campañas oceanográficas, GIGОВI-0898 y GIGОВI-1099 (Figura 2.1), realizadas a bordo del B/O *Professor Shtokman* y del B/O *Thalassa*, respectivamente. Estas campañas formaron parte del proyecto de investigación “Organización trófica y flujo de materiales en giros anticiclónicos (SWODDIES) en el Golfo de Vizcaya”, financiado por el Programa CYTMAR.

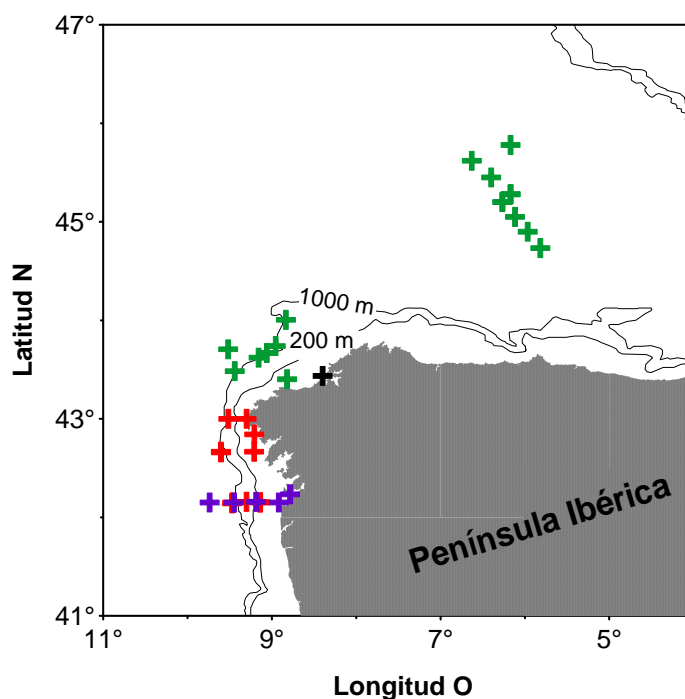


Figura 2.1. Estaciones de muestreo en el NO de la Península Ibérica durante las campañas INCOCEANO (color azul), OMEX (color rojo), GIGОВI (color verde) y los muestreos mensuales RADIALCORUÑA (color negro).

Por otro lado, como parte de un programa de muestreo del Océano Atlántico de gran cobertura espacial (ver Aiken et al. 2000, <http://www.pml.ac.uk/amt/idex.html>), y dentro del proyecto “Circulación de carbono y nitrógeno en el océano Atlántico

(CIRCANA)” se realizó la campaña oceanográfica Atlantic Meridional Transect-11 (AMT-11, Figura 2.2) a bordo del B/O *James Clark Ross*. El transecto latitudinal cubrió 6 provincias biogeográficas (Longhurst 1998), incluyendo 2 zonas templadas (NADR [North Atlantic Drift Province] y BRAZ [Brazil Current Coastal Province]), 2 giros oligotróficos (NAST [North Atlantic Subtropical Gyral Province] y SATL [South Atlantic Gyral Province]) y 2 sistemas de afloramiento (CNRY [Eastern Canary Coastal Province] y ETRA [Eastern Tropical Atlantic Province]).

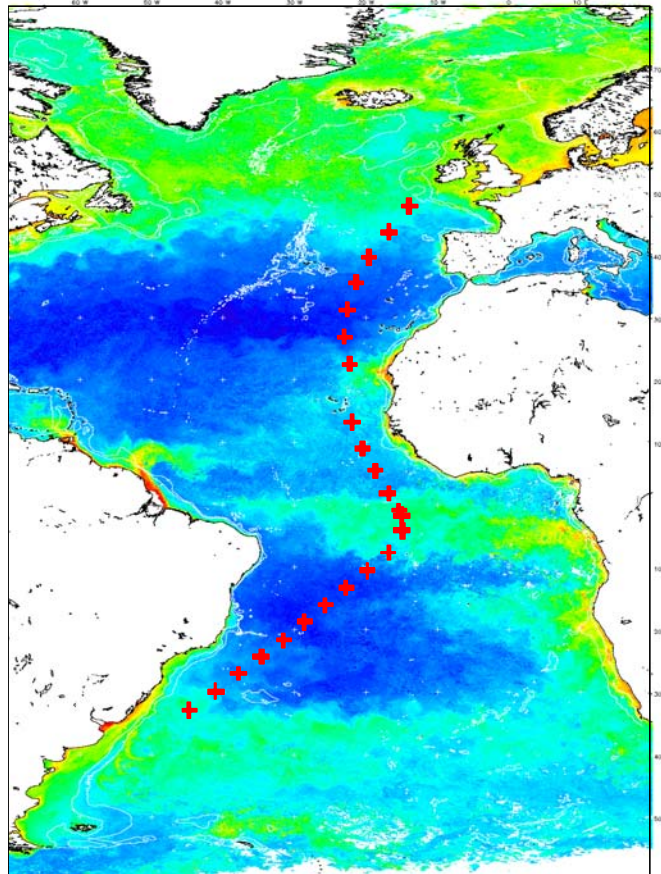


Figura 2.2. Transecto latitudinal en el océano Atlántico sobre un mapa de concentración superficial de clorofila *a* obtenido a partir de datos de color del mar, derivados de imágenes de satélite obtenidas con el sensor SeaWiFS y promediado para los meses de septiembre y octubre de 2000. Los tonos azules y púrpura representan regiones con baja concentración de clorofila *a*, mientras que los tonos amarillos y naranjas representan zonas con valores altos de clorofila *a*. Las estaciones visitadas durante la campaña AMT-11 aparecen representadas en color rojo sobre el mapa.

2.2. MUESTREO.

En cada estación se realizaron perfiles verticales de temperatura, salinidad y fluorescencia hasta, al menos, 200 m de profundidad. Para ello se utilizó una sonda

CTD acoplada a una roseta de muestreo equipada con botellas oceanográficas tipo Niskin, exceptuando los muestreos RADIALCORUÑA, donde en primer lugar se realizaron sondeos verticales con un CTD y, posteriormente se recogían muestras de agua mediante series de botellas oceanográficas tipo Niskin. El sensor de conductividad de cada una de las sondas fue calibrado utilizando determinaciones de salinidad con un salinómetro Autosal llevadas a cabo sobre una serie de muestras tomadas a diferentes profundidades.

Adicionalmente, se realizaron perfiles de irradiancia con el fin de poder llevar a cabo los experimentos en aquellas profundidades ópticas comprendidas entre el 100 y el 1% del nivel de irradiancia medida en superficie. A partir de los perfiles de irradiancia y fluorescencia se seleccionaban entre 3 y 7 profundidades y se tomaban muestras de agua para la determinación de las variables que se indican a continuación (ver Tabla 2.2):

- a) concentración de clorofila *a* (Cla)
- b) concentración de cla fraccionada por clases de tamaño $<2 \mu\text{m}$ y $>2 \mu\text{m}$ (Cla $<2 \mu\text{m}$ y Cla $>2 \mu\text{m}$)
- c) concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID): NH_4^+ ó $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$
- d) concentración de urea
- e) concentración de nitrógeno orgánico particulado (NOP)
- f) concentración de nitrógeno orgánico disuelto (NOD)
- g) tasas de producción primaria (PP)
- h) tasas de producción primaria fraccionada por clases de tamaño $<2 \mu\text{m}$ y $>2 \mu\text{m}$ (PP $<2 \mu\text{m}$ y PP $>2 \mu\text{m}$)
- i) tasas de producción de carbono orgánico disuelto (pDOC)
- j) tasas de regeneración de amonio ($r\text{NH}_4^+$)
- k) tasas de absorción de compuestos nitrogenados (ρNH_4^+ , ρNO_3^- , ρUrea)
- l) tasas de liberación de nitrógeno orgánico disuelto ($r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$, $r\text{NOD}^{\text{NO}_3^-}$, $r\text{NOD}^{\text{Urea}}$)
- m) abundancia y composición taxonómica de especies de fitoplancton
- n) biomasa bacteriana (BB)
- o) producción bacteriana (PB)

Tabla 2.2. Conjunto total de variables que se midieron durante esta investigación.

Variable	Símbolo	Campaña	Unidades
concentración de clorofila <i>a</i>	Cl _a	todas	mg m ⁻³
concentración de clorofila <i>a</i> fraccionada por clases de tamaño	%Cl _a <2 μm, %Cl _a >2 μm	OMEX, AMT-11	%
concentración de nitrógeno inorgánico disuelto	NID (NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻)	todas	mmol m ⁻³
concentración de urea	urea	AMT-11	mmol m ⁻³
concentración de nitrógeno orgánico particulado	NOP	todas	mmol m ⁻³
concentración de nitrógeno orgánico disuelto	NOD	todas	mmol m ⁻³
tasas de producción primaria	PP	OMEX, AMT-11	mg C m ⁻³ h ⁻¹
tasas de producción primaria fraccionada por clases de tamaño	%PP<2 μm, %PP>2 μm	OMEX, AMT-11	%
tasas de producción de carbono orgánico disuelto	pCOD	OMEX	mg C m ⁻³ h ⁻¹
tasas de regeneración de amonio	rNH ₄ ⁺	INCOCEANO, OMEX	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de absorción de amonio	ρNH ₄ ⁺	todas	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de absorción de nitrato	ρNO ₃ ⁻	AMT-11	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de absorción de urea	ρUrea	AMT-11	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de liberación de NOD a partir de amonio	rNOD ^{NH4+}	todas	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de liberación de NOD a partir de nitrato	rNOD ^{NO3-}	AMT-11	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
tasas de liberación de NOD a partir de urea	rNOD ^{Urea}	AMT-11	nmol N l ⁻¹ h ⁻¹
biomasa bacteriana	BB	todas excepto INCOCEANO	mg C m ⁻³
producción bacteriana	PB	todas excepto INCOCEANO	mg C m ⁻³ h ⁻¹

Los detalles metodológicos específicos de cada una de las variables se describen en los respectivos apartados metodológicos de los capítulos 3, 4 y 5 de esta memoria.

2.3. TASA DE ABSORCIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS Y LIBERACIÓN DE NOD.

La determinación de las tasas absorción de NID ó urea (NXX) y la liberación de NOD se realizó de acuerdo con las técnicas descritas por Slawyk y Raimbault (1995) y Slawyk et al. (1998). El método se basa en la trazabilidad de los flujos de nitrógeno entre las fases particulada y disuelta teniendo en cuenta su paso a través de las células del plancton. Experimentalmente se realizan incubaciones de plancton a las que se inocula ^{15}NXX (0.1 μM). Parte del ^{15}N incorporado por el plancton es liberado en forma de NOD (Fig. 2.3) durante la incubación, por lo que la medida del enriquecimiento en ^{15}N en los compartimentos de NOP y NOD proporciona una estimación de las tasas de absorción del compuesto marcado (NO_3^- , NH_4^+ ó urea) y, simultáneamente, de la liberación de NOD a partir de ese compuesto. Esta liberación de NOD se denomina en la literatura como “liberación de NOD al compartimento extracelular” (“release to the extracellular pool”, Bronk y Ward 2000) o como “pérdida de ^{15}N desde el NID” (“dissolved inorganic ^{15}N loss”, Slawyk et al. 1998, 2000).



Figura 2.3. Destinos del ^{15}N en muestras de agua de mar inoculadas con amonio, nitrato y urea marcados con el isótopo ^{15}N (^{15}NXX).

El esquema del protocolo analítico seguido se muestra en la Fig. 2.4. Después del período de incubación (2-3 h), las muestras se filtraban a través de filtros de fibra de vidrio tipo GF/F y se medía el ^{15}N retenido en cada filtro con el fin de determinar la incorporación de nitrógeno. Del filtrado de cada una de las muestras incubadas se recogía una muestra de 20 ml para la determinación de las tasas de liberación de NOD. El procedimiento analítico para la determinación de la concentración y del enriquecimiento en ^{15}N de los compartimentos NID y NOD consta de 3 pasos: (1) la reducción de NID hasta NH_4^+ y posterior difusión del NH_4^+ en un medio alcalino con óxido de magnesio (MgO) y aleación de Devarda (DA), (2) oxidación del NOD hasta NO_3^- con persulfato potásico ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) en autoclave durante 30 minutos y (3) la recuperación del NO_3^- como $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, añadiendo de nuevo DA y MgO . El amonio en difusión es adsorbido por un trozo de filtro de fibra de vidrio embebido en H_2SO_4 . La abundancia de ^{15}N ($\% ^{15}\text{NXX}$ y $\% ^{15}\text{NOD}$) se midió en un espectrómetro de masas (isotope ratio mass spectrometer) y las concentraciones de las diferentes formas nitrogenadas se determinaron por análisis químico (colorimetría).

En el caso de los experimentos con urea, al no poder eliminar la urea marcada y no utilizada al final de la incubación en el paso 1, se calculó su contribución al NOD total al final de la incubación a partir de la dilución isotópica de la urea marcada y no utilizada al final de la incubación (ver detalle del procedimiento de cálculo en el Capítulo 4).

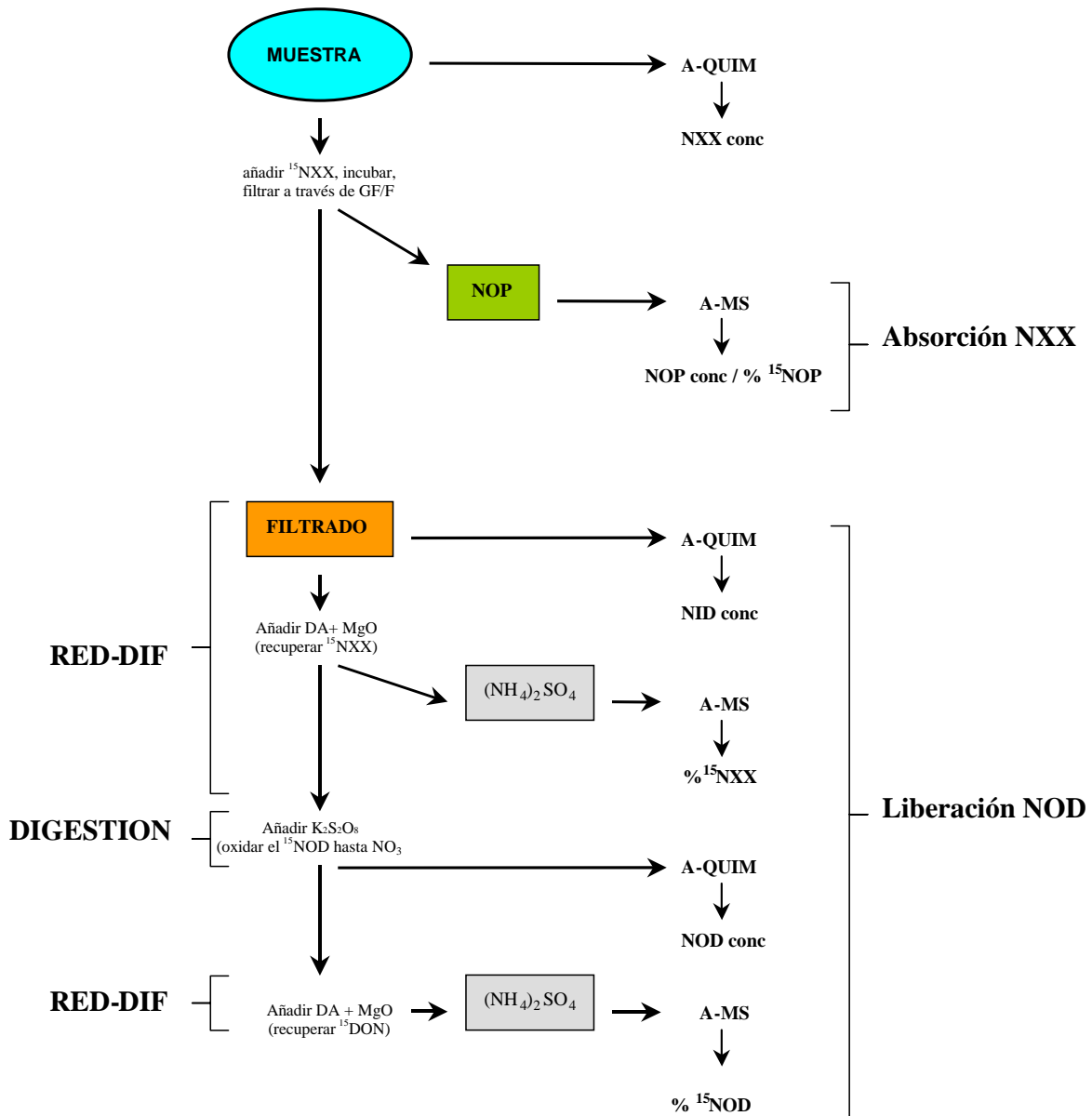


Figura 2.4. Esquema del protocolo seguido para la medida de las tasas de incorporación de N y liberación de NOD por la comunidad microbiana. Ver explicación en el texto (sección 2.3). RED-DIF: reducción y difusión, A-QUIM: análisis químico (colorimétrico), A-MS: análisis mediante espectrómetro de masas. DA: aleación de Devarda.

2.4. VALORES INTEGRADOS PARA LA CAPA EUFÓTICA.

Los valores integrados para la capa eufótica de las variables indicadas en la sección 2.2 se obtuvieron mediante integración trapezoidal de los datos volumétricos hasta la profundidad donde llega un 1% de la radiación fotosintéticamente activa incidente en superficie.

CAPÍTULO 3

*REGENERACIÓN DE AMONIO Y NITRÓGENO
ORGÁNICO DISUELTO (NOD) POR EL
MICROPLANCTON EN EL NOROESTE DE LA
PENÍNSULA IBÉRICA: RELACIÓN CON LA
ESTRUCTURA DEL TAMAÑO Y LA PRODUCCIÓN DE
FITOPLANCTON*

La investigación expuesta en este capítulo se recoge en la publicación:

Marta M. Varela, Susana Barquero, Antonio Bode, Emilio Fernández, Nicolás González, Eva Teira y Manuel Varela (2003). Microplanktonic regeneration of ammonium and dissolved organic nitrogen in the upwelling area of the NW of Spain: relationships with dissolved organic carbon and phytoplankton size structure. *Journal of Plankton Research* 25: 719-736.

RESUMEN: En la presente investigación se estudió la regeneración de amonio y nitrógeno orgánico disuelto (NOD) en la zona de transición costa-océano del NO de la Península Ibérica, con relación a los episodios de afloramiento costero y la estructura de tamaños del fitoplancton. Para ello se realizaron incubaciones de plancton con una solución de ^{15}N -amonio durante cuatro campañas, dos de las cuales incluyeron determinaciones de clorofila *a* y producción primaria fraccionada por clases de tamaño, así como medidas de las tasas de producción de carbono orgánico disuelto (COD). Las concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) encontradas se deben principalmente al enriquecimiento en nitrato, consecuencia de pulsos de afloramiento, mientras que las concentraciones de amonio fueron generalmente bajas durante todas las campañas. El amonio apenas se acumuló en el área de estudio, lo que sugiere un acoplamiento a escala diaria entre las tasas de regeneración y las tasas de absorción. Por el contrario, las concentraciones de NOD excedieron en gran medida a las de NID durante todo el estudio, y generalmente aumentaron entre la primavera y el otoño. Las tasas de regeneración de amonio estaban positivamente correlacionadas con las de liberación de NOD, y ambas mostraron un amplio rango de variación durante el verano, con los valores más bajos medidos durante condiciones de afloramiento y los más elevados durante la fase de relajación del afloramiento. La comparación entre las concentraciones y las tasas de liberación de NOD en las diferentes zonas de la plataforma sugiere que el NOD liberado durante el verano fue más persistente en las zonas costeras que en las oceánicas. La relación C:N de las tasas de producción de COD y NOD fue muy variable, encontrándose en todas las campañas un exceso de COD sobre NOD. Este exceso podría ser atribuido a una subestimación de la liberación de NOD (debido a que este estudio sólo considera la liberación de NOD a partir de amonio) o bien a una producción masiva de carbohidratos por las diatomeas en las zonas costeras. Considerando un amplio rango de situaciones tróficas, este estudio revela una diferencia fundamental entre la producción de COD y NOD a corta escala. Los procesos fisiológicos (ej. exudación de carbohidratos por las diatomeas) parecen ser la causa del exceso de COD, mientras que los procesos tróficos (ej. la alimentación ineficiente del microzooplancton) serían los principales responsables de la liberación de NOD.

3.1. INTRODUCCIÓN.

Los ecosistemas pelágicos tienden hacia un balance dinámico entre los procesos de producción y pérdida de materia orgánica, que es controlado en gran parte por el fitoplancton. Como consecuencia, la hipótesis de limitación por nutrientes ha llevado a considerar también el papel de los procesos tróficos (DeBaar 1994, Glibert 1998). Por ejemplo, los intercambios entre las formas inorgánicas y orgánicas de nitrógeno entre el plancton y el océano ilustran el acoplamiento entre los procesos de consumo y regeneración, así como el papel del medio frente a los mecanismos tróficos implicados en la producción biológica (Glibert 1998). Las proporciones relativas entre las distintas formas de nitrógeno disuelto (ej. inorgánico/orgánico, nitrato/amonio) determinan las tasas de absorción de amonio y la composición del fitoplancton y las bacterias. Así, en áreas o períodos con alta tasa de entrada de nitrógeno 'nuevo' (Dugdale y Goering 1967) hacia la zona iluminada (como las zonas de afloramiento) la producción tiende a ser controlada por mecanismos físicos (ej. la advección generada por el viento). La entrada de nitrógeno 'nuevo' altera la relación entre las formas nitrogenadas disueltas orgánicas e inorgánicas, afectando a su disponibilidad relativa, a las tasas de absorción de nitrógeno por el fitoplancton y las bacterias, y a la relación entre el carbono orgánico disuelto (COD) y el nitrógeno orgánico disuelto (NOD), así como a aquellos procesos que dependen de la disponibilidad de estos sustratos (Glibert 1998). Por otro lado, en áreas o períodos donde la entrada de nitrógeno 'nuevo' es baja, la actividad herbívora del zooplancton (ej. copépodos) o microzooplancton (ej. protozoos) juega un doble papel en el control de la producción primaria. Por un lado, reducen la biomasa de fitoplancton por consumo directo de células. Por otro, aumentan la absorción de nutrientes a través de la regeneración de formas nitrogenadas disueltas (Gaul et al. 1999). Además, el zooplancton de tamaño relativamente grande se alimenta de protozoos, que son los mayores regeneradores de nitrógeno (Caron y Goldman 1990).

Se dispone de evidencias que indican que las formas nitrogenadas, tanto inorgánicas como orgánicas, determinan el tipo de interacciones tróficas así como la composición específica y la estructura de tamaños de las comunidades de fitoplancton. La estructura de tamaños del fitoplancton es el principal mecanismo que controla la organización trófica de las comunidades planctónicas y, en consecuencia, las tasas de regeneración de la materia orgánica. En condiciones productivas, como en las épocas de afloramiento, se establecerá la red trófica herbívora, y la materia orgánica producida por fotosíntesis fluirá principalmente a través del mesozooplancton, siendo finalmente transferida a los niveles tróficos superiores o exportada hacia la capa superficial del océano (Tremblay y Legendre 1994). Por el contrario, la cadena trófica microbiana predominará en los sistemas oligotróficos, donde una fracción significativa de la materia orgánica es reciclada *in situ*, reduciéndose la cantidad exportada. De acuerdo con la disponibilidad de nitrógeno y carbono y la estructura de tamaños del fitoplancton, cada sistema trófico puede ser colocado en una determinada posición entre los tipos tróficos extremos: el microbiano y el herbívoro (Legendre y Rassoulzadegan 1995).

El amonio puede ser rápidamente intercambiado entre el compartimento de la materia orgánica y el medio, y la absorción de amonio se considera una medida del reciclaje de los nutrientes en la zona eufótica (Kiefer y Atkinson, 1984). Se ha observado que tanto el fitoplancton (Dortch 1990) como las bacterias (Kirchman 1994, Kirchman y Wheeler 1998) tienen preferencia por amonio sobre otras fuentes nitrogenadas. Además, varias investigaciones han determinado altas tasas de regeneración de amonio asociadas con altas tasas de absorción (Glibert 1993, Bronk y Ward 1999). Sin embargo, las medidas de regeneración de amonio mediante el uso de técnicas isotópicas (Glibert et al. 1982a, b) mostraron una aparente pérdida de amonio marcado que no se recuperaba ni como nitrógeno particulado ni como amonio excretado. En este sentido, Bronk y Glibert (1993) encontraron cantidades significativas de nitrógeno que se liberaban como NOD a la misma escala de tiempo a que se medía la absorción de nitrógeno (Bronk y Glibert 1993). Más recientemente, varios experimentos mostraron que la liberación de NOD era un porcentaje variable de las tasas de absorción de nitrógeno (Bronk y Glibert 1994, Bronk et al. 1994, 1998, Slawyk et al. 1998, Bronk y Ward 1999), y actualmente existe una gran controversia sobre la importancia real del NOD en los procesos de regeneración (Bronk y Ward 2000, Slawyk et al. 2000). Por otra parte, investigaciones recientes han mostrado que un exceso de COD relativo a NOD en diferentes sistemas que puede ser explicado por una limitación por nitrógeno (Williams 1995, Doval et al. 1997, 1999, Álvarez-Salgado et al. 1999). Las tasas de producción de COD han sido medidas durante casi cuatro décadas (ver una revisión en Fogg 1983) y las investigaciones recientes han aumentado la importancia atribuida a este proceso para los ecosistemas pelágicos (Kiørboe 1993, Teira et al. 2001b). Por el contrario, el número de trabajos en torno a la liberación de NOD es aún escaso (Bronk y Glibert 1994, Slawyk et al. 1998) y, hasta nuestro conocimiento, no hay ningún estudio que incluya medidas simultáneas de las tasas de liberación de COD y NOD por el microplancton.

El régimen hidrográfico de la zona de transición costa-océano del NO de la Península Ibérica se caracteriza por la entrada de nutrientes hacia la capa eufótica, causada por el predominio de los vientos del norte durante la estación de afloramiento y la exportación de nutrientes desde la costa hacia zonas de plataforma y oceánicas (Fraga 1981, Prego 1993, Álvarez-Salgado et al. 1999). En consecuencia, algunos trabajos han mostrado cambios en la producción y estructura de tamaños del fitoplancton, relacionados con un predominio de células grandes durante los episodios de afloramiento en las rías (Figueiras y Pazos 1991, Figueiras y Ríos 1993, Tilstone et al. 1999) y en zonas de plataforma (Bode et al. 1994). Además, estudios previos en este área indican que durante las últimas fases del afloramiento se produce una remineralización significativa de la materia orgánica previamente producida (Álvarez-Salgado et al. 1993, Pérez et al. 1993, Castro et al. 1994).

La presente investigación tiene como objetivo determinar la relación entre la regeneración de nitrógeno, la estructura de tamaños de fitoplancton y las tasas de producción de materia orgánica disuelta. Para ello se realizaron medidas de las tasas de

liberación de amonio y NOD, así como medidas de producción primaria y producción de COD, en la zona de transición costa-océano del NO de la Península Ibérica. Este estudio complementa la investigación llevada a cabo por Teira et al. (2001), cuyo objetivo principal era el estudio de las relaciones entre la estructura de tamaños y la producción de COD en esta región.

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.2.1. Muestreo.

El muestreo se realizó durante 4 campañas oceanográficas: INCOCEANO-0497 (abril 1997), OMEX-0898 (agosto 1998), INCOCEANO-0998 (septiembre 1998) y OMEX-1099 (octubre 1999) en la zona de afloramiento del NO de la Península Ibérica. En todas las campañas se tomaron muestras en estaciones localizadas a lo largo de un transecto perpendicular a la costa, cerca de la Ría de Vigo (Figura 3.1). Este transecto se muestreó periódicamente cada 2-3 días durante las campañas INCOCEANO. Adicionalmente, en las campañas OMEX se tomaron muestras en estaciones situadas a lo largo de otros dos transectos perpendiculares a la costa y localizados al norte de la Ría de Vigo. Las estaciones se clasificaron en 4 grupos según su batimetría: estaciones costeras (< 100 m de profundidad), estaciones de plataforma (100-200 m de profundidad), estaciones de talud (200-1000 m) y estaciones oceánicas (> 1000 m).

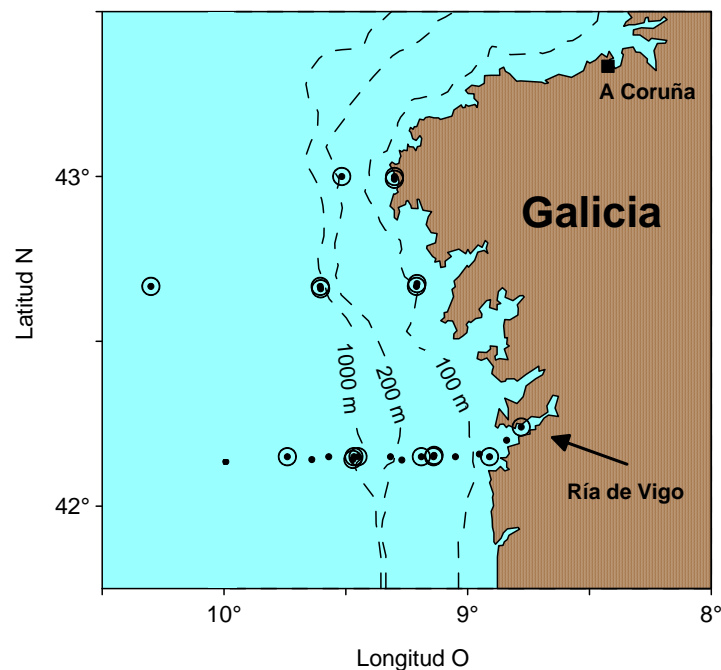


Figura 3.1. Estaciones de muestreo en el NO de la Península Ibérica. Los círculos indican las estaciones donde se llevaron a cabo medidas de producción primaria fraccionada por clases de tamaño y producción de materia orgánica disuelta. En el resto de las estaciones se realizaron perfiles verticales de temperatura, salinidad y fluorescencia.

Se realizaron perfiles verticales de temperatura, salinidad y fluorescencia, utilizando una sonda CTD Seabird SBE-25 (campaña INCOCEANO-0497) y series de botellas oceanográficas tipo Niskin, o una sonda Neil Brown Mark III (campañas INCOCEANO-0998 y OMEX) acoplada a una roseta de muestreo equipada con 24 botellas oceanográficas tipo Niskin. Adicionalmente, se obtuvieron perfiles de irradiancia con un sensor Licor acoplado a una sonda CTD Seabird SBE-25. Las muestras de agua se tomaron de 5 profundidades ópticas comprendidas entre el 100 y el 1% de la irradiancia medida en superficie. En las campañas INCOCEANO la concentración de clorofila *a* (C_{la}) se analizó mediante técnicas fluorimétricas (Parsons et al. 1984), filtrando entre 150 y 250 ml de agua de mar a través de filtros de fibra de vidrio (Millipore APFF o Whatman GF/F). A continuación los filtros se introducían en 5 ml de acetona y se mantenían en oscuridad a 5 °C durante 24 h. En el caso de las campañas OMEX la concentración de C_{la} se fraccionó por clases de tamaño, filtrando 250 ml de agua de mar secuencialmente a través de filtros de policarbonato de 2 µm y filtros de fibra de vidrio GF/F (Millipore APFF). Los filtros eran congelados inmediatamente a -20 °C. La fluorescencia se medía utilizando un espectrofluorímetro Safas flx (campañas OMEX) o un fluorómetro Turner Desings 10-AU previamente calibrados utilizando patrones de C_{la} comerciales.

Las muestras para el análisis de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) se recogían en viales de polipropileno y se mantenían congeladas hasta su posterior análisis en el laboratorio con un autoanalizador (Grasshoff et al. 1983). La composición y abundancia de las especies de fitoplancton se determinó en muestras fijadas con solución de Lugol utilizando un microscopio invertido.

3.2.2. Regeneración de amonio y liberación de NOD.

En cada estación se llenaban una serie de botellas de policarbonato con 250 ml de agua de mar procedente de tres profundidades correspondientes a los porcentajes de irradiancia superficial equivalentes al 100, 7-14 y 1-3%. En algunas campañas las muestras se prefiltraron a través de una malla de 200 µm. Cada una de las muestras se inoculaba con 0.1 µM de amonio ($(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) y se incubaba durante 2 h en incubadores de cubierta (refrigerados mediante el bombeo de agua de mar superficial) que simulaban la irradiancia correspondiente a las profundidades de origen, para la determinación simultánea de las tasas de regeneración de amonio ($r\text{NH}_4^+$) y liberación de NOD ($r\text{NOD}$) por dilución isotópica (Slawyk y Raimbault 1995, Slawyk et al. 1998). Finalizado el período de incubación, el contenido de cada botella se filtraba a través de filtros tipo GF/F. A continuación, se recogían 100 ml del filtrado, preservándolo con HgCl₂ 10% hasta la posterior determinación tanto de la concentración como del enriquecimiento en ¹⁵N del pool de NID y NOD. La concentración y la abundancia de ¹⁵N del NOP se determinaron en los filtros GF/F que retenían la fracción particulada. Además, el contenido de una de las botellas (inicial) se filtraba inmediatamente, sin periodo de incubación, a través de filtros GF/F para obtener la concentración y el enriquecimiento inicial de ¹⁵N de las fracciones particulada y disuelta.

La determinación de la concentración de NID (amonio, nitrato y nitrito) se llevó a cabo utilizando un autoanalizador (Grassoff et al. 1983). El porcentaje de variación media (\pm desviación típica, DT) de la concentración de NID fue 9.9 % (\pm 1.6 %, n = 60). La determinación del NOD se llevó a cabo por el método de oxidación con persulfato (Slawyk y Raimbault 1995, Slawyk et al. 1998). La variación media de la concentración de NOD fue 10.9 % (\pm 1.3%, n =28). Las determinaciones de la concentración de nitrógeno y del enriquecimiento en ^{15}N de las fracciones orgánicas disuelta y particulada se llevaron a cabo mediante espectrometría de masas en un analizador de isótopos estables de nitrógeno (INTEGRA-N, Europa Scientific). Previamente al análisis, los filtros que contenían el material particulado se secaban a 50 °C, mientras que el NOD y el NID se convertían en amonio, que era absorbido en filtros de fibra de vidrio tipo GF/F. La variación media del contenido en ^{15}N fue 5.8% (\pm 0.6% , n =24) y 4.4% (\pm 0.8%, n =41) para NID y NOP, respectivamente, mientras que la variación media de la concentración de NOP fue 10.9% (\pm 1.1%, n =24). La regeneración de amonio se calculó de acuerdo con el modelo de Glibert et al. (1982b). Cabe destacar que el rNOD de este estudio es equivalente al “DIN loss as DON” estimado por Slawyk et al. (1998, 2000) y al “DON release to the extracellular pool” de Bronk y Ward (1999, 2000). Las tasas de rNOD se estimaron a partir del ^{15}NOD que aparecía en las botellas al final del período de incubación, sin tener en cuenta el NOD dentro de los organismos planctónicos (Slawyk et al. 2000). Además, conviene tener presente que en este estudio se determinó la liberación de NOD a partir de absorción de amonio, y por lo tanto, nuestros resultados pueden considerarse estimaciones mínimas de la cantidad total de NOD liberado, ya que también se libera NOD a partir de la absorción de otras fuentes nitrogenadas (ej. nitrato, urea).

3.2.3. Tasas de producción primaria fraccionada por clases de tamaño y producción de COD.

La producción primaria (PP) y las tasas de producción de COP (pCOP) se determinaron solamente en las campañas OMEX (agosto y octubre), de acuerdo con el método descrito en Teira et al. (2001a). En cada estación se llenaban 4 botellas (3 transparente y 1 opaca) de polipropileno, previamente lavadas con HCl, con 75 ml de agua de mar procedente de 5 profundidades correspondientes a los porcentajes de irradiancia superficial comprendidos entre 1 y 100%. Cada botella se inoculaba con una solución de 370 kBq (10 μCi) de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ y a continuación se incubaba durante 6 horas en los mismos incubadores utilizados para la estimación de las tasas de nitrógeno. Una vez finalizado el período de incubación, el contenido de cada botella se filtraba a través de filtros de membrana de 2 μm y filtros de fibra de vidrio Millipore APFF. Los filtros se exponían a vapores de HCl concentrado durante 12 h con el fin de eliminar el $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ adsorbido en el filtro. Una vez descontaminados, se añadía el líquido de centelleo y la radioactividad retenida en cada filtro se medía utilizando un contador de centelleo líquido (LKB Wallac).

Las tasas de producción de COD se determinaron en muestras de agua de mar de 30 ml, procedentes de cada una de las profundidades seleccionadas, durante incubaciones cortas (2 h) con ^{14}C de acuerdo con la técnica descrita en Mague et al. (1980), con ligeras modificaciones (Teira et al. 2001a). Al final del período de incubación se tomaban 2 submuestras de 7 ml de cada botella y se filtraban a través de filtros de fibra de vidrio Millipore APFF. La eliminación del carbono radioactivo, remanente en el filtrado en forma inorgánica disuelta, se realizó mediante burbujeo del filtrado con aire libre de CO_2 durante 12 h. Una vez descontaminado, se añadía líquido de centelleo y se medía la radioactividad utilizando un contador de centelleo líquido.

3.3. RESULTADOS.

3.3.1. Condiciones oceanográficas, nutrientes y biomasa y composición de fitoplancton.

Durante la campaña de agosto se detectó un intenso pulso de afloramiento, encontrándose aguas superficiales con temperaturas $<14\text{ }^\circ\text{C}$ cerca de la costa. Las otras campañas fueron realizadas en condiciones de no-afloramiento. La campaña de abril se realizó entre dos pulsos de afloramiento débiles, mientras que la campaña de septiembre fue llevada a cabo durante el período de relajación de un pulso de afloramiento largo e intenso. En contraste, la campaña de octubre coincidió con el desarrollo de una corriente de agua cálida y salina, característica del final del periodo de afloramiento (Teira et al. 2001a).

En abril se distinguió el comienzo de la estratificación térmica en la capa superficial de la columna de agua, pero la presencia de aguas superficiales con temperaturas $<16\text{ }^\circ\text{C}$ y salinidad >35.8 sobre la plataforma sugieren la aparición previa de un afloramiento en esta región (Figura 3.2). En agosto, se observó la respuesta típica de la columna de agua asociada a condiciones de afloramiento. La capa superficial de la columna de agua mostró temperaturas más frías en las estaciones de plataforma que en las estaciones oceánicas, y las isotermas ascendían hacia la costa. Además, un frente termohalino bien definido separaba las aguas de plataforma de las aguas oceánicas. La relajación del afloramiento dio paso a condiciones de no-afloramiento durante la campaña de septiembre: la estructura termohalina se caracterizó por la estratificación y el frente termohalino que separaba las aguas de plataforma de las oceánicas, desapareció. En octubre se observa de nuevo el frente termohalino y una estratificación en las capas subsuperficiales (20-65 m), tanto como consecuencia de la influencia de aguas frías como por la presencia de una corriente superficial de agua relativamente cálida ($>18.5\text{ }^\circ\text{C}$) y salina, típica de la época de transición otoño-invierno en esta región (Frouin 1990, Teira et al. 2001a).

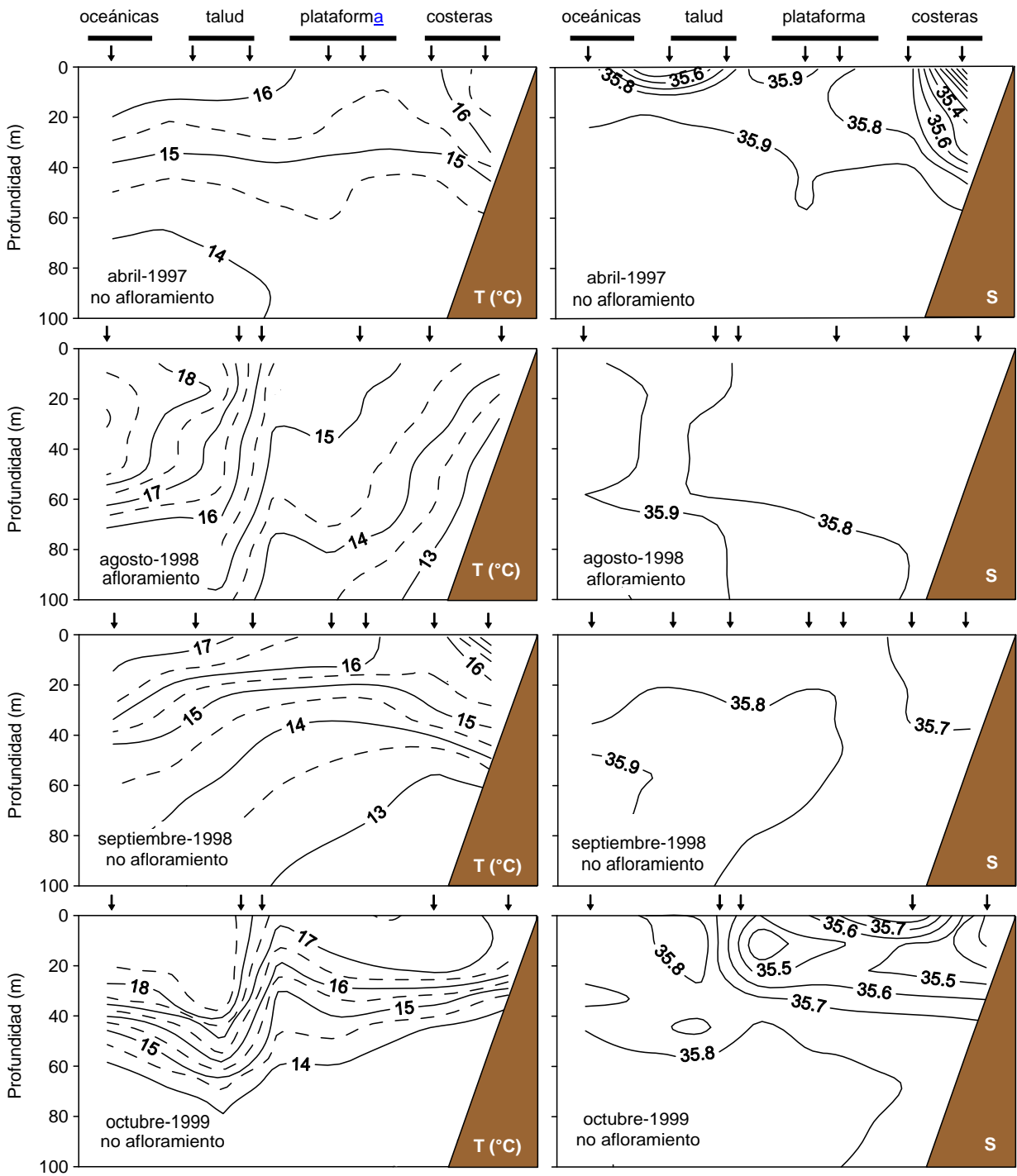


Figura 3.2. Distribución vertical de temperatura (°C) y salinidad a lo largo del transecto perpendicular a la costa cerca de la Ría de Vigo muestreado durante todas las campañas. Las flechas indican las estaciones de CTD que se agruparon en: oceánicas, de talud, de plataforma y costeras.

Las concentraciones de NID integradas para la zona eufótica aumentaron generalmente desde el océano hacia las zonas costeras (Figura 3.3). En la campaña de agosto la concentración de nitrato total (nitrato + nitrito) reflejó el efecto del afloramiento costero, mientras que en septiembre el nitrato total decrecía cerca de la costa pero aumentaba en las zonas de plataforma, como consecuencia de la relajación del afloramiento. Las concentraciones de amonio fueron bajas durante el episodio de afloramiento, pero generalmente aumentaban cerca de la costa durante los períodos de no-afloramiento (como en septiembre). Por su parte, las concentraciones de NOD fueron considerablemente superiores a las de NID durante todas las campañas, y no mostraron ningún patrón de distribución espacial claramente definido. El NOD decrecía desde el océano hacia la costa en la campaña de octubre, mientras que durante las campañas de agosto y octubre mostró poca variación entre las diferentes zonas muestreadas.

La biomasa microplanctónica, indicada por la clorofila y la concentración de NOP (Figura 3.4) mostraron una distribución espacial similar a lo largo de la plataforma durante todas las campañas. Tanto Cla como NOP registraron los valores más bajos en abril, mientras que los valores más altos se encontraron en las estaciones costeras en agosto, durante condiciones de afloramiento, y en septiembre. Por el contrario, Cla fue baja en octubre, mientras que NOP permanecía alto, sugiriendo la presencia de cantidades significativas de materia no fotosintética (ej. organismos heterótrofos y/o detritus).

La composición y abundancia de las especies de fitoplancton (resumida para las campañas de agosto y octubre, Tabla 3.1) mostró la distribución típica descrita para esta región (ej. Casas et al. 1999). Durante condiciones de afloramiento, las especies de diatomeas mostraron los valores más altos (ej. *Nitzschia pungens* excedió, en promedio, 550 cél ml^{-1}), especialmente en las estaciones costeras, mientras que los dinoflagelados, aunque estuvieron siempre presentes, fueron menos abundantes que las diatomeas. Por el contrario, en condiciones de no-afloramiento se encontró una mayor abundancia de dinoflagelados y criptofíceas que de diatomeas. Los flagelados (no determinados en la campaña de agosto) alcanzaron una abundancia media $<77 \text{ cél ml}^{-1}$ en las estaciones costeras en octubre.

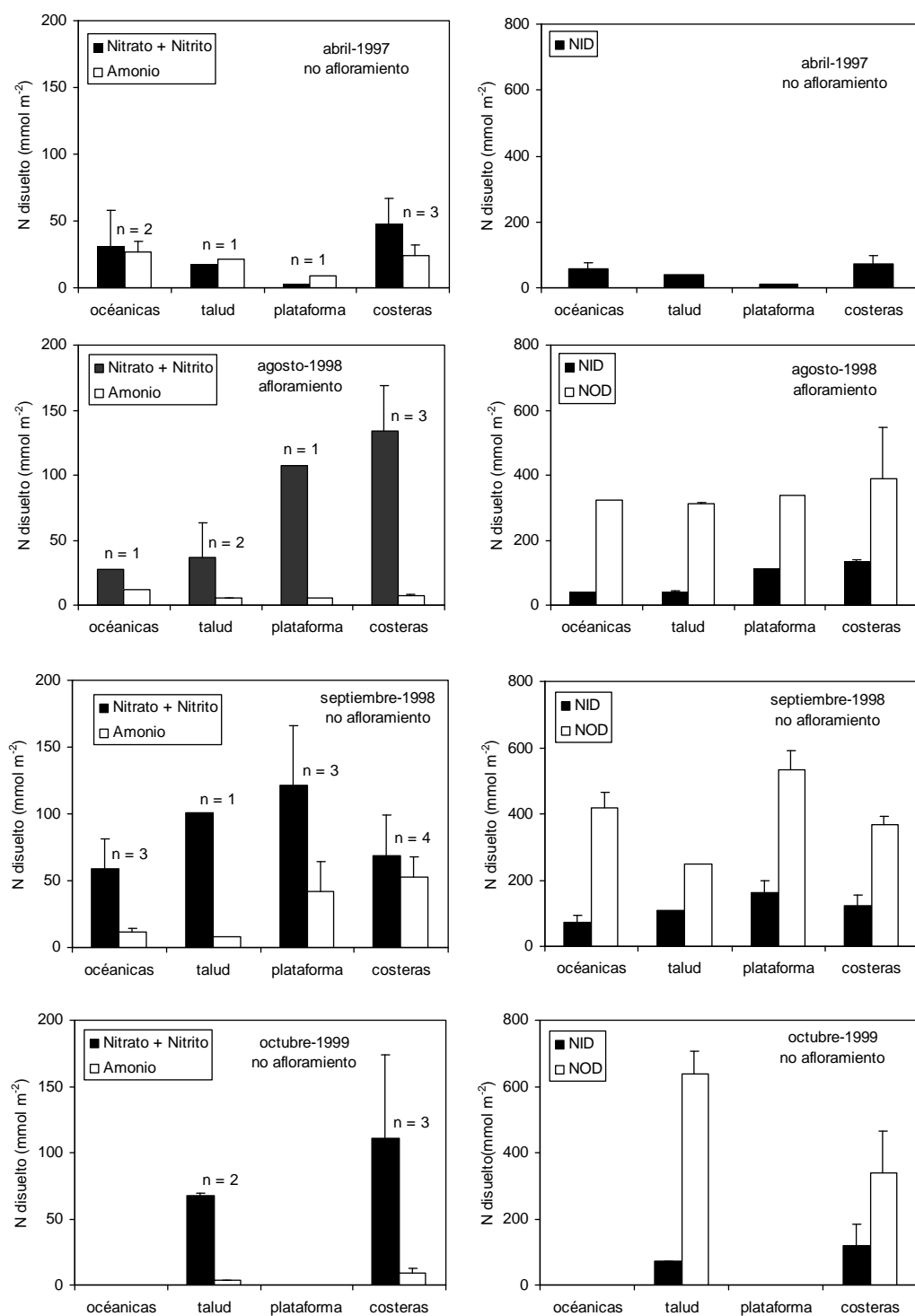


Figura 3.3. Concentraciones medias (\pm EE) de las formas nitrogenadas disueltas orgánicas e inorgánicas integradas en la zona eufótica. Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2). El número de estaciones se indica sobre las barras.

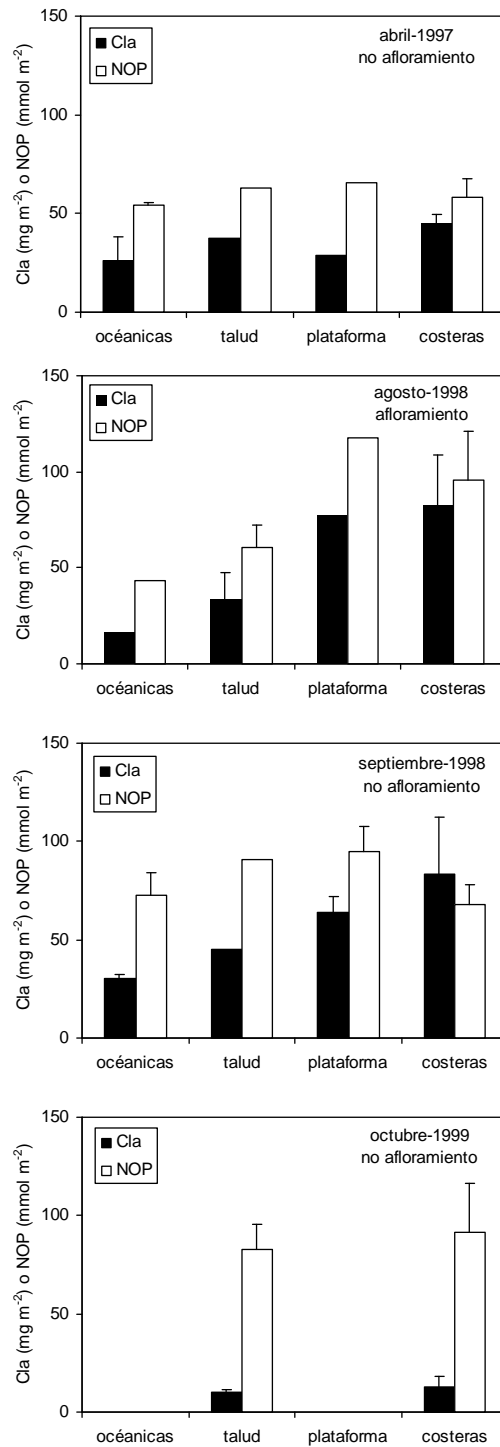


Figura 3.4. Concentraciones medias (\pm EE) de nitrógeno orgánico particulado (NOP) y clorofila *a* (Cla) integradas en la zona eufótica. Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2).

Tabla 3.1. Abundancia media (\pm EE, cél ml⁻¹) para la zona eufótica de las principales especies de fitoplancton para las zonas muestreadas durante condiciones de afloramiento (OMEX-0898) y no afloramiento (OMEX-1099). Las zonas oceánicas y de plataforma no se muestrearon durante la campaña OMEX-1099.

	Oceánicas			Talud			Plataforma			Costeras		
	Media	n	EE	Media	n	EE	Media	n	EE	Media	n	EE
Campaña OMEX-0898 afloramiento												
DINOPHYCEAE												
<i>Ceratium azoricum</i>	0.00	5	0.00	0.00	10	0.00	0.26	5	0.19	0.00	15	0.00
<i>Ceratium lineatum</i>	0.00	5	0.00	0.00	10	0.00	0.20	5	0.20	0.01	15	0.01
Dinoflagelados >30 μ m	0.25	5	0.19	0.51	10	0.14	0.00	5	0.00	1.67	15	0.60
Dinoflagelados <30 μ m	0.00	5	0.00	0.20	10	0.20	0.00	5	0.00	0.33	15	0.33
<i>Gyrodinium glaucum</i>	0.00	5	0.00	0.50	10	0.22	0.00	5	0.00	0.47	15	0.32
<i>Gyrodinium spirale</i>	0.00	5	0.00	0.04	10	0.04	0.00	5	0.00	0.22	15	0.14
<i>Prorocentrum micans</i>	0.10	5	0.10	0.04	10	0.03	0.40	5	0.24	0.16	15	0.09
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	0.00	5	0.00	0.20	10	0.20	0.00	5	0.00	0.00	15	0.00
<i>Torodinium robustum</i>	0.00	5	0.00	0.03	10	0.03	1.00	5	1.00	0.09	15	0.07
DIATOMOPHYCEAE												
<i>Chaetoceros</i> spp.	0.00	5	0.00	0.90	10	0.46	4.40	5	2.25	10.43	15	2.65
<i>Coscinosira polychorda</i>	0.00	5	0.00	0.00	10	0.00	7.40	5	2.99	0.33	15	0.19
<i>Leptocylindrus danicus</i>	0.00	5	0.00	7.70	10	3.62	29.80	5	10.71	30.23	15	8.63
<i>Leptocylindrus minimus</i>	0.20	5	0.20	0.00	10	0.00	18.20	5	6.22	7.53	15	2.27
<i>Nitzschia longissima</i>	0.00	5	0.00	11.14	10	5.01	13.60	5	13.53	2.60	15	0.60
<i>Pseudonitzschia pungens</i>	0.04	5	0.04	122.64	10	64.37	248.80	5	50.77	567.07	15	194.51
<i>Pleurosigma acutum</i>	0.00	5	0.00	6.85	10	3.61	32.80	5	22.34	8.29	15	2.65
<i>Schroederella delicatula</i>	0.00	5	0.00	0.40	10	0.31	0.00	5	0.00	8.13	15	2.75
<i>Thalassiosira gravida</i>	0.00	5	0.00	0.30	10	0.30	5.90	5	2.89	0.60	15	0.31
CHRYSOPHYCEAE												
<i>Solenicola setigera</i>	0.00	5	0.00	1.00	10	0.80	0.00	5	0.00	0.00	15	0.00
<i>Dictyocha fibula</i>	0.20	5	0.09	0.20	10	0.20	0.00	5	0.00	0.00	15	0.00
Campaña OMEX-1099 no afloramiento												
DINOPHYCEAE												
<i>Cachonina hallii</i>	-	-	-	1.33	10	0.76	-	-	-	3.92	15	1.56
Dinoflagelados >30 μ m	-	-	-	1.03	10	0.42	-	-	-	0.76	15	0.12
Dinoflagelados <30 μ m	-	-	-	30.43	10	4.32	-	-	-	50.12	15	10.76
<i>Gyrodinium</i> spp	-	-	-	0.25	10	0.20	-	-	-	0.20	15	0.12
<i>Prorocentrum balticum</i>	-	-	-	0.00	10	0.00	-	-	-	0.37	15	0.21
<i>Torodinium robustum</i>	-	-	-	0.20	10	0.09	-	-	-	0.33	15	0.13
DIATOMOPHYCEAE												
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	-	-	-	1.16	10	0.62	-	-	-	2.01	15	0.96
Diatomeas céntricas <30 μ m	-	-	-	1.18	10	0.65	-	-	-	1.09	15	0.75
<i>Nitzschia</i> spp.	-	-	-	0.14	10	0.14	-	-	-	1.12	15	0.93
Diatomeas pennadas <30 μ m	-	-	-	0.75	10	0.56	-	-	-	0.02	15	0.02
<i>Pseudonitzschia pungens</i>	-	-	-	17.72	10	9.56	-	-	-	15.83	15	9.21
<i>Rhizosolenia imbricata</i>	-	-	-	0.49	10	0.15	-	-	-	0.29	15	0.13
FLAGELADOS												
Mónadas >10 μ m	-	-	-	14.74	10	2.50	-	-	-	76.72	15	34.01
CRYPTOPHYCEAE												
<i>Cryptomonas</i> spp.	-	-	-	14.49	10	4.00	-	-	-	85.21	15	27.49

3.3.2. Regeneración de amonio y liberación de NOD.

Las tasas de regeneración de amonio y rNOD integradas en la capa eufótica de la columna de agua presentaron los valores más bajos durante condiciones de afloramiento (agosto), mientras que los valores más altos ($2916 \mu\text{mol NH}_4^+ \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ y $1296 \mu\text{mol NOD m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) fueron registrados en septiembre (Figura 3.5). Las estaciones oceánicas generalmente mostraron tasas de regeneración de amonio más elevadas que las estaciones costeras (ej. como en las campañas de abril y agosto). Por su parte, las tasas de rNOD en las zonas oceánicas fueron superiores a las de las zonas costeras en alguna de las campañas, sin embargo, en septiembre no se encontró este patrón, siendo las tasas de rNOD similares en zonas costeras y oceánicas. Es importante señalar que las tasas de regeneración de amonio siempre fueron superiores a las tasas de rNOD.

Con el objetivo de estudiar la variabilidad estacional, espacial y en profundidad, se realizó un ANOVA (Sokal y Rohlf 1981) de las concentraciones de nitrógeno particulado y disuelto, y de las tasas de liberación de nitrógeno. Las concentraciones de nitrógeno variaron significativamente entre estaciones, sin embargo la contribución de la estacionalidad a la varianza total fue $<10\%$ (Tabla 3.2). Por el contrario, la variabilidad debida a las zonas batimétricas representó el 23% de la varianza total para el caso del NOP, pero no fue estadísticamente significativa para el NOD, cuya variabilidad fue debida principalmente al factor profundidad. En el caso de la regeneración de amonio, la única fuente significativa de variabilidad fue la estacional, representando el 15% de la varianza total. En el caso del rNOD, ninguna de las fuentes de variabilidad estudiadas fue significativa, sugiriendo que los procesos biológicos que ocurren a escalas espaciales y temporales cortas son los que más influyen en las tasas de regeneración de nitrógeno. Por otro lado, todas las concentraciones de nitrógeno y la concentración de Cla están positiva y significativamente correlacionadas con la concentración de amonio y NID (Tabla 3.3), así como con rNH_4^+ y rNOD. Sin embargo, rNOD se correlacionó con la concentración de amonio y NID pero no con Cla ni NOP.

Las relaciones entre los valores medios integrados en la columna de agua de rNH_4^+ y la concentración de amonio indican que el amonio se absorbe a la misma escala de tiempo que se regenera, porque apenas se acumuló en el agua (Figura 3.3). La tasa de renovación del NOD integrado en la columna de agua varió desde 48 días, en las estaciones oceánicas durante la campaña de agosto, hasta >1 año, en las zonas de plataforma y costeras durante la misma campaña (Figura 3.6). La tasa de renovación promedio se incrementaba desde el océano hacia la costa durante agosto, sin embargo este patrón no se observó durante las otras campañas. Estos resultados, junto con los valores de la concentración de NOD mostrados en la Figura 3.3 y las tasas de liberación de nitrógeno representadas en la Figura 3.5, sugieren la producción de NOD semilábil en las zonas de borde de plataforma y oceánicas, dado que el tiempo de renovación del NOD era bajo en estas zonas. Por otro lado, la acumulación de NOD entre el verano y el otoño sugiere la advección horizontal de NOD desde las zonas costeras hacia el exterior de la plataforma.

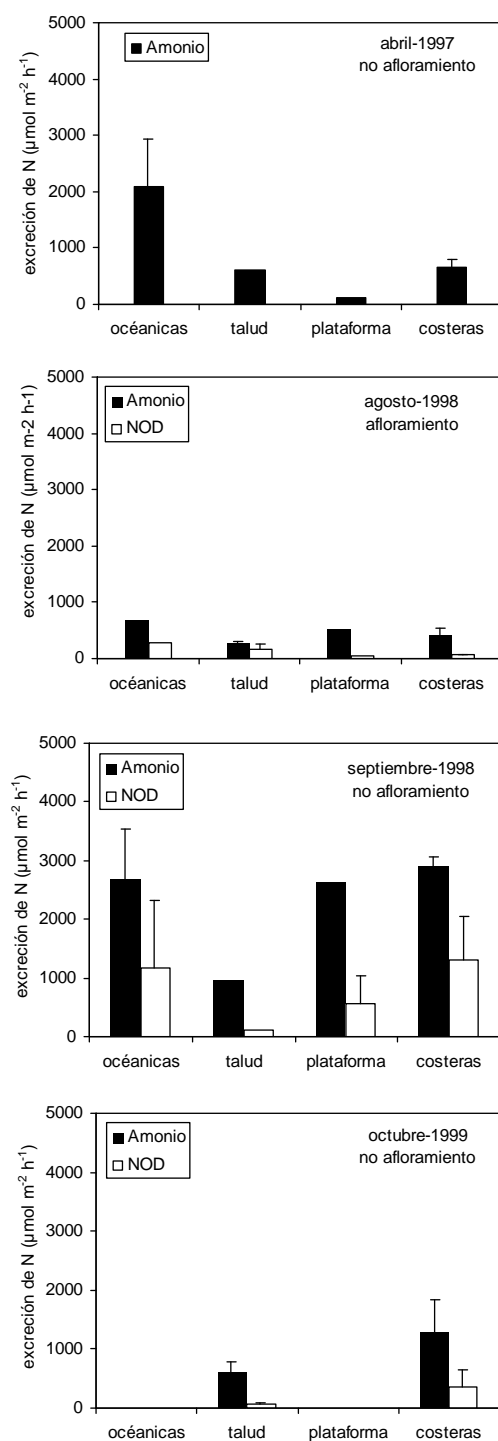


Figura 3.5. Tasas promedio (\pm EE) de regeneración de amonio y liberación de NOD integradas en la zona eufótica. Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2).

Tabla 3.2. Distribución de la variabilidad (SC, suma de cuadrados) de las concentraciones de nitrógeno particulado y disuelto, y de las tasas de regeneración de nitrógeno en los factores: estacional (4 campañas), zona batimétrica (4 zonas) y nivel de profundidad (3 niveles de profundidad óptica). El nivel de significación (p) de la variabilidad de cada uno de los factores se indica con asteriscos *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, n.s. : no significativo. El número de observaciones es de 90 para NOP y rNH_4^+ , y de 69 para NOD y rNOD.

Variable	Factores	SC	% Total SC	p
NOP	estación	6.7	9.5	**
	zona	16.1	22.9	***
	profundidad	5.7	8.1	**
	Total	70.4		
NOD	estación	128.6	8.2	*
	zona	99.2	6.3	n.s.
	profundidad	222.2	14.2	**
	Total	1569.0		
rNH_4^+	estación	29280.0	15.0	*
	zona	647.7	0.3	n.s.
	profundidad	4957.0	2.5	n.s.
	Total	195692.3		
rNOD	estación	2233.6	3.9	n.s.
	zona	2265.8	4.0	n.s.
	profundidad	4127.0	7.2	n.s.
	Total	57329.2		

Tabla 3.3. Correlaciones entre la clorofila *a*, las concentraciones de nitrógeno particulado y disuelto y las tasas de regeneración de nitrógeno estimadas a partir de los datos volumétricos. El número de datos se muestra en la semimatriz superior y los coeficientes de correlación en la semimatriz inferior. El nivel de significación (p) se indica con asteriscos *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, n.s. : no significativo.

Variables	Cl _a	NOP	NID	NH_4^+	NOD	rNH_4^+	rNOD
Cl _a	----	80	80	80	59	80	59
NOP	0.985***	----	95	95	74	95	74
NID	0.957***	0.964***	----	95	74	95	74
NH_4^+	0.978***	0.993***	0.974***	----	74	95	74
NOD	0.864***	0.802***	0.808***	0.821***	----	74	74
rNH_4^+	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	----	74
rNOD	n.s.	n.s.	0.243*	0.233*	n.s.	0.835***	----

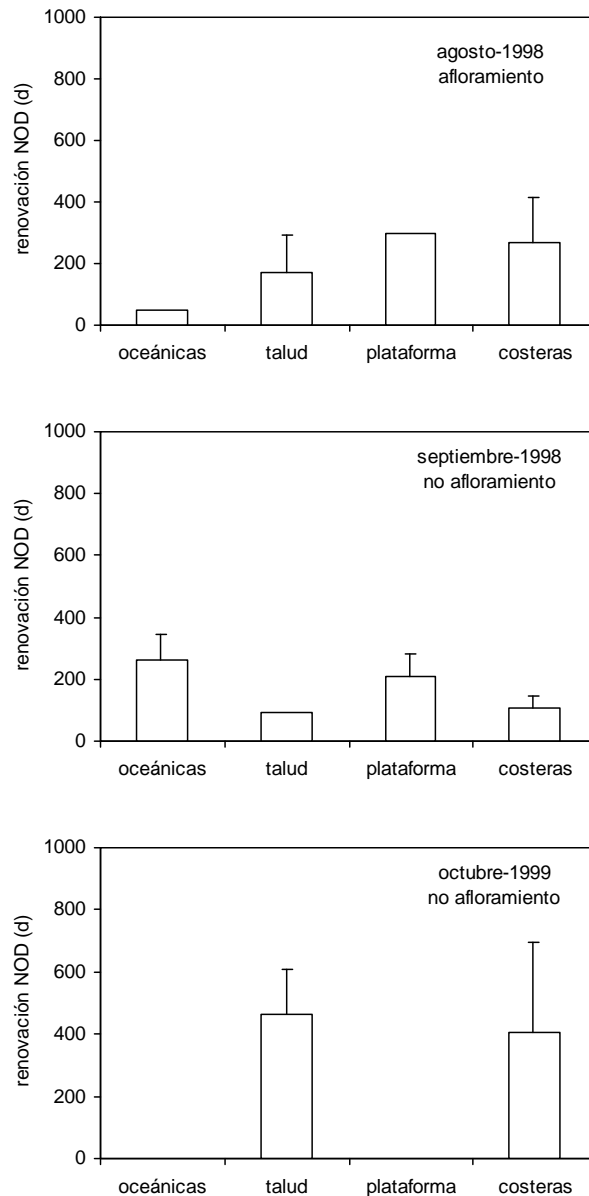


Figura 3.6. Tiempo de renovación (días) promedio (\pm EE) del NOD en la zona eufótica. Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2).

3.3.3. Regeneración de nitrógeno, producción primaria y estructura de tamaños.

En condiciones de afloramiento, la producción primaria (PP) integrada varió desde $25 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en las estaciones oceánicas hasta $>300 \text{ mg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en las estaciones de plataforma y costeras (Figura 3.7). En octubre, durante condiciones de no-

afloramiento, las tasas de PP presentaron valores más bajos, con un valor medio $<25 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en las estaciones del exterior de la plataforma y $<50 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en las estaciones costeras. Por su parte, las tasas de pCOD variaron entre 38 y $14 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (Figura 3.7), encontrándose los valores más elevados en las estaciones costeras durante el afloramiento de agosto (hasta $40 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). En octubre, la tasa promedio de pCOD fue $15\text{-}20 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ con pequeñas variaciones a lo largo de las diferentes zonas batimétricas. La estructura de tamaños de fitoplancton, expresada como el porcentaje de contribución de las células pequeñas ($<2 \mu\text{m}$) a la biomasa o a la producción primaria (Figura 3.7), muestra un predominio de las células grandes ($>2 \mu\text{m}$), particularmente en la costa durante condiciones de afloramiento, mientras que en las zonas externas de la plataforma las células $<2 \mu\text{m}$ contribuyeron al 70% de la biomasa y al 55% de la producción primaria total. Por el contrario, durante condiciones de no-afloramiento, el picofitoplancton dominó la producción primaria (65% PP $<2\mu\text{m}$), mientras que la contribución a la biomasa de las células grandes y pequeñas fue similar (45% biomasa $<2\mu\text{m}$).

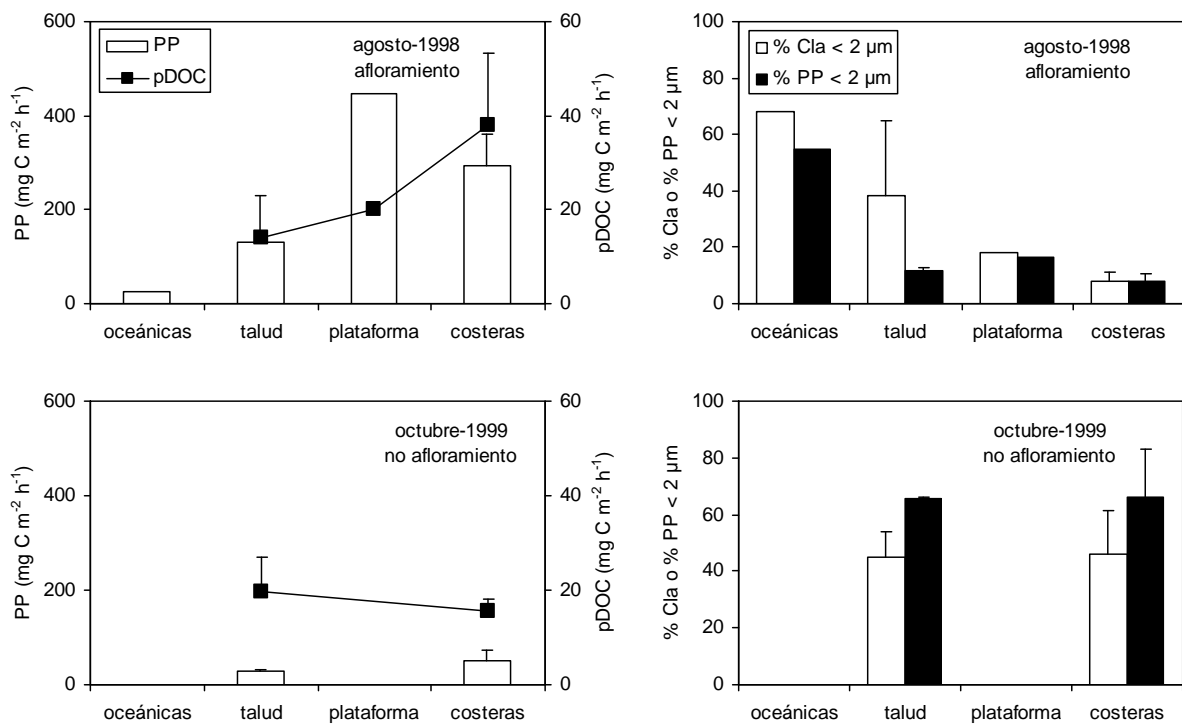


Figura 3.7. Tasas promedio (\pm EE) de producción primaria (PP; $\text{mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y producción de COD (pCOD; $\text{mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) integradas en la columna eufótica durante las campañas OMEX, y contribución del fitoplancton $<2 \mu\text{m}$ a la concentración total de clorofila *a* (% Cla $<2 \mu\text{m}$) y a la producción primaria (% PP $<2 \mu\text{m}$). Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2).

No se encontró una relación estadísticamente significativa entre las tasas de pCOD y rNOD integradas en la columna de agua. Nuestros resultados muestran un exceso de producción de COD con respecto a la liberación de NOD (Figura 3.8), dado que el valor medio de la relación pCOD:rNOD se sitúa sobre la línea que representa el valor de la relación molar de Redfield (6.6, Redfield et al. 1963). Por otro lado, durante condiciones de afloramiento, la relación pCOD:rNOD se reduce considerablemente desde las zonas costeras hacia el océano. Sin embargo, en la campaña de octubre no se observó este patrón, siendo los valores medios de la relación pCOD:rNOD similares en la plataforma y en la costa.

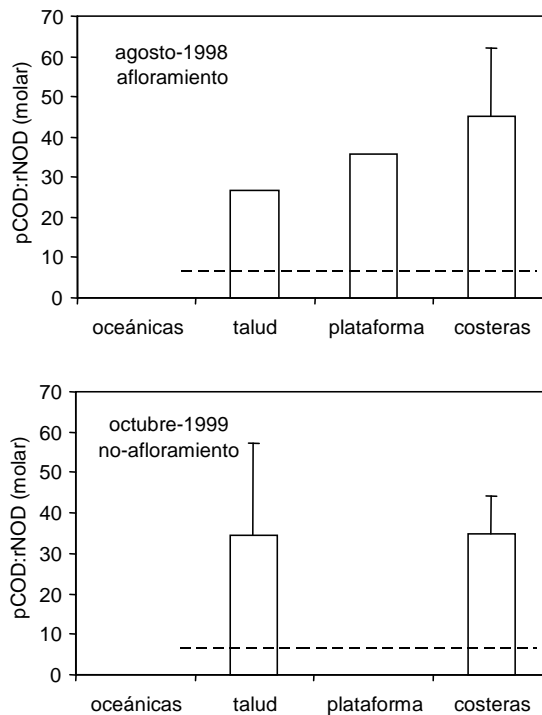


Figura 3.8. Valor promedio (\pm EE) de la relación pCOD:rNOD (molar) durante las campañas OMEX. Las estaciones de muestreo se agruparon en 4 zonas batimétricas (ver Figura 3.2). La línea discontinua indica el valor de Redfield (6.6).

Con el fin de estudiar la relación entre la producción de sustancias disueltas y la estructura de tamaños de fitoplancton se representaron las tasas de pCOD y rNOD sobre el diagrama biomasa-producción (B-P) propuesto por Tremblay y Legendre (1994). Los valores más bajos, tanto de pCOD como de rNOD, se encontraron en situaciones en las que el picofitoplancton dominaba tanto la biomasa como la producción (Figura 3.9). Por otro lado, se encontró un incremento tanto en pCOD como rNOD en aquellas situaciones en que las células $<2 \mu\text{m}$ contribuyen más a la biomasa que a la producción primaria (esto es, los valores de pCOD y rNOD aumentan hacia la esquina inferior-derecha del diagrama B-P de la Figura 3.9). La única excepción, es el alto valor de pCOD (aunque no de rNOD) medido en situaciones de afloramiento, dominadas por

fitoplancton de tamaño grande (Figura 3.9). En contraste, la relación entre pCOD:rNOD y la estructura de tamaños de fitoplancton resultó ser más compleja. Los valores más elevados de dicha relación (>50) se encontraron durante condiciones de afloramiento, con predominio de fitoplancton de tamaño grande (esquina inferior-derecha del diagrama B-P de la Figura 3.9). Sin embargo, los valores más bajos se encontraron en situaciones donde las células $<2 \mu\text{m}$ contribuían relativamente más a la producción que a la biomasa (esquina superior-izquierda del diagrama B-P de la Figura 3.9). Desafortunadamente, la ausencia de medidas de pCOD en aquellos ambientes con una mayor contribución de las células pequeñas a la biomasa que a la producción (esquina inferior-derecha del diagrama B-P de la Figura 3.9) no nos permite completar el rango de situaciones tróficas estudiadas.

3.4. DISCUSIÓN.

3.4.1. Regeneración de nitrógeno y afloramiento.

Los resultados presentados en este estudio son representativos de la variabilidad en el grado de forzamiento físico del medio pelágico, causado por la advección de las aguas subsuperficiales, y su relación con la composición específica y la estructura de tamaños de fitoplancton características del NO de la Península Ibérica. Se encontró un enriquecimiento en nutrientes y un aumento en la biomasa de fitoplancton durante el afloramiento de verano, exportación de materia orgánica desde las rías y la plataforma hacia zonas oceánicas durante la fase de relajación del afloramiento y bajos niveles, tanto de las concentraciones de nutrientes como de la biomasa de fitoplancton, durante condiciones de no-afloramiento. Estos resultados concuerdan con otros estudios previos realizados en esta región (Figueiras y Pazos 1991, Bode et al. 1994, Tilstone et al. 1999, Teira et al. 2001a). Por otro lado, y hasta nuestro conocimiento actual, no hay ningún trabajo previo que considere simultáneamente las tasas de liberación de nitrógeno orgánico e inorgánico, y su relación con la estructura de tamaños de fitoplancton y las tasas de producción de carbono orgánico particulado y disuelto.

Las tasas de regeneración de nitrógeno medidas en esta investigación se encuentran dentro del rango de valores citados en estudios que utilizan el amonio como fuente nitrogenada. Por ejemplo, nuestros valores de rNOD ($10.9 \pm 29.9 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, media \pm DT) son comparables a los valores recopilados por Bronk y Ward (2000) de varios estudios en aguas costeras (rango de valores medios = $12.4\text{-}61.9 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y oceánicas ($1.6\text{-}26.4 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Sin embargo la absorción de nitrato también puede contribuir a la liberación de NOD, particularmente durante los episodios de afloramiento. Desafortunadamente, no disponemos de medidas de rNOD a partir de nitrato, aunque los valores publicados en la zona de afloramiento de la Bahía de Monterrey (Bronk y Ward 1999) indican que el porcentaje medio de rNOD no supera el 20% de la tasa de liberación total de NOD (a partir de absorción de amonio y nitrato). De acuerdo con estos resultados, nuestros valores de rNOD se incrementarían por un factor de 1.2 teniendo en cuenta el NOD liberado a partir de nitrato.

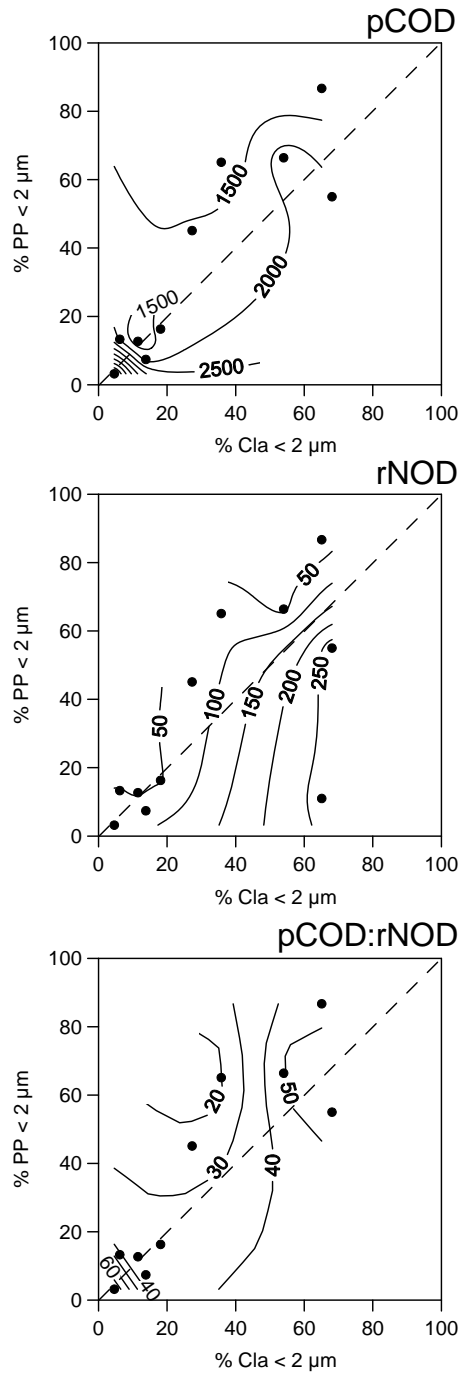


Figura 3.9. Diagrama producción/biomasa de las tasas de pCOD, rNOD y la relación pCOD:rNOD integradas en la zona eufótica. Los ejes X e Y representan, respectivamente, la contribución del fitoplancton <2 μm al total de la biomasa fitoplanctónica, expresada como concentración de clorofila *a*, y a la producción primaria. La línea discontinua indica la contribución equivalente de las células <2 μm a la biomasa y a la producción total.

Por su parte, el valor medio de la tasa de regeneración de amonio en este estudio ($32.7 \pm 46.9 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $\text{media} \pm \text{DT}$) es comparable con otros valores descritos en zonas de afloramiento costero (ej. $0\text{-}50 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, Probyn et al. 1990) y ambientes oceánicos (ej. $5.6\text{-}360.0 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, Glibert et al. 1982b), aunque menor que las tasas de regeneración medias encontradas en aguas costeras eutróficas (ej. $>1 \mu\text{mol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, Glibert et al. 1982a, Bode y Dortch 1996). Estos valores también concuerdan con las estimaciones de Barquero (1999) durante un ciclo anual en un área costera próxima a nuestra región de estudio.

La variabilidad espacial y estacional de los valores de $r\text{NH}_4^+$ y $r\text{NOD}$ está ligada a la dinámica de los episodios de afloramiento. Nuestros resultados mostraron valores más elevados de las tasas de liberación de nitrógeno en las zonas oceánicas que en aquellas próximas a la costa, con la excepción de la campaña realizada durante la fase de relajación de un afloramiento, encontrándose altos valores en todas las zonas muestreadas. Ya que apenas se acumula en la columna de agua, se sugiere que el amonio se absorbe a la misma escala de tiempo que se libera, particularmente en las zonas externas de la plataforma y oceánicas. Esto concuerda con las observaciones de Dickson y Wheeler (1995) en una región de afloramiento, donde encontraron que las tasas de absorción y regeneración de amonio estaban en equilibrio. Estudios previos ya habían mostrado la interdependencia entre la absorción y regeneración de amonio y NOD (ver revisión en Glibert 1993), reflejada en nuestros resultados por la alta correlación encontrada entre $r\text{NH}_4^+$ y $r\text{NOD}$. Se encontró una acumulación de NOD desde el verano hasta el otoño en aguas oceánicas y de plataforma, probablemente causada por la degradación *in situ* de NOP (Kirchman et al. 1993, Carlson y Ducklow 1995) y por advección horizontal (Peltzer y Hayward 1996, Hansell y Waterhouse 1997) de aguas ricas en NOD producido cerca de la costa durante la estación de afloramiento. Varios estudios previos en esta región indican que durante las últimas fases del afloramiento se produce una significativa remineralización de la materia orgánica (ej. Álvarez-Salgado et al. 1993). Por otro lado, la advección de nitrógeno orgánico disuelto hacia zonas oceánicas se sostiene debido a un descenso en la concentración media en la costa desde el verano hacia el otoño y la exportación del exceso de materia orgánica producida en las rías (Álvarez-Salgado et al. 1993, 1999, Doval et al. 1997) y zonas costeras (Bode et al. 1998). Además, Álvarez-Salgado et al. (2001) demostraron la importancia de los filamentos del afloramiento como un mecanismo efectivo de exportación de materia orgánica particulada y disuelta desde la costa hacia el océano.

La labilidad del NOD depende de su composición química, considerándose la mayor parte del NOD oceánico refractario, con una tasa de renovación media de varios años (Jackson y Williams 1985). Sin embargo, dos de los componentes principales del NOD, como son la urea y los aminoácidos libres o combinados, pueden ser consumidos tanto por las poblaciones de fitoplancton (Eppley et al. 1977, Antia et al. 1991) como por las bacterias (Kirchman et al. 1989). En condiciones de afloramiento, la tasa de renovación del NOD decrece desde la costa hacia el océano, sugiriendo que el NOD

liberado es fácilmente degradable. Recientes estudios en la misma área han indicado que una fracción considerable del exceso de materia orgánica disuelta que se exporta hacia las zonas oceánicas es lábil o semilábil con una tasa de renovación ~5 días (Doval et al. 1997, 1999, Álvarez-Salgado et al. 1999). Por otro lado, Barbosa et al. (2001) concluyeron que las bacterias tenían poca capacidad de degradación del COD en un filamento de agua aflorada durante agosto 1998, favoreciendo la acumulación de materia orgánica disuelta en las zonas oceánicas. Estos autores sugieren que el bajo consumo de COD por las bacterias podría explicarse tanto por la composición del COD como por la ausencia de nutrientes inorgánicos en el filamento. En nuestro caso, el consumo de COD por el bacterioplancton en situaciones de limitación por nitrógeno inorgánico explicaría el descenso en la tasa de renovación de NOD encontrado. Por el contrario, la alta tasa de renovación del NOD estimada en la campaña de agosto podría ser consecuencia de las bajas tasas de rNOD medidas y, al mismo tiempo, de la acumulación del NOD refractario previamente liberado.

3.4.2. Desacoplamiento entre la liberación de NOD y la producción de COD.

La débil correlación que generalmente se ha encontrado entre las concentraciones de NOD y COD en estudios previos no sólo es debida a las incertidumbres asociadas con la metodología empleada, sino también a la composición de la materia orgánica (Jackson y Williams 1985, Kirchman et al 1991) y a la ausencia de acoplamiento entre la producción de COD y NOD (Álvarez-Salgado et al. 1999). El valor promedio de la relación C:N para muestras individuales generalmente da lugar a valores más elevados que aquellos derivados de la regresión lineal. En este sentido, Doval et al. (1997) y Álvarez Salgado (1999) determinaron un valor promedio de la relación C:N ~15 en la Ría de Vigo, muy cercano al valor de 15.5 encontrado en aguas del NO del Mediterráneo (Doval et al. 1999). Más recientemente, Álvarez-Salgado et al. (2001) encontraron que la mayor parte de la materia orgánica disuelta analizada en un filamento de agua aflorada en el NO de la Península Ibérica tenía un valor de la relación C:N de 19. En todos los casos, la relación C:N de la materia orgánica disuelta fue generalmente superior al valor de Redfield (Redfield et al. 1963), indicando una mayor labilidad del NOD comparada con el COD. El valor promedio integrado de la relación C:N de las tasas de pCOD y rNOD en nuestro estudio fue siempre >30, indicando un exceso de pCOD sobre rNOD. Este exceso puede ser atribuido, bien a una subestimación de la cantidad total de NOD liberado, o bien a un exceso de producción de carbohidratos. En el primer caso, ya ha sido mencionado que la absorción de otras fuentes nitrogenadas (nitrato y urea) puede contribuir a la liberación de NOD. Si asumimos una dependencia similar del rNOD a partir de absorción de amonio y nitrato (Bronk y Ward 1999) y recalculamos la relación C:N de las tasas de absorción teniendo en la incorporación de nitrato, ésta continúa siendo superior al valor de Redfield y al índice C:N determinado en estudios previos sobre las concentraciones de materia orgánica disuelta en esta región (Doval et al. 1997, Álvarez-Salgado et al. 1999, 2001).

En el segundo caso, el exceso de pCOD en relación a rNOD podría estar asociado con una excreción activa de carbohidratos por parte del fitoplancton (Meon y Kirchman 2001), particularmente mono- y polisacáridos, en situaciones de estrés por nutrientes (Ittekkot et al 1981, Kirchman et al. 1991, Benner et al. 1992, Pakulski y Benner 1994, Norrman et al. 1995). Fraga et al. (1999) dedujeron estequiométricamente un aumento en la síntesis de carbohidratos en la capa superficial de la columna de agua durante el período de relajación de un episodio de afloramiento en la Ría de Vigo. El exceso de COD medido podría también ser debido a una reducida actividad bacteriana cuando las aguas comienzan a ser pobres en nutrientes inorgánicos, tal y como sugirieron Williams (1995) y Thingstad et al. (1997). Esta última hipótesis está sustentada por el bajo consumo de COD por parte de las bacterias determinado por Barbosa et al. (2001) durante el episodio de afloramiento en agosto de 1998. Si no hay suficiente nitrógeno inorgánico disponible, las bacterias pueden obtener el nitrógeno de la fracción lábil de NOD (Kirchman et al. 1989, Hasegawa et al. 2000b, 2001), incrementándose por tanto el exceso relativo del COD con respecto al NOD. Este exceso de COD contribuiría al mantenimiento de las bacterias, que son las principales responsables de la respiración en la columna de agua (del Giorgio et al. 1997, del Giorgio y Duarte 2002). Además, Teira et al. (2001a) encontraron que la respiración excedía a la producción primaria en las estaciones oligotróficas durante la misma campaña OMEX que la de este estudio. Este exceso de COD sería compensado por los procesos microbianos a una escala estacional (Sherr y Sherr 1996, Serret et al. 1999).

3.4.3. Estructura de tamaños de fitoplancton y relación C:N de la materia orgánica disuelta.

Mientras que la estructura de tamaños de fitoplancton refleja los cambios en el forzamiento físico del medio pelágico (principalmente causados por la dinámica de afloramiento), la relación entre pCOD y rNOD es más compleja. Teira et al. (2001a) encontraron que el porcentaje de liberación de COD con respecto a la producción primaria total alcanzaba los máximos valores en situaciones de dominancia de células pequeñas. Nuestros resultados muestran que el rNOD se comporta de diferente manera que el pCOD. Los máximos valores tanto de pCOD como de la relación pCOD:rNOD se encontraron en condiciones de afloramiento con dominancia del fitoplancton de tamaño grande tanto en biomasa como en producción primaria. En este caso, el principal mecanismo de producción de COD podría ser atribuido a la excreción directa de carbohidratos por parte de las diatomeas dominantes (Fraga et al 1999, Teira et al. 2001a). Por el contrario, los máximos valores de las tasas de liberación de rNOD se detectaron en situaciones oligotróficas con dominancia de células $<2 \mu\text{m}$, pero curiosamente cuando éstas contribuían más a la biomasa que a la producción primaria. En este sentido, investigaciones recientes han encontrado que el fitoplancton de pequeño tamaño libera mayores cantidades de NOD que el fitoplancton de mayor tamaño (Hasegawa et al. 2000b). Las altas tasas de liberación de materia orgánica disuelta por los flagelados dominantes en condiciones oligotróficas podrían ser debidas a la mayor relación superficie-volumen de estas células. En este caso, una menor

abundancia de las diatomeas es consistente con una reducción en la excreción de carbohidratos. Además, la menor contribución de los flagelados de pequeño tamaño a la producción que a la biomasa sugiere que gran parte de estos organismos son heterótrofos, aumentando la liberación de sustancias orgánicas disueltas a través de mecanismos como la predación y la alimentación ineficiente de las presas (Gaul et al 1999, Nagata 2000, Hasegawa 2001). Por lo tanto, es esperable que la liberación de materia orgánica disuelta, particularmente de NOD, dependa más de procesos relacionados con la cadena trófica microbiana (Tremblay y Legendre 1994, Legendre y Rassoulzadegan 1995, Glibert 1998) que de aquellos relacionados con una excreción directa por el fitoplancton. Teira et al. (2001a) llegaron a una conclusión similar en un estudio llevado a cabo en la misma región, analizando la relación entre la incorporación total de carbono por el fitoplancton y pCOD.

La variabilidad en la relación C:N de la materia orgánica disuelta recientemente liberada indica la existencia de diferentes mecanismos tróficos en la dinámica del C y N en relación con la estructura de tamaños de fitoplancton y con el metabolismo de la comunidad microbiana. Un alto valor de C:N en situaciones de mayor contribución de las células pequeñas a la biomasa que a la producción, y un menor valor de la relación en situaciones contrarias, es consistente con las predicciones del modelo de Tremblay y Legendre (1994). Así, aquellos valores que se encuentran por encima de la diagonal del diagrama B-P de la Figura 3.9 indican la dominancia de células grandes, lo cual implica una baja presión por predación y bajas tasas de sedimentación, así como una menor tasa de rNOD (y una menor relación pCOD:rNOD). Alternativamente, los valores situados por debajo de la diagonal reflejan una alta contribución de las células pequeñas a la biomasa y, aunque en menor medida, a la producción primaria. Por lo tanto, las altas tasas de rNOD (y de la relación pCOD:rNOD) están más asociadas con procesos tróficos que fisiológicos. En este sentido, Miller y Glibert (1998) encontraron altas tasas de liberación de NOD causadas por la predación de copépodos en situaciones de limitación por nitrógeno. Además, la adición de copépodos (densidad de 21 copépodos Γ^{-1}) en algunas botellas de incubación durante la campaña de agosto de 1998 incrementaban las tasas de rNOD por un factor de 3 (resultados no publicados). Bronk y Ward (2000), analizando datos de rNOD de varios ecosistemas, atribuyeron los altos porcentajes de liberación de rNOD (>50%) a una intensa actividad herbívora y alimentación ineficiente del microzooplancton. La débil correlación encontrada entre las concentraciones de NOD y la biomasa y la producción primaria de fitoplancton en el NO de la Península Ibérica durante el bloom primaveral (Bode et al. 2001a) apoyan la importancia del hervivorismo en relación con rNOD.

CAPÍTULO 4

*ABSORCIÓN DE NITRÓGENO Y LIBERACIÓN DE
NITRÓGENO ORGÁNICO DISUELTO (NOD) POR LAS
COMUNIDADES PLANCTÓNICAS DEL OCÉANO
ATLÁNTICO, CARACTERIZADAS POR LA
ESTRUCTURA DE TAMAÑOS DE FITOPLANCTON*

La investigación expuesta en este capítulo se recoge en la publicación:

Marta M. Varela, A. Bode, E. Fernández, N. González, V. Kitidis, M. Varela y EMS. Woodward (enviado). Nitrogen uptake and dissolved organic nitrogen release in planktonic communities characterised by phytoplankton size-structure in the Central Atlantic Ocean. *Deep Sea Research*.

RESUMEN: Se midieron las tasas de absorción de amonio, nitrato y urea, así como la liberación de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) en relación a la estructura de tamaños de fitoplancton a lo largo de un transecto latitudinal (49° N-33° S) en el Océano Atlántico durante el período de transición verano-otoño. El transecto incluyó dos áreas de afloramiento, dos giros oligotróficos y dos regiones templadas. Como resultado, las tasas de absorción de amonio (18-355 mmol m⁻² h⁻¹), nitrato (5-2830 mmol m⁻² h⁻¹) y urea (26-1212 mmol m⁻² h⁻¹) cubrieron un amplio espectro de niveles de productividad. El porcentaje de liberación extracelular de NOD relativo a la cantidad total de nitrógeno incorporado (PLE) presentó los valores más elevados cuando se utilizaba nitrato sustrato (media 42±3.1%, ±EE) mientras la absorción de amonio y urea presentó valores de PLE más bajos (22±2.1 y 26±1.6 %, respectivamente). Estos son los primeros resultados publicados de liberación de NOD a partir de absorción de urea. Las células pequeñas (<2 µm) contribuyeron entre un 20 y un 80% a la producción primaria total, mientras que la contribución de éstas a la concentración total de clorofila a varió entre un 50 y un 80%. La relación entre el tamaño del fitoplancton y el PLE se cuantificó en forma de una ecuación de regresión múltiple a partir de la contribución relativa de las células <2 µm a la biomasa y a la producción primaria. Esta ecuación predice adecuadamente los valores de PLE en las regiones de afloramiento (<30%), dominadas por fitoplancton de tamaño grande. Por el contrario, en los giros oligotróficos, en los que las células pequeñas dominaron la biomasa de fitoplancton pero no la producción primaria, la ecuación calcula valores de PLE muy alejados de los medidos. En estas áreas, el PLE a menudo excedía el 50% y fue muy variable, lo cual sugiere que la liberación de NOD en el océano oligotrófico depende principalmente de procesos no relacionados directamente con el tamaño de los productores primarios.

4.1. INTRODUCCIÓN.

La producción primaria depende en gran medida de la regeneración *in situ* de nitrógeno, indicada por un predominio de la absorción de amonio y urea cuando los aportes de nitrógeno nuevo (generalmente nitrato) son bajos (Dugdale y Goering 1967). Las proporciones relativas de sustratos nitrogenados inorgánicos y orgánicos presentes en el medio tienen un impacto directo sobre las tasas de absorción de nitrógeno, y afectan tanto a la composición de especies como a la estructura de tamaños de las comunidades fitoplanctónicas (Glibert, 1998).

La regeneración de amonio ha sido ampliamente estudiada, y se ha encontrado que sus tasas son similares a las de asimilación de amonio (Glibert et al. 1982b, Glibert 1998), sin embargo hay menos estudios sobre la liberación de NOD (rNOD), a pesar de que actualmente se sabe que representa un flujo de nitrógeno importante (Bronk et al. 1994, Bronk y Ward 2000). La mayoría de las observaciones han sido hechas en ecosistemas costeros y zonas templadas, no obstante hay poca información disponible para las zonas oceánicas oligotróficas. Estudios previos sugieren que el NOD es una importante fuente de nitrógeno para las poblaciones bacterianas (Jackson y Williams 1995, Antia et al 1991, Tupas y Koike 1991, Bronk y Glibert 1993), lo cual justifica el creciente interés del estudio de rNOD en los ecosistemas planctónicos (Bronk et al. 1994, Bronk y Ward 1999, Vidal et al. 1999, Bronk y Ward 2000, Hasegawa et al 2000b, 2001, Ward y Bronk 2001, Varela et al. 2003b). No obstante, la mayoría de las investigaciones se han concentrado en determinar la magnitud y el significado ecológico del carbono orgánico disuelto recién liberado (COD). Así, varios trabajos han determinado la existencia de altas tasas de producción de COD con respecto a la producción primaria total, particularmente en el océano oligotrófico (ej. Teira et al. 2001b, 2003).

En las comunidades planctónicas la mayoría de los componentes orgánicos, incluyendo el DON, se originan a partir de los productores primarios (Meon y Kirchman 2001). Se ha propuesto la existencia de varios mecanismos para explicar la liberación de NOD por el fitoplancton, entre los cuales se incluyen la excreción directa por parte del fitoplancton, la excreción por los heterótrofos, la alimentación ineficiente del zooplancton y la lisis celular por infección viral (ver revisión en Nagata 2000). Sin embargo, la técnica generalmente empleada para medir las tasas de liberación de NOD por las poblaciones microbianas está basada en la liberación de materia orgánica disuelta en incubaciones de plancton durante 2-3 horas y no permite diferenciar el NOD liberado por los diferentes procesos.

Algunos estudios han medido el porcentaje de liberación extracelular de rNOD (PLE): la fracción de NOD liberado con respecto a la absorción total de nitrógeno (Bronk y Ward 2000, Hasegawa et al. 2000b, 2001). De acuerdo con Bronk y Ward (2000), el PLE varía entre un 10 y el 35 % en diferentes ecosistemas marinos. Sin embargo, estos porcentajes pueden alcanzar ocasionalmente valores considerablemente

mayores o menores, sugiriendo que la ausencia o presencia de diferentes interacciones tróficas podrían explicar la liberación de materiales disueltos. En este sentido, Bronk y Ward (2001) mostraron que el PLE aumenta como consecuencia de la predación intensa y alimentación ineficiente por parte del zooplancton, lo que sugiere que algunas de las interacciones tróficas que dan lugar a elevadas tasas de rNOD dependen de la estructura de tamaños de la comunidad. Conceptualmente, en los sistemas oligotróficos serían esperables mayores pérdidas del nitrógeno recién incorporado hacia la materia orgánica disuelta como consecuencia del predominio de las redes tróficas microbianas (Legendre y Le Fèvre 1995, Azam 1998). En estos sistemas, la liberación de NOD sería debida principalmente a la interacción predador-presa entre bacterias y protozoos (Ward y Bronk 2001). En los sistemas dominados por la red trófica clásica (fitoplancton-metazoos) es esperable que se produzcan menores pérdidas de materiales disueltos, debido a un menor número de pasos tróficos desde los productores primarios hasta los consumidores (Azam 1998). Los modelos conceptuales sobre la importancia de la estructura de tamaños de la producción primaria y la biomasa fitoplanctónica (Tremblay y Legendre 1994) sugieren que dicha estructura es el principal mecanismo responsable del control de la organización trófica de las comunidades planctónicas y, consecuentemente, también de los flujos de nitrógeno.

En esta investigación se estudió la relación entre las tasas de absorción de nitrógeno y la liberación de nitrógeno orgánico disuelto con la estructura de tamaños del fitoplancton, como indicador de la estructura trófica del plancton, en un transecto latitudinal del Océano Atlántico (49° N-33° S) a través de 6 provincias biogeoquímicas (Longhurst 1998) con diferentes condiciones tróficas.

4.2. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.2.1. Muestreo.

Las muestras se tomaron durante un transecto latitudinal (49° N - 33° S) en el Océano Atlántico (Atlantic Meridional Transect [AMT]-11; ver Aiken et al. 2000), realizado a bordo del buque oceanográfico RSS James Clark Ross entre el 9 de Septiembre y el 12 de octubre de 2000 (Figura 4.1). Se muestrearon 25 estaciones y en cada una de ellas se realizaron perfiles verticales de temperatura, salinidad y fluorescencia usando un CTD Seabird 911 acoplado a una roseta de muestreo equipada con 12 botellas oceanográficas tipo Niskin. Adicionalmente se realizaron perfiles verticales de irradiancia fotosintéticamente activa (PAR, 400-700 nm) con un perfilador óptico SeaOPS (Aiken et al. 2000). A partir de los perfiles de irradiancia y fluorescencia se seleccionaron entre 3 y 7 profundidades de muestreo entre la superficie y 200 m de profundidad.

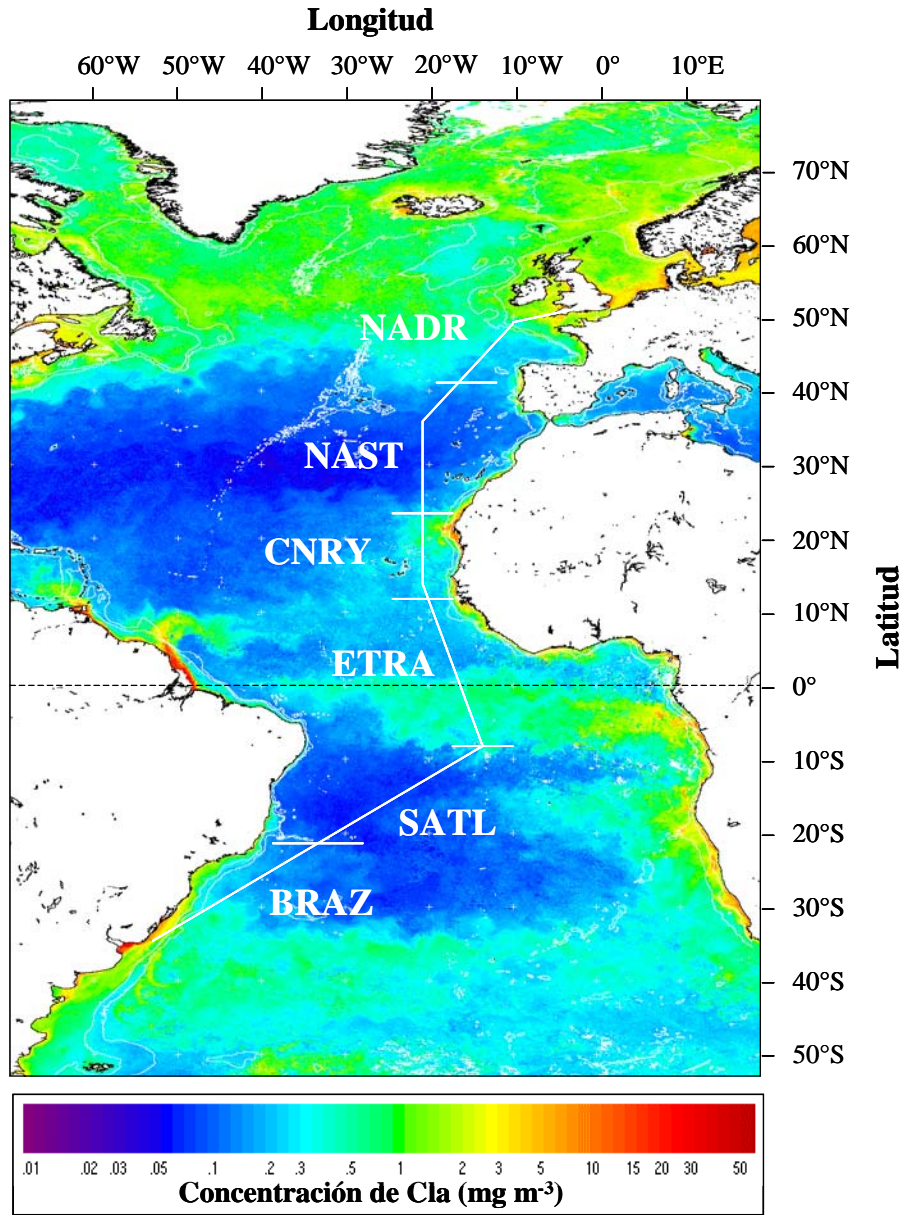


Figura 4.1. Mapa de concentración superficial de clorofila *a* obtenido a partir de datos de color del mar medidos a partir de satélite con el sensor SeaWiFS y promediados para los meses de septiembre y octubre de 2000. Se indican los límites entre cada una de las 6 provincias biogeoquímicas atravesadas : NADR (North Atlantic Drift Province), NAST (North Atlantic Subtropical Gyral Province), CNRY (Eastern Canary Coastal Province), ETRA (Eastern Tropical Atlantic Province), SATL (South Atlantic Gyral Province) y BRAZ (Brazil Current Coastal Province) (Longhurst 1998). La imagen de satélite la proporcionó el Remote Sensing Group (Plymouth Marine Laboratory, UK).

4.2.2. Concentración de clorofila *a* fraccionada por clases de tamaño, producción primaria y abundancia de fitoplancton.

En cada estación, se filtraban 250 ml de cada muestra de agua de mar de 7 profundidades seleccionadas en la zona eufótica a través de filtros de policarbonato de 2.0 y 0.2 μm . Los filtros eran inmediatamente introducidos en viales de vidrio que contenían 10 ml de acetona al 90% y se mantenían a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 h, período en el que tendía lugar la extracción de los pigmentos fotosintéticos. La determinación de la concentración de clorofila *a* se realizó utilizando un fluorímetro Turner 10-AU previamente calibrado utilizando patrones de clorofila *a* comerciales. La concentración de clorofila *a* de la comunidad de fitoplancton se calculó como la suma de la clorofila *a* en cada una de las fracciones de tamaño.

La producción primaria fraccionada por clases de tamaño se midió en 5 profundidades correspondientes a los porcentajes de irradiancia superficial comprendidos entre el 97 y el 1%. En cada estación se llenaban 4 botellas de polipropileno, previamente lavadas con HCl, con 75 ml de agua de mar y se inoculaban con una solución de entre 2.5 y 7.4 kBq ml^{-1} ($0.07\text{-}0.20\text{ }\mu\text{Ci ml}^{-1}$) de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$. A continuación se incubaban durante 6 horas en incubadores que simulaban la irradiancia correspondiente a las profundidades de origen de las muestras. Finalizado el período de incubación, el contenido de cada botella se filtraba a través de filtros de fibra de vidrio GF/F. Los filtros se exponían a vapores de HCl concentrado durante 12 h con el fin de eliminar el $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ adsorbido en el filtro. Una vez descontaminados, se medía la radioactividad retenida en cada filtro utilizando un contador de centelleo líquido LKB- β . Se utilizó un estándar externo para la corrección del efecto “quenching”. La tasa de producción primaria total se estimó a partir de la suma de la producción primaria determinada en cada una de las fracciones por separado.

La composición y abundancia de las especies de fitoplancton se determinó en muestras de 250 ml de agua de mar fijadas con solución de Lugol. Previamente al análisis, las muestras se dejaban sedimentar en cámaras Utermöhl de 25 ml durante al menos 24 h. La determinación y cuantificación de la abundancia de las diferentes especies de fitoplancton se realizó utilizando un microcopio invertido con contraste de fase. Adicionalmente, por microscopía de epifluorescencia se cuantificaron las cianobacterias cocoides del género *Synechococcus* en muestras de agua de mar fijadas con glutaraldehído al 2.5%, que eran filtradas a través de filtros de membrana de 0.2 μm . Las muestras se observaban a 1250 aumentos y las cianobacterias se reconocían por su autofluorescencia amarillo-anaranjada cuando se iluminaban con luz azul (Bode et al. 2001b).

4.2.3. Determinaciones de nitrógeno.

Se tomaron 250 ml de agua de mar en botellas de policarbonato, previamente lavadas con HCl diluido, procedente de 3 profundidades ópticas correspondientes a los

porcentajes de irradiancia superficial equivalentes al 100, 7 y 1%. A continuación, las botellas se inoculaban con 0.1 μM de amonio ($(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), nitrato (K^{15}NO_3) o urea ($(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$) y se incubaban durante 2-3 horas en incubadores como los descritos para la producción primaria. Las incubaciones con cada fuente de nitrógeno se realizaban por duplicado. Una vez finalizado el período de incubación, las muestras eran procesadas de acuerdo con el método descrito en Slawyk et al. (1998). El nitrógeno orgánico particulado (NOP) se retenía en filtros de fibra de vidrio tipo GF/F, mientras que el filtrado se recogía en botellas PYREX y se preservaba con HgCl_2 , hasta la posterior determinación de las concentraciones y del enriquecimiento en ^{15}N de NOP, NID y NOD. El ^{15}N remanente en las formas inorgánicas al final de la incubación era eliminado mediante difusión de amonio en medio alcalino, mientras que el ^{15}N en el NOD se recuperaba mediante oxidación a nitrato y posterior reducción a amonio (Slawyk y Raimbault 1995, Slawyk et al. 1998). Adicionalmente, se realizaron determinaciones de las concentraciones de nitrógeno y enriquecimiento en ^{15}N tanto en la fase particulada como en la fase disuelta en muestras inoculadas y filtradas de inmediato, sin período de incubación.

La concentración de nutrientes inorgánicos disueltos se determinó siguiendo las técnicas descritas en Woodward y Rees (2001). La concentración de NO_3^- y NO_2^- se midió por análisis colorimétrico, usando un Technicon Autoanalyser II, mientras que las determinaciones de NH_4^+ se realizaron mediante una técnica fluorimétrica que permite obtener concentraciones nanomolares a partir de la difusión de amonio a través de una membrana de teflón (Jones 1991). Las determinaciones de NOD se realizaron por oxidación con persulfato magnésico, como se describe en Slawyk y Raimbault (1995) y Slawyk et al. (1998) (ver Capítulo 2). La concentración de urea se determinó por un ensayo colorimétrico, a partir de la formación de imidazolona, que da lugar a la formación de un complejo rojo (Goeyens et al. 1998). La determinación del NOP se realizó mediante un analizador de CHN Perkin Elmer 2400. Los análisis de la abundancia de ^{15}N fueron realizados utilizando un espectrómetro de masas (Thermo Finnigan Mat Delta Plus). Los filtros que contenían el material particulado se dejaban secar a 50 °C antes del análisis, mientras que el NID y el NOD se recogían en filtros de fibra de vidrio, previa conversión de todas las formas nitrogenadas a NH_4^+ (Slawyk y Raimbault 1995). Estos filtros se secaban y se analizaban como los filtros con la materia particulada.

Se realizaron ensayos para determinar la eficiencia de recuperación de ^{15}N al final del período de incubación, la contaminación de la muestra con nitrógeno no marcado y la eficiencia de eliminación de NID durante el aislamiento de NOD según las recomendaciones de Slawyk y Raimbault (1995), Raimbault et al. (2000) y Hasegawa et al. (2000b). Todos estos efectos fueron compensados en el cálculo final de rDON. La eficiencia de recuperación de ^{15}N fue generalmente >95%, como la encontrada en otros estudios (Hasegawa et al. 2000b, Raimbault et al. 2000), mientras que el efecto de la contaminación de la muestra con nitrógeno no marcado, principalmente NH_4^+ , fue despreciable (Slawyk y Raimbault 1995). El porcentaje de enriquecimiento en ^{15}N de

los diferentes compartimentos de nitrógeno y la variabilidad entre réplicas se muestra en la Tabla 4.1. La variabilidad media fue ~20%.

Tabla 4.1. Rango del porcentaje de enriquecimiento en ^{15}N (R) y diferencia media entre las estimaciones de dos réplicas de muestras de nitrógeno orgánico e inorgánico analizados durante el estudio (n = 75).

Pool de N	R (%)	Diferencia media (%)	n
Nitrógeno inorgánico disuelto (NID)	0.3469 – 97.0874	22.6	75
Nitrógeno orgánico particulado (NOP)	0.0040 - 1.7816	22.8	75
Nitrógeno orgánico disuelto (NOD)	0.0003 - 0.7028	20.2	75

n: número de pares de réplicas

El cálculo de las tasas de rNOD a partir de nitrato y amonio se realizó según el procedimiento indicado en Slawyk et al. (1998) mediante las fórmulas descritas en la Tabla 4.2. En el caso de la urea no es posible distinguir el remanente de urea marcada al final de la incubación del NOD marcado y liberado durante la misma, ya que la urea no se elimina en el paso de la eliminación de NID. Por tanto la liberación de NOD en incubaciones con urea se estimó teniendo en cuenta la dilución isotópica y el balance de masas del ^{15}N en las fracciones particulada y disuelta durante el período de incubación. Para ello se consideró que el NOD liberado durante la incubación con urea incluía ^{14}N procedente de la asimilación de N no marcado (^{14}N) inmediatamente antes de la inoculación. Este NOD producirá una dilución isotópica del NOD marcado que se traducirá en un enriquecimiento en ^{15}N menor del esperado, teniendo en cuenta el ^{15}N incorporado en el NOP. Así, el balance de masas de ^{15}N durante la incubación será:

$$R^{\text{NOD}}_0 \text{NOD}_0 = R^{\text{NOD}}_f \text{NOD}_f + R^{\text{NOP}} \text{NOP} \quad (1)$$

siendo R^{NOD}_0 , R^{NOD}_f y R^{NOP} los enriquecimientos en ^{15}N (exceso sobre la abundancia relativa natural) en las fases disueltas al principio (NOD_0) y al final de la incubación (NOD_f), y en la fase particulada al final de la incubación (NOP), respectivamente. El enriquecimiento en ^{15}N medido en el NOD al final de la incubación ($R^{\text{NOD}}_{\text{fm}}$) estará reducido por la dilución con NOD no marcado recién liberado (^{14}NOD):

$$R^{\text{NOD}}_{\text{fm}} = R^{\text{NOD}}_f \text{NOD}_f / (\text{NOD}_f + ^{14}\text{NOD}) \quad (2)$$

A su vez NOD_f (remanente de ^{15}N marcado) se podrá calcular como:

$$\text{NOD}_f = \text{NOD}_0 - R^{\text{NOP}} \text{NOP} \quad (3)$$

La combinación de las ecuaciones (1), (2) y (3) permite estimar ^{14}NOD :

$$^{14}\text{NOD} = ([R^{\text{NOD}}_0 \text{NOD}_0 - R^{\text{NOP}} \text{NOP}] / R^{\text{NOD}}_{\text{fm}}) - \text{NOD}_0 + R^{\text{NOP}} \text{NOP} \quad (4)$$

y, teniendo en cuenta el tiempo de incubación (t), la tasa de liberación de ^{14}NOD :

$$r\text{NOD}^{\text{urea}} = ^{14}\text{NOD} / t \quad (5)$$

Para comparar estos valores con los obtenidos mediante la medida directa de ^{15}N en NOD al final de las incubaciones con amonio y nitrato ($r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ y $r\text{NOD}^{\text{NO}_3^-}$, respectivamente) se asume que el fraccionamiento isotópico para los procesos implicados en la liberación de NOD (es decir la preferencia por la movilización diferencial de ^{14}N o ^{15}N) es muy pequeño. En cualquier caso, las tasas de $r\text{NOD}^{\text{urea}}$ obtenidas tienen una mayor incertidumbre que las de $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ y $r\text{NOD}^{\text{NO}_3^-}$, dado el mayor número de asunciones y variables implicadas en el cálculo de la primera (ecuación (4) y Tabla 4.2). Finalmente, se estimaron las tasas totales de absorción y liberación de nitrógeno como suma de las tasas medidas con cada uno de los sustratos.

4.3. RESULTADOS.

4.3.1. Estructura termohalina de la columna de agua.

La distribución espacial de la temperatura y la salinidad refleja las características hidrográficas de las diferentes provincias biogeoquímicas (de acuerdo con Longhurst 1998) que se cubrieron durante la campaña (Figura 4.2): North Atlantic Drift Province (NADR), North Atlantic Subtropical Gyral Province (NAST), Eastern Canary Coastal Province (CNRV), Eastern Tropical Atlantic Province (ETRA), South Atlantic Gyral Province (SATL) y Brazil Current Coastal Province (BRAZ). En el extremo norte del transecto, las isotermas e isohalinas indican que la capa superficial de la columna de agua está bajo la influencia de agua fría y profunda, mientras que el hundimiento de las isolíneas marca la región donde el transecto atraviesa el giro subtropical del Atlántico Norte (NAST). Hacia el sur del NAST, el transecto se aproxima al NO de la costa africana, entrando en la provincia CNRV (~23 – 15° N), donde el afloramiento queda marcado por el ascenso de las isotermas e isohalinas desde el 22 al 20° N. Al sur de la latitud 15° N el transecto cruza la provincia biogeoquímica ETRA (~11 °N – 10° S), en la cual podemos observar distintas características hidrográficas. Aproximadamente en 15° N, la temperatura superficial, la salinidad y la profundidad de la termoclina descienden progresivamente hasta alcanzar el Domo de Guinea (~12° N). Al norte del ecuador (~4° N), la convergencia tropical norte, situada entre la Corriente Ecuatorial Sur y Norte provoca una separación entre las isotermas en los 100 primeros metros de la columna de agua, causando el hundimiento de la termoclina hasta ~70 m. Al sur de ETRA, la termoclina se localizó ~50 m en la divergencia ecuatorial, donde la elevación de las isotermas e isohalinas, así como un incremento en la concentración de Cla, revelan un intenso afloramiento (Figura 4.2). Una termoclina poco profunda, como la

Tabla 4.2. Terminología y ecuaciones utilizadas para calcular las tasas de nitrógeno durante este estudio. El cálculo de la liberación de NOD a partir de urea ($rNOD^{urea}$) se explica con mayor detalle en el texto.

Símbolo	Definición	Referencia
$NXX = NO_3^-$, NH_4^+ o $(NH_2)_2CO$ (urea)	fuentes de nitrógeno inoculada	
NOD	nitrógeno orgánico disuelto	
NOP	nitrógeno orgánico particulado	
$R_0^{NH_4^+}$	abundancia de ^{15}N % en NH_4^+ en exceso respecto a la abundancia natural de ^{15}N (0.365 %) al comienzo de la incubación	
R_f^{NXX}	abundancia de ^{15}N % en NXX en exceso respecto a la abundancia natural de ^{15}N del mismo compuesto al final de la incubación	
$R_m^{NH_4^+} = [R_0^{NH_4^+} / \ln(R_f^{NH_4^+} / R_0^{NH_4^+})] \{1 - \exp[-\ln(R_f^{NH_4^+} / R_0^{NH_4^+})]\}$	promedio exponencial de R_0 y R_f en el caso de NH_4^+	Glibert et al. 1982b
R^{NOP}	abundancia de ^{15}N en NOP en exceso respecto a la abundancia natural de ^{15}N al final de la incubación	
R^{NOD}	abundancia de ^{15}N % en NOD en exceso respecto a la abundancia natural de ^{15}N al final de la incubación	
t	tiempo de incubación (h)	
$\rho NXX = R^{NOP} NOP / (R_f^{NXX} t)$	absorción de NO_3^- o urea	Dugdale y Goering 1967
$\rho NH_4^+ = R^{NOP} NOP / (R_m^{NXX} t)$	absorción de NH_4^+	Glibert et al. 1982b
$rNOD^{NXX} = R^{NOD} NOD / (R_f^{NXX} t)$	liberación de NOD a partir de amonio o nitrato (= "extracellular pool DON release = loss of ^{15}N from DIN to DON")	Bronk et al. 1994 Slawyk et al. 1998 Bronk y Ward 2000
$PLE^{NXX} = 100 rNOD^{NXX} / (\rho NXX + rNOD^{NXX})$	Porcentaje de liberación extracelular de NOD (%) a partir de NXX	
$f = \rho NO_3^- / (\rho NO_3^- + \rho NH_4^+)$	relación entre absorción de nitrato y la absorción de nitrato + amonio (índice f)	
$f' = \rho NO_3^- / (\rho NO_3^- + \rho NH_4^+ + \rho Urea)$	índice f estimado a partir de las tasas de absorción de NO_3^- , NH_4^+ y urea	

encontrada en ETRA, es característica de esta área tropical durante el período de transición otoño-invierno como consecuencia de la intensificación de los vientos alisios (Longhurst 1998). Al sur de 12° S, el hundimiento de la capa superficial de mezcla por debajo de los 100 m marca el límite entre ETRA y SATL. Un frente termohalino ~25° S marca la transición de SATL hacia las aguas más frías y salinas de BRAZ. En el extremo sur del transecto (~30° S), las isotermas y las isohalinas se elevan hacia la plataforma, como ocurría en el extremo norte.

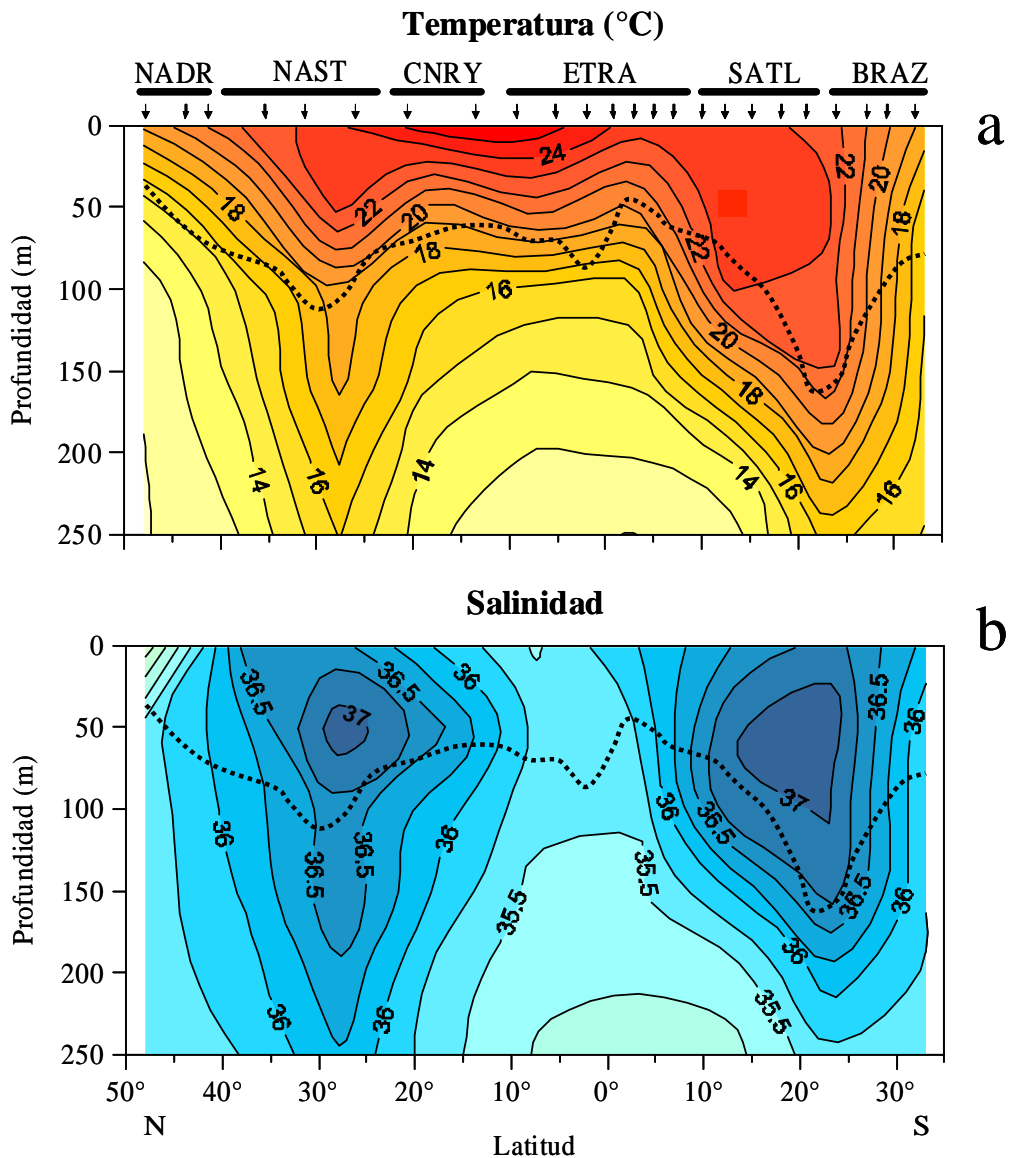


Figura 4.2. Distribución espacial de (a) temperatura (°C) y (b) salinidad a lo largo del transecto AMT-11. Las flechas y las barras indican las estaciones muestreadas y la extensión de cada provincia biogeoquímica, respectivamente. La profundidad de la capa eufótica (>1% de irradiancia superficial) está indicada por una línea discontinua.

4.3.2. Clorofila *a* y composición de las especies de fitoplancton

Se encontraron bajas concentraciones de Cla ($<0.9 \text{ mg m}^{-3}$) durante la mayor parte del transecto (Figura 4.3). Los valores mínimos se midieron en los giros oligotróficos norte y sur (NAST y SATL), donde las concentraciones fueron $<0.1 \text{ mg m}^{-3}$. En las latitudes más bajas, el máximo profundo de Cla se encontró en la base de la capa eufótica, como ha sido descrito en trabajos previos (Marañón et al. 2000). Este máximo presentó valores de Cla $>0.2 \text{ mg m}^{-3}$ y fue más profundo en SATL que en NAST, como consecuencia de la localización de la termoclina a una mayor profundidad en el giro oligotrófico sur. La región de afloramiento de CNRY y la zona ecuatorial de ETRA presentaron concentraciones de Cla ligeramente superiores a las medidas en los giros oligotróficos, encontrándose los valores máximos cerca de la superficie ($>0.5 \text{ mg m}^{-3}$). Sin embargo, los valores más altos de Cla medidos a lo largo del transecto se encontraron en NADR, provincia biogeoquímica caracterizada por un máximo de Cla subsuperficial.

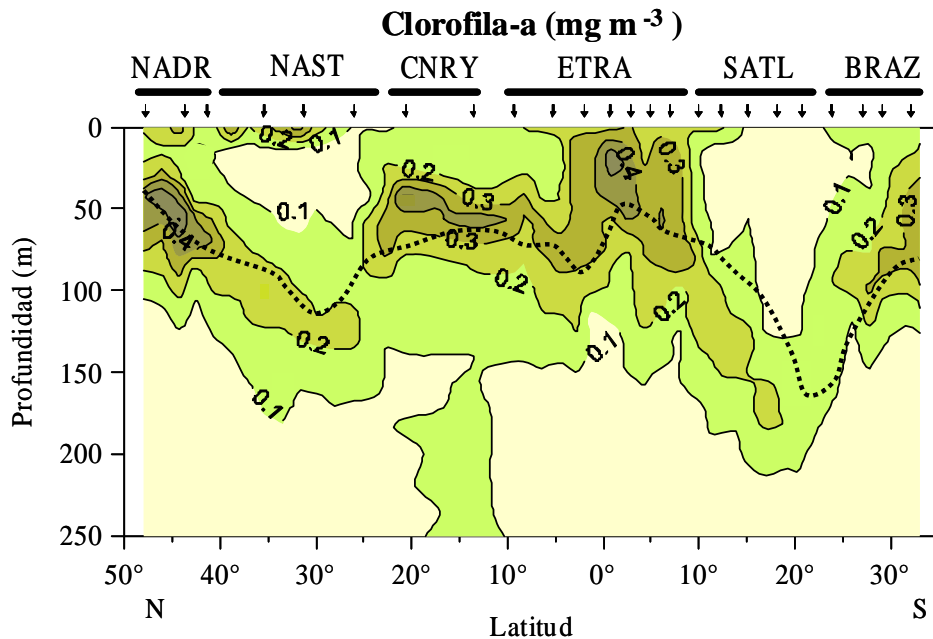


Figura 4.3. Distribución espacial de la concentración de clorofila *a* a lo largo del transecto AMT-11. Las flechas y las barras indican las estaciones muestreadas y la extensión de cada provincia biogeoquímica, respectivamente. La profundidad de la capa eufótica ($>1\%$ de irradiancia superficial) está indicada por una línea discontinua.

Los dinoflagelados de pequeño tamaño ($<30 \mu\text{m}$) dominaron la comunidad de nano- y microplancton en todas las provincias biogeoquímicas, con valores medios que excedían $60 \text{ células ml}^{-1}$ en ETRA (Tabla 4.3). Las diatomeas, aunque estuvieron siempre presentes, fueron menos abundantes que los dinoflagelados.

Tabla 4.3. Abundancia media (\pm error estándar, EE, sep m^{-1}) de las principales especies de fitoplancton. Las estaciones de muestreo se agruparon en las 6 provincias biogeoquímicas atravesadas durante el transecto AMT-11. n = número de muestras.

	NADR			NAST			CNRY			ETRA			SATL			BRAZ		
	media	EE	n	media	EE	n	media	SE	n	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n
DINOPHYCEAE																		
<i>Cachonina hallii</i>	2.71	1.31	8	1.32	0.37	16	0.92	0.20	13	1.47	0.00	31	1.99	0.00	12	1.14	0.00	8
Dinoflagelados >30 μm	0.92	0.16	8	0.59	0.04	16	1.03	0.25	13	0.58	0.25	31	0.48	0.97	12	0.59	0.23	8
Dinoflagelados <30 μm	46.33	4.33	8	11.63	1.01	16	26.73	3.49	13	60.36	4.92	31	23.53	0.02	12	34.11	3.35	8
<i>Gonyaulax polygramma</i>	1.13	1.12	8	0.00	0.00	16	0.00	0.00	13	0.00	0.00	31	0.03	0.00	12	0.00	0.00	8
<i>Oxytoxum coronatum</i>	0.12	0.12	8	0.04	0.04	16	0.37	0.05	13	1.54	0.01	31	0.42	0.00	12	0.62	0.02	8
<i>Prorocentrum balticum</i>	1.63	1.29	8	0.34	0.14	16	0.20	0.18	13	0.38	0.00	31	0.08	0.00	12	1.05	0.36	8
<i>Prorocentrum dentatum</i>	0.00	0.00	8	0.03	0.02	16	0.09	0.07	13	0.79	0.19	31	0.08	0.00	12	0.03	0.00	8
<i>Prorocentrum minimum</i>	0.92	0.36	8	0.07	0.04	16	0.21	0.11	13	0.03	0.00	31	0.12	0.07	12	0.58	0.41	8
<i>Torodinium robustum</i>	0.25	0.08	8	0.15	0.06	16	0.24	0.02	13	1.07	0.00	31	0.26	0.08	12	0.20	0.06	8
DIATOMOPHYCEAE																		
<i>Chaetoceros</i> spp.	0.00	0.00	8	0.02	0.01	16	0.25	0.11	13	0.04	0.00	31	0.03	0.02	12	0.53	0.31	8
<i>Climacodium frauenfeldianum</i>	0.00	0.00	8	0.00	0.00	16	1.71	1.61	13	0.00	0.01	31	0.00	0.00	12	0.00	0.00	8
Diatomeas pennadas >30 μm	0.00	0.00	8	0.00	0.00	16	0.05	0.03	13	0.19	0.57	31	0.10	0.03	12	0.08	0.01	8
Diatomeas pennadas <30 μm	0.02	0.02	8	0.04	0.04	16	0.35	0.35	13	1.12	0.93	31	0.05	0.03	12	0.19	0.07	8
<i>Neodelphineis</i> sp.	1.87	0.82	8	0.33	0.28	16	0.50	0.39	13	0.08	0.17	31	0.00	0.00	12	0.34	0.24	8
<i>Nitzschia bicapitata</i>	0.12	0.12	8	0.16	0.07	16	0.13	0.08	13	2.38	1.23	31	1.02	0.22	12	0.37	0.01	8
<i>Nitzschia longissima</i>	1.82	0.49	8	0.03	0.01	16	2.72	0.28	13	0.95	0.02	31	0.00	0.00	12	1.27	0.78	8
<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatisima</i>	0.17	0.10	8	0.02	0.01	16	0.22	0.06	13	0.87	0.02	31	0.18	0.07	12	0.05	0.03	8
<i>Pseudo-nitzschia turgidula</i>	1.92	1.77	8	0.03	0.02	16	0.06	0.06	13	0.31	0.00	31	0.02	0.01	12	0.16	0.06	8
<i>Rhizosolenia fragilissima</i>	0.00	0.00	8	0.00	0.00	16	0.08	0.07	13	0.02	0.00	31	0.00	0.00	12	0.65	0.46	8
FLAGELADOS																		
Mónadas >8 μm	85.07	10.27	8	10.81	1.37	16	12.50	2.24	13	18.92	0.00	31	6.91	0.22	12	32.02	14.13	8
PRYMNESIOPHYCEAE																		
<i>Phaeocystis pouchetii</i>	0.80	0.58	8	0.00	0.00	16	0.42	0.42	13	0.28	0.18	31	0.00	0.00	12	0.72	0.51	8
CRYPTOPHYCEAE																		
<i>Cryptomonas</i> spp.	20.20	1.40	8	1.95	0.47	16	4.25	0.45	13	9.16	0.49	31	1.49	0.22	12	3.16	1.44	8

Las especies formadores de largas cadenas como *Climacodium frauenfeldianum* y *Nitzschia longissima*, así como las células aisladas de *Nitzschia bicapitata* fueron las diatomeas más abundantes (hasta $\sim 3 \text{ cél ml}^{-1}$) en la región de afloramiento de CNRY y la zona ecuatorial de ETRA (Tabla 4.3). Los flagelados y las criptoficeas estuvieron también presentes en cantidades significativas, mostrando los valores más altos de abundancia (85 y 20 cél. ml^{-1}) en NADR.

La abundancia de *Synechococcus* (Figura 4.4) fue generalmente baja en aguas oligotróficas, como en NAST y en la zona de transición entre ETRA y SATL ($< 3 \times 10^3 \text{ cél ml}^{-1}$), pero alcanzó altos valores ($> 50 \times 10^3 \text{ cél ml}^{-1}$) en aquellas zonas con concentraciones de Cla relativamente elevadas (particularmente en las estaciones del afloramiento de CNRY y las aguas ecuatoriales de ETRA). Tanto la distribución como los valores de abundancia concuerdan con los datos previamente publicados, obtenidos por citometría de flujo (Zubkov et al. 1998). Sin embargo, en nuestro estudio se detectaron diferencias en la abundancia de *Synechococcus* entre los giros oligotróficos norte y sur. Mientras que en NAST los valores de abundancia fueron bajos en la mayor parte de las estaciones, en SATL variaron desde < 2 hasta $> 20 \text{ cél ml}^{-1}$, con un incremento hacia el centro del giro y un descenso hacia el límite con BRAZ (Figura 4.4).

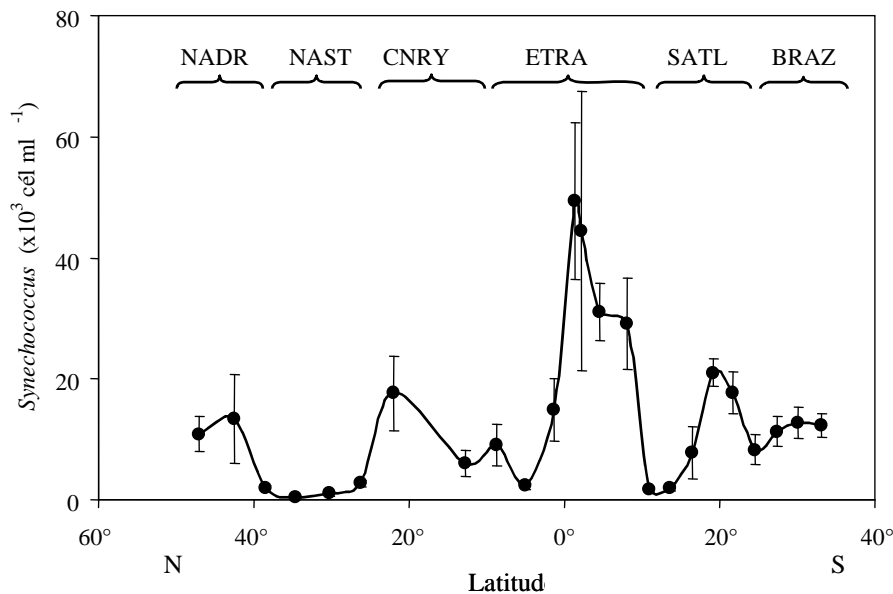


Figura 4.4. Distribución media (\pm EE) de la abundancia de *Synechococcus* ($\times 10^3 \text{ cél ml}^{-1}$) en la zona eufótica durante el transecto AMT-11. Se indica la extensión de las provincias biogeoquímicas.

4.3.3. Tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD: variabilidad vertical.

Las tasas de absorción de amonio (ρNH_4^+) fueron, generalmente, más elevadas en la superficie o en las capas intermedias de la columna de agua que en la base de la zona eufótica (Figura 4.5). Los valores máximos, a menudo, no excedían de $2 \text{ nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, aunque llegaron a alcanzar hasta $8 \text{ nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en algunas estaciones de NADR. Por el contrario, los valores más altos de absorción de nitrato (ρNO_3^-) se encontraron en la base de la capa eufótica. Por su parte, la distribución vertical de las tasas de absorción de urea (ρUrea) presentó un patrón intermedio entre las descritas para el NH_4^+ y el NO_3^- , aunque generalmente su valor decrecía con la profundidad. Los valores de ρUrea fueron, en general, $<5 \text{ nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, exceptuando algunas estaciones de ETRA y BRAZ donde alcanzaron hasta 24 y 18 $\text{nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Se encontró una correlación positiva y significativa entre las tasas de absorción de nitrógeno y cada uno de los tipos de sustratos ($r = 0.677$, $p < 0.001$, $n = 67$; $r = 0.916$, $p < 0.001$, $n = 56$; $r = 0.821$, $p < 0.001$, $n = 70$, para NH_4^+ , NO_3^- y urea, respectivamente). En todos los casos las tasas de absorción de nitrógeno siempre excedieron a las de liberación de NOD.

Los perfiles verticales de rNOD (Figura 4.6) mostraron un patrón similar al descrito para la absorción de nitrógeno en cada una de las provincias biogeoquímicas estudiadas. Por su parte, las tasas de rNOD también se correlacionaron significativamente con cada uno de los sustratos utilizados ($r = 0.829$, $p < 0.001$, $n = 67$; $r = 0.734$, $p < 0.001$, $n = 56$; $r = 0.648$, $p < 0.001$, $n = 70$, para NH_4^+ , NO_3^- y urea, respectivamente). Las tasas de liberación de NOD a partir de la absorción de NH_4^+ ($\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$) o urea ($\text{rNOD}^{\text{Urea}}$) fueron menores que las medidas a partir de incubaciones con NO_3^- ($\text{rNOD}^{\text{NO}_3^-}$) (hasta $59 \text{ nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$; t-Student, $p < 0.001$, $n = 225$). La tasa promedio de rNOD (\pm error estándar, EE) fue 0.30 ± 0.04 , 3.40 ± 0.92 y $1.74 \pm 0.24 \text{ nmol l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, para NH_4^+ , NO_3^- y urea, respectivamente ($n = 75$).

La distribución vertical de PLE (Figura 4.7) mostró diferentes patrones dependiendo del componente nitrogenado considerado. Los valores de PLE resultantes de la absorción de amonio y urea ($\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ y PLE^{Urea} , respectivamente) generalmente aumentaban en profundidad. En contraste, el PLE a partir de la utilización de NO_3^- ($\text{PLE}^{\text{NO}_3^-}$) no mostró ningún patrón vertical claramente definido, excepto en NAST y SATL donde los valores decrecían ligeramente en profundidad. En todos los casos, el valor promedio de $\text{PLE}^{\text{NO}_3^-}$ (42 %) fue significativamente superior al $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ o PLE^{Urea} (22 y 26 %, respectivamente, t-Student, $p < 0.001$, $n = 210$).

En conjunto, la liberación de NOD mostró un patrón similar a la distribución de Cla. Así, la absorción de nitrógeno y la liberación de NOD se correlacionaron con Cla y NOP (Tabla 4.4). Por el contrario, no se encontró correlación entre Cla o NOP y PLE para ninguno de los sustratos utilizados.

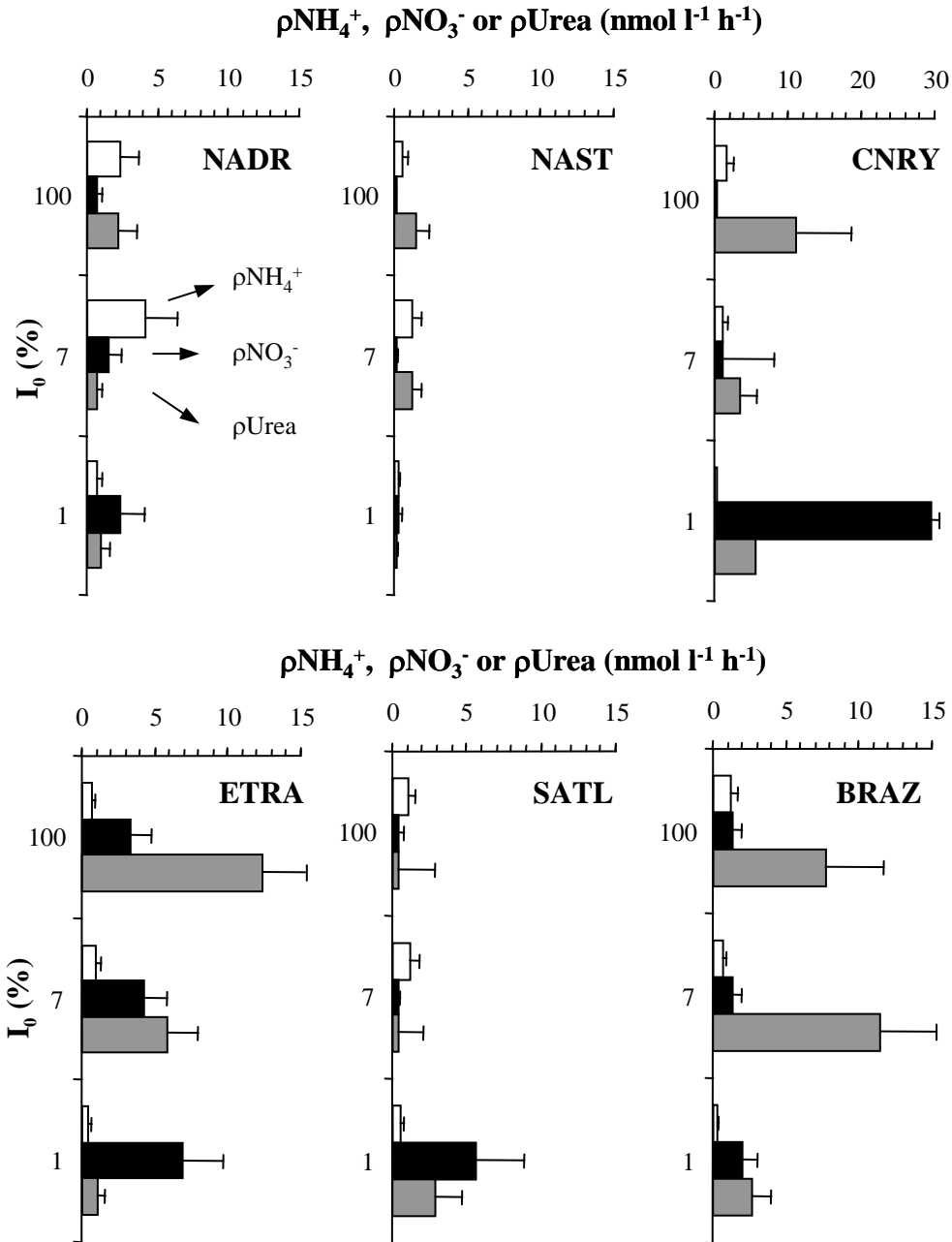


Figura 4.5. Distribución vertical de las tasas promedio (\pm EE) de absorción de NH_4^+ (barras blancas), NO_3^- (barras negras) y urea (barras grises) en las diferentes provincias biogeoquímicas estudiadas (ver Figura 4.1). I_0 : irradiancia expresada como porcentaje de la irradiancia superficial. Nótese que la escala del eje X en el gráfico de la provincia biogeoquímica CNRY es diferente a la escala utilizada en el resto de las otras provincias. El número de casos promedio de cada barra se corresponde con el número de estaciones de cada provincia (ver Figura 4.2).

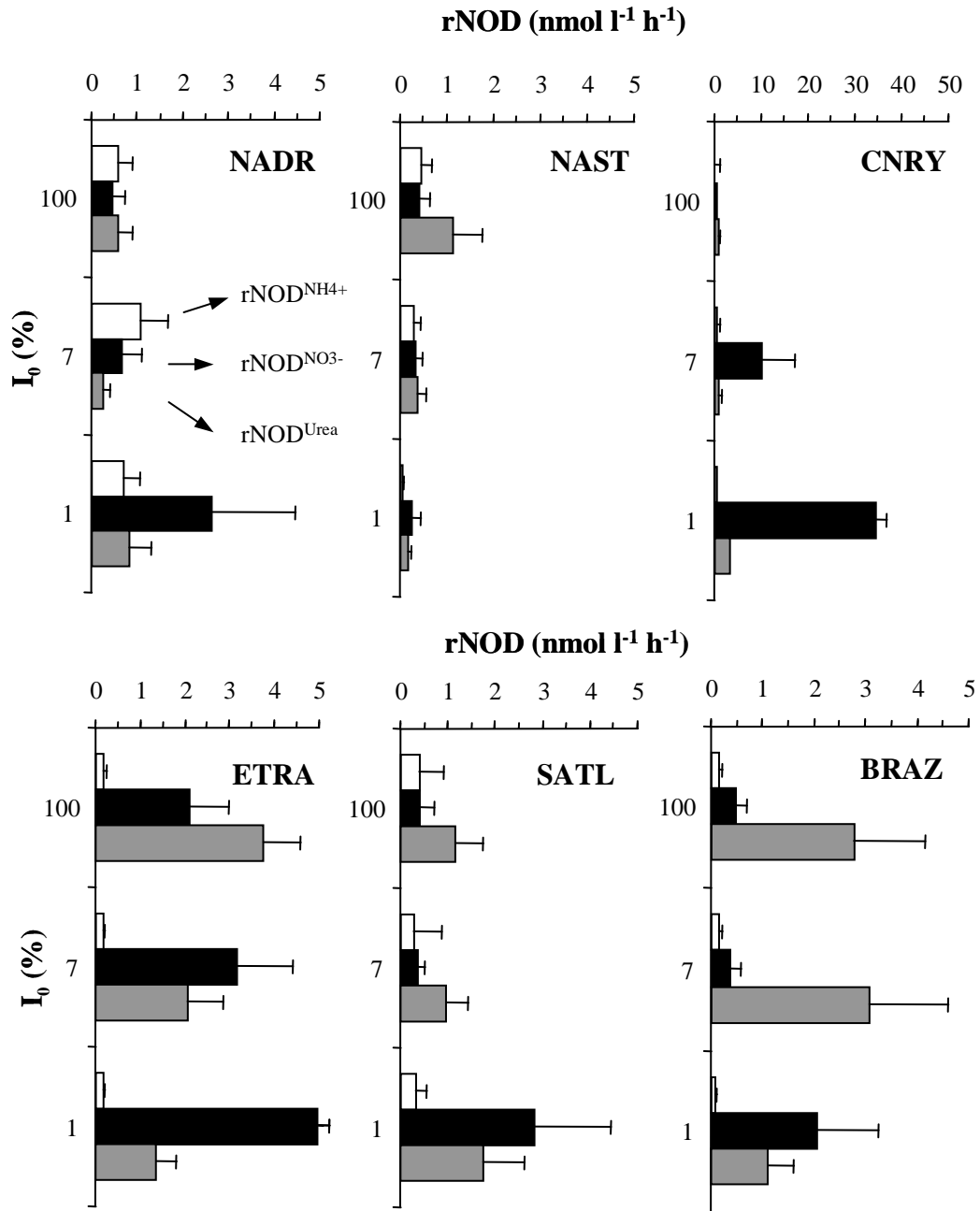


Figura 4.6. Distribución vertical de las tasa promedio (\pm EE) de liberación de NOD a partir de incubaciones con NH_4^+ (barras blancas), NO_3^- (barras negras) y urea (barras grises) en las diferentes provincias biogeoquímicas estudiadas (ver Figura 5.1). I_0 : irradiancia expresada como porcentaje de la irradiancia superficial. Nótese que la escala del eje X en el gráfico de la provincia biogeoquímica CNRY es diferente a la escala utilizada en el resto de las otras provincias. El número de casos como en la Figura 4.5.

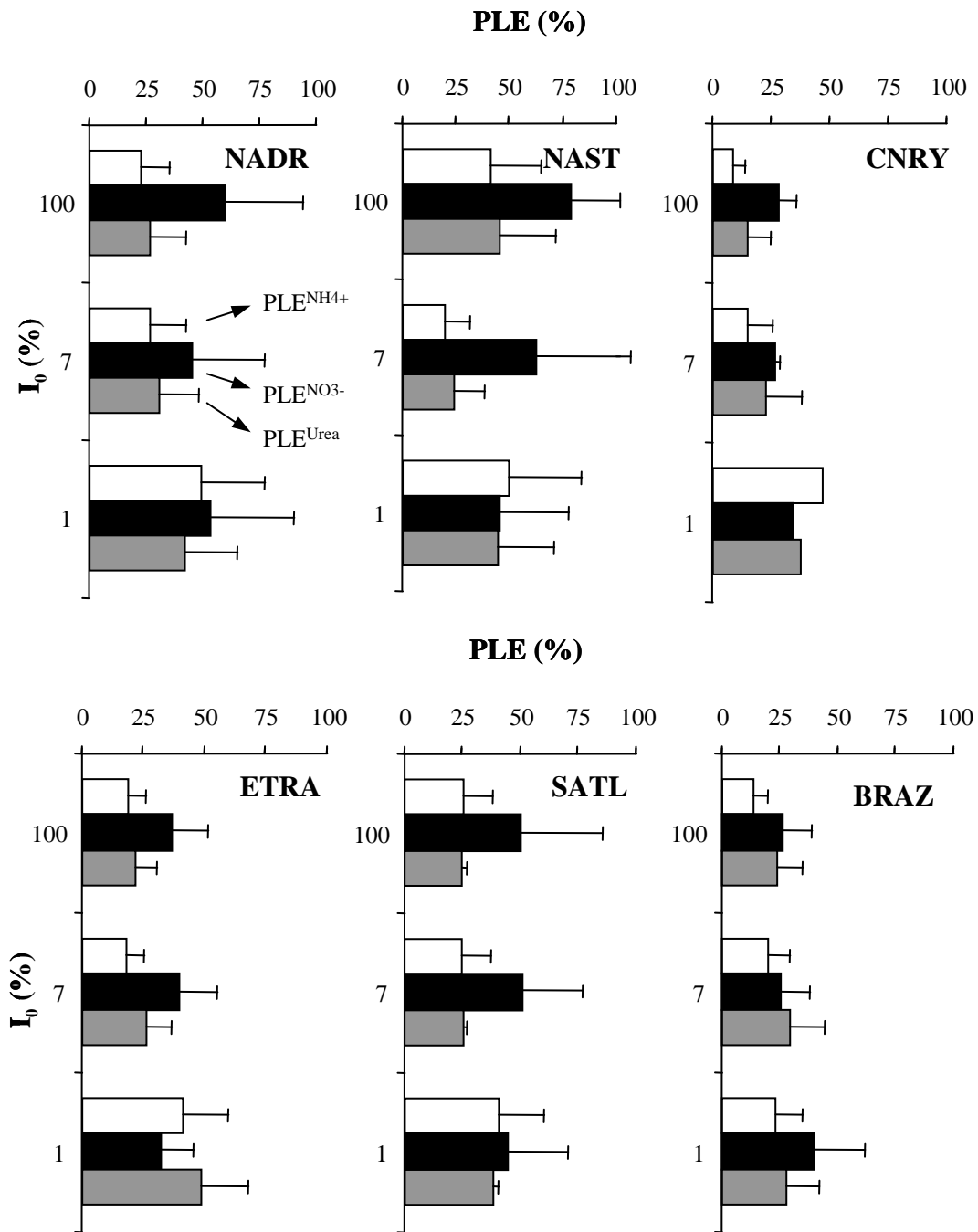


Figura 4.7. Distribución vertical de los valores medios (\pm EE) del porcentaje de liberación extracelular de NOD (PLE) con respecto a la absorción de NH_4^+ (barras blancas), NO_3^- (barras negras) y urea (barras gris) en las diferentes provincias biogeoquímicas estudiadas (ver Figura 5.1). I_0 : irradiancia expresada como porcentaje de la irradiancia superficial. El número de casos como en la Figura 4.5.

4.3.4. Concentraciones y tasas de absorción de nitrógeno, y liberación de NOD: variabilidad latitudinal.

Las concentraciones medias de NID integradas en la capa eufótica fueron bastante variables a lo largo del transecto, desde 13 mmol N m⁻² en el giro oligotrófico sur (SATL) hasta >400 mmol N m⁻² en el afloramiento de CNRY y en la región ecuatorial de ETRA (Tabla 4.5). Las concentraciones de urea integradas en la capa eufótica presentaron un rango de variación menor, desde 16 mmol N m⁻² medidos en NAST hasta 41 mmol N m⁻² encontrados en SATL. Aunque siempre se detectaron concentraciones de NH₄⁺, la contribución media del NH₄⁺ a la concentración total de nitrógeno integrada en la capa eufótica fue generalmente baja durante la mayor parte del transecto, mostrando su mayor contribución (20 %) en la región templada norte (NADR). En contraste, NO₃⁻ y urea presentaron una mayor contribución a la concentración total de nitrógeno que el NH₄⁺ (Figura 4.8). Así, el NO₃⁻ fue la principal fuente de nitrógeno inorgánico disponible en la mayor parte de las estaciones del Atlántico norte, llegando a alcanzar >90 % de la concentración total de nitrógeno en las regiones de CNRY y ETRA. La urea mostró su máxima contribución a la concentración total de nitrógeno en aguas del Atlántico sur (hasta 70 % en SATL).

La absorción total de nitrógeno mostró una distribución latitudinal similar a la encontrada para Cla (Tabla 4.5). Las concentraciones máximas se detectaron en el afloramiento de CNRY (valor medio 2431 mmol N m⁻²), mientras que las mínimas se encontraron en el giro oligotrófico norte (NAST, 212 mmol N m⁻²). Por su parte, la contribución relativa de ρNO₃⁻ a la absorción total de nitrógeno (Figura 4.8) presentó los valores más elevados en las estaciones del afloramiento de CNRY (78 %) y las aguas ecuatoriales de ETRA (58 %). En contraste, ρUrea representó ~ 80 % de la absorción total de nitrógeno en aguas del Atlántico sur, particularmente en BRAZ. Se observó un claro patrón latitudinal para el índice-*f'* integrado en la capa eufótica, con valores entre 0.8, en el afloramiento de CNRY, y 0.1, en el giro oligotrófico norte (Tabla 4.5). Las tasas integradas de rNOD se correlacionaron significativamente ($r = 0.770$, $p < 0.001$, $n = 20$) con la absorción total de nitrógeno integrada en la capa eufótica, indicando un buen acoplamiento entre ambas tasas a lo largo del transecto latitudinal. Además, las contribuciones relativas de NH₄⁺, NO₃⁻ y urea a la tasa total de rNOD integrada en la capa eufótica fueron paralelas a las descritas para la absorción de nitrógeno en cada una de las 6 provincias biogeoquímicas estudiadas (Figura 4.8).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores medios de las tasas totales de absorción de nitrógeno y liberación de NOD al comparar los valores medios de las regiones de afloramiento y ecuatoriales (CNRY y ETRA, respectivamente) con los valores medidos en otras regiones (ANOVA y test de Duncan, $p < 0.05$). Sin embargo, no se encontraron diferencias entre estas variables al comparar los valores medidos en las provincias templadas (NADR y BRAZ) y oligotróficas (NAST y SATL).

Tabla 4.5. Concentraciones medias de las masas de nitrógeno (mmol m^{-2}), clorofila a (mg m^{-2}) y flujos de nitrógeno ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$) y carbono (PP, $\text{mg C m}^{-2} \text{d}^{-1}$) integrados en la capa eufótica. Las estaciones de muestreo se agruparon en las 6 provincias biogeoquímicas atravesadas durante el transecto AMT-11.

Provincia:	NADR			NAST			CNRV			ETRA			SATL			BRAZ		
Profundidad media de integración (m):	60			110			80			80			140			90		
	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n
NH_4^+	18.7	4.1	3	5.2	3.8	3	0.8	0.0	2	0.8	0.0	7	1.4	0.1	5	1.1	0.1	4
$\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$	52.5	40.3	3	50.0	12.1	3	399.3	289.1	2	453.4	145.4	7	13.2	4.9	5	20.3	7.5	4
NID	71.2	44.4	3	55.2	15.9	3	400.1	289.1	2	454.2	145.4	7	14.6	4.8	5	21.4	7.4	4
Urea	19.2	11.8	3	16.4	2.9	3	29.4	3.0	2	34.3	4.4	7	33.1	8.5	5	41.6	10.4	4
NOP	50.5	6.6	3	56.6	6.4	3	48.9	2.3	2	57.6	2.2	7	77.6	6.4	5	66.8	2.8	4
NOD	233.9	66.8	3	388.1	18.7	3	550.7	125.5	2	427.6	32.1	7	732.6	56.0	5	406.2	84.3	4
Cla	19.1	1.3	3	15.7	0.6	3	22.5	0.3	2	21.3	1.0	7	18.3	1.2	5	26.2	0.4	4
% Cla < 2 μm	61.1	9.0	3	72.9	2.5	3	58.4	10.9	2	65.3	3.2	7	76.3	1.6	5	66.3	3.5	4
PP	208.7	16.5	3	157.2	3.5	3	640.8	0.0	1	626.4	145.6	6	179.4	17.2	5	458.7	124.0	3
% PP < 2 μm	44.4	10.2	3	50.7	2.6	3	67.5	0.0	1	63.9	2.8	6	48.1	4.3	5	58.6	3.8	3
ρNH_4^+	164.5	96.2	3	81.0	11.9	3	79.0	0.8	2	61.1	12.8	7	123.8	33.4	4	56.1	6.6	3
ρNO_3^-	39.0	25.8	3	21.5	6.7	3	1900.7	929.8	2	381.2	192.2	5	135.9	106.2	4	104.8	39.3	4
ρUrea	78.5	30.7	3	109.9	9.6	3	451.5	117.4	2	522.2	99.5	7	478.8	108.0	5	642.8	255.7	4
$\rho\text{NOP}^{\text{total}}$	282.0	87.2	3	212.4	15.8	3	2431.2	1048.0	2	910.5	162.4	5	590.8	158.1	4	803.7	297.1	4
f° ratio	0.2	0.1	3	0.1	0.0	3	0.8	0.1	2	0.4	0.1	5	0.2	0.2	4	0.2	0.0	4
$\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$	42.9	11.1	3	26.5	4.1	3	14.8	6.9	2	12.9	2.0	7	36.4	4.0	5	9.3	2.2	4
$\text{rNOD}^{\text{NO}_3^-}$	41.0	17.9	3	33.1	8.0	3	867.3	596.1	2	346.9	131.3	7	88.9	35.9	5	47.4	28.4	4
$\text{rNOD}^{\text{Urea}}$	29.3	9.1	3	52.4	6.6	3	84.2	46.3	2	158.1	29.9	7	151.8	17.0	5	233.6	63.5	4
$\text{rNOD}^{\text{total}}$	113.2	30.5	3	112.0	5.2	3	966.3	542.9	2	517.9	128.8	7	277.1	38.7	5	290.3	85.2	4
$\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$	26.7	5.9	3	24.8	3.2	3	15.3	6.3	2	21.3	5.0	7	26.3	5.6	4	14.3	2.8	3
$\text{PLE}^{\text{NO}_3^-}$	60.2	20.9	3	60.5	16.2	3	28.0	6.1	2	39.4	7.3	5	49.0	6.7	4	24.2	5.5	4
PLE^{Urea}	28.6	2.3	3	32.1	1.5	3	17.2	10.9	2	23.7	1.8	7	24.3	4.0	5	31.6	4.9	4
$\text{PLE}^{\text{total}}$	28.7	1.9	3	34.6	2.4	3	28.4	3.4	2	28.8	6.3	5	38.0	11.3	4	28.3	3.1	3

El PLE integrado en la capa eufótica presentó los valores máximos en el océano oligotrófico, en particular, en el giro oligotrófico norte (NAST) a partir de absorción de NO_3^- (60%) y urea (32%), y en el giro oligotrófico sur (SATL) a partir de NH_4^+ (26%). Los valores mínimos de PLE se registraron en el afloramiento de CNRY a partir de absorción de NH_4^+ (15%) y urea (17%), y en la zona templada sur (BRAZ) a partir de NO_3^- (24%) (Tabla 4.5). Este patrón contrasta con lo que se describió previamente para la absorción de nitrógeno y liberación de NOD a lo largo del transecto.

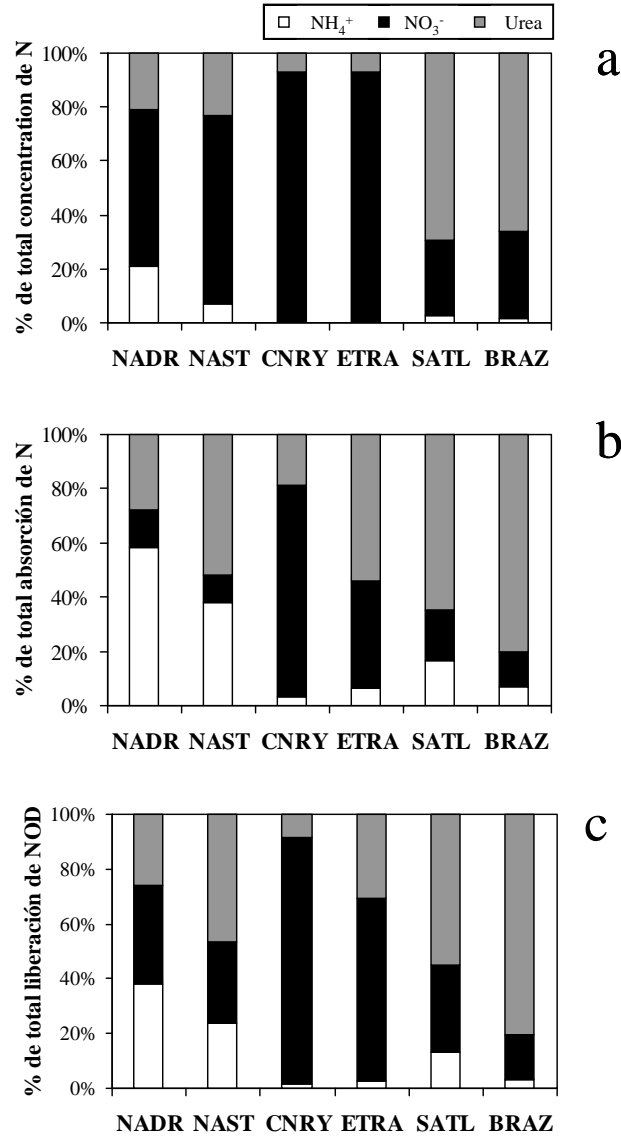


Figura 4.8. Valores medios de la contribución relativa (%) de NH_4^+ (barras blancas), NO_3^- (barras negras) y urea (barras grises) a (a) la concentración total de N, (b) absorción total de N y (c) liberación total de NOD. Las estaciones de muestreo se agruparon en las 6 provincias biogeoquímicas atravesadas durante la campaña AMT-11. número de casos como en la Figura 4.5.

4.3.5. Relaciones entre la absorción de nitrógeno, la liberación de NOD y la estructura de tamaños del fitoplancton.

Las relaciones entre la estructura de tamaños de fitoplancton y las tasas de absorción de amonio, $rNOD$ y PLE se estudiaron utilizando un diagrama producción/biomasa (P-B) similar al propuesto por Tremblay y Legendre (1994). Los valores de las tasas de absorción de amonio, $rNOD$ y PLE se proyectaron sobre el diagrama P-B, que representa la contribución de las células pequeñas ($<2 \mu m$) a la biomasa (indicada como clorofila *a*) o a la producción primaria total (Figura 4.9). Dado que la distribución de la absorción total de nitrógeno (ρNOP^{total}), liberación de NOD ($rNOD^{total}$) y PLE (PLE^{total}) sobre el diagrama P-B fue similar a la obtenida para cada una de las fuentes nitrogenadas consideradas individualmente, sólo se presentan los resultados utilizando las tasas totales. El procedimiento es similar al utilizado en trabajos previos para estudiar la relación entre las tasas de producción de COD y liberación de NOD con la estructura de tamaños del fitoplancton (Teira et al. 2001b, 2003, Varela et al. 2003b).

La distribución de la estructura de tamaños del fitoplancton en todas las provincias se caracterizó por la dominancia de las células $<2 \mu m$, las cuales contribuyeron, en promedio, $>50\%$ a la biomasa y producción primaria total (Tabla 4.5). Sin embargo, la contribución de las células pequeñas a la biomasa total generalmente excedía su contribución a la producción primaria total. La falta de correspondencia entre la contribución relativa a la biomasa y a la producción primaria total fue mayor en las provincias subtropicales de ambos hemisferios (NAST y SATL), donde, en promedio, las células pequeñas representaron $\sim 50\%$ de la producción primaria total y $\sim 75\%$ de la biomasa total (Figura 4.9). En contraste, en las provincias templadas (NADR y BRAZ) la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción primaria total fue similar (~ 60 y 50% , respectivamente), y también en las regiones de afloramiento y ecuatoriales, donde la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción primaria total fue $\sim 60\%$ (Figura 4.9).

Los valores más bajos de ρNOP^{total} y $rNOD^{total}$ se encontraron cuando la contribución relativa de las células pequeñas a la biomasa total excedía su correspondiente contribución a la producción primaria total (esquina inferior-derecha del diagrama P-B de la Figura 4.9). Por el contrario, las tasas de ρNOP^{total} y $rNOD^{total}$ se incrementaban a medida que la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción primaria total se aproximaba (ρNOP^{total} y $rNOD^{total}$ se incrementaban hacia la línea discontinua en la Figura 4.9a y b). Como consecuencia, el PLE^{total} fue máximo ($>50\%$) en aquellas situaciones donde la contribución de las células pequeñas a la biomasa total excedía considerablemente su contribución a la producción primaria total (hacia la esquina inferior-derecha de la Figura 4.9c), y mínimo ($<30\%$) donde la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción era similar. A pesar de este patrón general de distribución, la alta variabilidad de los valores medidos a lo largo del transecto latitudinal hace difícil encontrar relaciones más precisas entre las

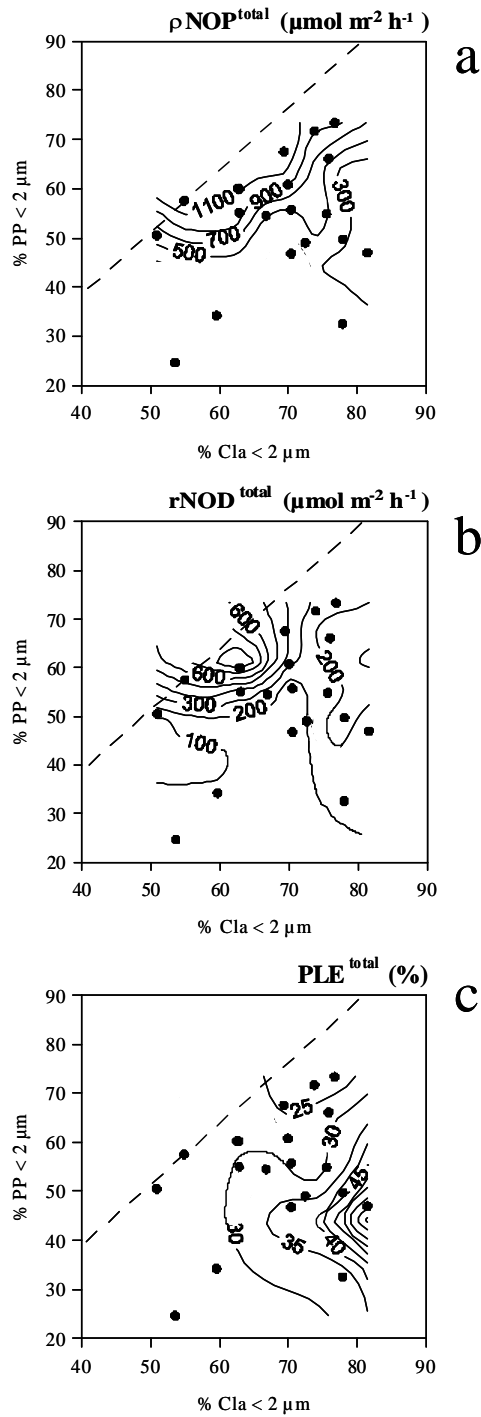


Figura 4.9. Diagramas producción-biomasa sobre los que se han superpuesto gráficos de isolíneas que representan la distribución de (a) absorción total de nitrógeno (ρNOP , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$), (b) liberación total de NOD ($r\text{NOD}$, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{h}^{-1}$), y (c) porcentaje de liberación de NOD con respecto a la incorporación total de N (PLE, %). Los ejes X e Y representan, respectivamente, la contribución del fitoplancton $<2\mu\text{m}$ al total de la biomasa, expresada como concentración de clorofila *a*, y a la producción primaria total. La línea discontinua indica una contribución equivalente de las células $<2\mu\text{m}$ a la biomasa y a la producción.

tasas de absorción de nitrógeno, liberación de NOD, o la estructura de tamaños de la comunidad de fitoplancton. Por ejemplo, se encontró una correlación negativa entre $\rho\text{NOP}^{\text{total}}$ o $r\text{NOD}^{\text{total}}$ y la contribución de las células $<2 \mu\text{m}$ a la biomasa de Cla total ($r = -0.476$ y -0.474 para $\rho\text{NOP}^{\text{total}}$ y $r\text{NOD}^{\text{total}}$, respectivamente; $n = 21$, $p < 0.05$), sin embargo, no se encontró correlación entre estas variables y la contribución de las células $<2 \mu\text{m}$ a la producción primaria total. Del mismo modo, tampoco se encontró correlación entre $\text{PLE}^{\text{total}}$ y la contribución relativa de las células $<2 \mu\text{m}$ a la biomasa o a la producción.

Con el objetivo de ilustrar la variación latitudinal de $\text{PLE}^{\text{total}}$ con la estructura de tamaños del fitoplancton, se calculó una regresión lineal usando $\text{PLE}^{\text{total}}$ como variable dependiente (y) y la contribución de las células $<2 \mu\text{m}$ a la biomasa y a la producción primaria como variables independientes (x_1 y x_2 , respectivamente), teniendo en cuenta que las variables independientes no están correlacionadas ($p > 0.05$, $n = 21$). Se usó un método de regresión robusta (Least Trimmed Squares, LTS, Venables y Ripley 1997) para evitar el efecto de valores atípicos extremos en la estimación de los parámetros de la regresión. Los porcentajes de los valores originales de $\text{PLE}^{\text{total}}$ se transformaron calculando la raíz cuadrada, de acuerdo con las recomendaciones de Sokal y Rohlf (1981). La ecuación resultante ($y = 8.863 + 0.417x_1 - 0.919x_2$, $r^2 = 0.707$), usando 12 de los 21 puntos iniciales, nos permitió la estimación de los valores de $\text{PLE}^{\text{total}}$ a partir de la estructura de tamaños de fitoplancton. La mayoría de los valores de $\text{PLE}^{\text{total}}$ estimados se encuentran dentro del 10% de los valores de $\text{PLE}^{\text{total}}$ medidos, exceptuando algunas estaciones (Figura 4.10). Las desviaciones máximas entre los valores de $\text{PLE}^{\text{total}}$ medidos y estimados generalmente se encontraron en las provincias del Atlántico sur, particularmente en ETRA y SATL. Estas desviaciones estaban frecuentemente asociadas con estaciones donde la falta de correspondencia entre la contribución relativa de las células $<2 \mu\text{m}$ a la biomasa y a la producción primaria era elevada (como en SATL y una de las estaciones de NADR). Sin embargo, se encontró una buena estimación de $\text{PLE}^{\text{total}}$ a partir de la ecuación de regresión en NAST (la diferencia entre los valores de $\text{PLE}^{\text{total}}$ medidos y estimados fue $<5\%$), a pesar de que la contribución del fitoplancton de pequeño tamaño a la clorofila a excedía en más de un 20 % su contribución a la producción primaria total (Figura 4.10).

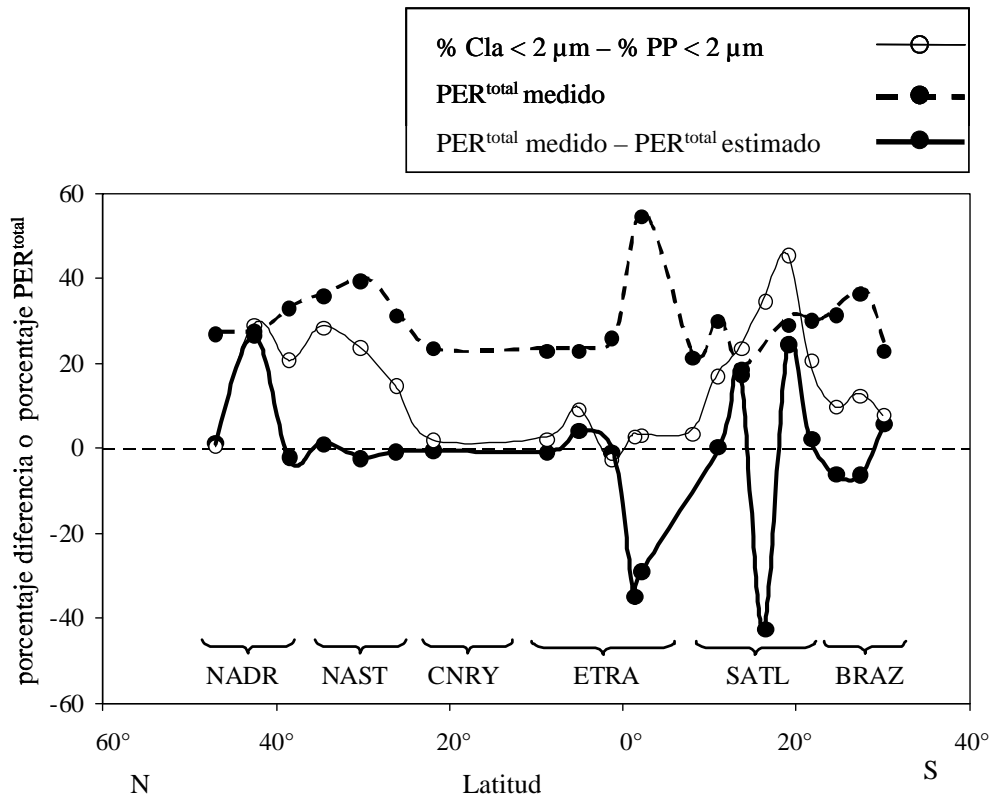


Figura 4.10. Distribución latitudinal de los valores de PLE medidos integrados en la capa eufótica (línea gruesa punteada, círculos cerrados) y diferencia entre los valores de PLE medidos y estimados a partir de una ecuación de regresión usando la contribución de las células $<2\mu\text{m}$ a la biomasa ($\% \text{Cla} < 2\mu\text{m}$) y a la producción primaria ($\% \text{PP} < 2\mu\text{m}$) durante el transecto AMT-11 (línea trazo fino, círculos cerrados). La ecuación de regresión se estimó a partir de una regresión robusta (LSP, ver detalles en el texto). También se representa la falta de correspondencia entre la contribución de las células $<2\mu\text{m}$ a la biomasa y a la producción primaria ($\% \text{Cla} < 2\mu\text{m} - \% \text{PP} < 2\mu\text{m}$) en cada estación (línea de trazo fino, círculos abiertos).

4.4. DISCUSIÓN.

4.4.1. Absorción de nitrógeno.

La agrupación de las estaciones de muestreo de este estudio en provincias biogeoquímicas siguiendo el criterio definido por Longhurst (1998), ha sido empleada en otras investigaciones llevadas a cabo en el Océano Atlántico para describir varios procesos biológicos (ej. Marañón et al. 2000, Zubkov et al. 2000, Teira et al. 2001b). Teniendo en cuenta que los límites entre las diferentes provincias biogeoquímicas descritas están de acuerdo con los definidos exclusivamente a partir de medidas de hidrografía (Hooker et al. 2000), este tipo de agrupaciones es útil para construir tanto modelos como balances globales de la materia en general, y en particular del nitrógeno. En este sentido, los resultados de absorción de nitrógeno y liberación de NOD descritos

en este estudio son los primeros que cubren un amplio rango de provincias biogeoquímicas y consideran las principales fuentes nitrogenadas (NH_4^+ , NO_3^- y urea) simultáneamente.

Nuestros resultados concuerdan bien con los valores de ρNO_3^- y ρNH_4^+ previamente publicados para el océano Atlántico (Tabla 4.6). Sin embargo, la comparación de las estimaciones de las tasas de absorción de nitrógeno obtenidas en diferentes estudios depende en gran medida de la variabilidad geográfica y temporal de cada uno de los estudios considerados, así como de las diferentes metodologías. Por ejemplo, experimentos con incubaciones largas (24 h) generalmente dan lugar a estimaciones de las tasas de absorción inferiores a las que se obtienen en experimentos con incubaciones cortas (<6 h), probablemente debido al reciclado de las fuentes nitrogenadas en las primeras (Donald et al. 2001). Considerando únicamente las tasas derivadas de incubaciones cortas, en las cuales se espera que el reciclado sea menor (Bronk y Ward 2000, Slawyk et al. 2000), nuestros resultados amplían el límite inferior del rango de valores de ρNO_3^- y ρNH_4^+ publicados para las provincias biogeoquímicas NADR, NAST, CNRY y BRAZ. En el caso de ETRA, los máximos valores de ρNO_3^- medidos en este estudio exceden la mayoría de los valores publicados, mientras que los mínimos valores de ρNH_4^+ son incluso menores que los publicados en la literatura (Tabla 4.6). Sin embargo, las máximas tasas de ρNO_3^- encontradas en esta investigación (hasta $61.2 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) son típicas de las regiones de afloramiento (ej. Joint et al. 2001).

Hasta nuestro conocimiento, este trabajo muestra los primeros resultados de ρUrea en el Atlántico central. Se encontraron relativamente altos en el Atlántico sur, donde la contribución media de ρUrea excede el 50% (SATL) y el 80% (BRAZ) de la absorción total de nitrógeno integrada en la zona eufótica. Algunos estudios han medido altas tasas de ρUrea en regiones oceánicas cerca del talud, como en la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica (Joint et al. 2001), mientras que otros han encontrado que la urea representa ~10 % de la cantidad total de nitrógeno incorporado, como los resultados publicados por Metzler et al. (1997) en aguas de la plataforma de Brasil (Tabla 4.6). Aunque los valores medios de ρUrea en nuestro estudio fueron ~20% de los valores descritos en regiones costeras (Riegman y Noordelos 1998, Varela y Harrison 1999, Tremblay et al. 2000), la contribución de la urea a la dinámica del nitrógeno en la zona eufótica de las regiones oceánicas requiere ser considerada en futuras investigaciones. Además, las tasas de ρUrea causan importantes variaciones en el índice- f que afectan considerablemente a las estimaciones de la producción nueva (Metzler et al. 1997). Por ejemplo, teniendo en cuenta ρUrea , en este estudio los valores mínimos del índice- f se reducen por un factor de 10 (Tabla 4.6). Un efecto similar se describió en el NO de la Península Ibérica (Joint et al. 2001).

Tabla 4.6. Rango de valores publicados de ρNO_3^- , ρNH_4^+ y ρUrea ($\text{nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$), f [$\rho\text{NO}_3^- / (\rho\text{NO}_3^- + \rho\text{NH}_4^+)$], y f' [$\rho\text{NO}_3^- / (\rho\text{NO}_3^- + \rho\text{NH}_4^+ + \rho\text{Urea})$] medidos en el Océano Atlántico en las provincias atravesadas durante el transecto AMT-11.

Provincia	Zona	ρNO_3^-	ρNH_4^+	ρUrea	f	f'	Referencia
	Gulf Stream	0.05-0.55	0.20-2.60		0.17-0.20		Glibert et al. 1988
	Gulf Stream warm-core ring	0.1-8.4				0.19-0.70	McCarthy y Nevins 1986
	Sargasso Sea	0.05-0.10	0.60-1.75		0.04-0.08		Glibert et al. 1988
	Afloramiento NO Iberia	0.3-0.8	0.4-1.1	4.0-7.9	0.42-0.46	0.04-0.10	Joint et al. 2001 ^a
NADR	57°-44° N, 21°-20° O	0.0009-0.003	0.001-0.01		0.13-0.36		Donald et al. 2001 ^b
	57°-44° N, 21°-20° O	0.40-3.75	4.2-8.5		0.04-0.39		Rees et al. 1999 ^c
	48°-42° N, 10°-19° O	0.05-3.60	0.50-8.94	0.28-4.39	0.03-0.88	0.01-0.77	este estudio
NAST	27°-10° N, 29° O	0.09-1.57	0.23-2.18		0.01-0.88		Planas et al. 1999 ^d
	40°-36° N, 20°-19° O	0.0002-0.005	0.001-0.006		0.04-0.62		Donald et al. 2001 ^b
	40°-36° N, 20°-19° O	0.08-0.30	6.00		0.02-0.07		Rees et al. 1999 ^c
	28° N, 23° O	0.20-0.60	0.80-1.45		0.21-0.30		Lewis et al. 1986
	33° N, 21° O	0.09-2.49					Eppley y Koeve 1990 ^e
	40°-26° N, 17°-22° O	0.06-0.44	0.004-1.73	0.08-2.58	0.03-0.47	0.02-0.43	este estudio
CNRY	18° N, 31° O	0.5-6.0					Eppley y Koeve 1990 ^e
	23°-9° N, 21°-19° O	0.12-61.33	0.01-1.73	0.01-19.91	0.09-0.99	0.01-0.94	este estudio
ETRA	10°-15° S, 29°-50° O	0.05-2.98	0.27-2.91		0.09-0.57		Planas et al. 1999 ^d
	0° N, 0°-4° O	0.13-4.00	0.25-2.75		0.33-0.45		Le Bouteiller 1986
	8° N-8° S, 19°-15° O	0.31-28.33	0.02-1.67	0.03-23.83	0.30-0.99	0.03-0.96	este estudio
SATL	15°-35° S, 29° O	0.005-0.95	0.13-2.08		0.03-0.66		Planas et al. 1999 ^d
	10°-21° S, 17°-31° O	0.04-16.10	0.26-2.39	0.91-8.71	0.03-0.98	0.02-0.82	este estudio
BRAZ	30°-47° S, 49°-38° O	0.6-72.0	2.6-12.1	0.5-2.7		0.16-0.24	Metzler et al. 1997 ^f
	23°-33° S, 34°-46° O	0.01-4.59	0.19-1.84	0.32-18.25	0.04-0.94	0.01-0.75	este estudio

^a estaciones situadas por fuera de la plataforma

^b estimaciones a partir de datos integrados en la capa eufótica durante incubaciones de 24 h

^c mismas estaciones que en Donald et al. (2001) pero tasas estimadas a partir de datos volumétricos durante incubaciones < 4 h

^d estimaciones a partir de tasas diarias (24 h) durante incubaciones < 4 h

^e sólo datos durante el período de luz (incubaciones de 12 h)

^f los valores medios máximos y mínimos en las profundidades con un 50 o un 1% de irradiancia superficial en estaciones oceánicas estratificadas o con una mezcla vertical de la capa de agua

Considerando las tasas de ρ_{Urea} , los valores del índice f' estimados a partir de las tasas integradas en la zona eufótica (Tabla 4.5) fueron similares al índice f promedio encontrado por Planas et al. (1999) en un transecto latitudinal a lo largo del Atlántico Central, a pesar de los elevados valores de $\rho_{\text{NO}_3^-}$ medidos en este estudio. Estos valores también concuerdan con las estimaciones del índice f llevadas a cabo en el Atlántico Central a partir de medidas de abundancia natural de isótopos estables en la fracción de NOP (Mino et al. 2002). Únicamente las áreas de afloramiento y la zona ecuatorial mostraron un considerable incremento en el índice f integrado en la capa eufótica (hasta 0.8 en CNRY). Por lo tanto, nuestros resultados confirman que la mayor parte de la producción primaria en aguas del Atlántico Central se sostiene principalmente por nutrientes regenerados, tal y como indicaron estudios previos en el océano oligotrófico (Le Bouteiller 1986, Lewis et al. 1986, Glibert et al. 1988, Planas et al. 1999). Además hemos encontrado que algunas fuentes de NOD (como la urea) tienen más importancia que el NH_4^+ , particularmente en las aguas al sur del ecuador.

4.4.2. Liberación de NOD.

En este estudio, al igual que en otros similares (ej. Bronk et al. 1994, Slawyk y Raimbault 1995), se han empleado filtros de fibra de vidrio tipo GF/F para separar el material particulado del disuelto. La dominancia de picoplancton en la mayor parte de las regiones centrales del océano puede hacer pensar que el agua filtrada contenía organismos $<1 \mu\text{m}$ (principalmente bacterias), por lo que el NOD determinado podría estar sobrestimado (y el NOP subestimado). El tamaño de las bacterias de la campaña AMT-11, observadas con microscopía de epifluorescencia y medidas con un equipo de análisis de imagen (datos sin publicar, ver Capítulo 5) era de $0.11 (\pm 0.09, \pm \text{DT}, n = 14585) \mu\text{m}^3$, lo que equivale a un diámetro esférico equivalente de $0.53 \mu\text{m}$. Sin embargo, aún en el caso de que todas las bacterias presentes pasasen a través del filtro GF/F, su biomasa en nitrógeno, estimada a partir de medidas de abundancia, la conversión a carbono mediante una ecuación alométrica (Norland et al. 1987) y un valor de C:N de 4.24 (Nagata 1986), representa en promedio $12.0 (\pm 7.8, n = 72) \text{nmol N l}^{-1}$. Esta biomasa es $<2\%$ del NOP total (incluyendo a las bacterias) y $<0.3\%$ del NOD. De igual forma, las medidas de producción bacteriana realizadas en la misma campaña a partir de la incorporación de leucina tritiada y factores de conversión a biomasa bacteriana en nitrógeno determinados experimentalmente (datos sin publicar, ver Capítulo 5), indican una producción media de $0.10 (\pm 0.07, \pm \text{DT}, n = 72) \text{nmol N h}^{-1}$, lo que equivale a $<8\%$ del valor medio de liberación de NOD medido en este estudio considerando todas las fuentes de nitrógeno. Por tanto, podemos asumir que el uso de filtros GF/F no ha afectado sustancialmente a los valores de las tasas de absorción y liberación de nitrógeno. Una conclusión similar fue obtenida en estudios experimentales del efecto de distintos tipos de filtros en la medida de las tasas de absorción y liberación de carbono (Morán et al. 1999).

Los valores promedio de liberación de NOD medidos en este estudio son comparables a los encontrados en diferentes ambientes oceánicos (Tabla 4.7). Cuando el

NH_4^+ es utilizado como sustrato, las tasas de rNOD son similares a los valores encontrados en el mar del Caribe y las aguas del Atlántico norte (Bronk et al. 1994, Slawyk y Raimbault 1995), pero mayores que aquellos medidos en las zonas oceánicas de la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica (Varela et al. 2003b). En contraste, la tasa promedio de rNOD a partir de absorción de NO_3^- , aunque es similar a los valores encontrados en aguas del Atlántico norte (Slawyk y Raimbault 1995) es más elevada que la mayoría de los valores previamente publicados (Hu y Smith 1998, Slawyk et al. 1998). Por su parte, los valores medios de $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ y $\text{PLE}^{\text{NO}_3^-}$ medidos en este estudio son menores que los valores medidos en estudios previos (Bronk et al. 1994, Slawyk et al. 1998, Varela et al. 2003b). Hasta nuestro conocimiento, los valores de $\text{rNOD}^{\text{Urea}}$ de esta investigación son los primeros publicados en la literatura, e indican que en algunas regiones del océano (principalmente en el Atlántico sur) el consumo de urea y su liberación como NOD constituye un significativo flujo de nitrógeno en la capa eufótica. A pesar del mayor error que cabe esperar en nuestras estimaciones de $\text{rNOD}^{\text{Urea}}$ comparadas con las estimaciones de $\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$ o $\text{rNOD}^{\text{NO}_3^-}$, los valores obtenidos son, en general, comparables a los de $\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$, lo que sugiere que no han sido sobrestimados. Estos resultados, aún preliminares, modifican el conocimiento actual sobre la liberación de NOD en el océano, que sólo tenía en cuenta la liberación a partir de NO_3^- y NH_4^+ (ver referencias en la Tabla 4.7).

La liberación de NOD a partir de NO_3^- fue la que más contribuyó a la cantidad total de rNOD liberado en las regiones de afloramiento y en el ecuador. Por ejemplo, las tasas de liberación de NOD a partir de NO_3^- excedieron por un factor de 10 las tasas de NOD liberadas a partir de NH_4^+ o urea en CNRY. Estos resultados contrastan con otros estudios en aguas oceánicas donde $\text{rNOD}^{\text{NO}_3^-}$ representó, en promedio, <20% de la cantidad total de rNOD liberado a partir de incubaciones con NO_3^- y NH_4^+ (Slawyk y Raimbault 1995, Bronk y Ward 1999). En nuestro caso, existía una correlación significativa entre la absorción de nitrato y la liberación de NOD, con lo que los altos valores de $\text{rNOD}^{\text{NO}_3^-}$ están asociados con altas tasas de ρNO_3^- , particularmente en las regiones de CNRY y ETRA. Además, se determinaron valores de $\text{PLE} > 50\%$ a partir de NO_3^- que están entre los mayores descritos en la bibliografía (Tabla 4.7). Aunque las causas de los elevados valores de $\text{PLE}^{\text{NO}_3^-}$ no están claras, es posible que sean consecuencia de un efecto diferencial de la irradiancia y la temperatura sobre la dinámica de la absorción y liberación de NOD en las incubaciones con NO_3^- comparada con la dinámica de estos procesos en las incubaciones con NH_4^+ .

Tabla 4.7. Tasas de liberación de NOD y PLE publicadas en distintos ecosistemas oceánicos usando ^{15}N . Los datos incluyen rangos y valores medios (media \pm DT). IRC: método de columna de retardo iónico (Bronk et al. 1994); WC: método de oxidación química (Slawyk y Raimbault 1995).

Localización	Sustrato	rNOD ($\text{nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	PLE (%)	Métodos	Referencias
Mar Caribe	NH_4^+	9.8 ± 2.7	27.8 ± 8.0	IRC	Bronk et al. (1994)
Southern California Bight	NH_4^+	26.4 ± 2.1	50.0 ± 0.9	IRC	Bronk et al. (1994)
Atlántico N	NO_3^-	4.2 ± 1.5	74.1 ± 1.3	WC	Slawyk y Raimbault (1995)
	NH_4^+	1.6-3.1	24.1 ± 4.9		
Antártida (Ross Sea) Nov/Dec 1994	NO_3^-	66.5	19.0 ± 13.9	IRC	Hu y Smith (1998)
	Dec/Jan 1995	NO_3^-	22.7		
Pacífico ecuatorial y oligotrófico	$\text{NH}_4^+ \text{NO}_3^-$	-	15.3 ± 13.4	WC	Slawyk et al. (1998)
Afloramiento NO Iberia	NH_4^+	0.1-14.0	17.1 ± 4.1	WC	Varela et al. (2003b)
Océano Atlántico (49° N - 33° S)	NH_4^+	0.1-1.7	25.1 ± 2.0	WC	este estudio
	NO_3^-	0.1-59.4	38.7 ± 2.5		
	urea	0.1-9.9	31.2 ± 1.9		

Los valores más altos de $PLE^{NO_3^-}$ se encontraron generalmente en las muestras tomadas a profundidades que recibían <50% de la irradiancia superficial (ver Figura 4.7), lo que sugiere un efecto positivo de la irradiancia sobre las tasas de $PLE^{NO_3^-}$. En este sentido, Hu y Smith (1998) encontraron que ρNO_3^- y rNOD se incrementaban con la irradiancia, tanto en experimentos de laboratorio como en estudios de campo. Por otro lado, los valores de $PLE^{NO_3^-}$ en la base de la columna eufótica (7 y 1% de irradiancia superficial) podrían estar sobreestimados debido a una temperatura superficial de incubación superior a la temperatura *in situ* de las muestras (ver Fig. 4.2). Así, Reay et al. (1999) mostraron que, mientras que la afinidad por el NO_3^- es altamente dependiente de la temperatura, la afinidad por el NH_4^+ permanece relativamente constante en un amplio rango de temperatura. De acuerdo con estos resultados, nuestros valores de $PLE^{NO_3^-}$ de las muestras de agua tomadas en la base de la capa eufótica podrían estar artificialmente incrementados por un factor de hasta 1.8, teniendo en cuenta la diferencia de temperatura entre el fondo y la capa superficial de la columna de agua y los resultados de los experimentos de Reay et al. (1999). Por tanto, los resultados de las incubaciones con NO_3^- deben ser considerados como preliminares, en tanto no se comprueben de forma efectiva los efectos de la temperatura e irradiancia sobre la dinámica del NO_3^- en el Atlántico Central. De todos modos, valores de $PLE >80\%$, particularmente para el nitrato, también se han encontrado en otras poblaciones naturales (ej. Bronk y Ward 2000).

Las diferencias latitudinales en productividad se corresponden con diferencias encontradas en el tiempo de residencia del NOD en la capa eufótica a lo largo del transecto. Asumiendo que una parte del recién liberado NOD es lábil o semilábil (Doval et al. 1999) y que las concentraciones de NOD permanecen aproximadamente constantes a la escala de tiempo de nuestro estudio (Vidal et al. 1999), se estimó la tasa promedio de residencia del recién liberado NOD ($NOD/rNOD$) usando los valores de $rNOD^{total}$ de la Tabla 4.5. Los tiempos de residencia variaron desde <1 mes en los giros oligotróficos (NAST y SATL), ~2 meses en la región de afloramiento de CNRY y en la zona ecuatorial de ETRA, y ~1 mes en las provincias templadas. Estos valores son generalmente inferiores a los encontrados en el NO de la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica (Varela et al. 2003b), los cuales se calcularon teniendo en cuenta exclusivamente incubaciones con NH_4^+ . Además, son mucho menores que los tiempos de residencia estimados por Vidal et al. (1999) en el Atlántico Central (entre <0.1 y 19000 años), aunque estos últimos se calcularon estimando la difusión de NOD a través de la termoclina (incluyendo probablemente NOD refractario). En aguas oceánicas del Atlántico Central los tiempos de residencia del NOD recién liberado fueron bajos, lo que sugiere un buen acoplamiento entre la cantidad total de NOD liberado y el consumo de este NOD por la comunidad microbiana heterótrofa (Ducklow 2000), particularmente en los giros oligotróficos.

Las tasas de crecimiento bacteriano medidas en la zona eufótica de las aguas Atlánticas oligotróficas fueron $\sim 0.1 d^{-1}$, representando una tasa de renovación del carbono bacteriano de algo más de 1 semana (Zubkov et al. 2000, 2001). Sin embargo,

se han encontrado tasas de crecimiento que exceden 0.2 d^{-1} para aguas oceánicas del Atlántico (Head et al. 1996, Zubkov et al. 1999, Bode et al. 2001b). Además, las tasas medias de crecimiento bacteriano encontradas en la campaña AMT-11 (resultados no publicados) fueron $0.21 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ ($n = 24$), equivalentes a una tasa de renovación del carbono bacteriano de ~ 5 días. La existencia de una tasa relativamente elevada de renovación de la materia orgánica disuelta en la zona eufótica del Atlántico Central está apoyada también por la intensa actividad herbívora del nanoplancton, que da cuenta de más de la mitad de la producción bacteriana (Zubkov et al. 2000, 2001) y de la mayor parte de la producción primaria en el Atlántico subtropical (Quevedo y Anadón 2001). No obstante, Teira et al. (2003) encontraron un desacoplamiento entre el fitoplancton y el bacterioplancton en NAST, lo que sugiere la existencia de otras fuentes de COD además del recién liberado.

4.4.3. Absorción de nitrógeno, liberación de NOD y estructura de tamaños deL fitoplancton.

En este estudio se encontró una relación débil entre la absorción de nitrógeno o las tasas de liberación de NOD y la estructura de tamaños de fitoplancton. Los resultados de algunas estaciones muestran un incremento en la absorción de nitrógeno y la liberación de NOD con un aumento en la contribución de las células relativamente grandes ($>2 \mu\text{m}$) tanto en biomasa como en producción, y lo contrario en situaciones en las que dominaban las células pequeñas ($<2 \mu\text{m}$). En contraste, los mayores porcentajes de liberación de NOD se midieron en situaciones donde las células pequeñas dominaban en biomasa. Un resultado similar fue obtenido por Teira et al. (2001b) al estudiar la liberación de COD en el mismo ecosistema. No obstante, este patrón no se observó a lo largo de todo el transecto latitudinal analizado en este capítulo.

El presente estudio muestra que existe una gran diferencia entre la liberación de materia orgánica y la estructura de tamaños de fitoplancton en los ecosistemas de las provincias oligotróficas y afloradas. Los ecosistemas oligotróficos del Atlántico Central presentaron una menor contribución de las células pequeñas a la biomasa que a la producción primaria (Figuras 4.9 y 4.10). Esto contrasta con la buena relación que existe generalmente entre la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción en un amplio rango de ecosistemas (Tremblay y Legendre 1994). Un estudio reciente (Fernández et al. 2003) ha mostrado que la diferencia en la contribución de las células pequeñas a la biomasa y a la producción en regiones oligotróficas del Atlántico Central no puede atribuirse a artefactos experimentales asociados con las técnicas de incubación empleadas para la determinación de la producción primaria, sino a una mayor eficiencia de producción por unidad de Cla de las células grandes. Una explicación alternativa para la dominancia en biomasa de las células pequeñas en los sistemas oligotróficos sería la mayor presión herbívora sobre las células grandes que sobre las de pequeño tamaño en estos sistemas. Sin embargo, el consumo herbívoro en estos sistemas esta dominado por protozoos (Quevedo y Anadón 2001), teniendo los consumidores de mayor tamaño (copépodos) una importancia relativamente menor

(Huskin et al. 2001). Además, es poco probable que los copépodos que puedan encontrarse en las botellas de incubación usadas para determinar la producción primaria tengan un efecto significativo sobre las tasas medidas (Fernández et al. 2003).

Las implicaciones biogeoquímicas de una mayor eficiencia de producción de las células de fitoplancton grandes se estudiaron en aguas del Mediterráneo (Conan et al. 1999), donde se encontró una relación exponencial negativa entre la producción bacteriana integrada y la eficiencia de producción fitoplanctónica. Esta relación indica que, aquellas regiones caracterizadas por bajas eficiencias de producción, como son los ecosistemas oligotróficos, se libera una fracción mayor de la producción primaria como materia orgánica disuelta de la que se libera en los ecosistemas productivos. Esta materia orgánica, a su vez, sería responsable de una fracción considerable de la producción bacteriana. En estas condiciones, procesos como la lisis celular (Agustí et al. 1998) o la hidrólisis de la materia orgánica particulada (Hoppe et al. 1993) serían más importantes en la liberación de materia orgánica disuelta que la excreción directa a través de exudados (Søndergaard et al. 2000, Meon y Kirchman 2001) o la alimentación ineficiente de los organismos heterótrofos (Nagata 2000, Ward y Bronk 2001).

La débil relación encontrada entre PLE del NOD y la estructura de tamaños de fitoplancton en océano abierto, junto con bajos niveles de producción primaria, sugiere que los principales procesos implicados en la liberación de materiales disueltos en ecosistemas oligotróficos tienen una importancia distinta a la que tienen en los ecosistemas productivos. Así, los procesos fisiológicos (exudación) o tróficos (hervivorismo) que son dependientes del tamaño de los organismos predominarán en los ecosistemas costeros, altamente productivos, en los que se han obtenido la mayor parte de las medidas de liberación de NOD (Bronk et al. 1994, Bronk y Ward 1999, 2000, Hasegawa et al. 2000b, 2001, Ward y Bronk 2001, Varela et al. 2003b). Esta dependencia del tamaño podría estar indicada por una correlación positiva entre la liberación de NOD y la contribución de las células pequeñas a la biomasa, como la encontrada en este estudio al considerar los valores integrados en la capa eufótica. No obstante, el desacoplamiento entre la biomasa y la producción en las provincias oligotróficas está asociado con una gran variabilidad en el PLE. Teira et al (2003) también encontraron una gran variabilidad en el PLE del COD en las regiones oligotróficas del Atlántico Central, el cual equivale del 10 al 42% de la cantidad total de carbono recientemente fotosintetizado. La variabilidad encontrada en la magnitud de los aportes de materia orgánica disuelta (Vidal et al. 1999), la liberación de COD y NOD en la zona eufótica, y la débil relación entre dichas tasas y la estructura de tamaños de fitoplancton en las provincias oligotróficas del Atlántico central indica que son necesarios más estudios sobre los mecanismos específicos de liberación de materia orgánica disuelta en el Atlántico. Además, las diferencias encontradas en la estructura vertical de la columna de agua entre NAST y SATL (la profundidad de la termoclina y el máximo de Cla son diferentes), las fuentes nitrogenadas (importancia de la urea en SATL), la abundancia de fitoplancton (*Synechococcus*) y las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD (el valor promedio de ambas tasas en SATL fue casi el

doble que en NAST) sugieren la existencia de importantes diferencias en el ciclo de la materia orgánica en estas provincias, a pesar de la aparente homogeneidad que indica la concentración de nutrientes y la Cla en la superficie.

CAPÍTULO 5

*RELACIONES ENTRE LA ABSORCIÓN Y LIBERACIÓN
DE NITRÓGENO ORGANICO DISUELTO (NOD) Y LA
PRODUCCIÓN BACTERIANA EN LA CAPA
SUPERFICIAL DEL OCÉANO ATLÁNTICO*

La investigación expuesta en este capítulo se recoge en la siguiente publicación:

Marta M. Varela, Xose Anxelu Gutiérrez-Morán, Joaquín Valencia y Antonio Bode (en preparación). Relationships between nitrogen uptake and dissolved organic nitrogen (DON) release, and bacterial production in the Atlantic Ocean.

RESUMEN: Con el fin de cuantificar la fracción de nitrógeno recientemente incorporado que fluye hacia el compartimento de la materia orgánica disuelta, en un amplio rango de niveles de productividad, se midieron las tasas de liberación de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) por el microplancton en la capa superficial del océano Atlántico. Además, se determinaron las relaciones entre el porcentaje de liberación de NOD con respecto a la incorporación bruta de amonio ($PLE^{NH_4^+}$) y la incorporación total de nitrógeno (PLE^{total}), así como el acoplamiento entre la liberación de NOD y actividad del bacterioplancton. Los experimentos se realizaron durante 5 campañas oceanográficas, llevadas a cabo entre agosto 1998 y octubre de 2000 cubriendo 3 regiones: la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica, la región SO del Golfo de Vizcaya y un transecto latitudinal en el Océano Atlántico entre 50° N y 35° S. El $PLE^{NH_4^+}$ varió desde un 3 hasta un 46%, mientras que el PLE^{total} lo hizo entre 21 y 82%, encontrándose los valores más elevados tanto de $PLE^{NH_4^+}$ como de PLE^{total} en aguas oceánicas oligotróficas (<0.25 mg Clorofila *a* m^{-3}). Se encontró una relación positiva entre los logaritmos de las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD. La pendiente de la línea de regresión para los ambientes oceánicos fue significativamente <1 , indicando una relación inversa general entre el PLE y las tasas de absorción bruta de nitrógeno. En contraste, en áreas con niveles de productividad relativamente mayores, como la plataforma continental del NO de la Península Ibérica no se observó un patrón de disminución de PLE con el aumento de la absorción de nitrógeno, lo que indica la dominancia de procesos diferentes controlando la liberación de NOD en las zonas oceánicas y neríticas. Las tasas de liberación de NOD explicaron menos del 15% de la variabilidad observada en las tasas de producción bacteriana, sugiriendo un débil acoplamiento entre el bacterioplancton y el fitoplancton a escalas de tiempo cortas (horas). Según los balances de nitrógeno calculados, se encontró un exceso de NOD liberado con respecto a los requerimientos por parte de las bacterias, lo que sugiere un desacoplamiento a una escala de tiempo mayor entre ambos compartimentos. Este desacoplamiento podría estar causado por la liberación bacteriana de NOD refractario o aportes terrestres.

5.1. INTRODUCCIÓN.

En las últimas décadas, un número creciente de trabajos se ha dedicado a la determinación de los flujos de la materia orgánica disuelta (MOD) a través del plancton. Estos estudios muestran que el porcentaje de liberación extracelular (PLE) de carbono orgánico disuelto (COD) con respecto al carbono total incorporado es muy variable (Baines y Pace 1991, Teira et al. 2001a, 2001b). Así por ejemplo, se han medido desde valores menores de un 10% en condiciones eutróficas hasta valores superiores al 75% durante la fase final de una proliferación de fitoplancton en la cual existe limitación por nutrientes (ver revisión en Nagata 2000). Por su parte, el rango de variación del PLE de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) encontrado en diferentes ambientes es también muy amplio, pudiendo suponer desde un 3 hasta >80% de la absorción bruta de nitrógeno (Bronk et al. 1994, Slawyk y Raimbault 1995, Bronk y Ward 1999, Bronk y Ward 2000, Hasegawa et al 2000b, Varela et al. 2003b, Varela et al. [enviado]).

En el caso del carbono, en los últimos años se ha observado la existencia de una relación inversa entre el PLE y la cantidad total de carbono incorporado. Varias investigaciones han encontrado una relación positiva entre los logaritmos de las tasas de producción de materia orgánica particulada y disuelta para el carbono, cuya pendiente significativamente <1 , indica una relación inversa entre el PLE de carbono y la tasa de producción primaria (Teira 2001a, 2001b, Morán y Estrada 2002, Morán et al. 2002). Por su parte, y hasta nuestro conocimiento, no hay ningún estudio de dicha relación para el nitrógeno y los datos sobre su PLE son aún escasos (ej. Bronk y Ward 2000, Capítulo 4).

El tipo de metodología empleada generalmente en los estudios para la determinación de la liberación de sustancias disueltas no permite diferenciar la excreción directa de MOD por el fitoplancton (Meon y Kirchman 2001) de otros procesos que podrían estar implicados en la aparición de materiales disueltos en el océano, como la alimentación ineficiente del microzooplancton (Jumars et al 1997) o la lisis celular (Thinsgtad 2000, Agustí y Duarte, 2000). Sin embargo, el análisis de la relación entre las tasas de producción de materia orgánica particulada y la liberación de MOD proporciona información sobre las variaciones en la magnitud de los flujos de MOD a lo largo de un gradiente de productividad (Baines y Pace 1991), a la vez que permite inferir la importancia relativa de los distintos procesos implicados en la liberación de material disuelto en el océano (Teira et al. 2001b).

La liberación de materia orgánica disuelta, bien sea mediante exudación por parte de los productores primarios o a través de procesos de tipo trófico (ej. Nagata 2000), constituye una de las principales fuentes de sustancias orgánicas lábiles que más contribuyen a la alimentación de las bacterias (Jackson y Williams 1985, Norrman et al. 1995), por lo que se puede considerar que éstas dependen de forma directa o indirecta del fitoplancton. En el caso del nitrógeno, algunos componentes del NOD pueden ser tomados directamente por las bacterias (Flynn y Butler 1986, Simon y Rosenstock

1992) y al mismo tiempo las bacterias remineralizan el NOD mediante la liberación de amonio y urea (Berman et al. 1999), quedando de nuevo estos nutrientes disponibles para volver a ser consumidos. Por lo tanto, en una situación de equilibrio entre la producción y consumo de MOD, sería razonable esperar una covariación entre las tasas de liberación de MOD por el fitoplancton y la actividad del bacterioplancton.

Algunos estudios han encontrado una correlación positiva y significativa entre las tasas de liberación de MOD y la producción bacteriana (Søndergaard et al. 1995, Morán et al. 2001), apoyando la hipótesis de acoplamiento entre el fitoplancton y el bacterioplancton, otros sin embargo, han rechazado dicha hipótesis (e.g. Blight et al. 1995). A pesar de que se ha llegado a algunas generalizaciones acerca de las causas que provocan un acoplamiento o desacoplamiento entre la liberación de COD y su consumo por las bacterias (Hansell et al. 1995, Teira et al. 2003), en el caso del NOD no se han explicado de manera satisfactoria las causas de la variabilidad que presenta su transferencia entre el fitoplancton y las bacterias.

En esta investigación, se llevaron a cabo determinaciones de las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD, así como medidas de la biomasa y producción bacterianas, con dos objetivos (1) determinar la existencia de una relación significativa entre la cantidad relativa de NOD liberado (PLE) y la absorción bruta de nitrógeno y (2) determinar el acoplamiento entre la liberación de NOD y la actividad bacteriana. Para ello se analizaron conjuntamente los datos procedentes de estaciones que cubren un amplio rango de niveles de productividad en zonas oceánicas y neríticas del Océano Atlántico.

5.2. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.2.1. Muestreo.

El muestreo se llevó a cabo durante 5 campañas oceanográficas realizadas entre agosto de 1998 y octubre de 2000 (Fig. 5.1). La zona de transición costa-océano del NO de la Península Ibérica fue objeto de estudio durante las campañas oceanográficas OMEX-0898 (agosto 1998) y OMEX-1099 (octubre 1999). En el Golfo de Vizcaya, se llevaron a cabo otras dos campañas oceanográficas, GIGОВI-0898 (agosto 1998) y GIGОВI-1099 (octubre 1999). Un transecto latitudinal en el Océano Atlántico (49° N-35° S) fue objeto de una cuarta campaña oceanográfica (AMT-11, septiembre-octubre 2000), como parte de un programa de muestreo del Océano Atlántico (Atlantic Meridional Transect) de gran cobertura espacial (ver Aiken et al. 2000). Finalmente, dentro de un proyecto de obtención de una serie histórica de datos oceanográficos, se incluyeron los resultados de varios experimentos correspondientes al muestreo mensual durante un ciclo anual de una estación fija en aguas de la plataforma continental del NO de la Península Ibérica (RADIALCORUÑA, noviembre 1998-octubre 1999).

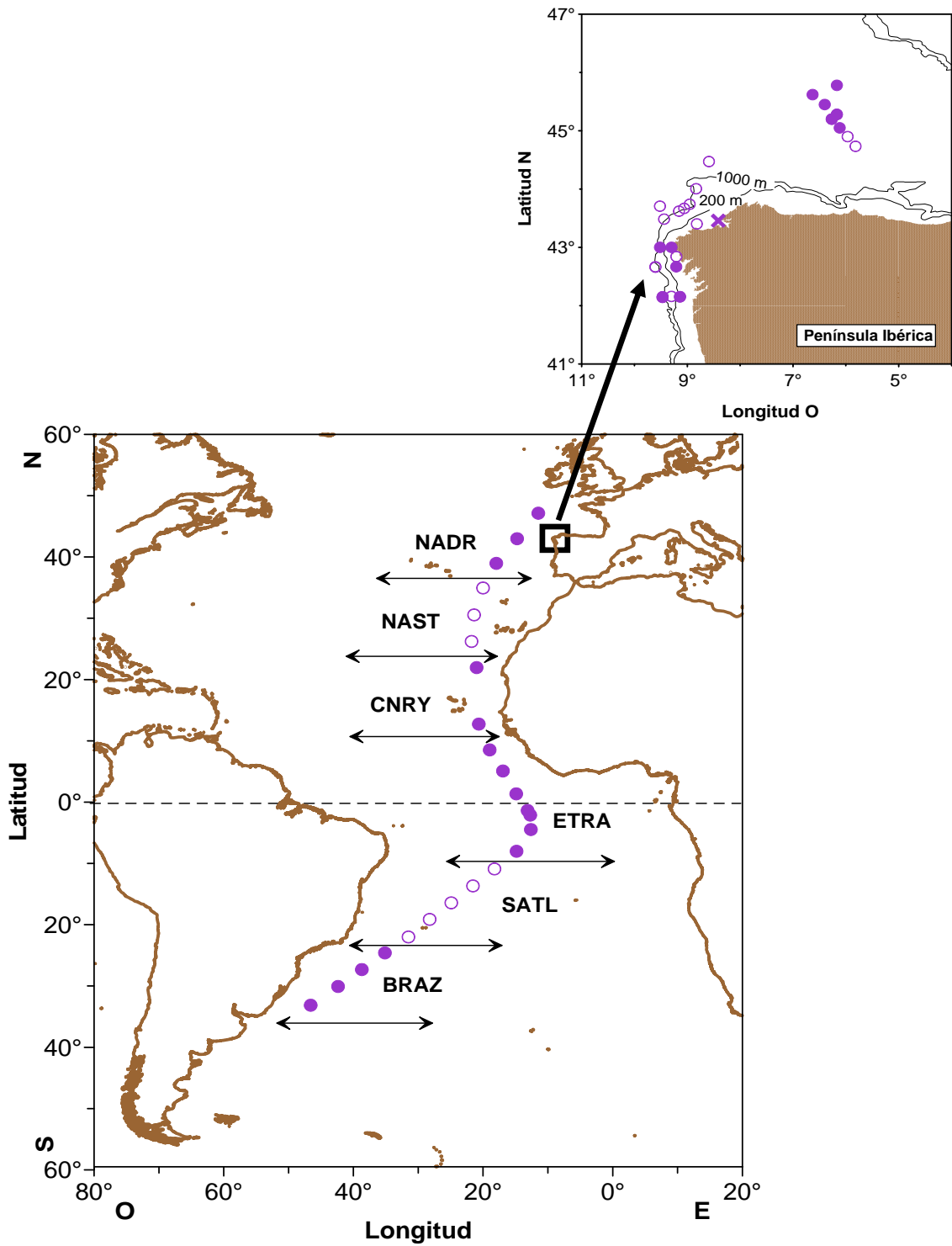


Figura 5.1. Estaciones de muestreo en la capa superficial del Océano Atlántico. Los círculos cerrados representan las estaciones productivas y los abiertos las estaciones oligotróficas. La estación fija en aguas de la plataforma continental del NO de la Península Ibérica aparece representada por una X. Se indican mediante siglas las regiones biogeográficas de Longhurst (1998).

En cada estación se realizaron perfiles verticales de temperatura, salinidad y fluorescencia hasta los 200 m de profundidad, utilizando una sonda CTD Neil Brown Mark III (campañas OMEX y GIGОВI) o Seabird 911 (AMT 11) acoplada a una roseta de muestreo equipada con 24 botellas oceanográficas tipo Niskin, o mediante sondeos verticales de un CTD Sea-Bird 25 y series de botellas oceanográficas Niskin de 5 litros (RADIALCORUÑA). Adicionalmente, se realizaron perfiles de irradiancia mediante un radiómetro sumergible con el fin de poder llevar a cabo los experimentos de incorporación y liberación de nitrógeno a profundidades ópticas determinadas entre el 100 y el 1% del nivel de irradiancia fotosintéticamente activa medida en superficie.

5.2.2. Nutrientes disueltos.

La concentración de nutrientes inorgánicos disueltos (amonio, nitrato y nitrito) se determinó utilizando un autoanalizador Technicon AA-II (OMEX, GIGОВI y RADIAL CORUÑA) de acuerdo con los métodos descritos en Grasshoff et al. (1983). Sin embargo, durante la campaña AMT-11, las determinaciones de la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos se llevaron a cabo siguiendo la técnica descrita en Woodward y Rees (2001). En esta última campaña, para la determinación de las concentraciones nanomolares de amonio se usó un método fluorimétrico (Jones 1991), mientras que la concentración de nitrato y nitrito se determinaron por análisis colorimétrico con un Technicon AA-II (Varela et al. [enviado]).

5.2.3. Nitrógeno orgánico particulado y clorofila *a*.

La determinación de la concentración de nitrógeno orgánico particulado (NOP) se llevó a cabo filtrando un volumen conocido de agua de mar a través de filtros de fibra de vidrio GF/F (Millipore APFF o Whatman GF/F). Los filtros se preservaron congelados hasta su análisis. Posteriormente, una vez en el laboratorio se secaron en estufa a 50 °C y fueron analizados con un CNH modelo Perkin Elmer.

En los muestreos RADIALCORUÑA la concentración de clorofila *a* (Cla) se determinó filtrando entre 150 y 250 ml de agua de mar de las profundidades previamente seleccionadas a través de filtros de fibra de vidrio GF/F. En el caso de las campañas OMEX, GIGОВI y AMT-11 la concentración de Cla se fraccionó por clases de tamaño, filtrando 250 ml de agua de mar secuencialmente a través de filtros de policarbonato de 2 µm y filtros de fibra de vidrio GF/F (Millipore APFF). Los filtros eran congelados inmediatamente a -20 °C, y una vez en tierra la fluorescencia se media utilizando un fluorómetro Turner Desings Serie 10 (RADIAL CORUÑA) o un espectrofluorómetro Safas flx (OMEX y GIGОВI), tras la extracción de los pigmentos fotosintéticos en acetona al 90 % a 4 °C durante toda la noche. La concentración de Cla se calculó a partir de la calibración de las medidas de fluorescencia con extractos puros de clorofila. En la campaña AMT-11, los filtros eran inmediatamente introducidos en viales de vidrio de 25 ml de capacidad que contenían 10 ml de acetona al 90% y se mantenían a -20 °C durante 12 h, período en el que tenía lugar la extracción de los

pigmentos fotosintéticos. La determinación de la fluorescencia se realizó utilizando un fluorómetro Turner 10-AU, previamente calibrado utilizando patrones de Cla comerciales, obteniéndose la concentración de Cla partir de los valores de fluorescencia. Aunque en las campañas OMEX, GIGОВI y AMT-11 la Cla se fraccionó por clases de tamaño, para el propósito de esta investigación se dan los valores de Cla totales, calculados como la suma de la Cla determinada en cada una de las fracciones.

5.2.4. Tasas de incorporación de compuestos nitrogenados y liberación de NOD.

En cada estación se llenaron una serie de botellas de policarbonato, previamente lavadas con HCl diluido, con 250 ml de agua de mar procedente de 3 profundidades correspondientes a los porcentajes de irradiancia superficial equivalentes al 100%, 7-14% y 1-3%, representativos de la capa eufótica, cuya profundidad límite se define operativamente en este trabajo como aquella en la que la irradiancia es el 1% de la superficial. A continuación, cada una de las botellas se inoculaba con 0.1 μM de amonio ($(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Adicionalmente, durante la campaña AMT-11, se realizaron incubaciones paralelas en botellas incubadas con 0.1 μM de nitrato (K^{15}NO_3) o con 0.1 μM de urea ($(^{15}\text{NH}_2)_2\text{CO}$). En el caso del amonio, se filtraba de inmediato el contenido de una de las botellas (“inicial”) a través de filtros GF/F para obtener el enriquecimiento inicial de amonio marcado y la concentración de NOP. El resto de las botellas se mantenían durante 2-3 horas en incubadores de cubierta (refrigerados mediante el bombeo de agua de mar superficial) que simulaban, mediante filtros, la irradiancia correspondiente a las profundidades de origen de las muestras, para la determinación simultánea de las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) (Slawyk y Raimbault 1995, Slawyk et al. 1998, Varela et al. [enviado]).

Una vez finalizado el periodo de incubación, el contenido de cada botella se filtraba a través de filtros tipo GF/F. A continuación, se recogieron 100 ml del filtrado, preservándolos con HgCl_2 1%, hasta la posterior determinación de la concentración y enriquecimiento en ^{15}N del NID y NOD. La concentración de NID se determinó siguiendo los mismos procedimientos descritos para el análisis de los nutrientes ambientales. La concentración de urea se determinó por técnicas colorimétricas, de acuerdo con Goeyens et al. (1998), mientras que la determinación de NOD se llevó a cabo por el método de oxidación con persulfato, tal y como se describe en Slawyk y Raimbault (1995). Finalmente, el enriquecimiento en ^{15}N de las fracciones nitrogenadas disuelta y particulada, así como la concentración de NOP, se determinaron mediante espectrometría de masas (Integra-N Europa Scientific Instruments [OMEX, GIGОВI y RADIALCORUÑA] o Thermo Finnigan Mat Delta Plus [AMT-11]).

Las tasas de incorporación de amonio (ρNH_4^+) se calcularon de acuerdo con el modelo de Glibert et al. (1982b), mientras que los cálculos de las tasas de incorporación de nitrato y urea (ρNO_3^- y ρUrea) se realizaron según el modelo de Dugdale y Goering (1967), como aparece en Legendre y Goselin (1990). Por su parte, los cálculos de las tasas de liberación de NOD a partir de absorción de amonio ($r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$) y nitrato

(rNOD^{NO₃⁻}) se realizaron siguiendo los modelos de Bronk et al. (1994) y Slawyk et al. (1998). En el caso de la liberación de NOD a partir de urea (rNOD^{Urea}) se realizó una estimación de la aparición de NOD no marcado con ¹⁵N al final de la incubación, midiendo la dilución isotópica de la urea marcada que quedaba en las botellas tras la incubación (Varela et al. [enviado], ver capítulo 4). Durante la campaña AMT-11 se calcularon las tasas totales de producción de nitrógeno particulado (pNOP) y liberación de DON (rNOD^{total}) como la suma de las tasas de absorción y liberación de NOD a partir de amonio nitrato y urea, respectivamente. Finalmente, se calculó la fracción de nitrógeno recientemente incorporado que fluye hacia el compartimento disuelto con respecto a la absorción bruta de amonio (PLE^{NH₄⁺}) y con respecto a la absorción bruta de nitrógeno total (PLE^{total}).

5.2.5. Biomasa y producción bacteriana.

Los recuentos de bacterias heterótrofas se realizaron de acuerdo con las técnicas descritas en UNESCO (1994). Las muestras para los recuentos de bacterias heterótrofas, tomadas directamente de las botellas de muestreo, se fijaban con glutaraldehído (concentración final: 2.5 %) y se mantenían en oscuridad a 4 °C durante 12-24 h. A continuación, se tomaban submuestras de 10 ml, se teñían con DAPI (1,4 diamidino-2-fenilindol) y posteriormente se filtraban a través de filtros de membrana de policarbonato con un tamaño de poro de 0.2 µm y 25 mm de diámetro utilizando un nivel de vacío <150 mm Hg. Los filtros se montaban sobre un portaobjetos con aceite de inmersión de baja fluorescencia y se mantenían en oscuridad hasta su posterior visualización. Las muestras se observaban con un microscopio Olympus BH2 equipado con una lámpara de mercurio para la iluminación epifluorescente y un bloque de filtros UV-2B para la luz UV. El conteo se realizaba con luz UV a 1250 aumentos. Se contó un número mínimo de 300 bacterias en 10 campos seleccionados al azar.

La abundancia celular se convirtió a biomasa bacteriana de carbono (BB) de acuerdo con la relación entre biovolumen y carbono obtenida por Norland et al. (1987):

$$\text{pg C célula}^{-1} = 0.09 \times (\mu\text{m}^3 \text{cél}^{-1})^{0.9}$$

El biovolumen (µm³ sep⁻¹) se calculó a partir de las dimensiones celulares medidas con un sistema de análisis de imagen (ANALYSIS). Finalmente, el producto entre el contenido de carbono por célula y la abundancia bacteriana se utilizó como estimador de la biomasa bacteriana existente. Los valores de la biomasa media (±EE, error estándar) de las distintas regiones muestreadas se muestran en la Tabla 5.1.

La actividad bacteriana se estimó a partir de la tasa de incorporación de leucina tritiada (³H-leucina) según el método de Kirchman (1993) con ligeras modificaciones (Smith y Azam 1992). Las muestras de agua procedían de las mismas profundidades en

las que se determinó rNOD y se dividieron en 6 alícuotas de 2 ml. Cada alícuota se inoculó con ^3H -leucina (concentración final: 20-50 nM en el caso de las campañas OMEX, GIGОВI y AMT-11, y hasta 150 nM en los muestreos RADIALCORUÑA) y se dejó incubar durante 30 min. A dos de las alícuotas (controles) se les añadió TCA al 50% para inactivar las bacterias previamente a la incubación. Finalmente, las incubaciones se terminaron con la adición de TCA al 50% a cada alícuota. La cantidad de ^3H -leucina fijada en proteínas bacterianas se determinó mediante un contador de centelleo líquido (LKB Wallac) después de centrifugar de las muestras (30000 rpm, 10 min), retirar el sobrenadante y añadir el líquido de centelleo (UltimaXR-Gold).

Las tasas de incorporación de leucina (PB_{Leu} , $\text{pmol leu l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) se convirtieron en tasas de producción heterotrófica bacteriana (PB , $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) multiplicándolas por un factor de conversión. Los factores de conversión utilizados para cada campaña oceanográfica fueron determinados experimentalmente siguiendo el procedimiento descrito en Kirchman y Ducklow (1993) y se muestran en la Tabla 5.1. Con el fin de construir balances de masa en nitrógeno, los valores de la BB y PB se expresaron en moles de nitrógeno aplicando el factor de conversión $4.24 \text{ mol C (mol N)}^{-1}$ (Nagata, 1986).

5.2.6. Clasificación de las observaciones.

Las estaciones de muestreo fueron agrupadas en 4 categorías según la zona de muestreo (oceánicas, de plataforma) y a su vez según su nivel de productividad (oligotróficas, productivas) utilizando un valor de concentración de Cla para la separación en el océano de 0.25 mg m^{-3} y en plataforma de 1 mg m^{-3} . Las regiones de muestreo se describen de acuerdo a las provincias biogeoquímicas definidas en Longhurst (1998) y Hooker et al. (2000).

Tabla 5.1. Biomasa bacteriana y factores de conversión de incorporación de leucina a C en las distintas regiones muestreadas. Se indican mediante siglas las regiones biogeográficas según Longhurst (1998). n: número de observaciones, EE: error estándar

Campaña	Región	Biomasa bacteriana (fg C cél ⁻¹)			Factor de conversión en células (x10 ¹⁸ cél mol Leu ⁻¹)			Referencia
		media	EE	n	media	EE	n	
AMT-11	Océano Atlántico (49° N-35° S)	-	-	-	0.59	0.12	3	este estudio
AMT-11	NADR	14.6	0.29	1158	-	-	-	este estudio
AMT-11	NAST	11.7	0.12	2134	-	-	-	este estudio
AMT-11	CNRY	12.7	0.17	1332	-	-	-	este estudio
AMT-11	ETRA	11.2	0.11	3426	-	-	-	este estudio
AMT-11	SATL	10.0	0.14	2146	-	-	-	este estudio
AMT-11	BRAZ	6.2	0.09	1381	-	-	-	este estudio
OMEX-0898	Plataforma Galicia	6.1-12.6	-	-	*	-	-	Barbosa et al. 2001
OMEX-1099	Plataforma Galicia	8.4	-	-	0.32	0.15	4	este estudio
GIGОВI-0898	Golfo de Vizcaya	12.7	0.66	254	0.03	0.02	3	este estudio
GIGОВI-1099	Plataforma Galicia	8.4	-	-	0.32	0.15	4	este estudio
RADIALCORUÑA	Plataforma Galicia	14.8	0.73	408	0.36	0.06	6	Valencia et al. 2003

*factor de conversión teórico (3.1 kg C mol leu⁻¹)

5.3. RESULTADOS.

5.3.1. Diferencias entre las regiones muestreadas.

Las estaciones oceánicas productivas ($\text{Cla} \geq 0.25 \text{ mg m}^{-3}$) se localizaron en las provincias biogeoquímicas correspondientes al sistema de afloramiento del NO Africano (CNRV), la zona ecuatorial (ETRA), y las regiones templadas del Atlántico Norte (NADR) y Atlántico Sur (BRAZ), así como las estaciones visitadas durante la campaña GIGОВI 0898, localizadas dentro de un giro ciclónico al SO del Golfo de Vizcaya (Fernández et al. [en prensa]). Las estaciones visitadas durante la misma campaña pero localizadas en el exterior del giro, y las pertenecientes a las provincias biogeoquímicas de los giros del Atlántico Norte (NAST) y Atlántico Sur (SATL) se consideraron oceánicas oligotróficas ($\text{Cla} < 0.25 \text{ mg m}^{-3}$). En la plataforma continental, las estaciones productivas corresponden a las campañas de Agosto de 1998, realizada en condiciones de afloramiento (Varela et al. 2003b), así como las medidas obtenidas entre abril y noviembre en el estudio del ciclo anual (Valencia et al. 2003). Las estaciones oligotróficas de plataforma ($\text{Cla} < 1 \text{ mg m}^{-3}$) corresponden a las medidas obtenidas en los meses de invierno (diciembre-marzo) y a las estaciones en octubre de 1999 (OMEX 1099 y GIGОВI 1099).

La clasificación de las estaciones está justificada de acuerdo con las diferencias significativas encontradas en las variables físicas y biológicas (Tabla 5.2). La concentración de Cla fue entre 4 y 5 veces mayor en la plataforma que en el océano, y las estaciones oligotróficas de ambas regiones presentaron valores de Cla significativamente inferiores a los medidos en condiciones productivas (Tabla 5.2). Por su parte, en las estaciones oligotróficas oceánicas, los valores de temperatura promediados para la capa eufótica fueron significativamente mayores que en las estaciones productivas, debido a la advección de aguas frías y profundas hasta las capas superiores de la columna de agua en las últimas. Sin embargo, en la plataforma, la temperatura media no mostró diferencias significativas entre niveles de productividad, aunque las estaciones oligotróficas presentaron temperaturas ligeramente superiores a las medidas en condiciones productivas. Por la misma razón, la concentración media de NID en los ambientes productivos de ambas regiones fue entre 1.5 y 6 veces mayor que la medida en condiciones oligotróficas, aunque debido a la alta variabilidad de los datos sólo se encontraron diferencias significativas entre la concentración de NID del océano oligotrófico y la plataforma productiva. Por su parte, las concentraciones medias de NOD y NOP no se diferencian al comparar el nivel de productividad, pero sí según ambientes oceánicos o neríticos. Así, las concentraciones medias de NOD y NOP en la plataforma fueron, en promedio, un 40% mayores que las encontradas en el océano (Tabla 5.2). Igualmente, las zonas consideradas presentan diferencias significativas en biomasa y producción bacteriana (Tabla 5.3).

Tabla 5.2. Valor promedio (\pm error estándar, EE) de las variables físicas y biológicas en las regiones oceánicas y de plataforma, en condiciones productivas y oligotróficas (ver texto). t = temperatura; NID = nitrógeno inorgánico disuelto; Cla = clorofila *a*; NOP = nitrógeno orgánico particulado; NOD = nitrógeno orgánico disuelto. n: número de observaciones. Letras distintas indican diferencias significativas entre los ambientes estudiados (test Student- Newman-Keuls, $p < 0.05$).

	Oceánicas						Plataforma					
	Productivas			Oligotróficas			Productivas			Oligotróficas		
	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n	media	EE	n
t (°C)	19.04 ^a	0.44	75	20.76 ^b	0.83	33	14.29 ^c	0.18	42	15.67 ^c	0.20	48
NID (μM)	2.42 ^a	0.63	75	0.40 ^a	0.12	33	3.2 ^b	0.32	42	2.14 ^a	0.29	48
Cla (mg m^{-3})	0.34 ^a	0.03	75	0.17 ^b	0.02	33	2.21 ^c	0.36	42	0.47 ^a	0.04	48
NOP (μM)	0.92 ^a	0.04	75	0.74 ^a	0.08	33	1.50 ^b	0.16	42	1.61 ^b	0.11	42
NOD (μM)	6.94 ^a	0.39	75	5.62 ^a	0.37	33	10.15 ^b	0.70	42	9.20 ^b	0.46	48

Tabla 5.3. Valor promedio (\pm error estándar, EE) de los flujos de nitrógeno y abundancia y producción bacteriana medidas en los 4 grupos de estaciones. ρNH_4^+ = tasas de absorción de amonio; ρNOP = absorción total de nitrógeno; $\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$ = liberación de NOD a partir de amonio; $\text{rNOD}^{\text{total}}$ = liberación de NOD total; BB = biomasa bacteriana, PB = producción bacteriana. Letras distintas indican diferencias significativas entre los ambientes estudiados (test Student- Newman-Keuls, $p < 0.05$).

	Oceánicas				Plataforma			
	Productivas		Oligotróficas		Productivas		Oligotróficas	
	media	EE	media	EE	media	EE	media	EE
ρNH_4^+ ($\text{nmol N l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	10.73 ^a	2.64	5.31 ^a	1.70	57.85 ^b	10.55	34.03 ^b	5.91
ρNOP ($\text{nmol N l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	12.61 ^a	1.57	5.61 ^b	1.48	-	-	-	-
$\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$ ($\text{nmol N l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	1.37 ^a	0.34	0.89 ^a	0.26	12.90 ^b	2.32	10.50 ^b	3.09
$\text{rNOD}^{\text{total}}$ ($\text{nmol N l}^{-1} \text{h}^{-1}$)	8.97 ^a	1.57	4.15 ^b	1.00	-	-	-	-
BB (mg C m^{-3})	1.61 ^a	0.17	1.23 ^a	0.315	12.67 ^b	1.37	6.88 ^c	0.58
PB ($\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$)	0.016 ^a	0.005	0.007 ^a	0.002	0.51 ^b	0.10	0.04 ^a	0.01

5.3.2. Tasas de absorción de amonio y liberación de NOD.

En las regiones de plataforma, las tasas de ρNH_4^+ fueron, en promedio, entre 5 y 6 veces superiores a las del océano (Tabla 5.3). Sin embargo, ninguna de las regiones mostró diferencias significativas de los valores de ρNH_4^+ según el nivel de productividad. Por su parte, las tasas promedio de $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ en las regiones de plataforma excedieron en más de 9 veces los valores medidos en el océano, y al igual que para ρNH_4^+ tampoco presentaron diferencias significativas al comparar el nivel de productividad (Tabla 5.3).

La relación entre las tasas de ρNH_4^+ y $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ se estudió siguiendo el mismo procedimiento de análisis de regresión descrito en Teira et al. (2001b) para el estudio entre las tasas de producción de carbono orgánico particulado y disuelto. En este caso, se encontró una relación estadísticamente significativa entre las tasas de ρNH_4^+ y $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ transformadas logarítmicamente, tanto utilizando las tasas volumétricas ($p < 0.001$, Fig 5.2a) como las tasas integradas ($p < 0.001$, Fig. 5.2b). Siguiendo las recomendaciones de Sokal y Rohlf (1981) utilizamos tanto el modelo de regresión de mínimos cuadrados (modelo I) como el modelo de regresión del eje principal (modelo II), dado que las dos variables objeto de estudio estaban sujetas a errores de medida. El logaritmo de las tasas de ρNH_4^+ explicó, generalmente, más de un 50% de la variabilidad en las tasas de liberación de NOD a partir de absorción de NH_4^+ , tanto cuando se analizó el conjunto total de datos como cuando se analizaron cada una de las regiones por separado, excepto en el caso de los valores integrados en plataforma y condiciones oligotróficas (Tabla 5.4).

Las tasas de $r\text{DON}^{\text{NH}_4^+}$ aumentaron en función de las tasas de ρNH_4^+ , sin embargo la desviación de la relación obtenida de la línea de pendiente 1 indica que $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ no es una fracción constante de la cantidad total de amonio absorbido por el fitoplancton. Tanto en el caso de los datos volumétricos, como en el caso de los datos integrados, la pendiente de la recta de regresión correspondiente al conjunto total de datos (0.84 y 0.82, respectivamente) resultó ser significativamente < 1 ($p < 0.001$, en ambos casos) lo que indica la existencia de una relación inversa entre la fracción de NOD liberado ($\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$) y las tasas de absorción de amonio. Sin embargo, los intervalos de confianza al 95% para las pendientes estimadas utilizando el modelo II de regresión, tanto en el caso de los datos volumétricos como integrados, incluyen al valor 1, aunque por escaso margen.

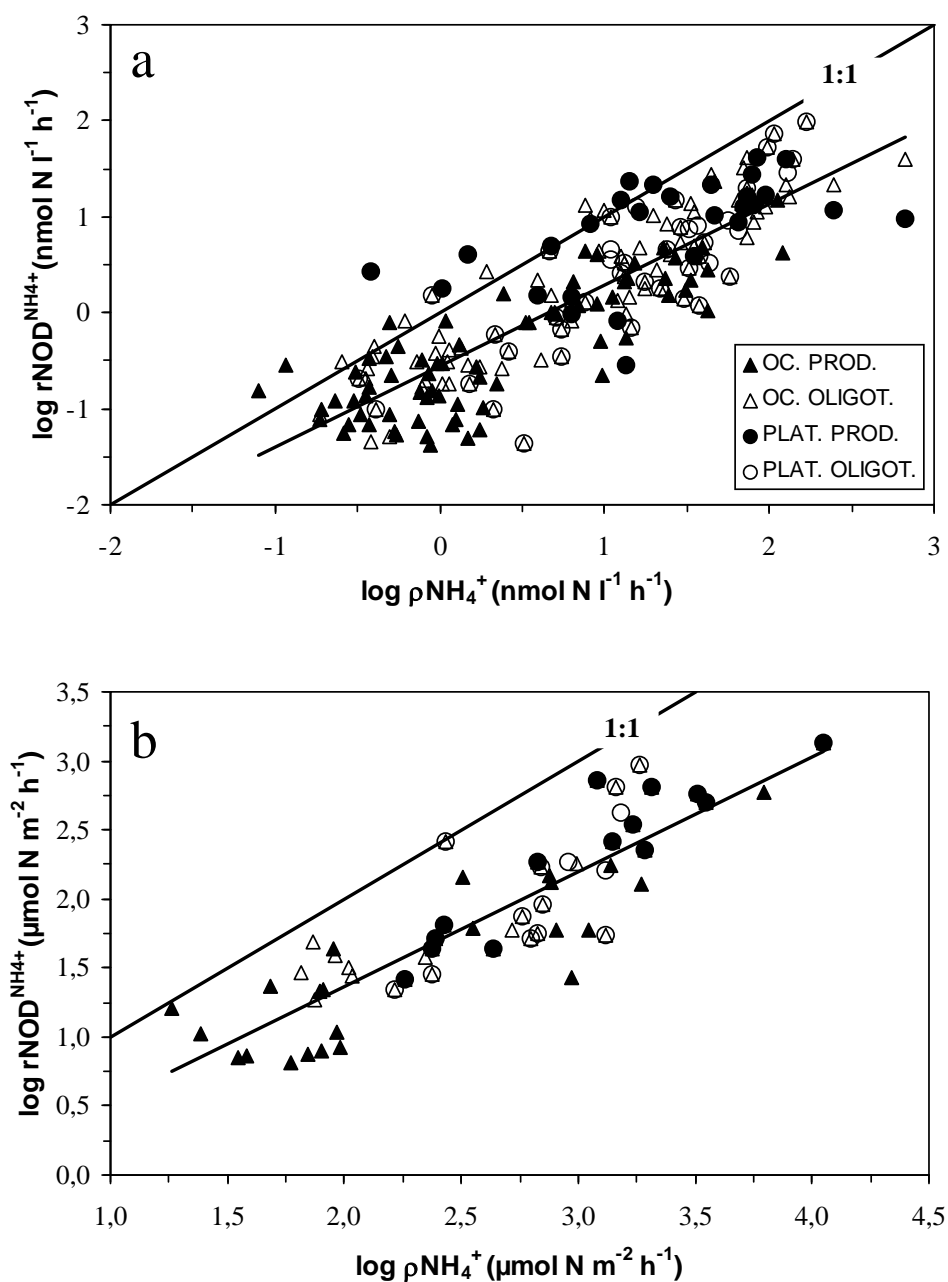


Figura 5.2. Relación log-log entre las tasas de absorción de amonio (ρNH_4^+) y liberación de NOD ($r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$) obtenida utilizando (a) datos volumétricos y (b) datos integrados para la capa eufótica. Los parámetros de las ecuaciones de las líneas de regresión se dan en la tabla 5.4. OC PROD: estaciones oceánicas productivas (triángulos cerrados); OC OLIGOT: estaciones oceánicas oligotróficas (triángulos abiertos); PLAT PROD: estaciones de plataforma productivas (círculos cerrados); PLAT OLIGOT: estaciones de plataforma oligotróficas (círculos abiertos).

Al analizar separadamente los datos procedentes de zonas oceánicas y de plataforma para cada uno de los ambientes estudiados, se observó que las pendientes obtenidas en las regiones oceánicas (datos volumétricos e integrados), utilizando los dos modelos de regresión (modelo I y modelo II), y tanto en condiciones oligotróficas como productivas, resultaron ser significativamente <1 (Tabla 5.4). Por otra parte, con los datos procedentes de zonas de plataforma (datos volumétricos e integrados), no se puede descartar que haya una relación 1:1 entre ρNH_4^+ y $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$, tanto en las estaciones productivas como en las oligotróficas (Tabla 5.4). Estos resultados indican que en los ambientes oceánicos se libera proporcionalmente menos NOD según aumentan las tasas de absorción de amonio, mientras que en las regiones de plataforma la cantidad de NOD producido es muy variable y no presenta una disminución clara con el aumento de productividad.

Tabla 5.4. Resumen del ajuste de las regresiones al modelo $\log(\rho\text{NH}_4^+) = b \log(r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}) + a$. n: número de observaciones; b: pendiente del modelo de regresión I; EE: error estándar; b': pendiente del modelo II; IC 95 %: intervalo de confianza al 95% para las pendientes del modelo de regresión II (b').

	modelo I					modelo II	
	n	a	b (EE)	r ²	p	b' (IC 95%)	
Volumétricos							
Totales	180	-0.56	*0.84 (0.03)	0.76	< 0.001	0.97 (0.92-1.02)	
OC. PROD.	72	-0.63	*0.76 (0.05)	0.75	< 0.001	0.89 (0.79-0.99)	
OC. OLIGOT.	28	-0.46	*0.69 (0.07)	0.68	< 0.001	0.84 (0.70-0.98)	
PLAT.PROD	38	-0.39	0.83 (0.08)	0.71	< 0.001	0.83 (0.65-1.00)	
PLAT. OLIGOT	42	-0.68	0.96 (0.10)	0.67	< 0.001	1.17 (0.96-1.37)	
Integrados							
Totales	60	0.19	*0.82 (0.60)	0.76	< 0.001	0.95 (0.83-1.07)	
OC. PROD.	23	0.05	*0.70 (0.07)	0.74	< 0.001	0.81 (0.67-0.95)	
OC. OLIGOT.	9	0.58	*0.56 (0.09)	0.70	< 0.001	0.67 (0.46-0.87)	
PLAT. PROD	14	-0.56	0.95 (0.10)	0.86	< 0.001	1.02 (0.80-1.23)	
PLAT. OLIGOT	14	-0.56	1.04 (0.32)	0.47	< 0.01	1.52 (0.83-2.20)	

*Pendientes del modelo de regresión I significativamente <1 ($p < 0.05$)

5.3.3. Absorción total de nitrógeno y liberación de NOD en zonas oceánicas.

Las tasas medias de ρNOP en condiciones productivas ($12.61 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) duplicaron el valor medido en condiciones oligotróficas ($5.10 \text{ nmol N l}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Por su parte, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas y equivalentes a las de ρNOP para la tasa promedio de $r\text{NOD}^{\text{total}}$ entre niveles de productividad,

suponiendo 8.97 y 4.15 nmol N I⁻¹ h⁻¹ en las estaciones productivas y oligotróficas, respectivamente (Tabla 5.3).

Al igual que con las tasas derivadas de la absorción de amonio, se encontró una relación estadísticamente significativa entre ρNOP y rNOD^{total}, tanto en el caso de las tasas integradas como en el caso de las tasas volumétricas (Tabla 5.5). En ambos casos, la absorción de NOP explicó más de un 80% de la variabilidad en las tasas de liberación de NOD en el océano. Sin embargo, en el caso de las tasas volumétricas (Fig. 5.3a) la pendiente obtenida, tanto para el conjunto total de datos como para cada uno de los diferentes ambientes por separado, muestra que no se puede descartar que haya una relación 1:1 entre ρNOP y rNOD, es decir que en más del 80% de los casos la cantidad relativa de rNOD^{total} no disminuye con el aumento de la absorción de NOP.

En contraste, la línea de pendiente obtenida considerando el conjunto total de los datos integrados (Fig. 5.3b) muestra, como en el caso del amonio, la desviación de la relación 1:1 entre ρNOP y rNOD^{total}, tanto para el modelo de regresión I como para el modelo II. Es destacable el cambio de pendiente que tiene lugar cuando sólo son considerados los datos integrados procedentes de las zonas productivas, frente a la pendiente que se obtiene cuando se tienen en cuenta los datos integrados de las zonas oligotróficas. La pendiente obtenida para las estaciones productivas no se diferencia significativamente de 1, como en el caso de las tasas volumétricas, mientras que la pendiente obtenida en condiciones oligotróficas es claramente <1, dado que el intervalo de confianza al 95% no incluye al valor 1, indicando una relación inversa entre la fracción de NOD liberado y la absorción total de nitrógeno (Tabla 5.5).

Tabla 5.5. Resumen del ajuste de las regresiones al modelo $\log(\rho\text{NOP}) = b \log(\text{rNOD}^{\text{total}}) + a$. n: número de observaciones; b: pendiente del modelo de regresión I; EE: error estándar; b': pendiente del modelo II; IC 95 %: intervalo de confianza al 95% para las pendientes del modelo de regresión II (b').

	modelo I					modelo II
	n	a	b (EE)	r ²	p	b' (IC 95%)
Volumétricos						
Totales	53	-0.88	0.93 (0.04)	0.88	< 0.001	0.99 (0.91-1.07)
OC. PROD.	40	-0.10	0.93 (0.06)	0.85	< 0.001	1.01 (0.95-1.07)
OC. OLIGOT.	13	-0.06	0.96 (0.06)	0.95	< 0.001	0.99 (0.86-1.12)
Integrados						
Totales	20	0.19	*0.78 (0.07)	0.87	< 0.001	0.84 (0.69-0.99)
OC. PROD.	14	0.05	0.83 (0.08)	0.89	< 0.001	0.88 (0.71-1.05)
OC. OLIGOT.	6	0.58	*0.63 (0.14)	0.80	< 0.01	0.65 (0.34-0.96)

*pendientes del modelo de regresión I significativamente <1 (p <0.05)

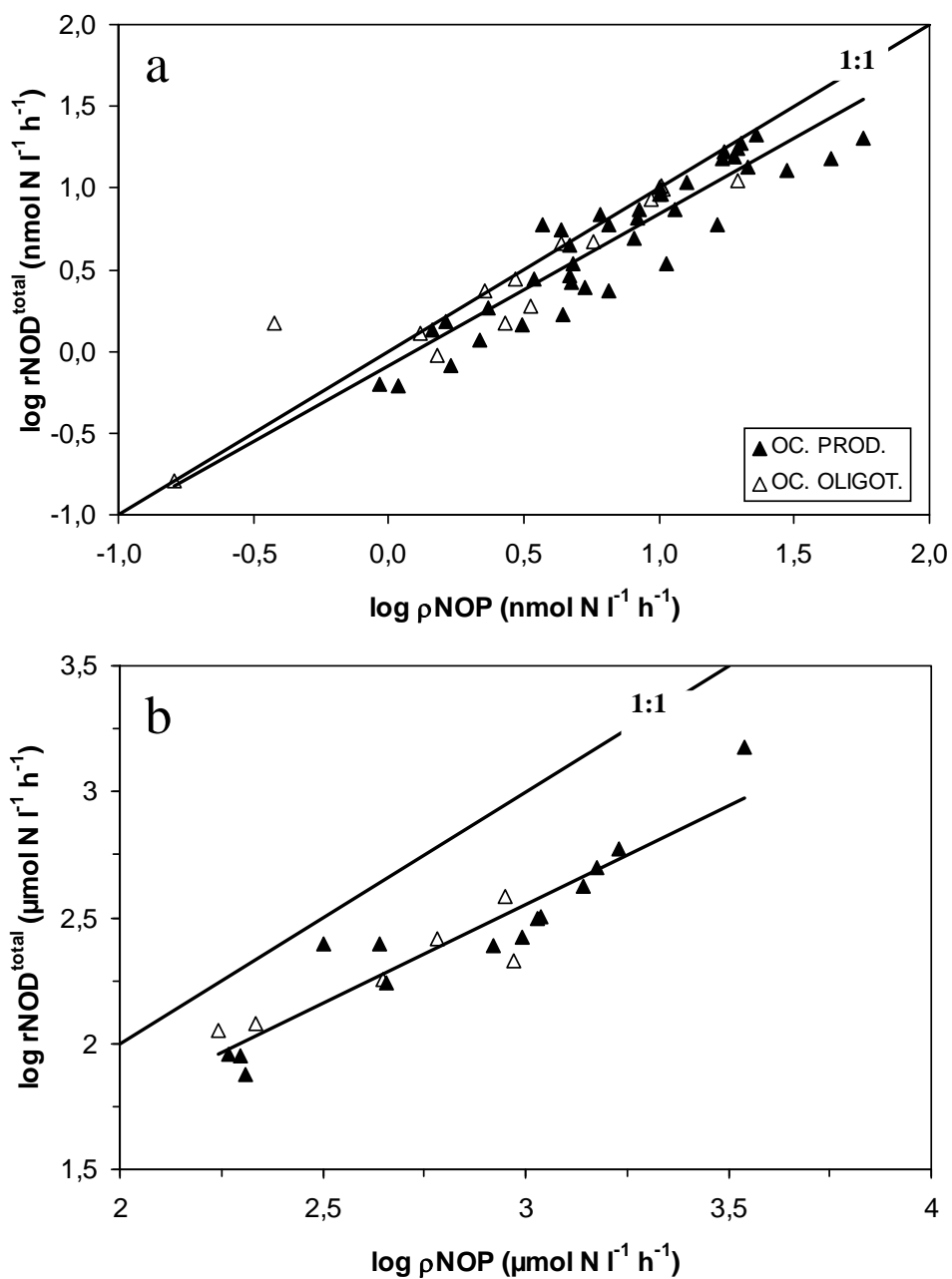


Figura 5.3. Relación log-log entre las tasas de absorción de nitrógeno total (ρNOP) y liberación total de NOD ($r\text{NOD}^{\text{total}}$) obtenida utilizando (a) datos volumétricos y (b) datos integrados para la capa eufótica. Los parámetros de las ecuaciones de las líneas de regresión se dan en la tabla 5.5. Las estaciones se representan con símbolos como en la figura 5.2.

5.3.4. Acoplamiento entre la liberación de NOD y la producción bacteriana.

Para evitar una posible interferencia de los diferentes factores de conversión de células a carbono utilizados en cada una de las diferentes regiones, el estudio de la relación entre la producción bacteriana y la liberación de NOD se llevó a cabo, en primer lugar, mediante la regresión entre el logaritmo de la incorporación de leucina (PB_{Leu}) y el logaritmo de las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ (y $rNOD^{total}$). Se encontró una correlación positiva y estadísticamente significativa entre PB_{Leu} y tanto las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ como de $rNOD^{total}$ para el conjunto total de datos (Fig. 5.4a,b). Sin embargo, a pesar de la significación estadística de ambas relaciones, la liberación de NOD explica menos de un 15% de la variabilidad observada en las tasas de PB_{Leu} , tanto en el caso de $rNOD^{NH_4^+}$ ($r^2=0.13$) como en el de $rNOD^{total}$ ($r^2=0.11$).

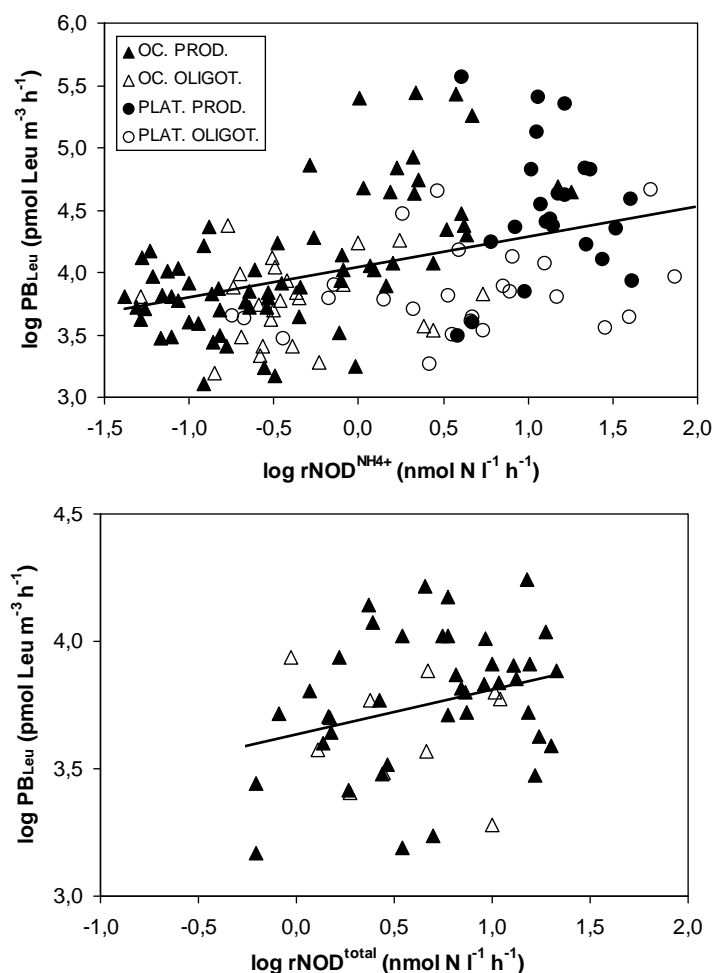


Figura 5.4. Correlación log-log entre las tasas de incorporación de leucina (PB_{Leu}) y (a) la liberación de NOD a partir de amonio ($rNOD^{NH_4^+}$) o (b) la liberación total de NOD ($rNOD^{total}$). Los parámetros de las ecuaciones de las líneas de regresión se dan en la tabla 5.6. Las estaciones se representan con símbolos como en la figura 5.2.

Por otro lado, la relación entre PB_{Leu} y las tasas de liberación de NOD no es continua en todo el rango de productividad, ya que esta relación varía dependiendo del ambiente estudiado (Tabla 5.6). Así, cuando analizamos por separado los datos procedentes de cada una de las regiones observamos que en las zonas oceánicas productivas PB_{Leu} se correlacionó positivamente con las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ (y $rNOD^{total}$), aunque las tasas de liberación de NOD explicaron menos de un 25 % de la variabilidad observada en las tasas de PB_{Leu} , tanto en el caso de $rNOD^{NH_4^+}$ ($r^2 = 0.25$) como de $rNOD^{total}$ ($r^2 = 0.12$). En contraste, no se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre PB_{Leu} y $rNOD^{NH_4^+}$ y $rNOD^{total}$ en el océano oligotrófico ni tampoco en las regiones de plataforma (Tabla 5.6).

Tabla 5.6. Resumen del ajuste de las regresiones al modelo $\log(rNOD^{NH_4^+}) = b \log(PB_{Leu}) + a$ y $\log(rNOD^{total}) = b \log(PB_{Leu}) + a$. n: número de observaciones; EE: error estándar.

	Parámetros del modelo				
	n	a	b (EE)	r^2	p
$\log(rNOD^{NH_4^+}) = b \log(PB_{Leu})$					
Totales	143	4.04	0.24 (0.05)	0.13	< 0.001
OC. PROD.	69	4.27	0.44 (0.09)	0.25	< 0.001
OC. OLIGOT.	25	3.78	0.05 (0.14)	-	n.s.
PLAT. PROD.	23	4.37	0.12 (0.40)	-	n.s.
PLAT. OLIGOT.	25	3.75	0.11 (0.11)	-	n.s.
$\log(rNOD^{total}) = b \log(PB_{Leu})$					
Totales	52	3.63	0.20 (0.07)	0.11	< 0.05
OC. PROD.	40	3.63	0.20 (0.09)	0.12	< 0.05
OC. OLIGOT.	12	3.63	0.15 (0.13)	-	n.s.

n.s. no significativo

5.3.5. Flujo de nitrógeno a través del microplancton.

Considerando los balances de nitrógeno con los valores medios integrados en la zona eufótica, la tasa de liberación de NOD en las estaciones oceánicas productivas (Fig. 5.5a) representó entre un 15% (si consideramos únicamente el amonio) y un 27% (si consideramos todas las fuentes nitrogenadas) de la absorción de nitrógeno. Los requerimientos bacterianos de NOD apenas supusieron $0.018 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, mientras que las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ y $rNOD^{total}$ fueron, respectivamente, 4 y 24 veces superiores. Por su parte, el valor medio del porcentaje de liberación de NOD en el océano oligotrófico (Fig 5.5b) fue superior al medido en los ambientes oceánicos productivos, suponiendo entre el 24 y el 42% considerando la absorción de NH_4^+ y N-total, respectivamente. Los requerimientos bacterianos de NOD ($0.012 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)

fueron similares a los medidos en el océano productivo, y representaron de 4 a 17 veces menos que los valores medios de $rNOD^{NH_4^+}$ y de $rNOD^{total}$, respectivamente.

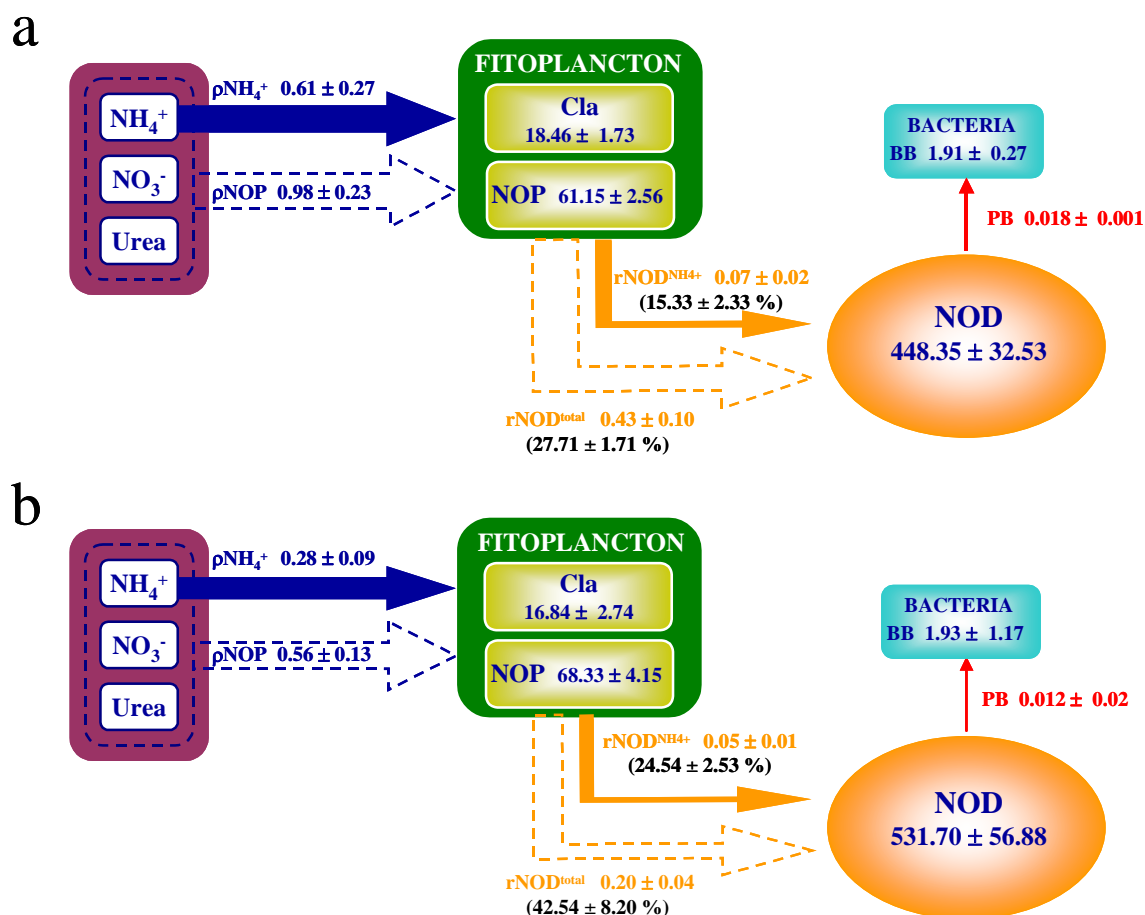


Figura 5.5. Flujos promedio (\pm EE) integrados en la zona eufótica para los ambientes oceánicos (a) productivos y (b) oligotróficos del Océano Atlántico. La biomasa del fitoplancton indicada como clorofila *a* (Cla) y NOP, se expresa en mg de Cla m^{-2} y $mmol N m^{-2}$, respectivamente. Por su parte, las masas y flujos de nitrógeno se expresan en $mmol N m^{-2}$ y $mmol N m^{-2} h^{-1}$. Los cálculos y los factores de conversión se explican en el texto. Los números en negro representan el porcentaje de liberación extracelular de NOD ($PLE^{NH_4^+}$ o PLE^{total}).

Las estaciones productivas, localizadas en zonas de plataforma (Fig. 5.6a) presentaron un menor porcentaje de liberación de NOD que el medido en las zonas oceánicas, suponiendo un 17% de la incorporación de NH_4^+ . En este caso, se encontró una buena correspondencia entre los requerimientos de NOD por las bacterias ($0.370 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y las tasas de $\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$ ($0.360 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Finalmente, en los ambientes oligotróficos de plataforma (Fig. 5.6b), el $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ fue similar al medido en las zonas de plataforma productivas, mientras que los requerimientos bacterianos de NOD fueron 5 veces inferiores a los valores de $\text{rNOD}^{\text{NH}_4^+}$.

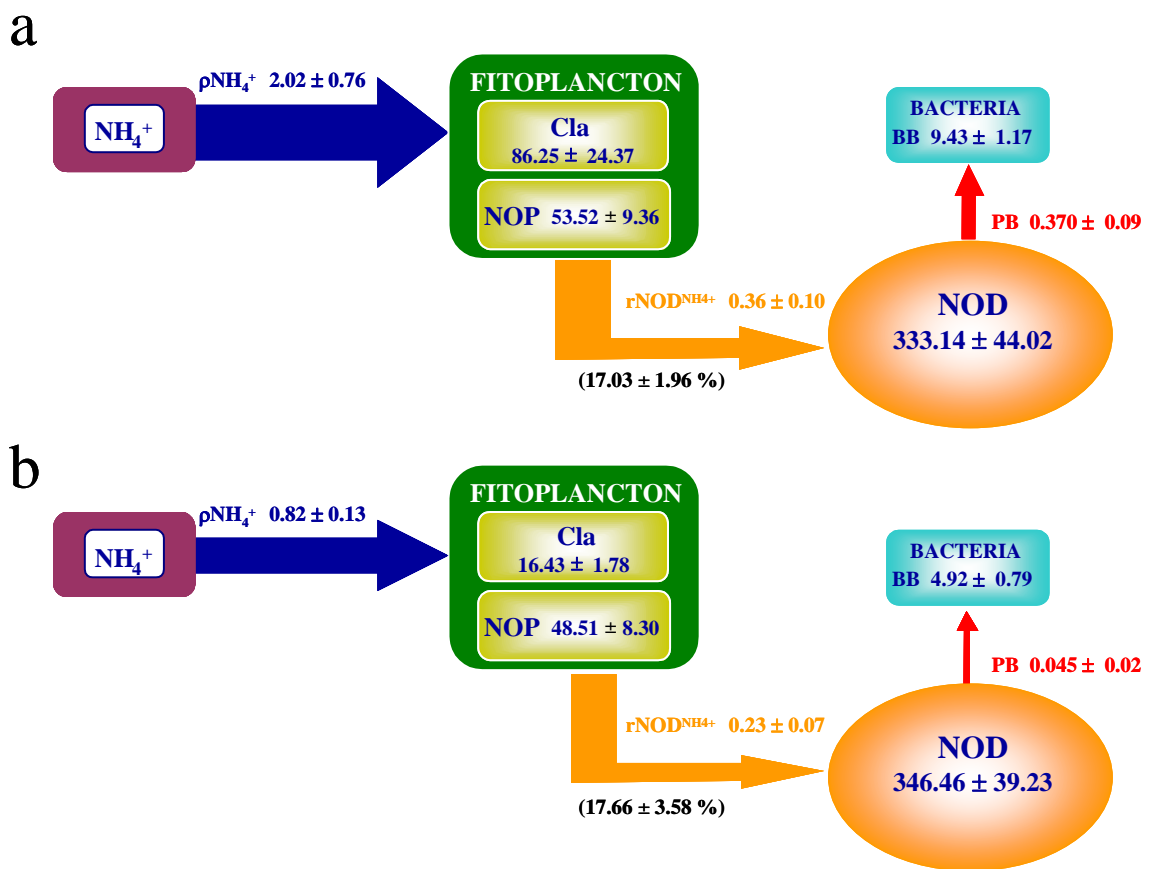


Figura 5.6. Flujos de nitrógeno promedio (\pm EE) integrados en la zona eufótica en las regiones de plataforma del NO de la Península Ibérica en condiciones (a) productivas y (b) oligotróficas. Unidades, cálculos y factores de conversión como en la figura 5.5.

5.4. DISCUSIÓN.

5.4.1. Tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD.

Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, este trabajo constituye la primera evidencia empírica relacionando la absorción de compuestos nitrogenados y la liberación de NOD. Nuestros resultados muestran una relación inversa general entre las tasas relativas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD en un amplio rango de niveles de producción y regiones en la capa superficial del Océano Atlántico, por lo que se libera proporcionalmente menos NOD según aumentan las tasas de absorción de nitrógeno. Resultados similares fueron obtenidos para el caso del carbono por Teira et al. (2001b) y Morán et al. (2002), quienes concluyeron la existencia de una relación inversa entre la cantidad relativa de COD liberado y la cantidad total de carbono incorporado analizando datos a lo largo de un amplio gradiente de producción primaria.

Los valores de PLE por si mismos no permiten diferenciar que fracción del nitrógeno absorbido o liberado se debe al fitoplancton y que fracción a organismos heterótrofos (como las bacterias). Sin embargo, las diferencias en la pendiente de las regresiones obtenidas sugieren la dominancia de procesos diferentes en las regiones oceánicas y neríticas. Por ejemplo, en las zonas oceánicas, la regresión lineal obtenida entre las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ y ρNH_4^+ indica una disminución de $PLE^{NH_4^+}$ a medida que aumenta la absorción, mientras que en la plataforma existe una elevada varianza en los valores de $PLE^{NH_4^+}$, lo que no permite concluir la existencia de una disminución del $PLE^{NH_4^+}$ con el aumento de productividad. En este último caso, el $PLE^{NH_4^+}$ podría ser considerado, en promedio, un valor constante en el rango de productividad medido. Así, en áreas con niveles de productividad relativamente altos, como la plataforma continental de la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica, la relación encontrada entre $rNOD^{NH_4^+}$ y ρNH_4^+ , puede ser interpretada como indicativa de una dominancia de la exudación directa de NOD por el fitoplancton sobre otros procesos implicados en la liberación de NOD (Søndergaard et al. 2000, Meon y Kirchman 2001). En este caso, la liberación de NOD dependería principalmente de la biomasa de fitoplancton existente en cada momento, la cual, a su vez, no estaría limitada por procesos tróficos que dieran lugar a una gran liberación de NOD relativa a la absorción total (como podría causar el consumo ineficiente de fitoplancton por los herbívoros), particularmente en situaciones de crecimiento activo del fitoplancton. En contraste, en regiones con niveles de productividad más bajos, como son las zonas de océano abierto, otros procesos microbianos, como la alimentación ineficiente del microzooplancton (Jumars et al. 1997) o la lisis de células fitoplanctónicas (Agustí y Duarte 2000), pueden tener mayor importancia frente a la exudación fitoplanctónica como responsables de la liberación de NOD. En estas condiciones, el aumento de la biomasa de fitoplancton estaría limitado por la rotura de células que causan procesos como los apuntados.

Un número creciente de estudios ha demostrado que los protozoos pueden liberar considerables cantidades (10-30%) tanto de COD (Strom et al. 1997, Pelegrí et

al. 1999) como de NOD (Caron y Goldman 1990, Ferrier-Pagés et al. 1998) a partir de la alimentación ineficiente de sus presas. Varias investigaciones han mostrado que el microzooplancton puede consumir más de un 80% de la producción primaria diaria en muchas regiones oceánicas dominadas por fitoplancton de pequeño tamaño (ej. Quevedo y Anadón 2001). Así, en estas regiones, la MOD liberada por los protozoos podría ser equivalente o incluso exceder a aquella liberada por exudación fitoplanctónica. El predominio del fitoplancton de pequeño tamaño en aguas del Océano Atlántico (Marañón et al. 2000, 2001), que contribuye proporcionalmente más a la biomasa que a la fijación total de carbono (Fernández et al. 2003) sugiere que los procesos microbianos son muy importantes en estas aguas. En este sentido, las medidas de respiración de la comunidad microbiana indican una heterotrofia neta en la zona eufótica en amplias regiones del Océano Atlántico (Serret et al. 2001).

Por otro lado, los diferentes resultados encontrados para el análisis de la relación entre ρNOP y $r\text{NOD}^{\text{total}}$ frente a las conclusiones del análisis de la relación entre ρNH_4^+ y $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ indican que los resultados obtenidos para el amonio no pueden ser extrapolables a todas las demás fuentes de nitrógeno. A pesar de que la liberación de NOD a partir de otras fuentes de nitrógeno (amonio, nitrato y urea) sólo se ha estudiado en los ambientes oceánicos, su consideración revela que la proporción de NOD total liberado varía de forma significativa según el nivel de productividad. En las regiones oligotróficas, la liberación de NOD total sigue una relación inversa con la absorción total de nitrógeno (como en el caso del amonio). Sin embargo, en las zonas oceánicas productivas, donde $r\text{NOD}^{\text{NH}_4^+}$ presenta el mismo patrón que en las zonas oligotróficas, el $r\text{NOD}^{\text{total}}$ es una fracción constante de la absorción de nitrógeno. Una posible explicación de esta discrepancia podría estar en los relativamente elevados valores de las tasas de liberación de NOD a partir de nitrato medidas en el océano Atlántico (Varela et al. [enviado]), particularmente en aquellas provincias biogeoquímicas clasificadas como oceánicas productivas. En este sentido, en otros estudios se ha observado que existe una correspondencia entre altos valores de las tasas de liberación de NOD a partir de nitrato y altas tasas de absorción de nitrato, lo que se ha interpretado como consecuencia de un mayor coste energético de las células al procesar el nitrato (Ward y Bronk 2001).

Como consecuencia de las relaciones entre absorción y liberación descritas, el PLE del nitrógeno resulta ser muy variable en un amplio rango de niveles de productividad. Nuestras estimaciones de $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ se encuentran dentro del rango de los valores publicados previamente por otros autores (Tabla 5.7). Así, en las zonas oceánicas los valores de $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ varían desde 50% medido en la bahía de California (Bronk et al. 1994) hasta valores ~20 % en el Atlántico Norte (Slawyk y Raimbault 1995). Igualmente, en las zonas de plataforma, nuestros valores concuerdan con la mayoría de los encontrados por otros autores en sistemas de plataforma-costa (Bronk et al. 1994, Bronk et al. 1998, Díaz y Raimbault 2000). En este caso, los rangos de variación del $\text{PLE}^{\text{NH}_4^+}$ fueron aún más amplios que los medidos en el océano, encontrándose valores >50% (Bronk y Ward 1999), ~20% (Bronk et al. 1994, Bronk et

al. 1998,), e incluso <5% (Hasegawa et al. 2000b). Sin embargo, conviene tener presente que las estimaciones incluidas en la Tabla 5.7 solamente tienen en cuenta el NOD liberado a partir de amonio, y se ha encontrado que a partir de nitrato y urea se pueden liberar cantidades importantes de NOD (Varela et al. [enviado]). Así, el valor promedio de PLE^{total} es 1.5 veces superior al $PLE^{NH_4^+}$.

Tabla 5.7. Tasas de liberación de NOD a partir de amonio ($rNOD^{NH_4^+}$) y porcentaje de liberación extracelular ($PLE^{NH_4^+}$) de NOD determinado en distintos ambientes marinos. Se indica el valor medio (\pm error estándar, EE) o el rango de valores.

Localización	Mes	$rNOD^{NH_4^+}$ ($mmol\ N\ l^{-1}\ h^{-1}$)	$PLE^{NH_4^+}$ (%)	Referencia
<i>Océano</i>				
Mar Caribe	nov	9.8 ± 8.0	27.8 ± 8.0	Bronk et al. (1994)
Southern California Bight	oct	26.4 ± 2.1	50.0 ± 0.9	Bronk et al. (1994)
Atlántico Norte	sept-oct	1.6 ± 3.1	24.1 ± 4.9	Slawyk y Raimbault (1995)
Afloramiento NO Iberia	agosto	6.1 ± 4.1	30.9 ± 1.1	Varela et al. (2003b)
	sept	21.3 ± 18.1	14.8 ± 13.8	
	oct	0.5 ± 0.4	16.3 ± 3.1	
Océano Atlántico (49°N-33°S)	sept-oct	0.3 ± 0.05	25.1 ± 2.0	Varela et al. (enviado)
	media \pm EE		27.0 ± 10.3	
Océano Atántico	productivo	1.4 ± 0.3	19.5 ± 2.1	este estudio
	oligotrófico	0.9 ± 0.3	26.0 ± 2.9	
<i>Plataforma-Costa</i>				
Southern California Bight	oct	12.4 ± 3.2	20.5 ± 1.6	Bronk et al. (1994)
South Chesapeake Bay	abr	36.8 ± 32.1	26.3 ± 12.6	Bronk et al. (1994)
Mid Chesapeake Bay	may	71.6 ± 59.2	27.8 ± 18.3	Bronk et al. (1998)
	agosto	55.3 ± 47.0	14.2 ± 18.3	
	oct	33.4 ± 39.1	28.4 ± 25.4	
Monterrey Bay	mar	61.9 ± 47.2	16.2 ± 12.0	Bronk y Ward (1999)
	sept	20.8 ± 20.1	64.7 ± 22.1	
Golfo de León	mar-may	0-1.5	0 - 36	Díaz y Raimbault (2000)
Akkeshi Bay	may	-	3.6 ± 0.1	Hasegawa et al. (2000b)
	jun	-	4.9 ± 0.4	
	agosto	-	2.7 ± 0.1	
	agosto	1.9 ± 0.6	24.1 ± 18.3	Varela et al. (2003b)
Afloramiento NO de Iberia	sept	23.1 ± 9.4	16.0 ± 13.6	
	oct	16.4 ± 9.3	16.5 ± 11.7	
	media \pm EE		20.4 ± 14.8	
N-NO Iberia	productivo	12.9 ± 2.3	23.4 ± 1.9	este estudio
	oligotrófico	10.5 ± 3.0	22.4 ± 3.2	

5.4.2. Acoplamiento entre la liberación de NOD y las bacterias en la zona eufótica.

En ausencia de grandes aportes de materia orgánica alóctona, el nitrógeno orgánico disuelto del que se alimentan las bacterias deriva en última instancia del fitoplancton, independientemente de los diversos mecanismos implicados en la liberación de las sustancias disueltas (ej. Nagata 2000). En esta investigación, se encontró una relación positiva entre la incorporación de leucina, y las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ y $rNOD^{total}$. A pesar de la significación estadística de ambas relaciones, la liberación de NOD explica menos de un 15% de la variabilidad observada en las tasas de incorporación de leucina, lo cual parece señalar un débil acoplamiento general entre el bacterioplancton y el fitoplancton en la zona eufótica. Así, cuando analizamos por separado los datos procedentes de cada una de las regiones estudiadas observamos que sólo en las regiones oceánicas productivas la incorporación de leucina se correlacionó positivamente con las tasas de liberación de NOD, mientras que en el océano oligotrófico y en las regiones de plataforma no se encontró correlación.

Sin embargo, a pesar de que la existencia de una correlación entre la producción bacteriana y la producción de COD (Søndergaard et al 1995, Morán et al. 2001) o ausencia de la misma (Blight et al. 1995, Teira et al. 2003) ha sido aceptada en la literatura como evidencia de un acoplamiento o desacoplamiento entre las bacterias y el fitoplancton, la dependencia trófica de las bacterias sobre la liberación de sustancias disueltas sólo puede ser bien explicada considerando la cantidad total de MOD que fluye hacia el compartimento bacteriano, es decir, los requerimientos de MOD por parte de las bacterias (Morán et al. 2002, Teira et al. 2003). En este sentido, algunas investigaciones han indicado un desacoplamiento entre el fitoplancton y las bacterias con un alto cociente entre la producción de carbono orgánico total y la producción bacteriana (Tupas et al. 1994, Bird y Karl 1999). Conviene tener presente que, en el caso del carbono, los requerimientos de las bacterias deben incluir aquel consumido en la respiración, mientras que casi todos los requerimientos de nitrógeno se explicarían principalmente por el crecimiento bacteriano. El presente estudio revela que, en promedio, hay un exceso de liberación de NOD con respecto al consumo del mismo por parte de las bacterias, exceptuando las regiones de plataforma productivas, donde la liberación de NOD y su consumo por parte de las bacterias están, en promedio, compensadas. Estos resultados apoyan la hipótesis de un acoplamiento débil o incluso desacoplamiento entre ambos compartimentos.

Las estimaciones de producción bacteriana están limitadas en gran medida tanto por la aproximación metodológica empleada como por los factores de conversión utilizados. Nuestras medidas de PB integradas en las zonas oceánicas, en promedio ($0.8 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), se encuentran dentro del rango de valores medido por Zubkov et al. (2000) en un transecto similar al de este estudio ($0.4\text{-}2 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y Bode et al. (2001b) en aguas oceánicas próximas a Canarias ($0.6\text{-}12 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Por su parte, la PB promedio medida en las zonas de plataforma ($10 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) concuerda bien con los resultados publicados para la zona (ver recopilación en Valencia et al. 2003). Por lo

tanto, la falta de correspondencia entre las cantidades de rNOD liberado y la demanda del mismo por parte de las bacterias no parece causada, en nuestro caso, por una subestimación de la producción bacteriana. Por otro lado, tampoco parece deberse a una sobreestimación de las tasas de rNOD (Tabla 5.7), dado que los valores de rNOD medidos en este estudio concuerdan con los valores encontrados en zonas próximas a nuestra región de estudio (Slawyk et al. 1998, Bronk et al. 2000.), e incluso en las zonas oceánicas nuestro límite inferior es más bajo que otros valores publicados en la bibliografía (Bronk y Ward 2000).

Conviene tener presente que el acoplamiento determinado mediante el estudio de la relación entre el rNOD y la incorporación de leucina representa un acoplamiento instantáneo (“short-term”), a escala de horas, mientras que el acoplamiento que determina el balance promedio de masas entre las tasas de liberación de NOD y la cantidad del mismo que es consumido por las bacterias puede ser considerado un acoplamiento integrado espacial y temporalmente (“steady-state”), representativo de una determinada situación trófica. Así, en el océano productivo se ha encontrado una correlación significativa entre la liberación de NOD y las bacterias, sugiriendo que ambos procesos están acoplados a corto plazo, mientras que en el océano oligotrófico la ausencia de correlación sugiere un desacoplamiento a corto plazo entre el bacterioplancton y el fitoplancton. Esto podría ser debido a que la distribución vertical de la biomasa bacteriana en la zona eufótica es más uniforme que la de la biomasa de fitoplancton. Esta última siempre presentó un máximo subsuperficial marcado (ej. Marañón et al. 2000), particularmente en zonas oligotróficas. Por su parte, en las regiones de plataforma, el desacoplamiento a corto plazo entre el fitoplancton y el bacterioplancton podría estar relacionado con aportes de NOD desde áreas costeras próximas (Doval et al. 1997).

Por otro lado, los balances de masas indican que, en promedio, hay un exceso considerable de liberación de NOD con respecto a los requerimientos del mismo por parte de las bacterias, particularmente en los ambientes oligotróficos. Estos resultados parecen contradecir lo encontrado para el carbono en el océano oligotrófico, donde la producción de COD derivada del fitoplancton no sería suficiente para mantener la actividad bacteriana (Teira et al. 2003). Sin embargo hay que tener en cuenta, en primer lugar, que gran parte del COD es utilizado para el mantenimiento de las elevadas tasas de respiración bacteriana, que se considera la principal responsable del balance producción/respiración netamente heterotrófico característico de las regiones oceánicas oligotróficas (Serret et al 2001, Teira et al. 2003). En contraste, el NOD se utiliza para formar parte estructural de las proteínas y no es liberado directamente en la respiración.

En segundo lugar, sólo una parte del NOD liberado es lábil y puede ser consumido por las bacterias. Se estima que el componente lábil del NOD supone entre un 5-24% del NOD total (Jackson y Williams 1985, Doval et al. 1999, Bronk 2002). Por lo tanto, si se asume que las bacterias consumen ~ 20% del rNOD, en los ambientes oceánicos nuestros valores de rNOD^{NH₄⁺} compensarían los requerimientos por parte de

las bacterias. Sin embargo, la fracción lábil de $rNOD^{total}$ aún excedería ~5 veces los requerimientos bacterianos. Estos resultados contradicen, aparentemente, los de Agustí et al. (2001) y Vidal et al. (1999) que concluyen que son necesarios aportes de NOD para mantener los requerimientos de nitrógeno de las comunidades planctónicas del Atlántico Subtropical. Sin embargo, cabe destacar que estos estudios consideran los balances de masas a una mayor escala (con tiempos de residencia del NOD de hasta 19000 años) y que gran parte del NOD implicado en este flujo debe ser refractario. Una posible explicación del exceso relativo de liberación de NOD en el océano puede estar en el propio funcionamiento de la red trófica microbiana. Así, se ha encontrado que la predación de protozoos sobre las bacterias (ej. Ferrier-Pagés et al. 1998, Kuippers y Witte 2000, Zubkov et al. 2000), la lisis celular de las bacterias mediada por infección vírica (Thingstad 2000) y la excreción directa por parte de las bacterias (Stoderegger y Herndl 1998) dan lugar a la aparición de MOD derivada del bacterioplancton en la columna de agua (Nagata y Kirchman 1992, McCarthy et al. 1998). Todos estos procesos contribuyen también a aumentar la concentración de NOD. Sin embargo, varias investigaciones han encontrado que la MOD liberada por las bacterias es de difícil degradación (Støderregger y Herndl 1998, Ogawa et al. 2001).

En la plataforma, teniendo en cuenta el mismo porcentaje de NOD lábil que el considerado en el caso del océano, la fracción lábil de $rNOD^{NH_4^+}$ producido no sería suficiente para cubrir la actividad bacteriana, lo cual sugiere la existencia de fuentes adicionales de NOD que permitan explicar la actividad heterotrófica bacteriana medida en estas regiones. Una fuente a considerar es el NOD liberado a partir de otras fuentes nitrogenadas (nitrato y urea). Desafortunadamente, no disponemos de medidas para esta región, pero el NOD liberado a partir de nitrato podría llegar a ser una fracción considerable, particularmente en condiciones productivas, como indican nuestros resultados para aguas oceánicas (Varela et al. [enviado]). Por otro lado, en algunos estudios se ha puesto de manifiesto la acumulación de COD previamente producido en esta región durante episodios anteriores de afloramiento (Blight et al. 1995, Álvarez-Salgado et al. 2001, Teira et al. 2001a) y su posterior exportación hacia zonas externas de la plataforma (Álvarez-Salgado et al. 1999, Álvarez-Salgado et al. 2001). Se ha encontrado que la acumulación de COD está acompañada también por acumulación de NOD (Doval et al. 1997), que podría ayudar a mantener el exceso de producción bacteriana medido.

El presente estudio muestra que existe una relación inversa entre el PLE y las tasas de absorción bruta de nitrógeno en los ambientes oceánicos, mientras en las zonas de plataforma no hay un patrón de disminución del PLE según aumenta la absorción de nitrógeno, lo que sugiere la dominancia de diferentes procesos en el control de la liberación de NOD en las regiones oceánicas y neríticas. Por otro lado, se encontró un acoplamiento débil entre el $rNOD$ y la PB a escalas de tiempo cortas (horas) y un desacoplamiento a una mayor escala temporal (promediando situaciones productivas y oligotróficas) por exceso relativo de $rNOD$. Este desacoplamiento podría estar causado

por la excreción bacteriana de rNOD refractario (particularmente en los ambientes oceánicos oligotróficos) y aportes terrestres (zonas de plataforma).

CAPÍTULO 6

SÍNTESIS

6.1. Liberación de NOD y estructura de tamaños de los productores primarios.

El trabajo realizado a lo largo de esta Tesis Doctoral analiza las relaciones entre la liberación de NOD, la estructura de tamaños de fitoplancton y la actividad bacteriana. En los sistemas oceánicos oligotróficos, caracterizados por la dominancia de fitoplancton de pequeño tamaño ($<2 \mu\text{m}$) y redes tróficas microbianas complejas, podrían producirse pérdidas relativamente elevadas de MOD, mientras que en las regiones productivas, donde domina el fitoplancton de tamaño grande ($>2 \mu\text{m}$), es esperable que las pérdidas asociadas a la fracción disuelta sean menores. Esta MOD recién liberada permitiría el mantenimiento de una actividad bacteriana importante.

Entre 1998 y 2000 se realizaron dos campañas oceanográficas (OMEX-0898 y OMEX-1099) en la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica y una tercera campaña a lo largo de un transecto latitudinal (49°N - 35°S) en el Océano Atlántico (AMT-11) con el objetivo de describir la variabilidad espacio-temporal de las tasas de liberación de NOD en relación a la estructura de tamaños de fitoplancton (Capítulos 3 y 4). Conviene tener presente que, el análisis integrado de los resultados de estos dos capítulos, incluye sólo las medidas de rNOD a partir de incubaciones con NH_4^+ , por ser el nutriente utilizado en las 3 campañas oceanográficas y por estar presente en concentraciones detectables durante todo el año (tanto en situaciones de oligotrofia como de afloramiento). Además, se exploró el efecto de otros substratos nitrogenados (nitrato y urea) sobre la liberación del NOD (Capítulo 4).

La gran variabilidad espacio-temporal nos permitió el estudio de un amplio rango de niveles de productividad, así como un amplio espectro de estructuras de tamaño de fitoplancton. Los resultados obtenidos en la primera de las investigaciones (Capítulo 3) muestran que la estructura de tamaños del fitoplancton reflejó los cambios en el forzamiento físico del ecosistema pelágico. Así, las células grandes ($>2 \mu\text{m}$) dominaron durante el afloramiento costero detectado en agosto, mientras que en la misma región durante condiciones de estratificación dominaron las células $<2 \mu\text{m}$. Por su parte, en el Atlántico Central (Capítulo 4) dominaba el fitoplancton $<2 \mu\text{m}$.

Sin embargo, la relación entre la liberación de NOD y la estructura de tamaños de fitoplancton resultó ser más compleja. A partir de la información obtenida en la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica y el Océano Atlántico se estudió la variación del porcentaje de liberación extracelular (PLE) de NOD en un amplio rango de situaciones tróficas (ver Figura 6.1). Los valores de PLE fueron muy variables y no se observa ningún patrón de distribución claramente definido entre el PLE y la estructura de tamaños de fitoplancton. En general, el PLE se incrementa con la dominancia de las células pequeñas pero curiosamente cuando contribuyen más a la biomasa que a la producción. Así por ejemplo, en el océano oligotrófico encontramos valores de PLE $>40\%$ en situaciones donde las células pequeñas contribuyen $\sim 80\%$ a la biomasa mientras que su contribución a la producción es $\sim 40\%$ (esquina inferior derecha del diagrama P-B). Por otro lado, encontramos valores bajos de PLE ($<20\%$)

cuando existe una alta contribución (~60%) de las células pequeñas tanto a la producción como a la biomasa (esquina superior derecha del diagrama P-B). En contraste, los valores más bajos de PLE se corresponden con las estaciones de la región de afloramiento de la plataforma del NO de la Península Ibérica dominadas por fitoplancton de tamaño relativamente grande (esquina inferior izquierda del diagrama P-B).

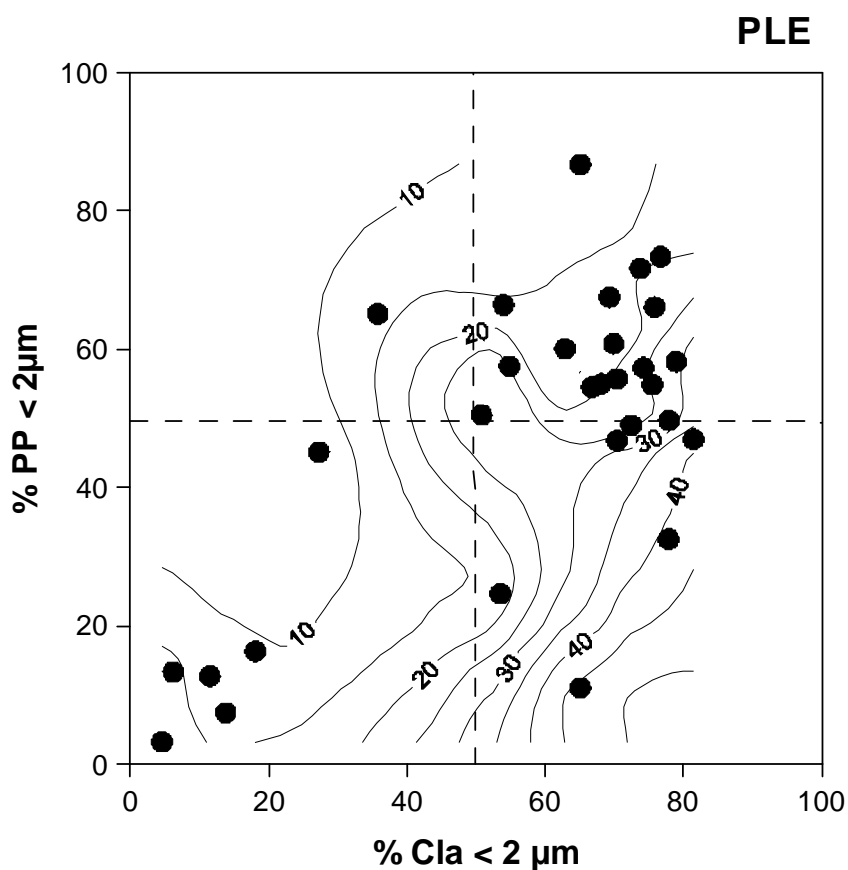


Figura 6.1. Diagrama producción-biomasa (P-B) en el que se representan las estaciones de las campañas oceanográficas OMEX-0898, OMEX-1099 y AMT-11 estudiadas en el espacio definido por la contribución relativa de las células $< 2 \mu\text{m}$ al total de la biomasa ($\% \text{Cla} < 2 \mu\text{m}$) y la producción primaria ($\% \text{PP} < 2 \mu\text{m}$). Las isóneas representan la distribución de PLE en el espacio definido por el diagrama P-B y los símbolos representan las estaciones.

En este sentido, recientes investigaciones han evaluado las tasas de liberación de NOD por poblaciones microbianas fraccionadas por clases de tamaño, encontrándose que el fitoplancton de pequeño tamaño libera mayores cantidades de NOD que el

fitoplancton de mayor tamaño (Hasegawa et al. 2000b, Ward y Bronk 2001). Hasegawa et al (2000b) postularon dos posibles mecanismos que podrían explicar este patrón. Por un lado, las diferentes interacciones tróficas dependientes de la inclusión o no de fitoplancton de tamaño grande en las botellas de incubación y por otro, la eficiente liberación de NOD por el fitoplancton de pequeño tamaño.

En el primer caso, algunas investigaciones han encontrado que altos porcentajes de sustancias orgánicas disueltas se liberan como consecuencia de mecanismos como la predación y la alimentación ineficiente de las presas (ver sección 1.2) (Gaul et al 1999, Nagata 2000, Hasegawa et al 2000a, Ward y Bronk 2001). Por su parte, Hasegawa et al. (2001) evaluaron la contribución relativa del fitoplancton, microplancton y los copépodos a la liberación total de NOD. Estos autores concluyeron que las tasas de liberación de NOD por el microplancton eran relativamente superiores a aquellas liberadas por otros organismos planctónicos (fitoplancton o los copépodos). Además la liberación de NOD por el microplancton está acoplada al consumo de NOD por las bacterias, sugiriendo que un considerable flujo de nitrógeno fluye desde el fitoplancton a las bacterias a través del microzooplancton (Hasegawa et al. 2001).

Así, las mayores tasas de liberación de NOD, en promedio, encontradas en los ambientes estratificados del Atlántico Central en esta investigación, podrían ser consecuencia del funcionamiento de las redes tróficas microbianas, susceptibles de sufrir mayores pérdidas de sustancias disueltas (ver sección 1.4). En este sentido, la depredación por parte de los protozoos puede llegar a consumir hasta más de un 80% de la producción en algunas regiones oceánicas atlánticas dominadas por fitoplancton de pequeño tamaño (Quevedo y Anadón 2001). Por su parte, Zubkov et al. (2000) encontraron que los protozoos consumen el 100% de las poblaciones bacterianas en algunas regiones del Océano Atlántico. Además, Agustí et al. (1998) sugirieron que la lisis celular del fitoplancton podía ocurrir a tasas lo suficientemente altas como para influir en la dinámica de las redes tróficas y, consecuentemente, en la circulación biogeoquímica de la materia orgánica en los ambientes oceánicos oligotróficos. Una conclusión similar fue obtenida por Teira et al. (2001b) quienes mostraron que el porcentaje de producción de COD con respecto a la producción primaria total integrada en un amplio gradiente de niveles de productividad era superior en aguas oligotróficas dominadas por picoplancton.

En el segundo caso, una mayor relación superficie-volumen, y en consecuencia una mayor exudación y/o difusión pasiva (Carlson 2002) a través de la membrana celular de los flagelados dominantes en el océano oligotrófico podría ser una explicación alternativa consistente con los mayores valores de PLE, en promedio, medidos en el Atlántico Central.

En la actualidad existe un activo debate en torno a la variación del PLE con la productividad. En el caso del carbono, las primeras investigaciones (Baines y Pace 1991) concluían que en los sistemas marinos la producción de COD era siempre una

fracción constante de la producción primaria total. En contraste, en los últimos años se ha observado la existencia de una relación inversa entre el PLE y la cantidad de carbono incorporado (Teira et al. 2001b, Morán et al. 2002). Sin embargo en el caso del nitrógeno, apenas hay estudios previos de la magnitud de PLE, particularmente en ambientes oligotróficos oceánicos. A pesar de que en esta investigación el tipo de metodología empleada no permite diferenciar la liberación de NOD por diferentes mecanismos y nuestras tasas dan cuenta de la liberación total de NOD por las comunidades microbianas, la idea de diferentes procesos controlando la liberación de NOD en ambientes con niveles de productividad relativamente altos (plataforma del NO de la Península Ibérica) y ambientes con niveles de productividad menores (Atlántico Central) está apoyada por las diferencias encontradas en las relaciones entre el PLE y la cantidad total de nitrógeno incorporado (ver Capítulo 5).

En la región de afloramiento de la plataforma del NO de la Península Ibérica la regresión lineal entre las tasas de $rNOD^{NH_4^+}$ y ρNH_4^+ no permite concluir la existencia de una disminución del $PLE^{NH_4^+}$ a medida que aumenta la absorción, lo que se interpreta como indicativa de una dominancia de la exudación directa de NOD por el fitoplancton sobre otros procesos implicados en la liberación de NOD (Søndergaard et al. 2000, Meon y Kirchman 2001).

En contraste, en las regiones centrales del Atlántico la regresión entre $rNOD^{NH_4^+}$ y ρNH_4^+ indica una disminución del $PLE^{NH_4^+}$ a medida que aumenta la absorción, sugiriendo que los procesos microbianos pueden tener mayor importancia sobre la exudación fitoplanctónica en la liberación de NOD. El NOD recientemente producido suministrará en última instancia materia y energía para las poblaciones bacterianas, que han sido consideradas como las principales responsables de la respiración heterotrófica en la columna de agua (del Giorgio y Duarte 2002). Las mayores pérdidas que tienen lugar en las redes tróficas microbianas, como consecuencia de las complejas y estrechas relaciones tróficas que se establecen entre compartimentos conducen al establecimiento de un sistema donde la mayor parte de la producción es respirada en la capa eufótica.

6.2. Relación entre la liberación de COD y NOD.

Un segundo objetivo de esta tesis era determinar la correspondencia entre las tasas de liberación de NOD y COD. El valor promedio de la relación C:N de las tasas de liberación de MOD medido en algunas estaciones de la plataforma excede considerablemente el valor C:N encontrado para la composición de la MOD en la misma región (Doval et al. 1997, Álvarez-Salgado et al. 1999, 2001) y también al valor de la relación de Redfield, indicando un desacoplamiento entre la producción de COD y NOD. Estas diferencias en la relación C:N indican la existencia de diferentes mecanismos tróficos en la dinámica de carbono y nitrógeno en la plataforma del NO de la Península Ibérica.

Mientras que el nitrógeno necesita ser conservado porque es un elemento generalmente limitante de la producción pelágica (ej. Dugdale y Goering 1967, Glibert 1988), el carbono puede ser liberado en grandes cantidades por una activa excreción de carbohidratos (Søndergaard et al. 2000, Meon y Kirchman 2001), particularmente mono- y polisacáridos en situaciones de limitación por nutrientes (Ittekkot et al. 1981, Kirchman et al. 1991, Pakulski y Benner 1994, Norrman et al. 1995). Además, la liberación de COD y NOD no suele estar acoplada en el tiempo. Søndergaard et al. (2000) encontraron que, durante la fase de crecimiento activo del fitoplancton se produce un máximo de producción de COD y, posteriormente, cuando la población entra en fase estacionaria y los procesos tróficos comienzan a tener mayor relevancia, se produce el máximo de liberación de NOD.

Por otro lado, las bacterias intervienen activamente en el ciclo de la MOD (ver sección 1.1). En este sentido, el exceso de COD *versus* NOD podría ser debido al bajo consumo de COD por parte de las bacterias (Williams 1995). Varios estudios han encontrado que las bacterias participan tanto en la absorción de compuestos nitrogenados inorgánicos (Goldman y Dennett 1991, Kirchman et al. 1994, Capone 2000) como en la absorción de NOD (Ietswart et al. 1994, Capone 2000, Berman y Bronk 2003). Por lo tanto, en situaciones de limitación por nitrógeno, las bacterias podrían obtener sus requerimientos de nitrógeno de la fracción lábil del NOD, incrementándose el exceso relativo de COD con respecto a NOD. Esto podría explicar nuestros resultados encontrados en el NO de la Península Ibérica, donde los altos valores de la relación C:N de la MOD, medidos después del afloramiento, podrían reflejar una situación de limitación por nitrógeno (Varela et al. 2003b).

Por su parte, los procesos microbianos transforman los substratos lábiles del NOD en compuestos refractarios (Ogawa et al. 2001). Estos estudios muestran que la mayor parte de la MOD de origen bacteriano, constituida por azúcares combinados, amino ácidos y amino azúcares, es refractaria o de difícil degradación, ya que persiste en la columna de agua durante largos periodos de tiempo (> 1 año), lo que contribuiría también a aumentar la relación C:N de las tasas de liberación de MOD (Doval et al. 1999, Álvarez-Salgado et al. 2001).

6.3. Liberación de NOD y producción bacteriana.

El último de los objetivos enunciado en esta tesis era determinar la contribución del NOD liberado a los requerimientos de nitrógeno lábil por parte de las bacterias heterotróficas en la capa superficial del Océano Atlántico. En la última investigación recogida en esta memoria (Capítulo 5), se encontró una correlación positiva entre la liberación de NOD y la producción bacteriana, aunque la liberación de NOD explicó menos de un 15% de la variabilidad observada en las tasas de producción bacteriana, sugiriendo un débil acoplamiento a corta escala de tiempo entre ambos compartimentos. En este sentido, Morán et al. (2002) encontraron un desacoplamiento entre la producción de carbono orgánico disuelto y la demanda de carbono bacteriano en aguas

de NE del Atlántico. Teira et al. (2003) también encuentran ese desacoplamiento en el giro subtropical del Atlántico Norte. Sin embargo, los balances de masas de esta investigación indican que, en promedio, hay un exceso de liberación de NOD con respecto a los requerimientos del mismo por parte de las bacterias, indicando un desacoplamiento a una mayor escala temporal. Por tanto, nuestros resultados parecen contradecir lo encontrado para el carbono (Teira et al. 2003).

Esta aparente contradicción se explica (ver Capítulo 5), primero, por el hecho de que en los requerimientos de carbono por las bacterias se incluya la respiración, que constituye la mayor parte de los requerimientos bacterianos de carbono y que se produce a tasas relativamente elevadas hasta el punto de que constituye la mayor parte de la respiración de toda la comunidad planctónica en la columna de agua (del Giorgio et al. 1997, del Giorgio y Duarte 2002). Segundo, a pesar de que el NOD comprende un porcentaje relativamente elevado de la cantidad total de nitrógeno (80% en la capa superficial del océano abierto y 20% en zonas costeras), muchos de los componentes del NOD permanecen todavía sin caracterizar, y sólo algunos de ellos, entre otros la urea y los aminoácidos, pueden ser consumidos por las bacterias (Berman y Bronk 2003). Algunos estudios indican que parte del NOD en el océano abierto es refractario y que su estructura química se conserva a través de las regiones oceánicas (McCarthy et al. 1998). Investigaciones recientes han encontrado que gran parte del NOD refractario consiste en restos de la pared celular de las bacterias (Dittmar et al. 2001, Ogawa et al. 2001). Por otro lado, las bacterias pueden obtener los requerimientos de nitrógeno también de fuentes inorgánicas nitrogenadas, como el amonio, e incluso absorber NOD y amonio al mismo tiempo (Middelboe et al. 1995, Jørgensen et al. 1999).

En resumen, nuestros resultados indican que, en promedio, en el océano oligotrófico se libera un mayor porcentaje de NOD con respecto a la absorción bruta de nitrógeno que en zonas productivas, sugiriendo una mayor importancia relativa las redes tróficas microbianas (Azam et al. 1983, Rassoulzadegan 1993) formada por bacterias, flagelados y ciliados (Figura 6.2a). En este sentido, en el Capítulo 4 se mostró que la comunidad estaba dominada en más de un 60% por plancton de pequeño tamaño ($<2 \mu\text{m}$) y basada en la producción regenerada (Dugdale y Goering 1967), mantenida por el reciclado de nutrientes en la misma capa fótica. Las bacterias consumen parte del NOD liberado y son consumidas principalmente por flagelados, que a su vez son predados por los ciliados. El elevado número de pasos tróficos entre todos estos microheterótrofos (Cushing 1989, Legendre y Rassoulzadegan 1995) daría lugar a mayores pérdidas de NOD. En contraste, en zonas más productivas, como la región de afloramiento del NO de la Península Ibérica, la estructura de tamaños está dominada por fitoplancton de tamaño relativamente grande ($>2 \mu\text{m}$), particularmente en los momentos de baja estratificación de la columna de agua (Teira et al. 2001a, Varela et al. 2003b). En estos sistemas (Fig. 6.2b) el NOD fluye principalmente a través del mesozooplancton, siendo transferido a niveles tróficos superiores o exportado hacia el océano (Álvarez-Salgado et al. 1999, 2001). En este contexto, parece por tanto necesario realizar medidas

simultáneas de las tasas de liberación de NOD, respiración de la comunidad, lisis celular y actividad depredadora del microzooplancton para poder así comprender de los diferentes procesos en el control de la liberación de NOD en el océano.

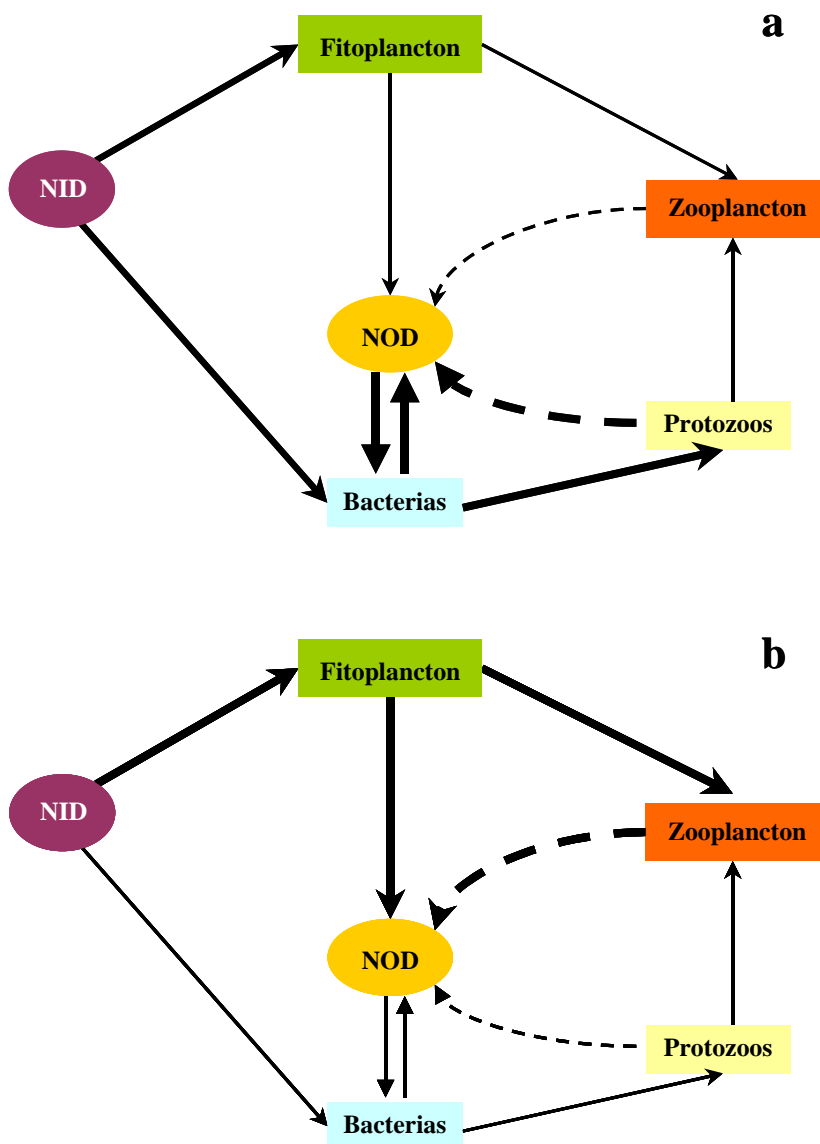


Figura 6.2. Principales flujos de N entre los compartimentos del N disuelto, el fitoplancton y la comunidad microbiana en (a) condiciones oligotróficas oceánicas y (b) productivas de plataforma como representativas de las situaciones tróficas más extremas estudiadas. Se indican con flechas de diferente grosor los flujos dominantes en cada situación.

CONCLUSIONES

- 1.** Las tasas de liberación de NOD medidas en el Océano Atlántico varían entre 0.01 y 59.46 nmol N l⁻¹h⁻¹, lo que representa entre un 4 y un 80% de la incorporación total de nitrógeno. Estos resultados cubren un amplio rango de productividad (desde zonas oligotróficas a afloramientos), zonas biogeográficas (plataforma y océano abierto, 80° de latitud) y fuentes de nitrógeno (NH₄⁺, NO₃⁻, urea).
- 2.** En las zonas oceánicas templadas y oligotróficas, las formas reducidas de nitrógeno (NH₄⁺, urea) son las principales fuentes nitrogenadas absorbidas por el microplancton, y por tanto las que más contribuyen a la rNOD. Cabe destacar la importancia de la urea como principal sustrato nitrogenado consumido y liberado al sur del ecuador. En contraste, en el afloramiento de Canarias y en la zona ecuatorial el NO₃⁻ es la principal fuente nitrogenada absorbida y transformada en NOD.
- 3.** La estructura de tamaños de fitoplancton no presentó un patrón de distribución claramente definido con el porcentaje de liberación extracelular de NOD, ya que éste resultó ser una fracción muy variable de la absorción total de nitrógeno. En promedio, los valores más elevados de PLE se encontraron en los ambientes oceánicos oligotróficos, donde la biomasa de picoplancton era dominante.
- 4.** Se encontró una relación positiva y significativa entre las tasas de absorción de nitrógeno y liberación de NOD, cuya pendiente significativamente menor que 1 indica la disminución del PLE al aumentar la absorción total de nitrógeno. Sin embargo, en las zonas de plataforma, sujetas a una gran variabilidad estacional, esta relación general se pierde y el PLE no aumenta con la absorción de nitrógeno.
- 5.** La relación entre las tasas de pCOD y rNOD en la plataforma del NO de la Península Ibérica fue débil, encontrándose siempre un exceso considerable de COD recién liberado con respecto a NOD, comparado con la relación C:N de la biomasa del plancton.
- 6.** Las tasas de liberación de NOD explicaron menos de un 15% de la variabilidad observada en las tasas de producción bacteriana, sugiriendo un débil acoplamiento entre el fitoplancton y el bacterioplancton a escalas de tiempo cortas. Por otro lado, según los balances de nitrógeno calculados, se encontró un exceso de NOD liberado con respecto a los requerimientos bacterianos, lo que sugiere un desacoplamiento entre ambos compartimentos a una escala de tiempo mayor.

7. Las débiles relaciones encontradas entre la liberación de NOD, la estructura de tamaños del fitoplancton y la actividad de las bacterias, particularmente en el océano oligotrófico, sugiere que en estas zonas el NOD se libera mediante la participación de procesos tróficos del sistema microbiano a la misma escala temporal que se está produciendo la absorción de nitrógeno. En estos sistemas debe de existir un elevado reciclaje del NOD producido.

BIBLIOGRAFÍA

- Agustí S, Satta MP, Mura MP, Benavent E (1998) Dissolved esterase activity as a tracer of phytoplankton lysis: evidence of high phytoplankton lysis rates in the NW Mediterranean. *Limnol Oceanogr* 43:1836-1849.
- Agustí S, Duarte CM (2000) Strong seasonality of phytoplankton cell lysis in the NW Mediterranean littoral. *Limnol Oceanogr* 45:940-947.
- Agustí S, Duarte CM, Vaqué D, Hein M, Gasol JM, Vidal M (2001) Food web structure and elemental (C, N and P) fluxes in the eastern tropical North Atlantic. *Deep-Sea Res II* 48:2295-2321.
- Aiken J, Rees N, Hooker S, Holligan P, Bale A, Robins D, Moore G, Harris R, Pilgrim D (2000) The Atlantic Meridional Transect: Overview and synthesis of data. *Prog Oceanogr* 45:1836-1849.
- Alberts JJ, Takács M (1999) Importance of humic substances for carbon and nitrogen transport into southeastern United States estuaries. *Org Geochem* 30:385-395.
- Altabet MA (1990) Organic C, N, and stable isotopic composition of particulate matter collected on glass-fiber and aluminum oxide filters. *Limnol Oceanogr* 35:902-909.
- Álvarez-Salgado XA, Rosón G, Pérez FF, Pazos Y (1993) Hydrographic variability off the Rías Baixas (NW Spain) during the upwelling season. *J Geophys Res* 98:14447-14455.
- Álvarez-Salgado XA, Rosón G, Pérez FF, Figueiras FG, Pazos Y (1996a) Nitrogen cycling in an estuarine upwelling system, the Ría de Arousa (NW Spain): I. Short-time-scale patterns of hydrodynamic and biogeochemical circulation. *Mar Ecol Prog Ser* 135:259-273.
- Álvarez-Salgado XA, Rosón G, Pérez FF, Figueiras FG, Ríos AF (1996b) Nitrogen cycling in an estuarine upwelling system, the Ría de Arousa (NW Spain): II. Spatial differences in the short-time-scale evolution of fluxes and net budgets. *Mar Ecol Prog Ser* 135:275-288.
- Álvarez Salgado XA, Miller AEJ (1998) Simultaneous determination of dissolved organic carbon and total dissolved nitrogen in seawater by high temperature catalytic oxidation: conditions for precise shipboard measurements. *Mar Chem* 62:325-323.
- Álvarez-Salgado XA, Doval MD, Pérez FF (1999) Dissolved organic matter in shelf waters off the Ría de Vigo (NW Iberian upwelling season). *J Mar Syst* 18:383-394.

- Álvarez-Salgado XA, Doval MD, Borges AV, Joint I, Frankignoulle M, Woodward EMS, Figueiras FG (2001) Off-shelf fluxes of labile materials by an upwelling filament in the NW Iberian upwelling system. *Prog Oceanogr* 51:321-337.
- Anderson TR, Williams PJ le B (1999) A one-dimensional model of dissolved organic carbon cycling in the water column incorporating combined biological-photochemical decomposition. *Global Biogeochem Cycles* 13:337-349.
- Antia NJ, Berland BR, Bonin DJ (1980) Proposal for an abridged nitrogen turnover cycle in certain marine planktonic systems involving hypoxanthine –guanine excretions by ciliates and their reutilization by phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 2:97-103.
- Antia NJ, Harrison PJ, Oliveira L (1991) The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia* 30:1-89.
- Azam F, Fenchel T, Field FG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 23:99-106.
- Azam F (1998) Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. *Science* 280:694-696.
- Baines SB, Pace ML (1991) The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: Patterns across marine and fresh water systems. *Limnol Oceanogr* 36:1078-1090.
- Barbosa AB, Galvao HM, Mendes PA, Álvarez-Salgado XA, Figueiras FG, Joint I (2001) Short-term variability of heterotrophic bacterioplankton during upwelling off the NW Iberian margin. *Prog Oceanogr* 51:339-359.
- Barquero S (1999) Regeneración de nutrientes como control de la producción primaria planctónica por los heterótrofos. PhD Thesis University of Oviedo, Spain.
- Benner R, Pakulski JD, McCarthy M, Hedges JI, Hatcher PG (1992) Bulk chemical characteristic of dissolved organic matter in the ocean. *Science* 255:1561-1564.
- Berman T, Nawrocki M, Taylor GT, Karl DM (1987) Nutrient flux between bacteria, bacterivorous nanoplanktonic protist and algae. *Mar Microb Food Webs* 2:69-81.
- Berman T, Béchemin C, Maestrini SY (1999) Release of ammonium and urea from dissolved organic nitrogen in aquatic ecosystems. *Aquat Microb Ecol* 19:295-302.
- Berman T, Bronk DA (2003) Dissolved organic nitrogen: a dynamic participant in aquatic ecosystems. *Aquat Microb Ecol* 31:279-305.

- Bird DF, Karl DM (1999) Uncoupling of bacteria and phytoplankton during the austral spring bloom in Gerlache Strait, Antarctic Peninsula. *Aquat Microb Ecol* 19:13-27.
- Blight SP, Bentley TL, Le Fèvre D, Robinson C, Rodriguez R, Roylands J, Williams PJ le B (1995) Phasing of autotrophic and heterotrophic plankton metabolism in a temperate coastal ecosystem. *Mar Ecol Prog Ser* 128:61-75.
- Bode A, Casas B, Varela M (1994) Size-fractionated primary productivity and biomass in the Galician shelf (NW Spain): Netplankton *versus* nanoplankton dominance. *Scientia Mar* 58:131-141.
- Bode A, Dortch Q (1996) Uptake and regeneration of inorganic nitrogen in coastal waters influenced by the Mississippi River: spatial and seasonal variations. *J Plankton Res* 18:2251-2268.
- Bode A, Varela M, Barquero S, Alvarez-Ossorio MT, González N (1998) Preliminary studies on the export of organic matter during phytoplankton blooms off La Coruña (North-Western Spain). *J Mar Biol Assoc UK* 78:1-15.
- Bode A, Varela M, Canle M, González N (2001a) Dissolved and particulate organic nitrogen in shelf waters of northern Spain during spring. *Mar Ecol Prog Ser* 214:43-54.
- Bode A, Barquero S, Varela M, Braun JG, de Armas D (2001b) Pelagic bacteria and phytoplankton in oceanic waters near the Canary Islands in summer. *Mar Ecol Prog Ser* 209:1-17.
- Bratbak G, Jacobsen A, Heldal M (1998) Viral lysis of *Phaeocystis pouchetii* and bacterial secondary production. *Aquat Microb Ecol* 16:11-16.
- Bronk DA, Glibert PM (1991) A ^{15}N tracer method for the measurement of dissolved organic nitrogen release in two clones of marine *Synechococcus* spp. *J Plankton Res* 21:1337-1353.
- Bronk DA, Glibert PM (1993) Contrasting patterns of dissolved organic nitrogen release by two size fractions of estuarine plankton during a period of rapid NH_4^+ consumption and NO_2^- production. *Mar Ecol Prog Ser* 96:291-299.
- Bronk DA, Glibert PM (1994) The fate of the missing ^{15}N differs among marine systems. *Limnol Oceanogr* 39:189-195.
- Bronk DA, Glibert PM, Ward BB (1994) Nitrogen uptake, dissolved organic nitrogen release, and new production. *Science* 265:1843-1846.

- Bronk DA, Glibert PM, Malone TC, Banahan S, Sahlsten E (1998) Inorganic and organic nitrogen cycling in Cheasapeake Bay: autotrophic versus heterotrophic processes and relationship to carbon flux. *Aquat Microb Ecol* 15:177-189.
- Bronk DA, Ward BB (1999) Gross and net nitrogen uptake and DON release in the euphotic zone of Monterey Bay, California. *Limnol Oceanogr* 44:573-585.
- Bronk DA, Ward BB (2000) Magnitude of dissolved organic nitrogen release relative to gross nitrogen uptake in marine systems. *Limnol Oceanogr* 45:1879-1883.
- Bronk DA (2002) Dynamics of organic nitrogen. En: Hansell DA, Carlson CA (eds) *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego, pp 153-247.
- Burdige DJ, Zheng S (1998) The biogeochemical cycling of dissolved organic nitrogen in estuarine sediments. *Limnol Oceanogr* 43:1796-1813.
- Capone DG (2000) The marine microbial nitrogen cycle. En: Kirchman DL (Editor) *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss, Inc, N York, pp 455-493.
- Carlson CA, Ducklow HW (1995) Dissolved organic carbon in the upper ocean of the central equatorial Pacific Ocean, 1992: daily and finescale vertical variations. *Deep-Sea Res II* 42:639-656.
- Carlson CA (2002) Production and removal processes. En: *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, San Diego, pp 91-151.
- Caron DA, Goldman JC (1990) Protozoan nutrient regeneration. En: Capriulo GM (eds) *Ecology of Marine Protozoa*. Oxford University Press, New York, pp 283-306.
- Casas B, Varela M, Bode A (1999) Seasonal succession of phytoplankton species on the coast of A Coruña (Galicia, northwest Spain). *Bol Inst Esp Oceanogr* 15:413-429.
- Castro CG, Pérez FF, Álvarez-Salgado XA, Rosón G, Ríos AF (1994). Hydrographic conditions associated with the relaxation of an upwelling event off the Galician coast (NW Spain). *J Geophys Res* 99:5135-5147.
- Chavez FP, Buck KR, Bidigare RR, Karl DM, Hebel D, Latasa M, Campbell L (1995) On the chlorophyll a retention properties of glass-fiber GF/F filters. *Limnol Oceanogr* 40:428-433.
- Conan P, Turley C, Stutt E, Pujo-Pay M, Van Wambeke F (1999) Relationship between phytoplankton efficiency and the proportion of bacterial production to primary production in the Mediterranean Sea. *Aquat Microb Ecol* 17:131-144.

- Cornell S, Rendell A, Jickells T (1995) Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen to the oceans. *Nature* 376:243-246.
- Cushing DH (1989) A difference between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are only weakly stratified. *J Plankton Res* 11:1-13.
- DeBaar HJW (1994) Von Liebig's law of minimum and plankton ecology (1899-1991). *Prog Oceanogr* 33:347-386.
- del Giorgio PA, Cole JJ, Cimleris A (1997) Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature* 385:148-151.
- del Giorgio PA, Duarte C (2002) Respiration in the open ocean. *Nature* 420:379-384.
- Diaz F, Raimbault P (2000) Nitrogen regeneration and dissolved organic nitrogen release during spring in a NW Mediterranean coastal zone (Gulf of Lions): implications for the estimation of new production. *Mar Ecol Prog Ser* 197:51-65.
- Dickson M-L, Wheeler PA (1995) Ammonium uptake and regeneration rates in a coastal upwelling regime. *Mar Ecol Prog Ser* 121:239-248.
- Dittmar T, Fitznar HP, Kattner G (2001) Origin and biochemical cycling of organic nitrogen in the East Arctic Ocean as evident from D- and L-amino acids. *Geochim Cosmochim Acta* 65:4103-4114.
- Donald KM, Joint I, Rees AP, Woodward EMS, Savidge G (2001) Uptake of carbon, nitrogen and phosphorus by phytoplankton along the 20 °W meridian in the NE Atlantic between 57.5° N and 37° N. *Deep-Sea Res II* 48:873-897.
- Dortch Q (1990) The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 61:183-201.
- Doval MD, Álvarez-Salgado XA, Pérez FF (1997) Dissolved organic matter cycling in a temperate upwelling embayment affected by coastal upwelling. *Mar Ecol Prog Ser* 157:1-37.
- Doval MD, Pérez FF, Berdalet E (1999) Dissolved and particulate organic carbon and nitrogen in the Northwestern Mediterranean. *Deep-Sea Res* 46:511-527.
- Duarte CM, Agustí S, Arístegui J, González N, Anadón R (2001) Evidence for a heterotrophic subtropical northeast Atlantic. *Limnol Oceanogr* 46:425-428.
- Ducklow H (2000) Bacterial production and biomass in the oceans. En: Kirchman DL (eds) *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss Inc. New York, pp 85-119.

- Dugdale RC, Goering JJ (1967) Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. *Limnol Oceanogr* 12:196-206.
- Eppley RW, Sharp JH, Renger EH, Perry MJ, Harrison WG (1977) Nitrogen assimilation by phytoplankton and other microorganisms in the surface waters of the central North Pacific Ocean. *Mar Biol* 39:111-120.
- Eppley RW, Koeve W (1990) Nitrate use by plankton in the eastern subtropical North Atlantic, March-April 1989. *Limnol Oceanogr* 35:1781-1788.
- Fernández E, Álvarez F, Anadón R, Barquero S, Bode A, García A, García-Soto C, Gil J, González N, Iriarte A, Mouriño B, Rodríguez F, Sánchez R, Teira E, Torres S, Valdés L, Varela M, Varela R, Zapata M (2004) The spatial distribution of plankton communities in a Slope Water anticyclonic Oceanic EDDY (SWODDY) in the Southern Bay of Biscay. *J Mar Biol Ass UK* (en prensa).
- Fernández E, Marañón E, Morán X-A, Serret P (2003) Potential causes for the unequal contribution of picophytoplankton to total biomass and productivity in oligotrophic waters. *Mar Ecol Prog Ser* 254:101-109.
- Ferrier-Pagés C, Karner M, Rassoulzadegan F (1998) Release of dissolved amino acids by flagellates and ciliates grazing on bacteria. *Oceanologica Acta* 21:485-494.
- Figueiras FG, Pazos Y (1991) Microplankton assemblages in three Rías Baixas (Vigo, Arosa and Muros, Spain) with a subsurface chlorophyll maximum: their relationships to hydrography. *Mar Ecol Prog Ser* 76:219-233.
- Figueiras FG, Ríos AF (1993) Phytoplankton succession, red tides and the hydrographic regime in the Rías Bajas of Galicia. En: Smayda TJ, Shimizu Y (eds) *Toxic phytoplankton blooms in the sea* Elsevier Science Publishers, N. York, pp 239-244.
- Flynn KL, Butler I (1986) Nitrogen sources for the growth of marine microalgae: role of dissolved free amino acids. *Mar Ecol Prog Ser* 34:281-304.
- Fogg GE (1983) The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Bot Mar* 26:3-14.
- Fraga F (1981) Upwelling off the Galician coast, Northwest Spain. En: Richards FA (eds) *Upwelling ecosystems*, American Geophysical Union, Washington DC, pp. 176-182.
- Fraga F, Ríos AF, Pérez FF, Estrada M, Marrasé C (1999) Effect of upwelling pulses on excess carbohydrate synthesis as deduced from nutrient, carbon dioxide and oxygen profiles. *Mar Ecol Prog Ser* 189:65-75.

- Frouin R (1990) Observations of a poleward surface current off the coast of Portugal and Spain during winter. *J Geophys Res* 95:679-671.
- Furhman J (1987) Close coupling between release and uptake of dissolved free aminoacids in seawater studied by an isotope dilution approach. *Mar Ecol Prog Ser* 37:45-52.
- Gasol JM, Duarte GM (2000) Comparative analyses in aquatic microbial ecology: how far do they go? *FEMS Microb Ecol* 31:99-101.
- Gaul W, Antia AN, Koeve W (1999) Microzooplankton grazing and nitrogen supply of phytoplankton growth in the temperate and subtropical northeast Atlantic. *Mar Ecol Prog Ser* 189:93-104.
- Glibert PM, Goldman JC, Carpenter EJ (1982a) Seasonal variations in the utilization of ammonium and nitrate by phytoplankton in the Vineyard Sound, Massachusetts, USA. *Mar Biol* 70:237-249.
- Glibert PM, Lipschultz F, McCarthy JJ, Altabet MA (1982b) Isotope dilution models of uptake and remineralization of ammonium by marine plankton. *Limnol Oceanogr* 27:639-650.
- Glibert PM, Dennett MR, Caron DA (1988) Nitrogen uptake and NH_4^+ regeneration by pelagic microplankton and marine snow from the North Atlantic. *J Mar Res* 46:837-852.
- Glibert PM (1993) The interdependence of uptake and release of NH_4^+ and organic nitrogen. *Mar Microb Food Web* 7:53-67.
- Glibert PM (1998) Interactions of top-down and bottom-up control in planktonic nitrogen cycling. *Hydrobiologia* 363:1-12.
- Goeyens L, Kindermans N, Abu Yusuf M, Elskens M (1998) A room temperature method for the manual determination of urea in seawater. *Estuar Coast Shelf Sci* 47:415-418
- Goldman JC, Dennett MR (1991) Ammonium regeneration and carbon utilization by marine bacteria grown on mixed substrates. *Mar Biol* 109:369-378.
- González N, Anadón R, Mouriño B, Fernández E, Sinha B, Escánez J, de Armas D (2001) The metabolic balance of the planktonic community in the N Atlantic Subtropical Gyre: the role of mesoscale instabilities. *Limnol Oceanogr* 46:946-952.

- González N, Anadón R, Marañón E (2002) Large-scale variability of planktonic net community metabolism in the Atlantic Ocean: importance of temporal changes in oligotrophic subtropical waters. *Marine Ecology Progress Series* 233:21-30.
- Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (1983) *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie, Weinheim.
- Haga H, Nagata T, Sakamoto M (2001) Ammonium regeneration within the euphotic zone. En: Saijo Y, Hayashi H (eds) *Lake Kizaki: limnology and ecology of a Japanese lake waters*. *Arch Hydrobiol* 90:106-120.
- Hansell DA, Bates NR, Gundersen K (1995) Mineralization of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Mar Chem* 51:201-212.
- Hansell DA, Waterhouse TY (1997) Control of the distributions of organic carbon and nitrogen in the eastern Pacific Ocean. *Deep-Sea Res* 44:843-857.
- Hasegawa T, Koike I, Mukai H (2000a) Dissolved organic nitrogen dynamics in coastal waters and the effect of copepods. *J Experim Mar Biol Ecol* 244:219-238.
- Hasegawa T, Koike I, Mukai H (2000b) Release of dissolved organic nitrogen by size-fractionated natural planktonic assemblages in coastal waters. *Mar Ecol Prog Ser* 198:43-99.
- Hasegawa T, Koike I, Mukai H (2001) Release of dissolved organic nitrogen by a planktonic community in Akkeshi Bay. *Aquat Microb Ecol* 24:99-107.
- Head EJH, Harrison WG, Irwin BI, Horne EPW, Li WKW (1996) Plankton dynamics and carbon flux in an area of upwelling off the coast of Morocco. *Deep-Sea Res* 43:1713-1738.
- Hooker SB, Rees NP, Aiken J (2000) An objective methodology for identifying oceanic provinces. *Progr Oceanogr* 45: 313-338.
- Hoppe H-G, Ducklow H, Karrasch B (1993) Evidence for dependency of bacterial growth on enzymatic hydrolysis of particulate organic matter in the mesopelagic ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 93:277-283.
- Hu S, Smith WO Jr (1998) The effects of irradiance on nitrate uptake and dissolved organic nitrogen release by phytoplankton in the Ross Sea. *Cont Shelf Res* 18:971-990.
- Huskin I, Anadón R, Woodd-Walker RS, Harris RP (2001) Basin-scale latitudinal patterns of copepod grazing in the Atlantic Ocean. *J Plankton Res* 23:1361-1371.

- Ietswaart T, Schneider PJ, Prins RA (1994) Utilization of organic nitrogen sources by two phytoplankton species and a bacterial isolate in pure and mixed cultures. *Appl Environ Microbiol* 60:1554-1560.
- Ittekkot V, Brockmann U, Michaelis W, Degens ET (1981) Dissolved free and combined carbohydrates during a phytoplankton bloom in the northern North Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 4:299-305.
- Jackson GA, Williams PM (1985) Importance of dissolved organic nitrogen and phosphorus to biological nutrient cycling. *Deep-Sea Res* 32:223-235.
- Joint I, Rees AP, Woodward EMS (2001) Primary production and nutrient assimilation in the Iberian upwelling in August 1998. *Prog Oceanogr* 51:303-320.
- Jones RD (1991) An improved fluorescence method for the determination of nanomolar concentrations of ammonium in natural waters. *Limnol Oceanogr* 36: 814-819.
- Jørgensen NOG, Kroer N, Coffin RC, Yang XH, Lee C (1993) Dissolved free aminoacids, combined aminoacids, and DNA as sources of carbon and nitrogen to marine bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 98:135-148.
- Jørgensen NOG, Tranvik LJ, Berg GM (1999) Occurrence and bacterial cycling of dissolved nitrogen in the Gulf of Riga, the Baltic Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 191:1-18.
- Jumars PA, Penry DL, Barros JA, Perry MJ, Frost MW (1997) Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and adsorption in animals. *Deep-Sea Res* 36:483-495.
- Keil RG, Kirchman DL (1999) Utilization of dissolved protein and aminoacids in the northern Sargasso Sea. *Aquat Microb Ecol* 18:293-800.
- Kiefer DA, Atkinson CA (1984) Cycling of nitrogen by plankton: a hypothetical description based upon efficiency of energy conversion. *J Mar Res* 42:655-675.
- Kjørboe T (1993) Turbulence, phytoplankton cell size, and the structure of pelagic food webs. *Adv Mar Biol* 29:1-72.
- Kirchman DL, Keil RG, Wheeler PA (1989). The effect of amino acids on ammonium utilization and regeneration by heterotrophic bacteria in the subarctic Pacific. *Deep-Sea Res* 36:1763-1776.

- Kirchman DL, Suzuki Y, Garside C, Ducklow HW (1991) High turnover rates of dissolved organic carbon during a spring phytoplankton bloom. *Nature* 352:612-614.
- Kirchman DL (1993) Leucine incorporation as a measure of biomass production by heterotrophic bacteria. En: Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds). *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, Boca Raton, pp 509-512.
- Kirchman DL, Ducklow HW (1993) Estimating conversion factors for the thymidine and leucine methods for measuring bacterial production. En: Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds) *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis publishers, Boca Raton, pp 513-517.
- Kirchman DL, Lancelot C, Fasham MJR, Legendre L, Radach G, Scott M (1993) Dissolved organic material in biogeochemical models of the ocean. En: Evans GT, Fasham MJR (eds) *Towards a model of ocean biogeochemical processes*, NATO Series I: Global Environmental Change 10, Berlin pp 209-225.
- Kirchman DL (1994) The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. *Microb Ecol* 28: 255-271.
- Kirchman DL, Wheeler PA (1998) Uptake of ammonium and nitrate by heterotrophic bacteria and phytoplankton in the sub-Arctic Pacific. *Deep-Sea Res* 45:347-365.
- Kuipers BR, Witte HJ (2000) Prochlorophytes as secondary prey for heterotrophic nanoflagellates in the deep chlorophyll maximum layer of the (sub)tropical North Atlantic. *Mar Ecol Prog Ser* 204: 53-63.
- Laws E (1984) Isotope dilution models and the mystery of the vanishing ^{15}N . *Limnol Oceanogr* 29:379-386.
- Le Bouteiller A (1986) Environmental control of nitrate and ammonium uptake by phytoplankton in the Equatorial Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 30:167-179.
- Legendre L, Goselin M (1990) Estimation of N or C uptake rates using ^{15}N or ^{13}C : revisiting the usual computation formulae. *J Plankton Res* 19:263-271.
- Legendre L, Le Fèvre J (1995) Microbial food webs and the export of biogenic carbon in the oceans. *Aquat Microb Ecol* 9:69-77.
- Legendre L, Rassoulzadegan F (1995) Plankton and nutrient dynamics in marine waters. *Ophelia* 41:153-172.

- Lewis MR, Harrison WG, Oakey NS, Hebert D, Platt T (1986) Vertical nitrate fluxes in the oligotrophic ocean. *Science*, 234: 870-873.
- Lomas MW, Trice TM, Glibert PM, Bronk DA, McCarthy JJ (2002) Temporal and spatial dynamics of urea concentrations in Chesapeake Bay: biological versus physical forcing. *Estuaries* 25:469-482.
- Longhurst A (1998) *Ecological Geography of the Sea*. Academic Press. New York.
- Mague TH, Friberg E, Hughes DJ, Morris I (1980) Extracellular release of carbon by marine phytoplankton: a physiological approach. *Limnol Oceanogr* 25: 262-279.
- Marañón E, Holligan PM, Varela M, Mouriño B, Bale BM (2000) Basin-scale variability of phytoplankton biomass, production and growth in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res* 47:825-857.
- Marañón E, Holligan PM, Barciela R, Gonzalez N, Mouriño B, Pazó MJ, Varela M (2001) Patterns of phytoplankton size structure and productivity in contrasting open-ocean environments. *Mar Ecol Prog Ser* 216:43-56.
- Margalef R (1978) Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in a unstable environment. *Oceanol Acta* 1:493-509.
- McCarthy JJ, Nevins JL (1986) Sources of nitrogen for primary production in warm-core rings 79-E and 81-D. *Limnol Oceanogr* 31:690-700.
- McCarthy MD, Hedges JI, Benner R (1998) Major bacterial contribution to marine dissolved organic nitrogen. *Science* 281:231-234.
- McKnight DM, Aiken GR (1998) Sources and age of aquatic humus. En: Hessen DO, Trnvik LJ (eds) *Aquatic humic substances*. Springer, pp 9-39.
- Meon B, Kirchman DL (2001) Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during phytoplankton blooms. *Mar Chem* 75:185-199.
- Metzler PM, Glibert PM, Gaeta SA, Ludlam JM (1997) New and regenerated production in the South Atlantic off Brazil. *Deep-Sea Res* 44:363-384.
- Middelboe M, Borch NH, Kirchman DL (1995) Bacterial utilization of dissolved free aminoacids, dissolved combined amino acids and ammonium in the Delaware Bay estuary: effects of carbon and nitrogen limitation. *Mar Ecol Prog Ser* 128:109-120.
- Miklestad SM, Skanøy E, Hestmann S (1997) A sensitive and rapid method for analysis of dissolved mono- and polysaccharides in seawater. *Mar Chem* 56:279-286.

- Miller CA, Glibert PM (1998) Nitrogen excretion by the calanoid copepod *Acartia tonsa*: results of mesocosm experiments. *J Plankton Res* 20:1767-1780.
- Mino Y, Saino T, Suzuki K, Marañón E (2002) Isotopic composition of suspended particulate nitrogen ($\delta^{15}\text{N}_{\text{sus}}$) in surface waters of the Atlantic Ocean from 50° N to 50° S. *Global Biogeochem Cycles* 16:doi:10.1029/2001GB001635.
- Morán XAG, Gasol JM, Arín L, Estrada M (1999) A comparison between glass fibre and membrane filters for the estimation of phytoplankton POC and DOC production. *Mar Ecol Prog Ser* 187:31-41.
- Morán XAG, Gasol JM, Pedros-Alio C, Estrada M (2001) Dissolved and particulate primary production and bacterial production in offshore Antarctic waters during austral summer: coupled or uncoupled? *Mar Ecol Prog Ser* 222:25-39.
- Morán XAG, Estrada M (2002) Phytoplanktonic DOC and POC production in the Bransfield and Gerlache Straits as derived from kinetic experiments of ^{14}C incorporation. *Deep-Sea Res II* 49:769-786.
- Morán XAG, Gasol JM, Pedros-Alio C, Estrada M (2002). Partitioning of phytoplankton organic carbon production and bacterial production along a coastal-offshore gradient in the NE Atlantic during different hydrographic regimes. *Aquat Microb Ecol* 29:239-252.
- Nagao F, Miyazaki T (1999) A modified ^{15}N method and new calculation for estimating release of dissolved organic nitrogen by fresh water planktonic algae. *Aquat Microb Ecol* 16:309-314
- Nagao F, Miyazaki T (2002) Release of dissolved organic nitrogen from *Scenedesmus quaricauda* (Chlorophyta) and *Microcystis novcekkii* (Cyanobacteria). *Aquat Microb Ecol* 27:275-284.
- Nagata T (1986) Carbon and nitrogen content of natural planktonic bacteria. *Appl Environ Microbiol* 52:28-32.
- Nagata T, Kirchmann DL (1992) Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa: implications for microbial food webs. *Arch Hydrobiol Ergeb Limnol* 35: 99-109.
- Nagata T (2000) Production mechanisms of dissolved organic matter. En: Kirchman DL (ed) *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss Inc, New York, pp 121-152.
- Norland S, Heldal M, Tumor O (1987) On the relation between dry matter and volume of bacteria. *Microbiol Ecol* 13:95-103.

- Norrman B, Zweifel UL, Hopkinson CS, Fry B (1995). Production and utilization of dissolved organic carbon during an experimental diatom bloom. *Limnol Oceanogr* 40:898-907.
- Obernosterer I, Herndl GJ (2000) Differences in the optical and biological reactivity of humic and nonhumic dissolved organic carbon component in two contrasting marine environments. *Limnol Oceanogr* 45:1120-1129.
- Ogawa H (2000) Bulk chemical aspects of dissolved organic matter in seawater review: the recent findings and unsolved problems. En: *Dynamics and Characterization of marine organic matter* (eds) Handa N, Tanoue E, Hama T, pp 311-337.
- Ogawa H, Amagai Y, Koike I, Kaiser K, Benner R (2001) Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science* 292:917-920.
- Pakulski JD, Benner R (1994) Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean. *Limnol Oceanogr* 39:930-940.
- Parsons TR, Maita Y, Lalli CM (eds) (1984) *A manual of chemical and biological methods for seawater analysis*. Pergamon Press, Oxford.
- Pelegri SP, Christaki U, Dolan J, Rassoulzadegan F (1999) Particulate and dissolved organic carbon production by the heterotrophic nanoflagellate *Pteridomonas danica*, Patterson and Fenchel 1985, fed *Escherichia coli*. *Microb Ecol* 37:276-284.
- Peltzer ET, Hayward NA (1996) Spatial and temporal variability of total organic carbon along 140° W in the equatorial Pacific Ocean in 1992. *Deep-Sea Res II* 43:1155-1180.
- Pérez FF, Mouriño C, Fraga F, Ríos AF (1993) Displacement of water masses and remineralization rates off the Iberian Peninsula by nutrient anomalies. *J Mar Res* 51:869-892.
- Planas D, Agustí S, Duarte CM, Granata TC, Merino M (1999) Nitrate uptake and diffusive nitrate supply in the Central Atlantic. *Limnol Oceanogr* 44:116-126.
- Prego R (1993) General aspect of carbon biogeochemistry in the Ría of Vigo, northwestern Spain. *Geochim Cosmochim Acta* 57:2041-2052.
- Pujo-Pay M, Conan O, Raimbault P (1997) Excretion of dissolved organic nitrogen by phytoplankton assessed by wet oxidation and ¹⁵N tracer procedures. *Mar Ecol Prog Ser* 153:99-111.

- Probyn TA, Waldron HN, James AG (1990) Size-fractionated measurements of nitrogen uptake in aged upwelled waters: Implications for pelagic food webs. *Limnol Oceanogr* 35:202-210.
- Quevedo M, Anadón R (2001) Protist control of phytoplankton growth in the north-east Atlantic subtropical gyre. *Mar Ecol Prog Ser* 221:29-38.
- Raimbault P, Slawyk P, Garcia N (2000) Comparison between chemical and isotopic measurements of biological nitrate utilization: further evidence of low new production levels in the equatorial Pacific. *Mar Biol* 136:1147-1155.
- Rassoulzadegan F (1993) Protozoan patterns in the Azam-Ammerman's bacteria-phytoplankton mutualism. En: Guerrero R y Pedrós-Alió C (eds). *Trends in microbial ecology*, Spanish Society of Microbiology, Barcelona, pp 435-439.
- Reay DS, Nedwell DB, Priddle J, Ellis-Evans JC (1999) Temperature dependence of inorganic nitrogen uptake: reduced affinity for nitrate at suboptimal temperatures in both algae and bacteria. *Appl Environ Microbiol* 65: 2577-2584
- Redfield AC, Ketchum BH, Richards FA (1963) The influence of organisms on the composition of seawater. En: Hill NH (eds) *The Sea*, Vol. 2, Wiley, New York, pp 26-77.
- Rees A, Woodward EMS, Joint I (1999) Measurements of nitrate and ammonium uptake at ambient concentrations in oligotrophic waters of the North-East Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 187:295-300.
- Riegman R, Noordelos AAM (1998) Size-fractionated uptake of nitrogenous nutrients and carbon by phytoplankton in the North Sea during summer 1994. *Mar Ecol Prog Ser* 173:85-94.
- Seitzinger SP, Sanders R (1997) Contribution of dissolved organic nitrogen from rivers to estuarine eutrophication. *Mar Ecol Prog Ser* 159:1-12.
- Seitzinger SP, Sanders R (1999) Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen stimulate estuarine bacteria and phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 44:721-730.
- Serret P, Fernández E, Sostres JA, Anadón R (1999) Seasonal compensation of microbial production and respiration in a temperate sea. *Mar Ecol Prog Ser* 187:43-57.
- Serret P, Robinson C, Fernández E, Teira E, Tilstone G (2001) Seasonal compensation of microbial production and respiration in a temperate sea. *Limnol Oceanogr* 46:1642-1652.

- Serret P, Fernández E, Robinson C (2002) Biogeographic differences in the net ecosystem metabolism of the open ocean. *Ecology* 83:3225-3234
- Sharp JH, Rinker KR, Savidge KB, Abell J, Benaim JY, Bronk D, Burdige DJ, Cauwet G, Chen W, Doval MD, Hansell DA, Hopkinson C, Kattner G, Kaumeyer N, McGlathery KJ, Merriam J, Morley N, Nagel K, Ogawa H, Pollard C, Pujo-Pay M, Raimbault P, Sambrotto RN, Seitzinger SP, Spyres G, Tirendi F, Walsh TW, Wong CS (2002) A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater. *Mar Chem* 78:171-184.
- Sherr EB, Sherr BF (1996) Temporal offset in oceanic production and respiration processes implied by seasonal changes in atmospheric oxygen: the role of heterotrophic microbes. *Aquat Microb Ecol* 11:91-100.
- Sherr EB, Sherr BF (2000) Marine microbes. En: Kirchman DL (eds) *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss, Inc, New York, pp 13-46.
- Simon M, Rosenstock B (1992) Carbon and nitrogen sources of planktonic bacteria in Lake Costance studied by composition and isotope dilution of intracellular amino acids. *Limnol Oceanogr* 37:1496-1511.
- Slawyk G, Raimbault P (1995) Simple procedure for simultaneous recovery of dissolved inorganic and organic nitrogen in ^{15}N tracer experiments and improving the isotopic mass balance. *Mar Ecol Prog Ser* 124:289-299
- Slawyk G, Raimbault P, Garcia N (1998) Measuring gross uptake of ^{15}N -labeled nitrogen by marine phytoplankton without particulate matter collection: Evidence of low ^{15}N losses to the dissolved organic nitrogen pool. *Limnol Oceanogr* 43:1734-1739.
- Slawyk G, Raimbault P, Garcia N (2000) Use of ^{15}N to measure dissolved organic nitrogen release by marine phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 45:1884-1886.
- Smith DC, Azam F (1992) A simple economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using ^3H -leucine. *Mar Microb Food Webs* 6:107-114.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1981) *Biometry* 2nd Edn. WH Freeman and Co, New York.
- Søndergaard M, Hansen B, Markager S (1995) Dynamics of dissolved organic carbon lability in a eutrophic lake. *Limnol Oceanogr* 40:46-54.

- Søndergaard M, Williams PJ le B, Cauwet G, Riemann B, Robinson C, Terzic S, Woodward EMS, Worm J (2000) Net accumulation and flux of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen in marine plankton communities. *Limnol Oceanogr* 45:1097-1111.
- Steele JH (1974) *The structure of marine ecosystems*. Harvard University Press, Cambridge.
- Stockner JG, Klut ME, Cochlan WP (1990) Leaky Filters: A Warning to Aquatic Ecologists. *Can J Fish Aquat Sci* 47:16-23.
- Stoderegger K, Herndl GJ (1998) Production and release of bacterial capsular material and its subsequent utilisation by marine bacterioplankton. *Limnol Oceanogr* 43:877-884.
- Strom SL, Benner R, Ziegler S, Dagg MJ (1997) Planktonic grazers are a potentially important source of marine dissolved organic carbon. *Limnol Oceanogr* 42:1364-1374.
- Sugimura Y, Suzuki Y (1988) A high temperature catalytic oxidation method of non-volatile dissolved organic carbon in seawater by direct injection of liquid sample. *Mar Chem* 24:105-131.
- Suzuki Y, Sugimura Y, Itoh T (1985) A catalytic oxidation method for the determination of total nitrogen dissolved in seawater. *Mar Chem* 16:83-97.
- Suzuki Y (1993) On the measurement of DOC and DON in seawater. En: Hedges JI, Lee CI (eds) *Measurements of dissolved organic carbon and nitrogen in natural waters*. *Mar Chem* 41:287-288.
- Teira E, Serret P, Fernández E (2001a) Phytoplankton size-structure, particulate and dissolved organic carbon production and oxygen fluxes through microbial communities in the NW Iberian coastal transition zone. *Mar Ecol Prog Ser* 219:65-83.
- Teira E, Pazó MJ, Serret P, Fernández E (2001b) Dissolved organic carbon production by microbial populations in the Atlantic Ocean. *Limnol Oceanogr* 46:1370-1377.
- Teira E, Pazó MJ, Quevedo M, Fuentes MV, Niell FX, Fernández E (2003) Rates of dissolved organic carbon production and bacterial activity in the eastern North Atlantic Subtropical Gyre during summer. *Mar Ecol Prog Ser* 249:53-67.

- Thingstad TF, Hagström A, Rassoulzadegan F (1997) Accumulation of degradable DOC in surface waters: is it caused by a malfunctioning microbial loop?. *Limnol Oceanogr* 42:398-404.
- Thingstad TF (2000) Elements of a theory for the mechanism controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol Oceanogr* 45:1320-1328.
- Tilstone G H, Figueiras FG, Fermín EG, Arbones B (1999) Significance of nanophytoplankton photosynthesis and primary production in a coastal upwelling system (Ría de Vigo, NW Spain). *Mar Ecol Prog Ser* 183:13-27.
- Tremblay J-É, Legendre L (1994) A model for the size-fractionated biomass and production of marine phytoplankton. *Limnol Oceanogr* 39:2004-2014.
- Tremblay J-É, Legendre L, Therriault JC (1997) Size-differential effects of vertical stability on the biomass and production of phytoplankton in a large estuarine system. *Estuar Coast Shelf Sci* 45:415-431.
- Tremblay J-É, Legendre L, Klein B, Therriault J-C (2000) Size-differential uptake of nitrogen and carbon in a marginal sea (Gulf of St. Lawrence, Canada): significance of diel periodicity and urea uptake. *Deep-Sea Res II* 47:489-518.
- Tupas L, Koike I (1991) Simultaneous uptake and regeneration of ammonium by mixed assemblages of heterotrophic marine bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 70:273-282.
- Tupas LM, Koike I, Karl DM, Holm-Hansen O (1994) Nitrogen metabolism by heterotrophic bacterial assemblages in Antarctic coastal waters. *Polar Biol* 14:195-204.
- UNESCO (1994) Determination of bacterioplankton abundance. En: *Protocols for the Joint Global Flux Study (JGOFS) Core measurements. SCOR-IOC-UNESCO Manuals and Guides* 29:125-127.
- Valencia J, Abalde J, Bode A, Cid A, Fernández E, González E, Lorenzo J, Teira E, Varela M (2003) Variations in planktonic bacterial biomass and production, and phytoplankton blooms off A Coruña (NW Spain). *Sci Mar* 67:143-157.
- Varela DE, Harrison PJ (1999) Seasonal variability in nitrogenous nutrition of phytoplankton assemblages in the northeastern subarctic Pacific Ocean. *Deep-Sea Res II* 46:2505-2538.

- Varela MM, Bode A, González N, Rodríguez C, Varela M (2003a) Fate of organic matter in the Ría de Ferrol (Galicia, NW Spain): uptake by pelagic bacteria vs. particle sedimentation. *Acta Oecol* 24:S77-S86.
- Varela MM, Barquero S, Bode A, Fernández E, González N, Teira E, Varela M (2003b) Microplanktonic regeneration of ammonium and dissolved organic nitrogen in the upwelling area of the Galician shelf (NW Spain): relationships with phytoplankton size-structure and production. *J Plankton Res* 25:719-736.
- Varela MM, Bode A, Fernández E, Gonzalez N, Kitidis V, Varela M, Woodward EMS (enviado) Nitrogen uptake and dissolved organic nitrogen (DON) release in planktonic communities characterised by phytoplankton size-structure in the Central Atlantic Ocean. *Deep-Sea Res.*
- Venables WN, Ripley BD (1997) *Modern and applied statistics with S-PLUS*. Springer-Verlag, New York.
- Vidal M, Agustí S, Duarte CM (1999) Dissolved organic nitrogen and phosphorus pools and fluxes in the central Atlantic Ocean. *Limnol Oceanogr* 44:106-115.
- Volk CJ, Volk CB, Kaplan LA (1997) Chemical composition of biodegradable organic matter in streamwater. *Limnol Oceanogr* 42:39-44.
- Ward BB, Kilpatrick KA, Renger EH, Eppley W (1989) Biological nitrogen cycling in the nitracline. *Limnol Oceanogr* 34:493-513.
- Ward BB, Bronk DA (2001) Net nitrogen uptake and DON release in surface waters: importance of trophic interactions implied from size fractionation experiments. *Mar Ecol Prog Ser* 219:11-24.
- Wheeler PA, Kirchman DL (1986) Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. *Limnol Oceanogr* 19:249-259.
- Williams PJ le B, Berman T, Holm-Hansen O (1976) Amino acid uptake and respiration by marine heterotrophs. *Mar Biol* 35:41-47.
- Williams PJ le B (1995) Evidence for the seasonal accumulation of carbon-rich dissolved organic material, its scale in comparison with changes in particulate material and the consequential effect on net C/N assimilation ratio. *Mar Chem* 51: 17-29.
- Woodward EMS, Rees AP (2001). Nutrient distributions in an anticyclonic eddy in the northeast Atlantic Ocean, with reference to nanomolar ammonium concentrations. *Deep-Sea Res II* 48:775-793.

Zubkov MV, Sleigh MA, Tarran GA, Burkill PH, Leakey RJG (1998) Picoplanktonic community structure on an Atlantic transect from 50°N to 50°S. *Deep-Sea Res* 45:1339-1355.

Zubkov MV, Fuchs BM, Eilers H, Burkill PH, Amann R (1999) Determination of total protein content of bacterial cells by SYPRO staining and flow cytometry. *Appl Environ Microbiol* 65:3251-3257.

Zubkov MV, Sleigh MA, Burkill PH, Leakey RJG (2000) Bacterial growth and grazing losses in contrasting areas of North and South Atlantic. *J Plankton Res* 22:685-710.

Zubkov MV, Sleigh MA, Burkill PH (2001) Heterotrophic bacterial turnover along the 20° W meridian between 59° N and 37° N in July 1996. *Deep-Sea Res II*, 48: 987-1001.