



EFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA DE LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS A TRAVES DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES

TESIS DOCTORAL



Lilia Serrano Grijalva

SEPTIEMBRE, 2015

MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES-CSIC. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
MADRID, ESPAÑA.

EFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL
EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA
DE LOS HUMEDALES A TRAVÉS
DEL USO DE ISÓTOPOS
ESTABLES

TESIS DOCTORAL

LILIA SERRANO GRIJALVA

DIRECTOR

SALVADOR SANCHEZ-CARRILLO

Septiembre, 2015

“Es preciso sacudir energicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoci3n de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes”.

Ram3n y Cajal

A mis Padres
A Raúl

Agradecimientos

Primeramente me siento feliz de tener una sección en la cual puedo plasmar, aunque sea EN unas cuantas líneas, agradecimientos a tanta gente con la que he convivido a lo largo de todo este proceso y que han contribuido de manera muy significativa tanto en mi formación profesional como personal.

Llegue a España en el año 2009, lo cual supuso un cambio radical en mi vida, una nueva etapa, cambio de País, de amigos y por su puesto de trabajo. Por eso estaré por siempre agradecida con Salvador y Ráquel por haberme hecho sentir como en casa, por recibirme, mostrarme, enseñarme y compartirme a gente de gran valor (las dos Pilares, Esther y Toni), que para mí fueron personas fundamentales en el proceso de adaptación en Madrid y, que hoy he adoptado como mi segunda casa. Gracias a Ráquel también por acompañarme en todos los trámites iniciales para la realización de esta Tesis y por tus palabras de aliento y sabiduría durante todo el proceso.

Agradezco a mi Director de Tesis Salvador Sánchez Carrillo por darme la oportunidad de realizar este Doctorado en un País diferente, por acogerme dentro del Departamento y, por permitirme ser parte de proyectos importantes para España, como lo son los llevados a cabo en el Parque Natural Las Tablas de Daimiel. Gracias Salvador por tus consejos y por tu ayuda en todo lo que concierne a la realización de esta Tesis. Gracias también por ayudarme a publicar mi primer artículo científico.

Agradezco al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) por concederme la beca “Junta para la Ampliación de Estudios” (Programa JAE) para la formación de investigadores y técnicos que me ha permitido realizar esta Tesis Doctoral. Este programa es cofinanciado por el

Fondo Social Europeo. A todo el personal del CSIC-MNCN que de una u otra forma me ayudaron a realizar mis tareas de cada día Esteban Manrique, Octavio, Luis y Elena. A Raimundo Villarreal que desde que entré al CSIC me hizo sentir como en casa y su buena disposición me ayudó en cualquier trámite a realizar; gracias por ser mi amigo.

A todo el personal que trabaja en Las Tablas de Daimiel que siempre estuvieron dispuestos a colaborar y ayudar, así como también le agradezco al Director del Parque Carlos Ruíz de La Hermosa por dejarnos trabajar en el Parque y por las facilidades prestadas en su momento.

En el proceso final de mi Tesis, tuve la oportunidad de conocer a grandes investigadores, a los cuales agradezco infinitamente su disposición y amabilidad, así como sus aportaciones valiosas para esta Tesis. A Brian Fry que me iluminó con algunos puntos de la interpretación de los isótopos estables y a Erick B. Erhardt creador del modelo SISUS que me prestó su ayuda en la aplicación de dicho modelo. A Yolima Carrillo Español por servir como revisor externo voluntario y por hacerme valiosas contribuciones a la Tesis.

A Miguel Álvarez Cobelas, por sus palabras de aliento hacia la juventud que va iniciando y por compartir sus historias de la ciencia, así como estar dispuesto a responder cualquier duda científica. A Santos Cirujano y Ana Meco, pues sin su ayuda esta Tesis no estaría completa. Gracias por el tiempo, la energía, la dedicación y las enseñanzas en cada muestreo de campo, todo ello ha sido muy útil en el proceso de mi formación. A Juan Carlos Murillo por atenderme con alguna que otra duda científica o técnica. A Thomas Schmid que iniciamos las primeras campañas de muestreo.

A mis amigas-compañeras de despacho Ana Eugercios, Laura Parrilla, María José Ortíz, Raquel Rey, de las que tengo muy bonitos recuerdos. Juntas compartimos muchas horas de ordenador, muchas carcajadas, alegrías, cumpleaños (regalos), viajes y momentos de consuelo. Aún las

recuerdo esperándonos para ir al rico desayuno de pan con tomate, nuevo para mí en aquel entonces y un fuerte café (no como en México, casi agua). Cada una de ellas me aportó de diferentes formas enseñanzas en mi vida y me ayudaron a poner el granito de arena en esta Tesis. De vez en cuando aparecía nuestro amigo José Luis, siendo cómplice de nuestras pláticas, si es que no estaba ocupado en su laboratorio. A mis amigos-compañeros en aquel tiempo estudiantes de Doctorado del CSIC, ahora ya la mayoría doctores como Roberta, Celia, Xavi, Jelena, José Miguel, Vanesa, Francesca, Irene, Mariana, Clara, Raúl, David y Sergio, así como otras personas que no aparecen aquí; con ellos compartí muchos momentos de charlas de política, de ciencia, de manifestaciones, de viajes y de vez en cuando nos prestamos alguno que otro equipo de campo, de laboratorio y/o nos ayudamos en algún muestreo.

A María José con quien compartí hasta el último día en mi despacho, gracias a su carácter fuerte, a su coraje y a sus puntos de vistas diferentes de ver el mundo, así como las llevadas a campo tantas veces en verano principalmente y por las explicaciones del uso de diferentes equipos tanto del laboratorio como de campo. Gracias a Laura que con su ánimo, a su sonrisa y su forma de ver el lado bueno de las cosas y de la vida, gracias por ser así y por tu ayuda en el laboratorio y la explicación del funcionamiento de los equipos. A Ráquel por su buena vibra, ocurrencias y su fuerza que contagiaba para trabajar largas horas. A Ana que simplemente verla tan dedicada en sus modelos y sus palabras de aliento me ayudaron a proseguir en mi Tesis. A Celia, que aunque un poco lejos del despacho compartimos puntos de vista en la realización de nuestras investigaciones. A Ángel Rubio que se aparecía de vez en cuando por nuestro Departamento alentando a seguir adelante, además de llevarnos ricos churros con chocolate en las mañanas de invierno. A José Luis, que primeramente me tuvo que enseñar a dejar todo limpio y organizado el laboratorio, gracias a sus conocimientos y a sus habilidades para poner en marcha cualquier protocolo, así como también gracias por sus pláticas y comidas después de un día largo de laboratorio. A Roberta Morea cuya energía, motivación y palabras de aliento me sirvieron para seguir en el camino. A Juan Luis de La Rosa por ser un buen amigo y por saber que he podido contar contigo para cualquier cosa.

A Juan Carlos Álvarez Yépiz que desde que estudie el Máster me hizo grandes comentarios al manuscrito, gracias por estar al pendiente de mi investigación. A Ana Luisa Gallardo que desde antes de iniciar esta Tesis estuvo conmigo motivándome a emprender este largo viaje y que me ha acompañada hasta el final. A mis amigas de toda la vida, Amanda, Sonia, Ana, Julieta, Luly, Edith, que siempre han estado ahí dándome palabras de apoyo.

A Matthias Boer por estar al pendiente de la culminación de esta Tesis y por tus valiosos consejos al final de esta etapa. A Fernando Maestre, Dolo, Manuel Delgado y Melissa, por pasar esta última etapa en mi vida y por aportarme valiosas palabras de aliento hacia la finalización de mi Tesis.

A Tere y Carlos Ochoa que han estado apoyándome a que termine esta etapa y en la medida posible me han ayudado así como Marta, Andrea, Javi y Ramón. Gracias por las impresiones y la edición de la Tesis. A toda mi familia de México, Tía Chela, Tía Alma, Tío Rirri, Tía Conchita, Tía Carmen, Tío Adrián-Tía Alma, a mis primos Adrián, Pedro Alonso, Nadia, Juan José, Enrique, Magui, Lupita, Víctor, porque cada uno ha contribuido de diferente manera haciéndome sentir bien y ayudándome para que yo estuviera siempre lo mejor posible, desde raítes, comidas, viajes, pláticas y más.

A mis Padres que siempre han estado apoyándome en todo lo nuevo que emprendo, gracias a ellos por hacerme sentir bien independientemente de donde éste y aunque lejos físicamente siempre me han hecho sentirlos cerca. A mis hermanos Claudia y Juan que han estado a lo largo de este proceso viendo pacientemente la etapa de realización.

A Raúl, que sin su ayuda en los últimos años esta etapa no habría sido concluida. Gracias por tu ayuda en todo momento, tus palabras, tus consejos, sugerencias y tus cientos de revisiones al manuscrito. Gracias por estar ahí en todo momento.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción general	0
Objetivo General:	8
Objetivos específicos	8
<i>Referencias</i>	10
I. Capítulo I: Effects of shrimp-farm effluents on the food web structure in subtropical coastal lagoons. Efectos de los efluentes de las granjas camaronícolas en la estructura de las redes tróficas en las lagunas costeras subtropicales.	12
Resumen	13
Abstract.....	13
1. Introduction	14
2. Material and methods	16
2.1. Study area.....	16
2.2. Field collection and sample processing for isotopic analysis.....	19
2.3. Data analysis	22
2.4 Assessment of the food web complexity in coastal lagoons	23
3. Results	25
3.1. Species richness and isotopic signatures.....	25
3.2. Effects of nutrient enrichment on the isotopic signatures of trophic levels	31
3.3 Effects on functional groups (feeding modes).....	33
4. Discussion.....	34
<i>References</i>	43
II. Capítulo II: Principales fuentes de carbono en el sostenimiento de los productores primarios y la producción secundaria en un humedal semiárido en condiciones de perturbación	48
Resumen	49
Abstract.....	49
1. Introducción	50
2. Material y métodos	54
2.1. Sitio de estudio.....	54
2.2 Colecta de las fuentes potenciales de C del humedal	57
2.3 Preparación de las muestras y análisis	59
2.4 Análisis de isótopos estables	59

2.5	Análisis estadístico	60
3.	Resultados	63
3.1	Firmas isotópicas de ¹³ C y ¹⁵ N del reservorio no vivo	65
3.2	Firmas isotópicas de ¹³ C Y ¹⁵ N del reservorio vivo	69
3.3	Relaciones entre el reservorio de C vivo y el reservorio no vivo de C del humedal	71
3.4	Contribución de las fuentes de C a la materia orgánica, productores primarios y producción secundaria del humedal	72
4.	Discusión	75
	<i>Referencias</i>	83
III.	Capítulo III: Estructura trófica de un humedal sometido a múltiples estresores durante los últimos 50 años, incluyendo la invasión de especies exóticas	86
	Resumen	87
	Abstract	87
1.	Introducción	88
2.	Material y métodos	91
2.1.	Sitio de estudio	91
2.2.	Toma de muestras	92
2.3	Preparación de las muestras y análisis	96
2.4	Análisis de isótopos estables	97
2.5	Determinación de los niveles tróficos de los consumidores de Daimiel	98
2.6.	Análisis de los datos	98
3.	Resultados	99
3.1	Composición isotópica de los consumidores primarios y secundarios del humedal	99
3.2	Longitud de la cadena alimenticia y niveles tróficos	103
3.3	Contribución de las fuentes orgánicas a los organismos consumidores del PNTD	105
3.4	Red trófica del PNTD antes y ahora	108
4.	Discusión	112
4.1	Longitud de la cadena trófica del PNTD	113
4.2	Contribución de las fuentes del humedal al sostenimiento de la red trófica del PNTD	117
4.3	La red trófica de Las Tablas: pasado y presente	120
	<i>Referencias</i>	124
IV.	Capítulo IV: Efectos de las perturbaciones antropogénicas en los isótopos estables de ¹³C y ¹⁵N de las plantas acuáticas y su uso como indicadores en humedales	129
	Resumen	130

Abstract	130
1. Introducción	131
2. Material y métodos	137
2.1 La Cuenca del Alto Guadiana y La Mancha Húmeda	137
2.2 Muestreos y análisis químicos convencionales	142
2.3 Análisis de isótopos estables	147
2.4 Datos históricos de calidad del agua, usos del suelo y socioeconomía	147
2.5 Análisis estadísticos	149
3. Resultados	150
3.1 Cambios en la cobertura vegetal y los usos del suelo de 1978-2000	150
3.2 Demografía y sectores productivos en el periodo 1978-2000	154
3.3 Calidad del agua de las lagunas y humedales	157
3.4 Principales fuentes de contaminación de las lagunas y humedales	160
3.5 Firmas isotópicas de ¹³C y ¹⁵N de las plantas acuáticas de las lagunas y humedales de la Mancha Húmeda	162
3.6 Relación entre las características físicas, los cambios demográficos, así como calidad del agua de los ecosistemas de las lagunas y humedales y las firmas isotópicas de ¹³C Y ¹⁵N de las plantas acuáticas	165
3.7 Relaciones entre el uso y cobertura de los suelos, los aspectos socioeconómicos en el entorno local y regional de las lagunas y humedales y las firmas isotópicas de ¹³C y ¹⁵N de las plantas acuáticas	168
4. Discusión	172
4.1 Calidad ambiental de las lagunas y humedales	172
4.2 Respuesta de las firmas isotópicas de ¹³C y ¹⁵N de la vegetación acuática a los diferentes tipos de perturbación presentes en LMH	174
4.3 Efectos de los cambios en los usos y coberturas y en la demografía, (local y regional) en las firmas isotópicas de ¹³C y ¹⁵N de las plantas acuáticas	179
4.4 Grupo o especies de plantas acuáticas bioindicadoras de las perturbaciones antropogénicas en las lagunas de LMH	180
Referencias	184
Discusión general	189
Referencias	200
Conclusiones	202

Introducción general



Las lagunas y humedales estudiados en la presente Tesis: las superiores corresponden a lagunas costeras del Noroeste de México y las restantes a los humedales de La Mancha Húmeda en España.

Uno de los ecosistemas más importantes en el mundo, a pesar de la poca extensión de terreno que ocupan en la tierra (6 %), son los humedales (Mitsch y Gosselink, 2000; Junk et al., 2013). Los humedales se posicionan entre los ecosistemas más productivos de la tierra (ej. estuarios y manglares) y representan un papel muy importante en los ciclos biogeoquímicos globales (Nixon et al., 1986; Alongi, 1998). Estos ecosistemas proporcionan una alta variedad de servicios ambientales a la sociedad y acervo biológico o geológico, entre otros (Maltby y Acreman, 2011), lo cual se ha estimado en un valor promedio por unidad de área de 14.785 USD/ha/año (Constanza et al., 1997). Estos sistemas naturales, además de albergar una alta biodiversidad (Gopal et al., 2000), contribuyen al secuestro de carbono presente en la atmosfera, almacenando en sus suelos entre el 20 y el 30% del carbono de la Tierra (o hasta 700 Pg C (10^{15} g); Mitsch et al., 2012; Lal, 2008). Además estos ecosistemas juegan un rol crucial en el filtrado de agua dulce, incluyendo la remoción de varios químicos y elementos tóxicos potenciales (e.g. metales pesados como el cadmio y el plomo; Millennium Ecosystem Assessment, 2005). Sin embargo, estos sistemas están siendo amenazados por diversas actividades humanas que alteran sus funciones ecológicas traduciéndose en una reducción de la biodiversidad. A nivel mundial se ha destruido entre el 30 y el 90% de los humedales (dependiendo la región) o se han modificado considerablemente en muchos países y, lo que es más preocupante, no hay signos de abatimiento (Junk et al., 2013).

El cambio global amenaza la integridad de los ecosistemas acuáticos a través de la combinación de los impactos de diversos agentes de origen antrópico (contaminación, cambio climático, fragmentación, destrucción de hábitats e introducción de especies exóticas, etc.; Junk et al., 2006). La escasez de agua, el aumento de la temperatura, o los impactos directos de las actividades humanas, pueden llevar a que estos ecosistemas liberen grandes cantidades de CO₂ y CH₄ a la atmósfera, incrementándose las concentraciones de estos gases de efecto invernadero y haciendo mucho más efectivo el cambio climático, y sus pérdidas económicas y ambientales asociadas (Ortíz-Llorente et al., 2012).

Numerosos estudios han tratado de detectar y separar las causas de la degradación ambiental de los ecosistemas acuáticos, ya sean estas de origen natural o de origen antrópico, y de relacionarlas con las alteraciones en su estructura ecológica y, por ende, en su funcionamiento. Los estudios basados en herramientas de medición tradicionales sólo pueden detectar los cambios en los ecosistemas mediante el seguimiento a largo plazo de ciertas variables indicadoras (presencia de contaminantes en aguas y sedimentos, presencia de ciertos organismos y ausencia de otros, etc.). Estos métodos tradicionales son costosos y requieren un elevado esfuerzo temporal y están sometidos a una gran incertidumbre por la difícil asignación de las causas de la variabilidad. Sin embargo, la revolución tecnológica iniciada durante el siglo XX ha proporcionado nuevas herramientas metodológicas que han reducido la incertidumbre y mejorado nuestra capacidad de interpretación. Una de esas herramientas complementarias son

los isótopos estables de C y N. Los isótopos estables son átomos de diferente masa pero idéntica configuración electrónica que están presentes de forma natural en el ambiente. Son estables (no son radioactivos) y no se descomponen por lo que son unos excelentes trazadores de numerosos procesos que ocurren en la naturaleza (Fry, 2007).

En el caso de los organismos, la medición de la abundancia natural de los isótopos estables (C y N principalmente) proporciona una medida continua de su papel dentro de la cadena alimenticia de un ecosistema, integrando la asimilación de energía y materia a través de todas las posibles vías y capturando simultáneamente las interacciones complejas (Post, 2002). Esta información proporciona un registro fidedigno de lo que está ocurriendo en los ecosistemas y de cómo afecta a su estructura biológica y su funcionamiento ecológico. La técnica de isótopos estables se basa en la relación directa de los cocientes de $^{13}\text{C} / ^{15}\text{N}$ de los animales y sus dietas. Los cambios en las proporciones (fraccionamiento) ocurren a través de procesos metabólicos los cuales causan que el isótopo más ligero se pierda preferentemente y el más pesado se retenga (Nyssen et al., 2002). Las fuentes de variación en las firmas isotópicas de los organismos son amplias, desde la dieta, la posición trófica, la discriminación del recurso por parte del consumidor o las vías fotosintéticas (C_3 frente a C_4), hasta los factores secundarios mecanicistas como las propiedades del organismo a nivel de tejido (tipo de tejido, contenido lipídico, ratio C:N, contenido de urea y ácido úrico, etc.), del recurso y del ambiente (nivel de bioma: terrestre o

marino, templado o tropical; nivel de habitat: sequía, latitud, estación, elevación, contaminación o humedad, entre otros; Boecklen et al., 2011).

La teoría isotópica en ecología se basa en los supuestos de que los diferentes productores primarios tienen (o pueden tener) diferentes valores de $\delta^{13}\text{C}$ debido a las distintas vías fotosintéticas o a las diferentes fuentes de C, y que ocurre un fraccionamiento constante entre la firma isotópica del consumidor y su dieta (Bouillon et al., 2002). El C provee información de la fuente primaria de energía utilizada (por ejemplo: entre la fotosíntesis bentónica ó pelágica), mientras que el N permite la diferenciación entre los niveles tróficos. Las firmas isotópicas de los productores primarios varían más que las de otros niveles tróficos debido al constante cambio de fuentes de nutrientes y de sus concentraciones (O'Reilly et al., 2002). Así, el C y el N entran en las redes tróficas con cocientes isotópicos que reflejan un determinado número de procesos biogeoquímicos posibles.

La posición relativa de los organismos en el espacio bidimensional $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ puede revelar aspectos importantes de la estructura de las redes tróficas y, a su vez, permite la evaluación de las respuestas ecológicas a los impactos antropogénicos (Layman et al., 2007). Las redes tróficas representan el conjunto de cadenas alimenticias interrelacionadas en una comunidad ecológica. La cadena alimenticia se conoce como el proceso repetido de comer y ser comido, transfiriendo energía en cada una de sus etapas (Odum, 1990). El estudio la red trófica

proporciona una imagen de la estructura y del funcionamiento actual de un ecosistema y debe, por lo tanto, ser el reflejo de cualquier cambio en el ambiente. Las redes tróficas describen las interacciones alimenticias en las comunidades bióticas y pueden ser utilizadas para trazar el movimiento de nutrientes y materiales a través de los ecosistemas (Douglas et al., 2005).

El análisis de isótopos estables de C y N en las redes tróficas se ha convertido en una herramienta analítica estándar (O'Reilly et al., 2002) para la identificación de las conexiones en las redes tróficas de ríos, llanuras de inundación, marismas, lagos, estuarios y sistemas marinos (e.g. Finlay, 2001; Lewis et al., 2001; Currin et al., 1995; Kling et al., 1992; VanderZanden y Rasmussen, 1999; Deegan y Garrit 1997; Hart y Lovvorn, 2002; Michener y Schell, 1994; Cloern et al., 2002; O'Reilly y Hecky, 2002; entre otros).

La identificación de las fuentes de C para los consumidores primarios y de las posiciones tróficas de todas las categorías de los consumidores había sido virtualmente imposible hasta el uso reciente de los isótopos estables (Lewis et al., 2001). Hasta hoy, los estudios de las redes tróficas a través del uso de los isótopos estables han resuelto diversos esquemas cualitativos de la estructura trófica de los ecosistemas (Zanden y Rasmussen, 2001). Los mayores avances involucran estimaciones cuantitativas de diversos indicadores que caracterizan a las redes tróficas tales como omnivoría, posición trófica de un organismo, longitud de la cadena alimenticia y rutas de los flujos de energía (Cabana y Rasmussen, 1996; Vander Zanden et al., 1999; Connolly

et al., 2004; Pace et al., 2000; Nyssen et al., 2002). Asimismo, el estudio de las redes tróficas ha permitido tratar problemas específicos tales como la importancia de la variación intrapoblacional de nicho (Araujo et al., 2007; Layman et al., 2007; Quevedo et al., 2009), la bioacumulación de contaminantes (Cabana y Rasmussen, 1994), el impacto de las especies invasoras en las redes tróficas (Vander Zanden et al., 1999), el efecto de la polución en las redes tróficas (Van Dover et al., 1992; Cole et al., 2004; Vander Zanden et al., 2005; Bannon y Roman, 2008) o los cambios que las actividades humanas procuran en las comunidades (Layman et al., 2007; Schmidt et al., 2007). Recientemente se ha podido reducir sustancialmente la incertidumbre en las estimaciones de las contribuciones de cada una de las fuentes hacia los consumidores dentro de las redes tróficas gracias al desarrollo y mejora de los llamados “modelos de mezcla” basados en las proporciones de los isótopos estables (Phillips y Gregg 2003; Hobson y Wassenaar, 2008).

Las plantas constituyen la base de la red trófica de los ecosistemas, y son unos de los principales indicadores de los cambios ambientales pues absorben todos los impactos primarios a los que están sometidos los ecosistemas. La vegetación usualmente es el componente biótico mas grande de un ecosistema, lo que influye en la estructura física del ecosistema, la energía, y los ciclos de agua y nutrientes (Moor et al., 2015). Estas comunidades registran los cambios ambientales y los transmiten al resto de organismos que componen la red trófica, modificando la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas (Power, 1992). Por lo tanto, evaluar las variaciones en las firmas isotópicas de estas comunidades en relación con los principales

estresores ambientales permite determinar, con un elevado grado de confianza, los efectos del cambio global en la degradación de los ecosistemas. La observación de las variaciones de las firmas isotópicas de los productores primarios de los ecosistemas se ha convertido en una de las principales herramientas usadas en numerosos estudios ecológicos para detectar el alcance de los cambios ambientales (Cabana y Rasmussen, 1996; Post, 2002; Vermeer et al., 2003).

En este sentido, explorar los impactos que reciben los humedales sometidos a diferentes grados y escalas de disturbancia usando las firmas isotópicas de ^{13}C y ^{15}N de los productores y consumidores nos debe permitir detectar y evaluar qué efectos están provocando en la estructura trófica de los ecosistemas y en su conservación ante el cambio global. En este complejo contexto de alteraciones tanto de los procesos biogeoquímicos como de la biodiversidad aún desconocemos hasta que punto la capacidad adaptativa de las comunidades de macrófitos acuáticos podrá soportar los diferentes cambios ambientales y cómo esos cambios pueden propagarse al resto de la red trófica modificando distintos aspectos estructurales que dan estabilidad a los ecosistemas. La súbita modificación de las condiciones ambientales a las que están sometidos los humedales semiáridos de todo el planeta, como los de la Reserva de la Biosfera de La Mancha Húmeda, ubicada en el centro de España, y los costeros de la franja subtropical del Noroeste de México, ofrece la posibilidad de poder evaluar cómo los efectos del cambio global están alterando a los ecosistemas acuáticos más adaptados a las condiciones extremas pero más frágiles a la vez.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar los efectos de los diferentes motores del cambio global en la estructura trófica de los humedales (semiáridos) a través del estudio de los registros isotópicos de ^{13}C y ^{15}N de productores y consumidores para determinar los impactos en la calidad ecológica y en la estabilidad de los ecosistemas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar los efectos que la acuicultura de camarón (camaronicultura), una actividad creciente en Latinoamérica, genera en la biodiversidad y en la estructura trófica de los humedales costeros semiáridos del Noroeste de México mediante la comparación de las firmas de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N en los organismos presentes en dos lagunas con diferente régimen de perturbación, una prístina y otra severamente alterada.
- 2) Determinar cuáles son las principales fuentes de C en un humedal de llanura de inundación semiárido (Las Tablas de Daimiel) sometido a diferentes perturbaciones antropogénicas a través del estudio de las firmas isotópicas (^{13}C y ^{15}N) de las plantas acuáticas, del plancton, del epifiton, de las algas filamentosas, de los tapetes microbianos, del detritus del sedimento y de la materia orgánica particulada y disuelta, para determinar su importancia en el metabolismo del ecosistema y su contribución a la producción secundaria.

- 3) Determinar, a través del uso de isótopos estables de C y N, la configuración actual de la red trófica de un humedal de llanura de inundación semiárido (Las Tablas de Daimiel) sometido a diferentes estresores ambientales, así como evaluar los cambios respecto a los registros históricos de especies en el ecosistema, y determinar el rol de las especies de consumidores introducidas en la estructura trófica.
- 4) Evaluar como los diferentes tipos de perturbación presentes en la región peninsular de mayor concentración de humedales, La Mancha Húmeda, afectan a la composición isotópica de ^{13}C y ^{15}N de las plantas acuáticas, determinando qué grupos de plantas acuáticas o especies son las que más cambian sus firmas isotópicas ante las perturbaciones ambientales y qué especie o grupo de planta es útil como indicadora de la salud de los ecosistemas.

Referencias

- Araujo, M.S., Bolnick, D.I., Machado, G., Giaretta, A.A. & dos Reis, S.F. 2007. Using delta C-13 stable isotopes to quantify individual-level diet variation. *Oecologia*, 152, no. 4, pp. 643-54.
- Bannon, R.O & Roman, C.T. 2008. Using stable isotopes to monitor anthropogenic nitrogen inputs to estuaries. *Ecological Applications*, 18, no. 1, pp. 22-30.
- Boecklen, W.J., Yarnes, C.T, Cook, B.A., & James, A.C. 2011. On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 42, pp. 411-40.
- Bouillon, S., Koedam, N., Raman, A.V. & Dehairs, F. 2002. Primary producers sustaining macro-invertebrate communities in intertidal mangrove forests. *Oecologia*, 130, no. 3, pp. 441-8.
- Cabana, G. & Rasmussen, J.B. 1994. Modeling food-chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature*, 372, no. 6503, pp. 255-7.
- 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 93, no. 20, pp. 10844-7.
- Cloern, J.E., Canuel, E.A. & Harris, D. 2002. Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnology and Oceanography*, 47, no. 3, pp. 713-29.
- Cole, M.L., Valiela, I., Kroeger, K.D., Tomasky, G.L., Cebrian, J., Wigand, C., McKinney, R.A., Grady, S.P. & da Silva, M.H.C. 2004. Assessment of a delta N-15 isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33, no. 1, pp. 124-32.
- Connolly, R.M., Guest, M.A., Melville, A.J. & Oakes, J.M. 2004. Sulfur stable isotopes separate producers in marine food-web analysis. *Oecologia*, vol. 138, no. 2, pp. 161-7.
- Costanza, R., Arge, R, de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P. & van den Belt, M. 1998. The value of the world's ecosystem services and natural capital (Reprinted from *Nature*, vol 387, pg 253, 1997). *Ecological Economics*, 25, no. 1, pp. 3-15.
- Currin, C.A., Newell, S.Y. & Paerl, H.W. 1995. The role of standing dead spartina-alterniflora and benthic microalgae in salt-marsh food webs - considerations based on multiple stable-isotope analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 121, no. 1-3, pp. 99-116.
- Deegan, L.A. & Garritt, R.H. 1997. Evidence for spatial variability in estuarine food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 147, no. 1-3, pp. 31-47.
- Douglas, M.M., Bunn, S.E. & Davies, P.M. 2005. River and wetland food webs in Australia's wet-dry tropics: general principles and implications for management. *Marine and Freshwater Research*, 56, no. 3, pp. 329-42.
- Finlay, J.C. 2001. Stable-carbon-isotope ratios of river biota: Implications for energy flow in lotic food webs. *Ecology*, 82, no. 4, pp. 1052-64.
- Finlay, J.C., & Kendall, C. 2007. Stable isotope tracing of temporal and spatial variability in organic matter sources to freshwater ecosystems. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, 2nd Edition, pp. 283-333.
- Fry, B. 2007. Coupled N, C and S stable isotope measurements using a dual-column gas chromatography system. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 21, no. 5, pp. 750-6.
- Gopal, B. & Junk, W.J. 2001. Assessment, determinants, function and conservation of biodiversity in wetlands: Present status and future needs. *Biodiversity in Wetlands: Assessment, Function and Conservation*, 2, pp. 277-302.
- Hart, EA & Lovvorn, J.R. 2002. Interpreting stable isotopes from macroinvertebrate foodwebs in saline wetlands. *Limnology and Oceanography*, 47, no. 2, pp. 580-4.
- Junk, W.J., An, S., Finlayson, C.M., Gopal, B., Kvet, J., Mitchell, S.A., Mitsch, W.J., & Robarts, R.D. 2013. Current state of knowledge regarding the world's wetlands and their future under global climate change: a synthesis. *Aquatic Sciences*, 75, no. 1, pp. 151-67.
- Junk, W.J., Brown, M., Campbell, I.C., Finlayson, M., Gopal, B., Ramberg, L. & Warner, B.G. 2006. The comparative biodiversity of seven globally important wetlands: a synthesis. *Aquatic Sciences*, 68, no. 3, pp. 400-14.
- Kling, G.W., Fry, B. & Obrien, W.J. 1992. Stable isotopes and planktonic trophic structure in arctic lakes. *Ecology*, vol. 73, no. 2, pp. 561-6.
- Lal, R. 2008. Carbon sequestration. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 363, no. 1492, pp. 815-30.
- Layman, C.A., Arrington, D.A., Montana, C.G. & Post, D.M. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure?. *Ecology*, 88, no. 1, pp. 42-8.
- Lewis, W.M., Hamilton, S.K., Rodriguez, M.A., Saunders, J.F. & Lasi, M.A. 2001. Foodweb analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. *Journal of the North American Benthological Society*, 20, no. 2, pp. 241-54.
- Maltby, E & Acreman, MC 2011, 'Ecosystem services of wetlands: pathfinder for a new paradigm', *Hydrological Sciences Journal-Journal Des Sciences Hydrologiques*, vol. 56, no. 8, pp. 1341-59.
- Mitsch, W.J. & Gosselink, J.G. 2000. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics*, vol. 35, no. 1, pp. 25-33.

- Mitsch, W.J., Zhang, L., Stefanik, K.C., Nahlik, A.M., Anderson, C.J., Bernal, B., Hernandez, M. & Song, K. 2012. Creating Wetlands: Primary Succession, Water Quality Changes, and Self-Design over 15 Years. *Bioscience*, vol. 62, no. 3, pp. 237-50.
- Moor, H., Hylander, K. & Norberg, J. 2015. Predicting climate change effects on wetland ecosystem services using species distribution modeling and plant functional traits. *Ambio*, 44, pp. S113-S26.
- Nyssen, F., Brey, T., Lepoint, G., Bouquegneau, J.M., De Broyer, C. & Dauby, P. 2002. A stable isotope approach to the eastern Weddell Sea trophic web: focus on benthic amphipods. *Polar Biology*, 25, no. 4, pp. 280-7.
- O'Reilly, C.M., Hecky, R.E., Cohen, A.S. & Plisnier, P.D. 2002. Interpreting stable isotopes in food webs: Recognizing the role of time averaging at different trophic levels. *Limnology and Oceanography*, 47, no. 1, pp. 306-9.
- Ortiz-Llorente, M.J & Alvarez-Cobelas, M. 2012. Comparison of biogenic methane emissions from unmanaged estuaries, lakes, oceans, rivers and wetlands. *Atmospheric Environment*, 59, pp. 328-37.
- Phillips, D.L. & Gregg, J.W. 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136, no. 2, pp. 261-9.
- Post, D.M. 2002. The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, no. 6, pp. 269-77.
- Post, D.M., Pace, M.L. & Hairston, N.G. 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature*, 405, no. 6790, pp. 1047-9.
- Power, M.E. 1992. Top-Down and Bottom-Up forces in food webs - Do Plants Have Primacy. *Ecology*, vol. 73, no. 3, pp. 733-46.
- Quevedo, M., Svanback, R. & Eklov, P. 2009. Intrapopulation niche partitioning in a generalist predator limits food web connectivity. *Ecology*, 90, no. 8, pp. 2263-74.
- Schmidt, S.K, Costello, E.K., Nemergut, D.R., Cleveland, C.C., Reed, S.C., Weintraub, M.N., Meyer, A.F. & Martin, A.M. 2007. Biogeochemical consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. *Ecology*, 88, no. 6, pp. 1379-85.
- Tracking Animal Migration with Stable Isotopes. 2008. *Tracking Animal Migration with Stable Isotopes*, 2, pp. 1-144.
- Vander Zanden, M.J., Casselman, J.M. & Rasmussen, J.B. 1999. Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature*, vol. 401, no. 6752, pp. 464-7.
- Vander Zanden, M.J & Rasmussen, J.B. 1999. Primary consumer delta C-13 and delta N-15 and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, 80, no. 4, pp. 1395-404.
- Vander Zanden, M.J, Vadeboncoeur, Y., Diebel, M.W. & Jeppesen, E. 2005. Primary consumer stable nitrogen isotones as indicators of nutrient source. *Environmental Science & Technology*, 39, no. 19, pp. 7509-15.
- Vandover, C.L., Grassle, J.F., Fry, B, Garritt, R.H. & Starczak, V.R. 1992. Stable isotope evidence for entry of sewage-derived organic material into a deep-sea food web. *Nature*, vol. 360, no. 6400, pp. 153-6.
- Vermeer, C.P., Escher, M., Portielje, R. & de Klein, J.M. 2003. Nitrogen uptake and translocation by Chara. *Aquatic Botany*, 76, no. 3, pp. 245-58.

Capítulo I: Effects of shrimp-farm effluents on the food web structure in subtropical coastal lagoons. Efectos de los efluentes de las granjas camaronícolas en la estructura de las redes tróficas en las lagunas costeras subtropicales.

Laguna costera de Los Algodones, un humedal semiárido prístino ubicado en el territorio indígena de los Yaquis en el Estado de Sonora (México). El mangle rojo (*Rhizophora mangle*) cubre abundantemente los márgenes de la laguna.



La laguna de San José es un humedal fuertemente degradado por las descargas de efluentes procedentes de las granjas camaronícolas. Véase que la alteración que presenta el mangle en los márgenes de la laguna.



RESUMEN

Aunque numerosos estudios han reportado efectos negativos de las granjas camaronícolas en la calidad del agua, poco se sabe sobre los efectos ecológicos de estas actividades en las lagunas costeras y en los hábitats marinos cercanos a la costa. Los impactos de los efluentes de las granjas camaronícolas en las redes tróficas de una laguna costera del Golfo de California fueron evaluados a través de las medidas de las firmas isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) en los sedimentos, plantas y animales y se compararon con los resultados de un sitio prístino cercano como referencia. La degradación fue manifestada con una fuerte reducción de la diversidad de peces en el sitio perturbado. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ proveyeron evidencias ambiguas de la degradación mientras que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ fueron mejores descriptores de los impactos de los efluentes de las granjas camaronícolas en las redes tróficas de las lagunas costeras. El sitio que recibe descargas ricas en nutrientes mostró un enriquecimiento significativo de $\delta^{15}\text{N}$ ($\approx 5\text{‰}$) en los sedimentos, macroalgas, algas bentónicas, filtradores y omnívoros, resultando en diferencias cualitativas en la estructura de la red trófica en ambas lagunas. La red trófica en el sitio perturbado estuvo sostenida por el detritus del sedimento y dominada por especies oportunistas. Los niveles tróficos más altos registraron la más baja influencia en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ por las descargas acuícolas, el cual puede ser explicado por el cambio de la composición de las comunidades bióticas y por las estrategias alimenticias asociadas. Mientras que las alteraciones en la disponibilidad de los recursos no afectan directamente en la longitud de la cadena alimenticia, los vínculos tróficos entre los compartimentos de las redes tróficas pueden ser reducidos como resultados de los impactos de las granjas camaronícolas. Nuestros estudios demuestran que las descargas enriquecidas en nutrientes de las granjas camaronícolas generan cambios en la disponibilidad de las fuentes de alimentos, lo cual reduce la biodiversidad y altera las características estructurales y funcionales de las redes tróficas.

ABSTRACT

Although numerous studies have reported the negative effects of shrimp aquaculture on water quality, little is known about the ecological effects of these practices in coastal lagoons and near-shore marine habitats. The impact of shrimp-farm effluents on the food webs of an impacted subtropical coastal lagoon in the Gulf of California was evaluated through measurements of isotopic ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) signatures in sediments, plants and animals, and compared with the results of a near-pristine reference site. Degradation was manifested in a strong reduction on fish diversity at the perturbed site. $\delta^{13}\text{C}$ signatures provided ambiguous evidence of degradation while $\delta^{15}\text{N}$ was a better descriptor of shrimp-farm effluent impact on coastal lagoon food webs. The site receiving nutrient-rich discharges showed significant enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ ($\approx 5\text{‰}$) in sediments, macroalgae, benthic algae, filterfeeders and omnivorous feeders, resulting in qualitative differences in foodweb structure between both lagoons. The food web in the perturbed site was sustained by sediment detritus and dominated by opportunistic species. The lowest influence on $\delta^{15}\text{N}$ signatures by aquaculture discharges recorded in the upper trophic levels could be explained by the shift in the composition of biotic communities, and associated feeding strategies. While alterations in resource availability do not affect directly food chain length, trophic linkages between food web compartments can be reduced as a result of shrimp farm impacts. Our study demonstrates that nutrient-enriched discharges from shrimp-farm aquaculture generate changes in the availability of food sources, which reduce biodiversity and alter structural and functional food web characteristics.

1. INTRODUCTION

Despite mangrove wetlands being considered among the most productive ecosystems, they are one of the most threatened ecological systems in the world (Alongi, 2002). Most mangrove wetlands are located in developing countries where anthropogenic activities are growing uncontrollably causing often irreversible environmental degradation. For example, during the last two decades, Mexico experienced the highest loss of mangrove forest around the world (Wilkie and Fortuna, 2004), mostly resulting from shrimp aquaculture development (De La Lanza-Espino et al., 1994).

Aquaculture farms generate high amount of organic wastes and unassimilated inorganic fertilizers (García-Sandoval et al., 1991). Usually, these untreated effluents discharge directly in coastal lagoons and disperse until 500 m away from the point source (Meili et al., 2000; McGhie et al., 2000; Sutherland et al., 2001). The nutrient surplus is such that the annual nutrient loading from shrimp aquaculture into the Gulf of California through coastal lagoons can be $2,900 \text{ t N y}^{-1}$ and 834 t P y^{-1} , considering a scenario of ca. 26,000 ha of shrimp-farms in operation ($\approx 110 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$ and $30 \text{ kg P ha}^{-1} \text{ y}^{-1}$) (Páez-Osuna et al., 1999). Although numerous studies have reported the effects of shrimp aquaculture on water quality, eutrophication and biodiversity in both coastal lagoons and near-shore marine habitats (e.g. Penczak et al., 1982; Boaventura et al., 1997; Ruiz et al., 2001; Karakassis et al., 2002; Paez-Osuna, et al., 2003), little attention has been paid on the impact on ecosystem structure. Few studies have reported the effects of aquaculture on coastal food web structure, using either qualitative approaches or focusing on the first trophic

level (e.g. Naylor et al. 2000; Schaal et al., 2008). Therefore, there is still a lack of understanding how impact of aquaculture shrimp-farms affects integrally food webs in subtropical coastal lagoons.

During the last decades, ecologists have demonstrated that allochthonous subsidies have strong effects on species interactions and food web dynamics (Polis et al., 1997). Theoretically, subsidies of nutrients can affect all trophic levels of food webs either directly or indirectly (Persson et al., 2001). Because coastal lagoon metabolism is altered by nutrient-rich discharges from shrimp farming over the last 2-3 decades, we expect changes in species composition and diversity, and consequently altered food-web structure and dynamics in these systems.

$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes have been used successfully to assess food web structure and trophic pathways in coastal wetland ecosystems (Haines and Montague, 1979; Stoner and Zimmerman, 1988; Sullivan and Mocreiff, 1990; Abrantes and Sheaves, 2008; Nyunja et al., 2009). Since shrimp-farms discharge nutrient-rich waters into the coastal lagoons, the impact of aquaculture should also modify the signatures of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes in the food web. Previous findings demonstrated that anthropogenic disturbances and urban wastewater discharges on near-shore coastal marine habitats increased the $\delta^{15}\text{N}$ signatures in the benthic food web, modifying the trophic structure and functioning of food webs (Vizzini and Mazzola, 2004; Vizzini and Mazzola, 2006; Schaal et al., 2008); however very little is known about the effects of aquaculture discharges on the structure of coastal lagoon ecosystems (e.g. Ye et al., 1991; Lojen et al., 2005; Salazar-Hermoso, 2007), especially in tropical areas. Some progress has

been made to detect the effects of shrimp-farm discharges on $\delta^{15}\text{N}$ signatures of primary producers (Jones et al., 2001; Costanzo et al., 2004; Lin and Fong, 2008). Although these such changes may help to identify incipient environmental degradation, they may not be representative of large scale changes in ecosystem and community structure.

Since the aquaculture organic effluent is $\delta^{13}\text{C}$ depleted and $\delta^{15}\text{N}$ enriched (Jones et al., 2001; Costanzo et al., 2004; Vizzini and Mazzola, 2006; Lin and Fong, 2008; Piñon-Gimate et al., 2009), organisms living in these coastal lagoons should show decreased $\delta^{13}\text{C}$ and increased $\delta^{15}\text{N}$ signatures. Therefore, we hypothesize that these isotopic alterations reveal structural changes in the food web of coastal lagoons. To test this hypothesis, we have measured the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotope signatures in sediments, plants and animals in two nearby but environmentally contrasting subtropical coastal lagoons in the Gulf of California. Shrimp-farm effluents have impacted one site over the last 25 years, while the other site is near pristine and served as the control site.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. STUDY AREA

The study was performed in two small coastal lagoons located in the Yaqui River Delta in semi-arid Northwestern Mexico (Fig. 1). Both coastal ecosystems are fringed by mangroves (*Rhizophora mangle* and *Avicennia germinans*) and halophytes (*Batis maritima* and *Salicornia virginica*). Climate in the area is warm and dry, with a mean annual air temperature of 24° C (min.

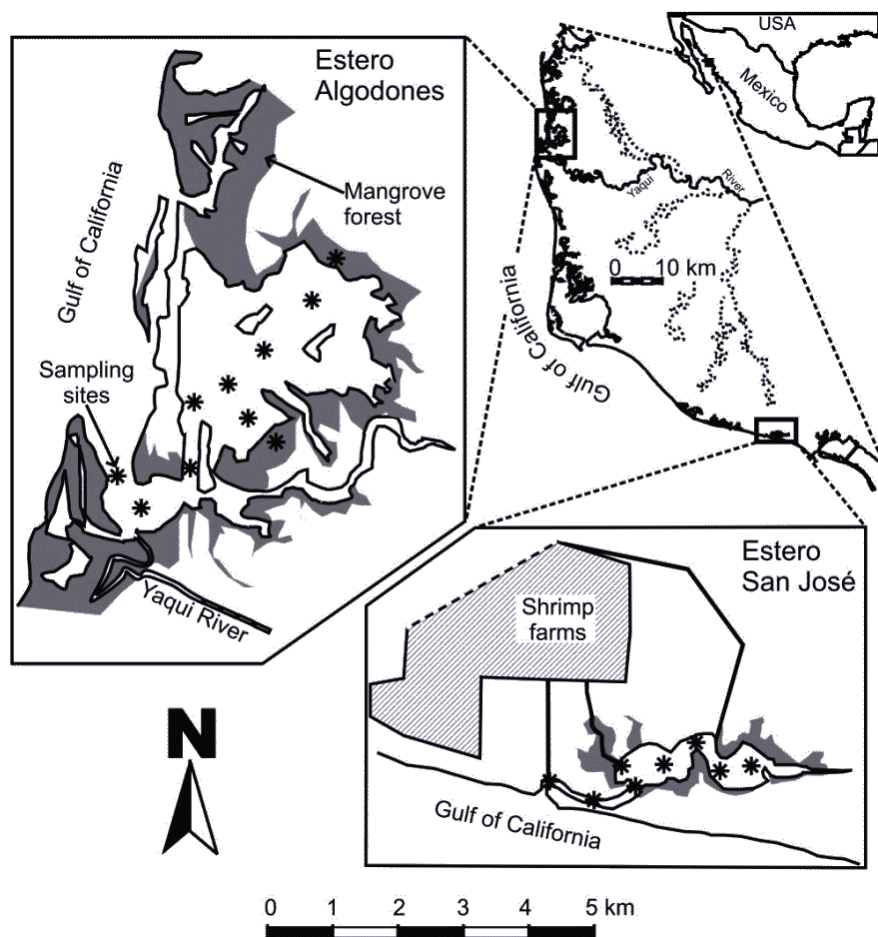


Fig. 1. Location of the studied lagoons at the Gulf of California. Asterisks show sampling sites for isotopic analyses.

16 to max. 48 °C) and rainfall < 300 mm y⁻¹. The site receiving shrimp-farm discharges was Estero San José (SJ; 27°07'N, 110°08'W), which is a very shallow (mean depth 0.6 m) lagoon occupying 82 ha.

This lagoon is covered by a large bed of *Ulva clathrata*, *U. lactuca* and *Ulva spp.* The near-pristine lagoon which served as a control was Estero Los Algodones (ALG, 27°41'N, 110°34'W; 165 ha and mean depth 2.3 m) which is located in the native Yaquis Reserve Territory where the economy exclusively depends on the artisanal fishery. The lagoon supports fishery of shrimp, flathead mullet, round ray, squid and blue crab, but under strong control of captures to ensure sustainability and, therefore, maintaining the ecosystem relatively free from overfishing. Neither shrimp-farm effluents discharge into the lagoon nor is it impacted by other forms of human impacts (e.g., settlements). The mangrove cover to open water area ratio is 2 and 1.6 in SJ and ALG, respectively. Estimated annual nutrient discharges of shrimp-farm effluents into SJ are 168 t N y⁻¹ and 48 t P y⁻¹ (1,592 ha of shrimp farms; Sánchez-Carrillo, unpublished results). Differences in water quality between both ecosystems are summarized in Table 1. SJ registered highest averaged concentrations of total nitrogen and total phosphorus and hence result in high phytoplanktonic chlorophyll-*a*.

Table 1. Comparison of mean water quality variables and phytoplanktonic net primary productivity (NPP) in Estero San José and Estero Algodones during 2006. DO: dissolved oxygen, Tot-N: total nitrogen, Tot-P: total phosphorus, Chl-*a*: chlorophyll-*a*.

	DO (mg l ⁻¹)	Salinity (ppt)	Tot-N (mg l ⁻¹)	Tot-P (mg l ⁻¹)	Chl- <i>a</i> (μ l ⁻¹)
San José	10.9±2.0	61.9±2.5	4.02±5.21	0.47±0.15	21.2±6.7
Algodones	5.6±0.9	54.3±2.5	0.25±0.09	0.14±0.05	2.5±1.7

2.2. FIELD COLLECTION AND SAMPLE PROCESSING FOR ISOTOPIC ANALYSIS

Sampling was conducted in both lagoons during a one-week period of March 2006 coinciding with the annual cold water period of Gulf of California (Cervantes, 1994). This period was chosen because it is the time when organisms enter the lagoons from the sea for breeding and can reach high abundance (Gendron, 1992; Thomson et al., 2000; Sala et al., 2003). All samples were taken randomly from several sites within each ecosystem to account for spatial heterogeneity effects (Fig. 1).

As mangrove litter is the plant fraction entering the coastal lagoon food web as detritus, yellow freshly senescent leaves of mangroves were collected from the forest floor instead of picking them directly from the trees because the mangrove tree have a nutrient reabsorption ranging 45 to 55% prior to senescence (Twilley et al., 1986). Aboveground fractions of pickleweeds were collected by hand. Fish were captured using multiple gears (beach seines and cast nets) to collect representative samples of the fish diversity at each sampling site. Crustaceans were taken using traps. Mollusks and macroalgae were picked randomly by hand in diverse places of each ecosystem. Microbial benthic algae were scrapped from 15 randomly selected submerged stones from the littoral zone of each lagoon, suspended in water and filtered immediately (65 μm) upon return to the laboratory a few hours after sample collection. Sediment samples were taken along transects from the continent shoreline to the sea (lagoon mouth) using a sediment corer. Phytoplankton was not considered in this study because of the complex interpretation of its isotopic signature resulting from its high spatiotemporal turnover in

community composition and its mixing with detritus (Gu et al., 1997; France, 1998; Keough et al., 1998; Bouillon et al., 2000).

All samples were placed on ice for transport to the laboratory where they were stored frozen. Isotopic analysis were carried out on leaves for plant species, macroalgae, approximately 5 g of dorsal muscle tissue of fish, claw muscle of crustaceans, and the adductor muscle of molluscs. Consumers were treated with methanol: chloroform (2:1) for 24 h to remove lipids. Because of financial constraints we could not analyse each consumer species separately; therefore, fish, crustaceans, and molluscs of each lagoon were gathered into composite samples by species and, after homogenization, were analyzed in triplicate. While the analysis of a composite sample does not allow us for covering spatial heterogeneity in the isotopic signatures of these organisms, we do not expect that such heterogeneity be pronounced because of the high mobility of these organisms. Due to their ability to move throughout the entire ecosystem, we assume that a composite sample may well represent the average values of stable isotopes of each species in each studied ecosystem. Prior to isotopic analysis, all samples were processed following protocols by Lewis et al. (2001), Parkyn et al. (2001), O'Reilly and Hecky (2002), and Demaoupolus (2004). Briefly, sediment samples were washed with 1M HCl for 24 h to eliminate carbonate and plant samples were washed in distilled water, 5% HCl. Finally, samples were rinsed with distilled water, placed on sterile Petri dishes and dried in an oven at 60° C for 48-72 h. Dried samples were ground to fine powder and stored in clean glass vials. Stable isotope ratios ($^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ and $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$) were calculated after analyses in a stable isotope mass spectrometer (Stable

Isotope Laboratory of the University of Arizona). Results are reported as parts per thousand (‰) differences from a corresponding standard: $\delta X = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 103$, where $R = {}^{15}\text{N} / {}^{14}\text{N}$ or ${}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$. Standards were carbon in the PeeDee Belemnite and nitrogen in air. Analytical precision of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ replicate analyses were 0.16 ‰ and 0.10 ‰, respectively.

The habitat and permanence of each species in the coastal lagoons were assessed using the available literature (Yañez-Arancibia, 1978; Meinkoth, 1981; Goodson and Weisgerber, 1988; Buchsbaum et al., 1989; Amezcua-Linares et al., 1992; Ruíz-Durá, 1992; Allen and Robertson, 1994; Ruppert and Barnes, 1994; García-Ortega et al., 2002; López-Peralta and Arcilla, 2002; Santamaría-Miranda et al., 2003; Bester, 2004; Santamaría-Miranda et al., 2005). Briefly, most molluscs and crustacean species can be considered as permanent inhabitants of the studied lagoons. Also juvenile stages of shrimps are well represented in these ecosystems. Some fish (*Diapterus peruvianus*, *Eucinostomus currani*, *Achirus mazatlanus*, *Sphoeroides annulatus*, *Etrophus crossotus*, and *Cyclopsetta querna*) use only the lagoons for breeding while others (*Anchoa* spp., *Selene brevoortii*, *Lutjanus argentiventris*, *Pomadasys macracanthus*) live in the marine coastal environment. *Diplectrum pacificum*, *Scorpaena sonorae*, *Paralabrax maculatofasciatus* and *Urobatis halleri* can be considered as occasional visitors of these lagoons. Only *Mugil cephalus* can be considered as permanent inhabitant of these coastal lagoons. Finally, in order to estimate the impact of effluent on existing feeding habits, all species were classified in functional feeding groups using the above-cited literature.

2.3. DATA ANALYSIS

The organic matter pathway across the food web shows that ^{13}C increases varying 0-2 ‰ of isotopic signature (DeNiro and Epstein, 1978; Marguillier et al., 1997). Because heavier ^{15}N accumulates in consumers as it moves up the food web, consumers tend to be $\delta^{15}\text{N}$ enriched 2.5-3.5 ‰ relative to their food sources (Lewis et al., 2001; and Vanderklift and Ponsard, 2003). Thus, $\delta^{15}\text{N}$ signatures of consumers relative to those of a base-line value were used to indicate the trophic position of consumers following the equation:

$$TL_i = \lambda + (\delta^{15}\text{N}_i - \delta^{15}\text{N}_{\text{PC}}) / F$$

where TL_i is the average trophic level of the species i , $\delta^{15}\text{N}_i$ is the average content of species i , $\delta^{15}\text{N}_{\text{PC}}$ is the average content of primary consumers, λ is the trophic level of consumers estimating the base of the food web and F is the per-trophic-level fractionation of nitrogen. In this study, we used the fractionation value of 2.54 suggested by the meta-analysis of Vanderklift and Ponsard (2003).

Scatter plots of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ values were used to evaluate patterns of isotopic variation among trophic levels and lagoons. Sources of organic carbon assimilated by consumers were indicated by relative positions of taxa on the x -axis ($\delta^{13}\text{C}$ values), whereas trophic level was indicated by the relative position on the y -axis ($\delta^{15}\text{N}$) (Peterson and Fry, 1987) (Fig. 2). An analysis of variance (using type III sum of squares to account for the unbalanced sampling design; Fig. 1) was used to compare $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ variation within species and trophic levels among sites within

both lagoons. Prior to the statistical analysis data were log transformed when necessary to fulfill the requirements of parametric tests. All statistical analyses were performed using SPSS V17.0.

2.4 ASSESSMENT OF THE FOOD WEB COMPLEXITY IN COASTAL LAGOONS

Primarily, food web structure in both coastal lagoons was assessed through simple food web descriptors. Food chain length was quantified as the modal number of trophic levels (Pimm et al., 1991). Directed connectance was used to get the number of actual links over the number of possible links in each food web ($C = L / S^2$), where L is the number of undirected links and S is the number of species (Hawkins et al., 1997; Bersier et al., 2002). L was assessed using diet information for each species from the literature (see section 2.2); briefly, if a species occurred in the diet of a predator, they were joined by an undirected link using a food web diagram (Morin, 2005). Afterwards, the number of links was computed by an interaction matrix (Megrey and Aydin, 2009). Linkage density was obtained through the average number of feeding links per species which is a function of connectance and number of species in the web ($D = L / S$; Morin, 2005). Trophic level proportionality was evaluated through the proportion of top (% T), intermediate (% I) and basal (% B) species (Sugihara et al., 1997; Bersier et al., 2002).

In addition, we used quantitative metrics proposed by Layman et al. (2007), which are appropriate for community-wide analyses of stable isotope data and which can provide deeper insights into the modifications of food webs affected by anthropogenic disturbances. Descriptor estimations were calculated independently for each lagoon following two approaches: first,

considering the whole ecosystem pathways (primary producers, consumers and sediments), and second, taking into account only the biotic compartments (primary producers and consumers). Descriptors used were: (i) $\delta^{13}\text{C}$ range (CR) and $\delta^{15}\text{N}$ range (NR), which are distances between the species with the most enriched and most depleted $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values (NR is one representation of vertical structure within a food web; increased CR would be expected in food webs in which there are multiple basal resources with varying $\delta^{13}\text{C}$ values, providing for niche diversification at the base of a food – additionally, CR and NR were calculated for consumers only); (ii) total area (TA), which is the convex hull area encompassed by all species in $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ bi-plot space (this represents a measure of the total amount of niche space occupied, and thus a proxy for the total extent of trophic diversity within a food web); (iii) mean distance to centroid (CD), which is the average Euclidean distance of each species to the $\delta^{13}\text{C} - \delta^{15}\text{N}$ centroid (this metric provides a measure of the average degree of trophic diversity within a food web); (iv) mean nearest neighbor distance (NND), which is the mean of the Euclidean distances to each species' nearest neighbor in bi-plot space (it is a measure of the overall density of species packing, i.e. resource partitioning or niche partitioning); and (v) standard deviation of the nearest neighbor distance (SDNND), a measure of the evenness of species packing in bi-plot space that is less influenced by sample size than NND (low SDNND values suggest more even distribution of trophic niches). Convex hull areas were computed using the software TraitHull (<http://www.pricklysoft.org/software/traithull.html>; Cornwell et al., 2006). For further information on these metrics see Layman et al. (2007).

3. RESULTS

3.1. SPECIES RICHNESS AND ISOTOPIC SIGNATURES

In the perturbed lagoon (SJ) the number of collected species was slightly lower than those gathered at ALG (26 species *versus* 30 species, respectively; Table 2). Fish were the most abundant group in ALG, representing around 50% of the total collected species, while in SJ they only accounted 9 %.

Table 2. $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ values and C:N of major primary producers, aquatic animals and sediments collected from Algodones (ALG) and San Jose (SJ). F.H. Feeding habits: F, filter; O, omnivorous; H, herbivorous; C, carnivorous, D, detritivorous, P, planktivorous. ^a include species *Eriphia squamata*, *Pachygrapsus transverses* and *Petrolisthes nigrungulatus*; ^b include specie *Pagurus lepidus*.

		FH	C/N		$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$	
			ALG	SJ	ALG	SJ	ALG	SJ
Mangroves	<i>Rhizophora mangle</i>		26,8	27	-26,9	-27,7	10,3	10,7
	<i>Avicennia germinans</i>		21,9	19,8	-25,7	-25,5	8,4	9,8
Herbs	<i>Batis mairitima</i>		21,0	23,1	-24,9	-26,6	8,5	7,2
	<i>Salicornia virginica</i>		20,3	23,6	-25,1	-25,9	10,5	5,6
Macroalgae	<i>Ulva intestinalis</i>		13,3		-17,3		8,7	
	<i>Ulva clathrata</i>			10,2		-13,5		14,5
	<i>Ulva lactuca</i>			10		-13,4		15,7
	<i>Ulva spp.</i>			9,7		-13,6		15,2
Benthic algae	Benthic algae		10,4	5,8	-9,2	-14,4	11,2	19,5
Mollusks	<i>Crassostrea corteziensis</i>	F		3,6		-16,5		11,9
	<i>Semele flavescens</i>	F		3,9		-16		12,7
	<i>Anadara spp.</i>	F		4,3		-16,1		11,7
	<i>Chione californiensis</i>	F		3,8		-15,9		12,6
	<i>Phlyctiderma discrepans</i>	F		3,7		-15,4		13
	<i>Chione spp.</i>	F		3,8		-15,8		13,3
	<i>Agropecten circularis</i>	F	3,3		-17,1		10,9	
	<i>Loliliopsis diomedae</i>	O	3,5		-15,2		16,4	
	<i>Aplysia californica</i>	H	3,6		-15,3		13	
	<i>Octopus spp.</i>	C	3,5		-14,4		13,4	

Table 2 (continuación). $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ values and C:N of major primary producers, aquatic animals and sediments collected from Algodones (ALG) and San Jose (SJ). F.H. Feeding habits: F, filter; O, omnivorous; H, herbivorous; C, carnivorous, D, detritivorous, P, planktivorous. ^a include species *Eriphia squamata*, *Pachygrapsus transverses* and *Petrolisthes nigrunguculatus*; ^b include specie *Pagurus lepidus*.

		FH	C/N		$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$	
			ALG	SJ	ALG	SJ	ALG	SJ
Crustaceans	<i>Geograpsus lividus</i>	H	3,5	3,3 ^a	-18,7	-18,9 ^a	11,2	11,3 ^a
	<i>Sycionia peniallarte</i>	O	3,3		-14,2		13,6	
	<i>Farfantepenaeus californiensis</i>	O	3,2		-14,3		12,3	
	<i>Clibanarius panamensis</i>	O		3,4 ^b		-13,3 ^b		17,1 ^b
	<i>Callinectes arcuatus</i>	C	3,4	3,4	-14,5	-13,9	13	15,5
	<i>Callinectes bellicosus</i>	C		3,7		-14,8		15,3
	<i>Ocypode occidentalis</i>	D		3,3		-14,4		19,3
Fish	<i>Anchoa spp.</i>	H		3,4		-16		16,4
	<i>Eucinostomus currani</i>	O	3,4		-15		14,9	
	<i>Sphoeroides annulatus</i>	O	3,3		-15,2		14,6	
	<i>Mugil cephalus</i>	O	3,4	3,4	-14,3	-11,7	13,9	11,5
	<i>Achirus mazatlanus</i>	O	3,3		-12,6		13,2	
	<i>Diplectrum pacificum</i>	C	3,3		-14,9		15,2	
	<i>Diapterus peruvianus</i>	C	3,4		-13,4		14,2	
	<i>Lutjanus argentiventris</i>	C	3,3		-12,9		13,7	
	<i>Selene brevoortii</i>	C	3,4		-16		17,1	
	<i>Cyclopsetta querna</i>	C	3,3		-13,2		13,1	
	<i>Scorpaena sonorae</i>	C	3,4		-15,3		14,2	
	<i>Pomadasys macracanthus</i>	C	3,3		-12,7		13,7	
	<i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	C	3,3		-13,6		14,3	
	<i>Etrophus crossotus</i>	C	3,3		-15,7		14,4	
	<i>Urobatis halleri</i>	C	2,9		-14,6		16,8	
	Cnidaria	<i>Stomolophus meleagris</i>	P		3,9		-18,2	
Mouth			13.6±1.1	12.5±1.2	-8.5±0.8	-9.6±0.8	7.8±0.3	6.4±0.3
Sediment	Open water		16.3±4.9	10.5±1.2	-12.1±2.3	-	5.9±0.7	7.6±0.3
	Mangrove zone		11.9±1.4	8.2±3.6	-18.2±1.5	-	6.5±0.8	7.7±1.8

The most abundant groups in SJ were mollusks and crustaceans comprising 27% and 23% of species found in the lagoons. While vascular plants were represented by the same species in both lagoons, the phylum Chlorophyta was represented by different species of the genus *Ulva*: *Ulva* sp., *U. clathrata* and *U. lactuca* in SJ, and *U. intestinalis* in ALG. Both sites shared only two crustacean species (*Geograpsus lividus* and *Callinectes arcuatus*; Table 2). *Mugil cephalus* (Chordata) occurred at both sites (Table 2), but with high abundances in SJ (3.67 and 0.13 catch per unit effort in SJ and ALG, respectively).

The isotopic signatures of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and atomic carbon to nitrogen ratios of primary producers (vascular plants, macroalgae and benthic algae), aquatic animals (mollusks, crustaceans, fish and cnidaria) and sediments collected at each lagoon are summarized in Table 2 and Fig. 2. At both sites, mangrove leaves showed lower $\delta^{13}\text{C}$ values ($-26.3 \pm 0.8\text{‰}$ ALG, $-26.6 \pm 1.5 \text{‰}$ SJ). In contrast, benthic algae in ALG ($-9.2 \pm 0 \text{‰}$) and macroalgae in SJ ($-13.5 \pm 0.1 \text{‰}$) were the most $\delta^{13}\text{C}$ enriched. The highest $\delta^{15}\text{N}$ values were found in fish in ALG ($14.2 \pm 1.2 \text{‰}$) and in microbial benthic algae in SJ ($19.5 \pm 0 \text{‰}$). The most depleted $\delta^{15}\text{N}$ signature was found in ALG sediments ($6.2 \pm 0.9 \text{‰}$), and pickleweed in SJ ($6.4 \pm 1.1 \text{‰}$) (Table 2, Fig. 3).

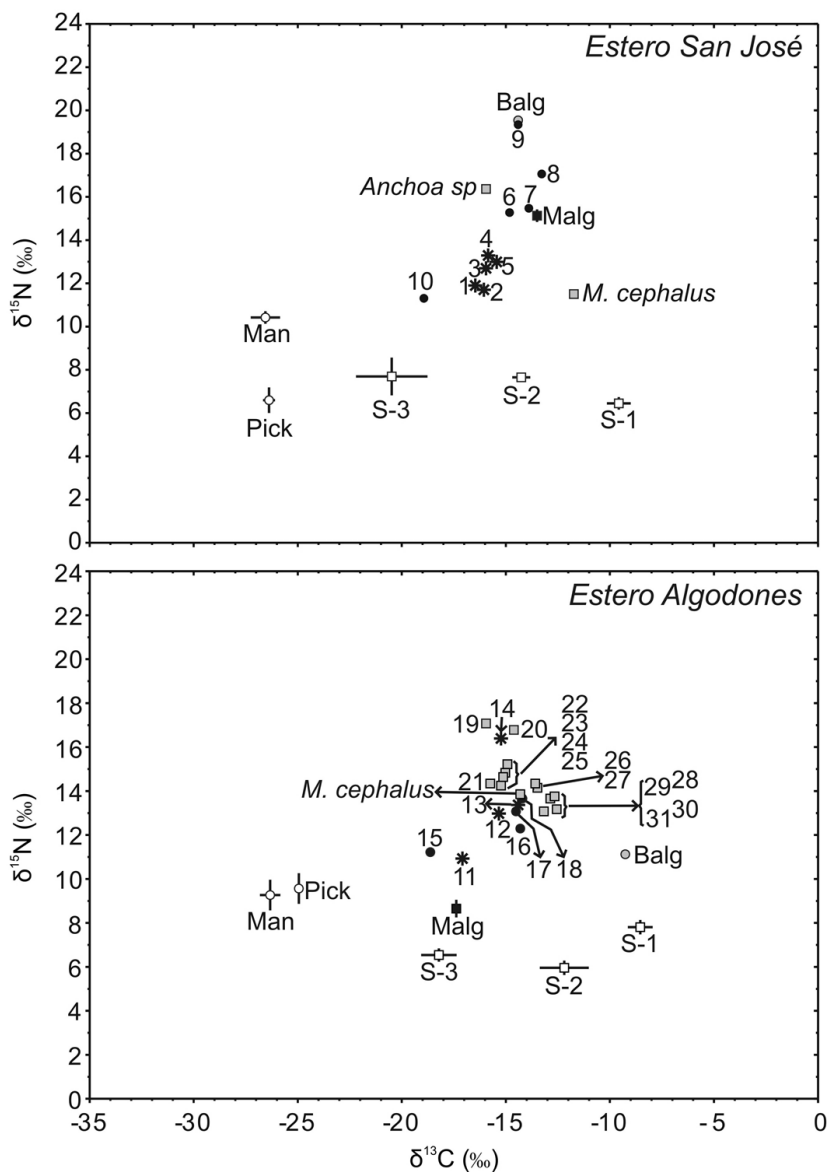


Fig. 2. Relationship between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values obtained of, primary producers, aquatic animals and sediments collected from both studied lagoons. Codes: Sediments (\square) S1: sediment at the lagoon mouth, S2: sediment at the open water area, S3: sediment at the mangrove zone; C3 plants (o) Man: mangroves, Pick: pickleweeds; Algae Balg (\square): benthic algae, Malg (\blacksquare): macroalgae; Mollusks (\square) 1: *C. cortesiensis*, 2: *Anadara* sp., 3: *C. californiensis*, 4: *S. flavescens*, 5: *P. discrepans*, 11: *A. circularis*, 12: *A. californica*, 13: *Octopus* sp., 14: *L. diomedae*; Crustaceans (\bullet) 6: *C. bellicosus*, 7: *C. arcuatus*, 8: *P. Lepidus*, 9: *O. occidentalis*, 10: *E. Squamata*, 15: *G. lividus*, 16: *F. californiensis*, 17: *C. arcuatus*, 18: *S. peniallarte*; Fish (\square) 19: *S. brevoorti*, 20: *U. halleri*, 21: *E. crossotus*, 22: *D. pacificum*, 23: *E. currani*, 24: *S. annulatus*, 25: *S. sonorae*, 26: *P. maculatofasciatus*, 27: *D. peruvianus*, 28: *P. macracanthus*, 29: *L. argentiventris*, 30: *A. mazatlanus*, 31: *C. querna*.

Sediments from both lagoons showed a gradual enrichment in $\delta^{13}\text{C}$ signatures from the mangrove zone to the lagoon mouth (Table 2, Fig. 2). Although SJ sediments had a lower $\delta^{13}\text{C}$ signature (ALG: -12.4 ± 3.3 ‰; SJ: -16.3 ± 0.9 ‰), these differences were not significant (ANOVA, $p > 0.05$). On the contrary, $\delta^{15}\text{N}$ values in SJ sediments showed a significant enrichment (7.5 ± 1.2 ‰ SJ; 6.2 ± 0.9 ‰ ALG; ANOVA, $F_{1,13} = 5.6$, $p = 0.03$; Table 2, Fig. 3).

$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ ranges of higher plants (mangrove and pickleweeds) did not differ significantly between coastal lagoons (ANOVA, $p > 0.05$). In contrast, ALG macroalgae had very low $\delta^{13}\text{C}$ values (-17.3 ‰ ALG, -13.4 ‰ SJ), whilst SJ macroalgae had elevated $\delta^{15}\text{N}$ signatures (14.5 - 15.7 ‰ SJ, 8.7 ‰ ALG). Differences in macroalgae $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures were statistically significant between the two sites (ANOVA, $F_{1,2} = 840.9$, $p = 0.001$ and $F_{1,2} = 143.5$, $p = 0.007$; Fig. 3). Although $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures of benthic algae in SJ and ALG (Table 2, Fig. 3) were well separated, no significant differences between sites were detected.

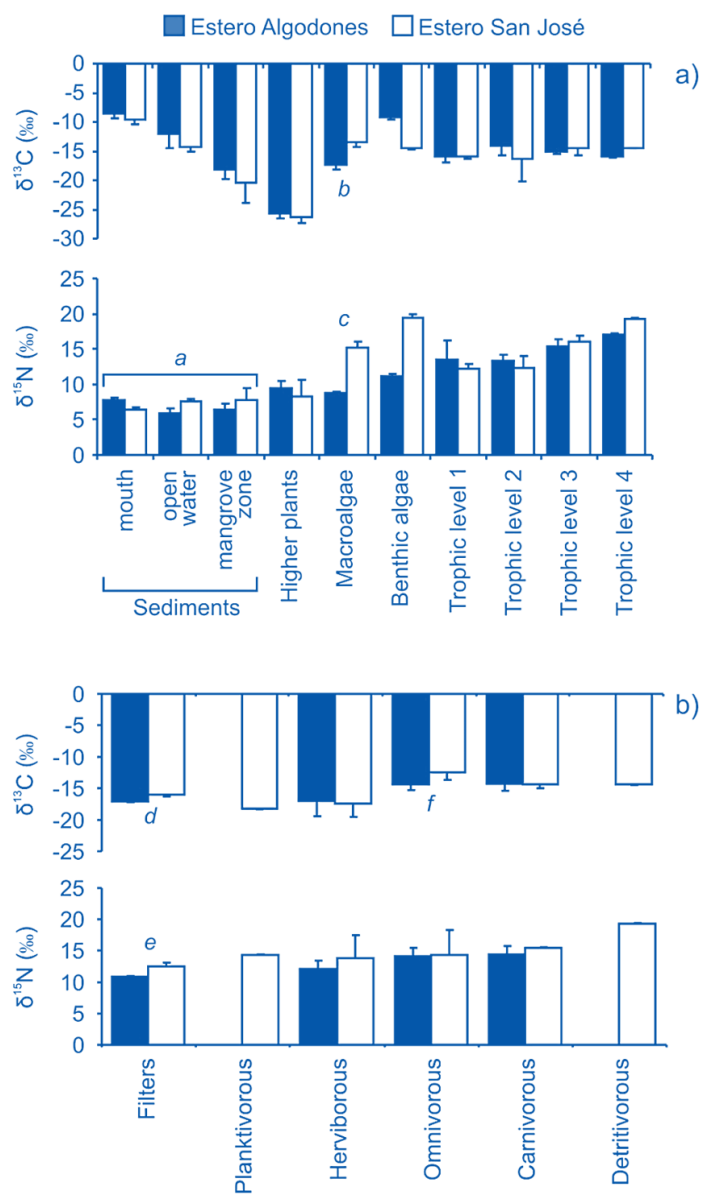


Fig. 3. Average (\pm SD) $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values for (a) sediments, primary producers and consumer trophic levels, and for (b) different feeding habits, in both lagoons. Lowercase letters denote statistical significant differences ($p < 0.05$) in ANOVA type-III comparisons between lagoons (a: $F=5.6$ $p=0.03$; b: $F= 840.9$ $p=0.007$; c: $F=143.5$ $p=0.001$; d: $F= 8.1$ $p=0.04$; e: $F=6.6$ $p=0.05$, f: $F=6.7$ $p= 0.03$).

3.2. EFFECTS OF NUTRIENT ENRICHMENT ON THE ISOTOPIC SIGNATURES OF TROPHIC LEVELS

Consumers were distributed into 4 trophic levels (TL) in both coastal lagoons (Fig. 4). Trophic level one (TL1) was composed by 6 species of mollusks in SJ (*Crassostrea corteziensis*, *Semele flavescens*, *Anadara spp.*, *Chione californiensis*, *Phlyctiderma discrepans* and *Chione spp.*), while only 2 were included in ALG (*Agropecten circularis* and *Aplysia californica*). Fish dominated the consumer food web in ALG while mollusks and crustaceans did in SJ (Fig. 4). In ALG, fish dominated TL2 and TL3; crustaceans were restricted to TL2 and no filtering mollusks were located in TL2 and TL3. In SJ, crustaceans were the main group in TL3, with fish being represented by single species in TL2 and TL3. TL3 was the most diverse trophic level at both sites (ALG: 6 species; SJ: 4 species). The top of the food web (TL4) appeared dominated by single species at each site: the fish *Selene brevoortii* in ALG and the crustacean *Ocypode occidentalis* in SJ (Fig. 4). All trophic levels showed similar $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures at both sites (ANOVA, $p > 0.05$; Fig. 3), and C:N ratios at all trophic levels were not significantly different between lagoons (ANOVA, $p > 0.05$).

Food web connectance and linkage density were higher in ALG (0.4 and 5.4 respectively) compared to SJ (0.3 and 2.9 respectively). The fractions of species occupying trophic levels showed great discrepancy between lagoons. Although at the base of the food web both lagoons exhibited the same genera (*Rhizophora*, *Avicennia*, *Ulva*, *Salicornia* and *Batis*), SJ displayed a higher proportion in basal species (0.42 vs 0.09). Regarding intermediate species proportions, ALG showed a higher score in TL2 (0.59 ALG; 0.21 SJ) whereas TL3 increased slightly in SJ (0.27 ALG; 0.29 SJ). Intermediate species taxa were greatly separated between lagoons in classes and

genera (7, 23 in ALG and 3, 13 in SJ, respectively). Finally, top species showed the lowest proportion at the two lagoons (0.05 ALG; 0.07 SJ), but being represented by different classes in each lagoon.

Metrics based on stable isotope ratios showed more pronounced differences between food webs when only primary producers and consumers rather than the whole ecosystem data

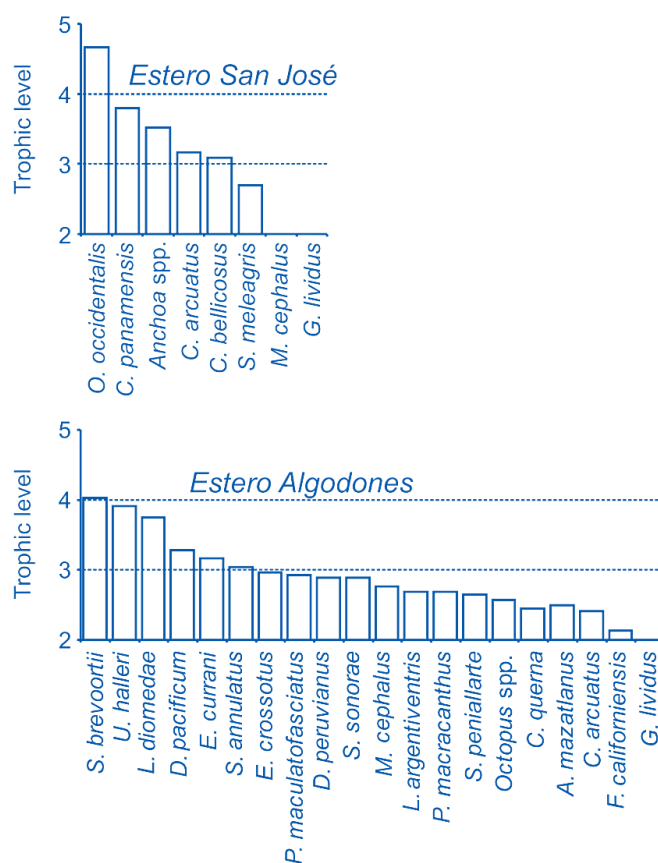


Fig. 4. Consumer trophic level estimates of mollusks, crustaceans, cnidaria and fish collected at San José and Algodones lagoons.

were analyzed. In both approaches, the pristine lagoon ALG showed slightly higher CR (ecosystem level CR= 18.4‰ vs 18.1‰; biotic level CR= 17.7‰ vs 16.0‰). By contrast, considering consumers only, CR was higher in SJ (7.2‰ vs 6.1‰). NR showed higher values at the perturbed lagoon SJ (ecosystem level NR= 13.9‰ vs 12.2‰; biotic level NR= 13.9‰ vs 8.7‰; only consumers NR= 8.0‰ vs 6.2‰). SJ also showed a higher index of niche diversification within the food web (ecosystem level CD= 5.6‰ vs 5.2‰; biotic level CD= 5.7‰ vs 4.5‰) and niche space dimensions (ecosystem level TA= 122.7‰ vs 108.81‰; biotic level TA= 90.4‰ vs 50.7‰). Finally, the density of species packing (NND) and unevenness of species packing (ecosystem level NDD= 1.2‰ vs 1.0‰, SDNND= 1.0‰ vs 0.8‰; biotic level NDD= 1.1‰ vs 0.8‰, SDNND= 1.0‰ vs 0.8‰) was greater at SJ.

3.3 EFFECTS ON FUNCTIONAL GROUPS (FEEDING MODES)

Carnivorous species dominated in ALG (54%); these were composed of fish, mollusks and crustaceans. In SJ, carnivory was due to crustaceans only and less important compared to SJ (15%). Carnivores were characterized by similar $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures between lagoons (ANOVA $p > 0.05$; Fig. 3b). Filterfeeders were the major group in SJ (46% vs 5% in SJ and ALG, respectively; Table 2), displaying enriched $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures in SJ (ANOVA, $\delta^{13}\text{C}$ $F_{1,5} = 8.1$, $p = 0.04$; $\delta^{15}\text{N}$ $F_{1,5} = 6.6$, $p = 0.05$; Fig. 3b). Herbivores were poorly represented in both lagoons (8% in SJ and 5% in ALG; Table 2), with similar $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures between lagoons (ANOVA $p > 0.05$; Fig. 3b). Omnivory, the second abundant feeding category in ALG (36%), showed

significant $\delta^{13}\text{C}$ depletion in ALG (ANOVA, $F_{1,7} = 6.5$, $p = 0.03$), whilst $\delta^{15}\text{N}$ signatures were similar (ANOVA, $p > 0.05$). Finally, detritivorous and planktivorous species were only collected in SJ and were composed of single species of crustaceans and cnidaria (Table 2).

4. DISCUSSION

The first consequence of coastal lagoon degradation due to nutrient enrichment is usually a strong reduction of biological diversity (Mouillot et al., 2005). In our study, nutrient-enriched discharges from shrimp-farm aquaculture contributed to a reduced species diversity. As observed in other studies, aquatic ecosystem degradation through water quality deterioration resulted in a strong reduction of fish species diversity (Pombo et al., 2002; Miranda et al., 2005), promoting the dominance of those species that are very resistant to ecosystem perturbations (Martens, 1982), such as *Mugil cephalus* (Loneragan and Potter, 1990). Low biodiversity shortens the food chain and hence the negative effects of the degradation feedback cannot be controlled, and consequently the trophodynamic stability decreases (Neutel et al., 2002).

Usually, the isotopic signatures of the aquaculture effluents as well as sewage domestic effluents are $\delta^{13}\text{C}$ -depleted compared with average values of coastal and marine particulate matter (Kwak and Zedler, 1997; Mazzola and Sarà, 2001). The effects on macroalgae appear to be linked to this isotopic depletion (e.g. Kwak and Zedler, 1997; Vizzini and Mazola, 2004). Our results demonstrated that the disturbed lagoon showed a significant increase of macroalgal $\delta^{13}\text{C}$ signatures (+ 3.8‰; Table 2, Fig. 3). Because no other community showed any $\delta^{13}\text{C}$ increase, that

difference could be attributed to the effect of the organic source supplied from shrimp-pond effluents, which might display different stable isotope signatures than those cited in the literature. Organic matter inputs from the sea have also been cited to increase the $\delta^{13}\text{C}$ signatures of primary producers (Bouillon et al., 2002). Other hypothesis of the enriched macroalgal $\delta^{13}\text{C}$ signatures in the disturbed lagoon could be related with preferential uptake of the isotopically light dissolved inorganic carbon by the phytoplankton resulting from the bacterial respiration of the large amounts of shrimp-farm wastes (Hellings et al., 1999; Bouillon et al., 2000), which would enrich the water column with the heavier carbon isotope used by macroalgae. Unfortunately, the lack of isotopic signatures of the effluent and other supplementary data does not allow us to clarify this contrasting phenomenon. At the ecosystem level, when all biotic and abiotic compartments were considered (mean $\delta^{13}\text{C}$ signature of sediments, mangroves, herbs, benthic algae, macroalgae, mollusks, crustacean, fish and cnidaria) the lagoon receiving shrimp-farm effluents showed a slight mean $\delta^{13}\text{C}$ -depletion $\approx -1.1\%$. This $\delta^{13}\text{C}$ depletion at ecosystem level is biased by benthic algae and sediments (mean difference between ecosystems -5.2 and -3.9% in benthic algae and sediments, respectively; Table 2). It seems to indicate that impacts of shrimp-farm discharges on the ecosystem are buffered by the benthic food web. Most $\delta^{13}\text{C}$ signatures in consumers do not seem to be affected by nutrient-rich aquaculture discharges (Table 2; Fig. 3). Similar findings have been reported by Vizzini and Mazzola (2006).

The observed $\delta^{13}\text{C}$ shift between higher plants and primary consumers confirms results of previous studies which have shown a low contribution of mangroves to the food-webs in

subtropical coastal lagoons (Primavera, 1996; Loneragan et al., 1997, Marguillier et al., 1997; Nyunja et al., 2009), which is opposed to that reported in temperate salt marshes (Abrantes and Sheaves, 2008). Contrasting with the findings of Hsieh et al. (2002), the main organic source to these subtropical coastal ecosystems is not marine phytoplankton. Since marine phytoplankton from tropical regions shows a $\delta^{13}\text{C}$ signal between -18 and -22‰ (Fontugne and Duplessy 1981; Goericke and Fry 1994), it is unlikely that phytoplankton are the main organic source supporting secondary production of the coastal lagoons of the Gulf of California. Moreover, considering the $\delta^{13}\text{C}$ signatures reported for shrimp feed wastes ($\delta^{13}\text{C} = -21.9 \pm 0.07\text{‰}$; Kon et al., 2009), the influence of this source appears to be very limited in the lagoons receiving the shrimp farm effluent. Our data rather suggest that sediment represent the main basis supporting the food web in both ecosystems.

In agreement with the literature (Rogers, 1999; Riera et al., 2000; Piola et al., 2006; Lepoint et al., 2008), $\delta^{15}\text{N}$ was the best descriptor of the anthropogenic impacts on coastal food webs. The enrichments with $\delta^{15}\text{N}$ were significant in the sediments, macroalgae and benthic algae of the lagoon receiving shrimp-farm effluent. Benthic algae and macroalgae species showed the highest $\delta^{15}\text{N}$ enrichments, so that these communities can be considered as the best biological indicators of the effects of nutrient enrichment by shrimp-farm discharges on the ecosystem food web. Similar results were found in macroalgae and seagrasses in other coastal ecosystems receiving shrimp pond effluents by Jones et al. (2001), in tidal creeks at Moreton Bay (east Australia), by Costanzo et al. (2004), in a tidal mangrove creek in north-east Australia, and by Lin

and Fong (2008), in Opunohu Bay (French Polynesia), although the observed enrichment was quite variable between sites (from 1‰ to 17‰). Also, fish farming discharges enriched the $\delta^{15}\text{N}$ signatures of macroalgae and seagrasses (Anderson et al., 1999; Savage and Elmgren, 2004; Vizzini and Mazzola, 2006), but the mean $\delta^{15}\text{N}$ enrichments were lower ($\approx 2\text{-}3\%$) compared to shrimp farming effluents. Contrary to our findings, Jones et al. (2001) and Costanzo et al. (2004) found significant ^{15}N enrichment in mangroves receiving shrimp farm discharges even in areas far from the effluent; however, the highest $\delta^{15}\text{N}$ signatures observed by these authors were lower than those recorded in our study (7.3-7.7‰ vs 9.8-10.7‰). The absence of strong ^{15}N enrichment of mangroves as compared to macroalgae has been associated with the high availability of nutrients in sediments compared to the water column as well as with the preferential take up of isotopically light ^{14}N (Jones et al., 2001). Lower $\delta^{15}\text{N}$ signatures of mangroves and macroalgae reflect the lower initial $\delta^{15}\text{N}$ of the shrimp effluent, because isotopic fractionation by bacteria in shrimp creeks is absent. This can be due to low NH_4^+ availability for nitrification because NH_4^+ in shrimp ponds is typically taken up by phytoplankton and bacteria rather than oxidized by nitrifying bacteria (Hargreaves, 1998; Jones et al., 2001). Furthermore, denitrification and NH_4^+ volatilization are depressed in shrimp ponds (Alongi et al., 2000). $\delta^{15}\text{N}$ signatures in shrimp farm effluents ranged 6-7‰ (Jones et al., 2001) as opposed to sewage effluents $\sim 10\%$ (Costanzo et al., 2004), and to open ocean in tropical sites $< 3\%$ (Costanzo et al., 2001). This suggests that the availability of nitrogen for mangroves and macroalgae in our sites have higher $\delta^{15}\text{N}$ values. The Gulf of California is a system generally enriched in ^{15}N compared to

other marine environments (Altabet et al., 1999): $\delta^{15}\text{N}$ of particulate organic matter in the Guaymas basin, which is close to the lagoons studied here, ranged $\sim 9\text{-}10\text{‰}$; $\delta^{15}\text{NO}_3$ is also enriched $\sim 10\text{-}12\text{‰}$ due to either marine phytoplankton fractionation during assimilation or denitrification. Observing the $\delta^{15}\text{N}$ signatures of vascular plants at both lagoons, could reflect the strong influence of organic matter inputs from the Gulf of California to primary producers. Another explanation may be the existence of uncontrolled wastewater discharges in SJ lagoon, a likely fact considering the existence of a small settlement of fishermen located to the southern edge (Sánchez-Carrillo, personal observation). Yet other explanations may be sought in microbial metabolism in the sediments. Microbial processing of nitrogen in sediments of these mangroves can be quite high (Sánchez-Andrés et al., 2010), and it is possible that microbes prefer the lighter ^{14}N for metabolism, leading to enrichment of ^{15}N in the free nitrogen pool (Mariotti et al., 1998; Costanzo et al., 2004), which would be quickly taken up by mangroves. Our low- $\delta^{15}\text{N}$ values in sediments at the mangrove zone in the pristine lagoon could reflect this process. Also NH_4^+ volatilization could contribute partially to ^{15}N enrichment of mangrove forest sediments, although the retention time in these coastal lagoons is not high enough (Sánchez-Carrillo et al., 2009). Further research is required to assess the relative importance of these processes on stable isotope dynamics in these ecosystems.

The $\delta^{15}\text{N}$ enrichment observed in the sediments at both the mangrove and the open water zones in the disturbed lagoon demonstrates the wide distribution range of the discharged effluents as also observed in other studies (e.g. Jones et al., 2001). However, as reflected by the

$\delta^{15}\text{N}$ signatures at the lagoon mouths, the distribution of nutrients to the adjacent marine habitats in the area is limited by hydrodynamic forcing (i.e. microtides; Sánchez-Carrillo et al., 2009). The shallowness of the lagoon (0.6 ± 0.7 m) probably contributes to enhance the resuspension events after deposition, highlighting the potential role of this process in impacted areas (Cromey et al., 2002).

On the other hand, $\delta^{15}\text{N}$ isotopic composition was not able to show any significant change in the consumers due to shrimp-farm discharges. This finding has been also observed systems affected by sewage discharges (Kwak and Zedler, 1997). Unfortunately, there is no similar study to ours for comparison. This marginal influence of $\delta^{15}\text{N}$ signatures on consumers can be attributed to the ability of certain species to move inside and outside the lagoon ecosystems (Vizzini and Mazzola, 2004). For example, fish migration as well the composition of consumer biotic communities can mask the effective sensitivity to pollution of each group (Vizzini and Mazzola, 2006). The $\delta^{15}\text{N}$ signatures of consumers show that the same species may occupy different trophic levels (Fig. 4) even in nearby ecosystems indicating that flexible foraging strategy of consumers as a function of food availability (Thimdee et al., 2004). The adaptive capacity of opportunistic organisms to change their feeding modes depending on the availability of the food sources is a well studied topic (e.g. Schaal et al., 2008).

Considering the feeding modes of consumer communities, the influence of discharges from shrimp farms on isotopic composition seems to be limited to filtering ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and omnivorous ($\delta^{13}\text{C}$) organisms (Fig. 3b). Both feeding modes would better reflect any change on

available food sources caused by shrimp-farm discharges. For example, omnivorous species inhabiting the perturbed lagoon, such as the crustacean *Geograpsus lividus*, displayed a $\delta^{13}\text{C}$ signature very similar to that of sediment in the mangrove zone. This suggests that sediment organic matter is the main available food source in the perturbed site. Moreover, the small ranges found in $\delta^{13}\text{C}$ values of distinctive feeding groups at SJ suggest that this ecosystem experiences a potential depletion of available food sources, as a consequence of shrimp-farm discharges. This tendency was also supported by the community-wide isotope metric CR, which indicated lower basal resource pools supporting consumers at the perturbed lagoon. This would also be confirmed by the lower abundance of omnivorous and carnivorous species (Robertson et al., 1992; Whitmore, 1997).

Shrimp-farm effluents can be viewed as external subsidies in these coastal lagoons which influence ecosystem food web structure and dynamics (Polis et al., 1997; Callaway and Hastings, 2002; Melián and Bascompte, 2004). Our primary results would confirm that resource availability and disturbance do not affect directly the food chain lengths (Briand and Cohen, 1987; Post et al., 2000; Post, 2002). However, the NR metric revealed higher length of the food web at the perturbed lagoon. Shrimp farm discharges reduce taxa aggregation at the consumer trophic levels as suggested by the niche space dimensions (TA). As suggested by Sugihara et al. (1997), this pattern should increase the fragility of the food web when one species disappears from the ecosystem. For example, if the species located at the highest trophic level in SJ (*Anchoa* spp.) is removed, then the overall trophic diversity in the food web would be reduced dramatically. Our

results on metrics for community-wide stable isotope data demonstrated that although perturbation caused by the shrimp-farm discharges increases the niche space for trophic diversification (CD), it is limited by the high species dispersion in the ecomorphological space. That is, there are few similar trophic niches (NDD), which reduces food web stability due to this low redundancy in trophic characteristics. Dispersal of consumers and resource heterogeneity desynchronize dynamics at all trophic levels, which is enhanced by the variation through time of the local food web dynamics (migration and extinction–colonization dynamics; Amarasekare, 2008).

Shrimp-farm effluent discharges into coastal lagoons tend to impose sediment detritus-based food webs, promoting opportunistic species (Langdon and Newell, 1990; Whitmore, 1997; Whitley and Rabeni, 1997). Nutrient-rich effluent discharges cause structural changes to the whole coastal lagoon ecosystem through alterations in top-down and bottom-up regulating forces in food webs (Polis et al., 1997). We acknowledge that the limited replication in our study does not allow for an extrapolation of the results to other coastal environments. However, the results obtained here suggest that further research is warranted. Long-term observations at higher spatial resolution could be useful for assessing generalities in food-web responses to the effects of shrimp-farm effluents. The integrative approach of trophic assessments of coastal lagoons from local (few coastal lagoons) to regional scales (all coastal lagoons of the Gulf of California) could allow increasing our understanding of how ecosystems respond to cumulative impacts through changes in trophic dynamics.

In summary, our results demonstrate that shrimp-farm discharges into coastal lagoons reduce species diversity and change the biotic composition of the food web. Nutrient-rich discharges from shrimp-farms do not seem to affect clearly $\delta^{13}\text{C}$ signatures, whilst $\delta^{15}\text{N}$ was a better descriptor of effluent impact within coastal lagoon food webs. Aquaculture discharges have severely altered the structure of coastal lagoon ecosystems around the world for many years. Despite the economic support of aquaculture for developing countries, coastal zone management must balance economic exploitation and environmental impacts in coastal lagoons. A reduction of untreated discharges of shrimp-farm effluents and wastewater treatment systems could be a first step to ensure conservation and rehabilitation of these valuable ecosystems.

References

- Abrantes, K., Sheaves, M., 2008. Incorporation of terrestrial wetland material into aquatic food webs in a tropical estuarine wetland. *Est Coast Shelf Sci.* 80, 401-412.
- Allen, G.R., Robertson, D.R., 1994. *Fishes of the tropical eastern Pacific*. University of Hawaii Press, Honolulu.
- Alongi, D.M., Johnston, D.J., Xuan, T.T., 2000. Carbon and nitrogen budgets in shrimp ponds of extensive mixed shrimp-mangrove forestry farms in the Mekong delta, Vietnam. *Aquaculture Res.* 31, 387-399
- Alongi, D.M., 2002. Present state and future of the world's mangrove forests. *Environ Conserv.* 29, 331-349.
- Altabet, M.A., Pilskaln, C., Thunell, R., Pride, C., Sigman, D., Chavez, F., Francois, R., 1999. The nitrogen isotope biogeochemistry of sinking particles from the margin of the Eastern North Pacific. *Deep Sea Res.* 46, 655-679.
- Amarasekare, P., 2008. Spatial dynamics of foodwebs. *Annu Rev Ecol.* 39, 479-500.
- Amezcu-Linares, F., Castillo-Rodríguez, Z., Álvarez-Rubio, M., 1992. Alimentación y reproducción del sol *Achirus mazatlanus* (Steindachner, 1869) en el sistema lagunar costero de Agua Brava, Pacífico de México. *An Inst Cienc Mar Limnol.* 19, 70-305.
- Anderson, R.J.M., Smit, A.J., Levitt, G.J., 1999. Upwelling and fish factory waste as nitrogen sources for suspended cultivation of *Gracilaria gracilis* in Saldanha Bay, South Africa. *Hydrobiologia* 398/399, 455-462.
- Bersier, L.F., Banasek-Richter, C., Cattin, M.F., 2002. Quantitative descriptors of food-web matrices. *Ecology* 83, 2394-2407.
- Bestler, C. 2004. *Ichthyology at the Florida Museum of Natural History*. <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/>
- Boaventura, R., Pedro, A.M., Coimbra, J., Lencastre, E., 1997. Trout farm effluents: characterization and impact on the receiving streams. *Environ Pollut.* 95(3), 379-387.
- Bouillon, S., Koedam, N., Raman, A.V., Dehairs, F., 2002. Primary producers sustaining macro-invertebrate communities in intertidal mangrove forests. *Oecologia* 130, 441-448.
- Bouillon, S., Mohan, Ch.P., Sreenivas, N., Dehairs, F., 2000. Sources of suspended matter and selective feeding by zooplankton in an estuarine mangrove ecosystem, as traced by stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser.* 208:79-92.
- Briand, F., Cohen, J.E., 1987. Environmental correlates of food chain length. *Science* 238, 956-960.
- Buchsbaum, M., Buchsbaum, R., Pearse, V., Pearse, J., 1989. *Living invertebrates*. Pacific Grove, California: The Boxwood Press, California.
- Callaway, D.S., Hastings, A., 2002. Consumer movement through differentially subsidized habitats creates a spatial food web with unexpected results. *Ecol Lett.* 5, 329-332.
- Cervantes, M., 1994. *Guía regional para el conocimiento, manejo y utilización de los humedales del Noroeste de Mexico*. Wetlands for the Americas Mexico Office, Guaymas.
- Cornwell, W.K., Schwikl, D.W., Ackerly, D.D., 2006. A trait-based test for habitat filtering: convex hull volume. *Ecology* 87, 1465-1471.
- Costanzo, S.D., O'Donohue, M.J., Dennison, W.C., 2004. Assessing the influence and distribution of shrimp pond effluent in a tidal mangrove creek in north-east Australia. *Mar Poll Bull.* 48, 514-525.
- Costanzo, S.D., O'Donohue, M.J., Dennison, W.C., Loneragan, N.R., Thomas, M.T., 2001. A new approach for detecting and mapping sewage impacts. *Mar Poll Bull.* 42, 149-156.
- Cromeey, C.J., Nickell, T.D., Black, K.D., Provost, PG, Griffiths, C.R., 2002. Validation of a fish farm waste resuspension model by use of a particulate tracer discharged from a point source in a coastal environment. *Estuaries* 25, 916-929.
- De La Lanza Espino G, Salaya-Ávila, J.J., Varsi, E., 1994. Manejo y aprovechamiento acuícola de lagunas costeras en América Latina y el Caribe. *FAO Technical Report No. 10*, Rome. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB485S/AB485S05.htm>.
- Demopoulos, A.W.J.D., 2004. *Food-web structure in introduced and native mangrove communities; a Hawaii-Puerto Rico comparison*. PhD dissertation, University of Hawaii, Honolulu.
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim Cosmochim Acta* 42, 495-506.
- Fontugne, M.R., Duplessy, J.C., 1981. Organic carbon isotopic fractionation by marine plankton in the temperature range -1 to -31 degrees. *Oceanol Acta* 4:8 5-90

- France, R., 1998. Estimating the assimilation of mangrove detritus by fiddler crabs in Laguna Joyuda, Puerto Rico, using dual stable isotopes. *J Trop Ecol.* 14, 413-425.
- García-Ortega, A., Hernández, C., Abdo de la Parra, I., González-Rodríguez, B., 2002. Advances in the nutrition and feeding of the bullseye buffer *Sphaeroides annulatus*. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N.O., (Ed.), *Avances en nutrición acuícola VI. Proceedings of the VI International Symposium on Aquaculture Nutrition*, Quintana Roo.
- García-Sandoval, J.A., Maldonado-Rubí, J.S., Guevara-Osuna, J.L., Osuna-Parente, R., Chan., 1991. México: diagnóstico integral de las granjas acuícolas camarónicas en el Estado de Sinaloa - Fomento y desarrollo de la apicultura y maricultura. FAO, Roma. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC598S/AC598S05.htm>.
- Gendron, D., 1992. Population structure of daytime surface swarms of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea: Euphusiacea) in the Gulf of California, Mexico. *Mar Ecol Prog Ser.* 87, 1-6.
- Goericke, R., Fry, B., 1994. Variations of marine plankton $\delta^{13}\text{C}$ with latitude, temperature, and dissolved CO_2 in the world ocean. *Global Biogeochem Cycles* 8, 85-90.
- Goodson, G., Weisgerber, J., 1988. *Fishes of the Pacific coast: Alaska to Peru, including the Gulf of California and the Galapagos Islands.* Stanford University Press, Stanford.
- Gu, B., Alexander, V., Schell, D.M., 1997. Stable isotopes as indicators of carbon flows and trophic structure in the benthic food web in a subarctic lake. *Arch Hydrobiol.* 138, 327-44.
- Haines, E.B., Montague, C.L., 1979. Food sources of estuarine invertebrates analyzed using $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios. *Ecology* 60, 48-56.
- Hargreaves, J.A., 1998 Nitrogen biochemistry of aquaculture ponds. *Aquaculture* 166, 181-212.
- Hawkins, B.A., Martínez, N.D., Gilbert, F., 1997. Source food webs as estimators of community web structure. *Acta Oecologica* 18, 575-586.
- Hellings, L., Dehairs, F., Tackx, M., Keppens, E., Baeyens, W., 1999. Origin and fate of organic carbon in the freshwater part of the Scheldt Estuary as traced by stable carbon isotopic composition. *Biogeochemistry* 47, 167-186.
- Hsieh, H.L., Chen, C.P., Chen, Y.G., Yang, H.H., 2002. Diversity of benthic organic matter flows through polychaetes and crabs in a mangrove estuary: $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{34}\text{S}$ signals. *Mar Ecol Prog Ser.* 227, 145-155.
- Jones, A.B., O'Donohue, M.J., Udy, J., Dennison, W.C., 2001. Assessing ecological impacts of shrimp and sewage effluent indicators with standard water quality analyses. *Est Coast Shelf Sci.* 52, 91-109.
- Karakassis, I., Tzapakis, M., Smith, C.J., Rumohr, H., 2002. Fish farming impacts in the Mediterranean studied through sediment profiling imagery. *Mar Ecol Prog Ser.* 227, 125-133.
- Keough, J.R., Hagley, C.A., Ruzycski, E., Sierszen, M., 1998. $\delta^{13}\text{C}$ composition of primary producers and role of detritus in a freshwater coastal ecosystem. *Limnol Oceanogr.* 43, 734-40.
- Kon, K., Kawakubo, N., Aoki, J., Tongnunui, P., Hayashizaki, K., Kurokura, H., 2009. Effect of shrimp farming organic waste on food availability for deposit feeder crabs in a mangrove estuary, based on stable isotope analysis. *Fish Sci.* 75, 715-722.
- Kwak, T.J., Zedler, J.B., 1997. Food web analysis of southern California coastal wetlands using multiple stable isotopes. *Oecologia* 110, 262-277.
- Langdon, C.J., Newell, R.I.E., 1990. Utilization of detritus and bacteria as food sources by two bivalve suspension feeders, the oyster *Crasostrea virginica* and the mussel *Geukensia demissa*. *Mar Ecol Prog Ser.* 58, 299-310.
- Layman, C.A., Arrington, D.A., Montan, C.G., Post, D.M., 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure?. *Ecology* 88, 42-48.
- Lepoint, G., Frédéric, B., Gobert, S., Parmentier, E., 2008. Isotopic ratios and elemental contents as indicators of seagrass C processing and sewage influence in a tropical macrotidal ecosystem (Madagascar, Mozambique Channel). *Sci Mar.* 72, 109-117.
- Lewis, W.M., Jr. Hamilton, S.K., Rodriguez, M.A., Saunders III, J.F., Lasi, M.A., 2001. Food web analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. *J N Am Benthol Soc.* 202, 241-254.
- Lin, D.T., Fong, P., 2008. Macroalgal bioindicators (growth, tissue N, $\delta^{15}\text{N}$) detect nutrient enrichment from shrimp farm effluent entering Opunohu Bay, Moorea, French Polynesia. *Mar Pol Bull.* 56, 245-249.
- Lojen, S., Spanier, E., Tsemel, A., Katz, T., Eden, N., Angel, D.L., 2005. $\delta^{15}\text{N}$ as a natural tracer of particulate nitrogen effluents released from marine aquaculture. *Mar Biol.* 148, 87-96.

- Loneragan, N.R., Bunn, S.E., Kellaway, D.M., 1997. Are mangroves and seagrasses sources of organic carbon for penaeid prawns in a tropical Australian estuary? A multiple stable-isotope study. *Mar Biol.* 130, 289-300.
- Loneragan, N.R., Potter, I.C., 1990. Factors influencing community structure and distribution of different life-cycle categories of fishes in shallow waters of a large Australian estuary. *Mar Biol.* 106, 25-37.
- López-Peralta, R.H., Arcilla, C.A.T., 2002. Diet composition of fish species from the Southern continental shelf of Colombia. *Naga* 25, 23-29.
- Marguillier, S., Van der Velde, G., Dehairs, F., Hemminga, M.A., Rajagopal, S., 1997. Trophic relationships in an interlinked mangrove-seagrass ecosystem as traced by $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. *Mar Ecol Prog.* 151, 115-121.
- Mariotti, A., Landreau, A., Simon, B., 1988. Nitrogen-15 isotope biogeochemistry and natural denitrification process in groundwater: application to the chalk aquifer of northern France. *Geochim Cosmochim Acta* 52, 1869-1878.
- Martens, C.S., 1982. Biogeochemistry of organic-rich coastal lagoon sediment. *Oceanol Acta Special Volume.* 161-168.
- Mazzola, A., Sará, G., 2001. The effect of fish farming organic waste on food availability for bivalve mollusks (Gaeta Gulf, Central Tyrrhenian, MED): stable carbon isotopic analysis. *Aquaculture* 192, 361-379.
- McGhie, T.K., Crawford, C.M., Mitchell, I.M., O'Brien, D., 2000. The degradation of fish-cage waste during fallowing. *Aquaculture* 187, 351-366.
- Megrey, B.A., Aydin, K.Y., 2009. A macrodescriptor perspective of ecological attributes for the Bering and Barents Seas. *Deep-Sea Res.* 56, 2132-2140.
- Meili, M., Jonsson, P., Carman, R., 2000. PCB Levels in laminated coastal sediments of the Baltic Sea along gradients of eutrophication revealed by stable isotopes ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$). *Royal Swedish Academy of Sciences* 29, 4-5.
- Meinkoth, N., 1981. *The Audubon Society Field Guide to North American Seashore Creatures.* Alfred A. Knopf, Inc. New York.
- Melián, C.J., Bascompte, J., 2004. Food web cohesion. *Ecology* 85, 352-358.
- Miranda, J.R., Mouillot, D., Hernández, D.F., López, A.S., Chi, T.D., Pérez, L.A., 2005. Changes in four complementary facets of fish diversity in a tropical coastal lagoon after 18 years: a functional interpretation. *Mar Ecol Prog Ser.* 304, 1-13.
- Morin, P., 2005. *Community ecology.* Blackwell Science, Inc. New Jersey.
- Mouillot, D., Laune, J., Tomasini, J.A., Aliaume, C., Brehmer, P., Dutrieux, E., Do Chi, T., 2005. Assessment of coastal lagoon quality with taxonomic diversity indices of fish, zoobenthos and macrophyte communities. *Hydrobiologia* 550, 121-130.
- Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C.M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017-1024.
- Neutel, A., Heesterbeek, J.A.P., De Rulter, P.C., 2002. Stability in real food webs: weak links in long loops. *Science* 296, 1120-1123.
- Nyunja, J., Ntiba, M., Onyari, J., Mavuti K., Soetaert, K., Bouillon, S., 2009. Carbon sources supporting a diverse fish community in a tropical coastal ecosystem (Gazi Bay, Kenya). *Est Coast Shelf Sci.* 83, 333-341.
- O'Reilly, C.M., Hecky, R.E., 2002. Interpreting stable isotopes in food webs: recognizing the role of time averaging at different trophic levels. *Limnol Oceanogr.* 47, 306-309.
- Páez-Osuna, F., Gracia, A., Flores-Verdugo, F., Lyle-Fritch, L.P., Alonso-Rodríguez R., Roque, A., Ruiz-Fernández, A.C., 2003. Shrimp aquaculture development and the environment in the Gulf of California ecoregion. *Mar Pollut Bull.* 46, 806-15.
- Páez-Osuna, F., Guerrero-Galván, S.R., Ruíz-Fernández, A.C., 1999. Discharge of nutrients from shrimp farming to coastal waters of the Gulf of California. *Mar Pollut Bull.* 38, 585-592.
- Parkyn, S.M., Collier, K.J., Hicks, B.J., 2001. New Zealand stream crayfish: functional omnivores but trophic predators?. *Freshw Biol.* 46, 641-652.
- Penczak, T., Galicka, W., Molinski, M., Kusto, E., Zalewski, M., 1982. The enrichment of a mesotrophic lake by carbon, phosphorous and nitrogen from the cage aquaculture of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J Appl Ecol.* 19, 371-393.
- Persson, A., Hansson, L.A., Brönmark, Ch., Lundberg, P., Pettersson, L.B., Greenberg, L., Nilsson, P.A., Nyström, P., Romare, P., Tranvik, L., 2001. Effects of enrichment on simple aquatic food webs. *Am Nat.* 157, 654-669.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Syst.* 18, 293-320.
- Pimm, S.L., Lawton, J.H., Cohen, J.E., 1991. Food web patterns and their consequences. *Nature* 350, 669-674.

- Piñón-Gimate, A., Soto-Jiménez, M.F., Ochoa-Izaguirre, M.J., García-Pagés, E., Páez-Osuna, F., 2009. Macroalgae blooms and $\delta^{15}\text{N}$ in subtropical coastal lagoons from the Southeastern Gulf of California: discrimination among agricultural, shrimp farm and sewage effluents. *Mar Pollut Bull.* 58, 1144-1151.
- Piola, R.F., Moore, S.K., Suthers, I.M., 2006. Carbon and nitrogen stable isotope analysis of three types of oyster tissue in an impacted estuary. *Est Coast Shelf Sci.* 66, 255-266.
- Polis, G.A., Anderson, W.B., Holt, R.D., 1997. Toward an integration of landscape and food web ecology: the dynamics of spatially subsidized food webs. *Ann Rev Ecol Syst.* 28, 289-316.
- Pombo, L., Elliott, M., Rebelo, J.E., 2002. Changes in the fish fauna of the Ria de Aveiro estuarine lagoon (Portugal) during the twentieth century. *J Fish Biol.* 61, 167-181.
- Post, D.M., 2002. The long and short of food-chain length. *Trends Ecol Evol.* 17, 269- 277.
- Post, D.M., Conners, M.E., Goldberg, D., 2000. Prey preference by a top predator and the stability of linked food chains. *Ecology* 81, 8-14.
- Primavera, J.H., 1996. Stable carbon and nitrogen isotope ratios of penaeid juveniles and primary producers in a riverine mangrove in Guimaras, Philippines. *Bull Mar Sci.* 58, 675-689.
- Riera, P., Stal, L.J., Nieuwenhuize, J., 2000. Heavy $\delta^{15}\text{N}$ in intertidal benthic algae and invertebrates in the Scheldt estuary (The Netherlands): effect of river nitrogen inputs. *Est Coast Shelf Sci.* 51, 365-372.
- Robertson, A.I., Alongi, D.M., Boto, K.G., 1992. Food chains and carbon fluxes. Coastal and estuarine studies. Tropical mangrove ecosystems. American Geophysical Union. Washington DC.
- Rogers, K., 1999. Effects of sewage contamination on macro-algae and shellfish at Moa Point, New Zealand using stable carbon and nitrogen isotopes. New Zealand. *J Mar Freshwat Res.* 33, 181-188.
- Ruiz, J.M., Pérez, M., Romero, J., 2001. Effects of fish farm loadings on seagrass (*Posidonia oceanica*) distribution, growth and photosynthesis. *Mar Pollut Bull.* 42(9), 749-760.
- Ruíz-Durá, M.F., 1992. Recursos pesqueros de las costas de México. Ed. LIMUSA. Mexico.
- Ruppert, E.E., Barnes, R.D., 1994. Invertebrate zoology. 6th Edition. Saunders College Publishing. Philadelphia.
- Sala, E., Aburto-Oropeza, O., Paredes, G., Thompson, G., 2003. Spawning aggregations and reproductive behavior of reef fishes in the Gulf of California. *Bull Mar Sci.* 72, 103-121.
- Salazar-Hermoso, F., 2007. Evaluation of stable isotopes for the identification of aquaculture waste in the aquatic environment. MSc Thesis, University of Guelph, Canada.
- Sánchez-Andrés, R., Sánchez-Carrillo, S., Alatorre, L.C., Cirujano, S., Álvarez-Cobelas, M., 2010. Litterfall dynamics and nutrient decomposition of arid mangroves in the Gulf of California: Their role sustaining ecosystem heterotrophy. *Est Coast Shelf Sci.* 89, 191-199.
- Sánchez-Carrillo, S., Sánchez-Andrés, R., Alatorre, L.C., Angeler, D.G., Álvarez-Cobelas, M., Arreola-Lizárraga, J.A., 2009. Nutrient fluxes in a semi-arid microtidal mangrove wetland in the Gulf of California. *Est Coast Shelf Sci.* 82, 654-662.
- Santamaría-Miranda, A., Elorduy-Garay, J.F., Rojas-Herrera, A.A., 2003. Hábitos alimenticios de *Lutjanus peruvianus* (Pisces: Lutjanidae) en las costas de Guerrero, Mexico. *Biol Trop.* 52, 959-971.
- Santamaría-Miranda, A., Saucedo-Lozano, M., Herrera-Moreno, M.N., Apún-Molina, J.P., 2005. Hábitos alimenticios del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* y del pargo rojo *Lutjanus colorado* (Pisces: Lutjanidae) en el norte de Sinaloa. *Rev Biol Mar Oceanogr.* 40, 33-44.
- Savage, C., Elmgren, R., 2004. Macroalgal (*Fucus vesiculosus*) $\delta^{15}\text{N}$ values trace decrease in sewage influence. *Ecol Appl.* 14, 517-526.
- Schaal, G., Riera, P., Leroux, C., 2008. Trophic coupling between two adjacent benthic food webs within a man-made intertidal area: a stable isotopes evidence. *Est Coast Shelf Sci.* 77, 523-534.
- Stoner, A.W., Zimmerman, R.J., 1988. Food pathways associated with penaeid shrimps in a mangrove-fringed estuary. *US Fishery Bulletin* 86, 543-551.
- Sugihara, G., Bersier, L-F., Shoenly, K., 1997. Effects of taxonomic and trophic aggregation on food web properties. *Oecologia* 112, 272-284.

- Sullivan, M.J., Montcreiff C.A., 1990. Edaphic algae are an important component of salt marsh food webs evidence from multiple stable isotope analyses. *Mar Ecol Prog Ser.* 62, 149-159.
- Sutherland, T.F., Martin, A.J., Levings, C.D., 2001. Characterization of suspended particulate matter surrounding a salmonid net-pen in the Broughton Archipelago, British Columbia. *ICES J Mar Sci.* 58, 404-410.
- Thimdee, W., Deenin, G., Sangrungruang, C., Matsunaga, K., 2004. Analysis of primary food sources and trophic relationships of aquatic animals in a mangrove-fringed estuary, Khung Krabaen Bay (Thailand) using dual isotope techniques. *Wetlands ecology and management* 12, 135-144.
- Thomson, D.A., Findley, L.T., Kerstitch, N., 2000. Reef fishes of the sea of Cortez. The University of Texas Press, Austin.
- Twilley, R. A., Lugo, E., Patterson-Zucca, C., 1986. Litter production and turnover in basin mangrove forest in southwest Florida. *Ecology* 67, 670-683.
- Vanderklift, M.A., Ponsard S., 2003. Sources of variation in consumer-diet $\delta^{15}\text{N}$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia* 136, 169-182.
- Vizzini, S., Mazzola, A., 2004. Stable isotope evidence for the environmental impact of a land-based fish farm in the Western Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 49, 61-70.
- Vizzini, S., Mazzola A., 2006. The effects of anthropogenic organic matter inputs on stable carbon and nitrogen isotopes in organisms from different trophic levels in a southern Mediterranean coastal area. *Sci Total Environ.* 368, 723-731.
- Whitledge, G.W., Rabeni, C.F., 1997. Energy sources and ecological role of crayfishes in an Ozark stream: insights from stable isotopes and gut analysis. *Can J Fish Aquat Sci.* 54, 2555-2563.
- Whitmore, T.C., 1997. Tropical forest disturbance, disappearance, and species loss. In: Laurence, W.F., Bierregaard, R.O. (Ed.), tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities. The University of Chicago Press, Chicago.
- Wilkie, M.L., Fortuna, S., 2004. Status and trends in mangrove area extent worldwide. Forest Resources Development Service, Forestry Department, FAO, Rome. (<http://www.fao.org/do>)
- Yañez-Arancibia, A., 1978. Patrones ecológicos y variación cíclica de la estructura trófica de las comunidades neotónicas en lagunas costeras del pacífico de México. *Rev Biol Trop.* 26, 191-218.
- Ye, L., Ritz, D.A., Fenton, G.E., Lewis, M.E., 1991. Tracing the influence on sediments of organic waste from a salmonid farm using stable isotope analysis. *J Exp Mar Biol Ecol.* 145, 161-174.

Capítulo II: Principales fuentes de carbono en el sostenimiento de los productores primarios y la producción secundaria en un humedal semiárido en condiciones de perturbación



Algunas vistas de los distintos ambientes que conforman el Parque Nacional Las Tablas de Daimiel

RESUMEN

El origen y la calidad del carbono orgánico de un ecosistema repercuten en cada uno de los componentes de la red trófica. En este estudio, se evaluaron las principales fuentes de carbono de un humedal de llanura de inundación semiárido en condiciones de perturbación, a través de las firmas isotópicas de ^{13}C y de ^{15}N , para determinar su importancia en el metabolismo del ecosistema y su contribución en la producción secundaria, empleando el modelo estadístico bayesiano SISUS. Los resultados demuestran que el C de origen alóctono procedente de las descargas de las aguas residuales presenta unas firmas de ^{13}C distintivas en comparación con el $\delta^{13}\text{C}$ del resto de sitios muestreados. Las descargas de aguas residuales tienen efecto en las firmas isotópicas de la fracción disuelta de la materia orgánica (carbono orgánico disuelto), así como en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de algunos productores primarios (epifiton, algas filamentosas y *Bolboschoenus maritimus*).

La principal contribución a la materia orgánica particulada presente en este humedal procede de *Tamarix canariensis* (de 84 a 96%), seguida por las raíces de los macrófitos más abundantes (hasta el 19%). Las fuentes principales de energía para la producción secundaria proceden del macrofito sumergido *Ceratophyllum submersum* (hasta un 92%), seguido por la materia orgánica particulada (hasta un 81%) y los tapetes microbianos (hasta un 78%). *Tamarix canariensis* supone del 59 al 79% de la dieta de los invertebrados, seguida por la materia orgánica particulada, aunque con un valor más bajo (hasta el 29%).

ABSTRACT

Organic carbon properties in wetlands depend on its origin and influences in turn on each of the biotic components of the food web. In this study, the main carbon sources of a semiarid wetland floodplain under disturbance were evaluated through isotopic signatures ^{13}C and ^{15}N to determine their importance in the ecosystem metabolism and their contribution to secondary production, using the statistical Bayesian model SISUS. The results show that the allochthonous C derived from wastewater discharges have distinctive $\delta^{13}\text{C}$ values compared with non-impacted sites of the wetland. Wastewater discharges have an effect on the isotopic signatures of the dissolved fraction of organic matter (dissolved organic carbon), as well as in $\delta^{15}\text{N}$ values of primary producers (epiphyton, filamentous algae and *Bolboschoenus maritimus*).

The main contribution to the particulate organic matter in this wetland comes from *Tamarix canariensis* (from 84 to 96%), followed by the roots of the most abundant macrophytes (until 19%). The main sources of energy for the secondary production were the submerged macrophyte *Ceratophyllum submersum* (until 92%), followed by the particulate organic matter (until 81%), and microbial mats (until 78%). *Tamarix canariensis* was the main component of the diet for macroinvertebrates (59 to 79%), followed by particulate organic matter (until 29%).

1. INTRODUCCIÓN

Aproximadamente el 95% del C total de los humedales lo constituye la materia orgánica particulada (MOP), que es generada a través de la descomposición de los desfrondes y de la producción detrítica (Reddy y Delaune, 2008). La MOP constituye el mayor reservorio de C orgánico sobre la superficie del suelo (Reddy y Delaune, 2008), que se va descomponiendo en formas orgánicas más simples y utilizables, seguidas por una mineralización simultánea a C inorgánico. El C orgánico es almacenado en reservorios vivos, como la vegetación, las algas y los microorganismos, así como en los no vivos, tales como el detritus y la materia orgánica nativa del suelo (sustancias húmicas y no húmicas). El ciclo biogeoquímico del C envuelve, además, interacciones complejas entre y dentro de los reservorios orgánicos e inorgánicos de C (Schlesinger, 1996).

Un humedal puede producir su propia materia orgánica (fuentes autóctonas: restos de vegetación como hojas, raíces, rizomas y material detrítico procedente de algas, de microorganismos, de invertebrados, vertebrados, etc.), pero también, puede recibir una carga orgánica externa (fuentes alóctonas: C orgánico disuelto y particulado de fuentes difusas y puntuales) procedente de los ecosistemas terrestres (incluyendo la agricultura y los efluentes de aguas residuales de diversas tipologías; Reddy y Delaune, 2008). Estos flujos de C orgánico suponen grandes cantidades de C en los ecosistemas, aunque la mayoría son recalcitrantes y difíciles de asimilar por los organismos (Pace et al., 2004). Los aportes alóctonos son, en general, muy importantes sosteniendo el metabolismo de los ecosistemas acuáticos y son, en la mayor

parte de los sistemas fluviales, el mayor componente del presupuesto de C orgánico presente (Carpenter et al., 2005). La importancia del origen del C orgánico estriba en su aportación cuantitativa al sostenimiento de todos los procesos metabólicos presentes en el humedal y en su aportación cualitativa (calidad) al flujo de materia y energía a través de la red trófica (Polis y Strong, 1996; Huxel y McCann, 1998).

La MOP y sedimentaria de los humedales de llanura de inundación se compone de una mezcla de restos orgánicos terrestres, lacustres, y fluviales, sometidos todos ellos a diferentes transformaciones físicas, químicas y biológicas adicionales (Hedges et al., 1986), con la intensidad y la dirección del intercambio de aguas entre el río y la llanura aluvial condicionando el balance de materia orgánica (Albuquerque et al., 1997; Vallet et al., 2005).

El papel de los humedales en la retención y la transformación de la materia orgánica ha sido mostrado en numerosos estudios (Newbold et al., 1982; Puckett et al., 1993; Sánchez-Carrillo et al., 2001; Vallet et al., 2005). Sin embargo, los balances de materia orgánica de los humedales son difíciles de establecer, principalmente, por la dificultad de identificar las principales fuentes de C orgánico de los sistemas. Esta dificultad radica en las múltiples formas moleculares y fuentes de la materia orgánica, así como en la gran variabilidad temporal en la producción y liberación, típica de los materiales biológicos (Hedges et al., 1986; Albuquerque et al., 1997).

Diferentes marcadores complejos, tales como la composición de los ácidos grasos de la materia orgánica (Mortillaro et al., 2011), la composición comparativa de carbohidratos,

proteínas, lignina, lípidos, char y “carbonilo” (Nelson y Baldock, 2005; Rodríguez-Murillo et al., 2011) o las firmas de ^{13}C y de ^{15}N (Gu et al., 1994; Kaiser et al., 2003; Hunsinger et al., 2010) han sido ampliamente utilizados para elucidar la fuente y el destino de la materia orgánica dentro de los entornos acuáticos, así como para caracterizar la utilización de nutrientes por los organismos heterótrofos (Teranes y Bernasconi, 2000; Mortillaro et al., 2011). También las firmas de ^{13}C y de ^{15}N se han empleado para determinar la importancia de la MOP en la contribución a la red trófica (Sullivan y Moncreiff, 1990; Fry, 1991; Bunn y Boon, 1993; Keough et al., 1996; Grey y Jones, 2000; Bunn et al., 2003; Pace et al., 2004). Bunn y Boon (1993) en llanuras de inundación Australianas (Billabongs) analizaron tres redes tróficas a través de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N y ninguna de las fuentes de materia orgánica conspicuas del lugar (plantas terrestres, sumergidas, flotantes o macrófitas acuáticas emergentes) mostraron ser la fuente de C para la mayoría de los consumidores estudiados. En cambio Keough et al. (1996), estudiando dos redes tróficas en un humedal costero del Lago Superior encontraron que ambas redes dependían del C fijado por el fitoplancton, y no encontraron evidencias de conexión directa entre los macrofitos más abundantes y los peces analizados. Aunque las relaciones isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ han resultado útiles para distinguir entre productores primarios acuáticos y terrestres y su influencia en el metabolismo del sistema, sus señales son, a menudo, enmascaradas por las diferentes contribuciones de la materia orgánica de las diferentes fuentes fotosintéticas tales como el fitoplancton o las plantas terrestres y acuáticas C_3 y C_4 (Hedges et al, 1986; Townsend-Small et al., 2005), con resultados, hasta ahora, muy variables.

En los últimos años se ha incrementado el uso de los modelos de mezcla que emplean a los isótopos estables para cuantificar la dieta o la ruta de la materia orgánica en las redes tróficas (Phillips, 2001; Phillips y Gregg, 2003; Martínez del Rio y Wolf, 2005; Benstead et al., 2006; Hobson y Wassenaar, 2008; Zeug y Winemiller, 2008). Estos modelos de mezclas se basan en el uso conjunto de dos o más isótopos estables, generalmente ^{13}C y ^{15}N , y son una herramienta poderosa para determinar la contribución relativa de cada una de las fuentes en aquellos organismos que tienen más de una fuente potencial y que pueden ser a su vez isotópicamente distintas (Phillips, 2001).

En un estudio previo, Rodríguez-Murillo et al. (2011) caracterizaron la materia orgánica de los suelos de Las Tablas de Daimiel para determinar su origen y transformaciones usando resonancia magnética nuclear del ^{13}C y análisis elemental y aplicando un modelo de mezcla molecular. Sus resultados indican que los macrófitos (emergentes o sumergidos) son la principal fuente de materia orgánica en los suelos del humedal y que su calidad depende más de cambios drásticos como los incendios que de los aportes externos. Sin embargo, se desconoce su papel en el sostenimiento de la red trófica.

El objetivo de este estudio fue determinar cuáles son las principales fuentes de C en un humedal de llanura de inundación semiárido, Las Tablas de Daimiel, a través del estudio de las firmas isotópicas (^{13}C y ^{15}N) de plantas, fitoplancton, algas, detritus y bacterias. El estudio se planteó evaluar cómo las diferentes formas de biomasa (fuentes de C) son incorporadas tanto en la materia orgánica como en los productores primarios y a su vez en la producción secundaria.

Asimismo, pretendió determinar la influencia de la materia orgánica procedente de las descargas de las aguas residuales urbanas que sufre el humedal en la base trófica. De igual forma, se pretendió extraer información sobre que fuentes orgánicas soportan a las comunidades en diferentes hábitats del humedal (zonas litorales, zonas someras libres de vegetación emergente, zonas profundas y canales fluviales) para ver las posibles conexiones tróficas entre hábitats. Esta información es esencial y básica para definir las funciones que soportan a la red trófica y que pueden ser requeridas para proyectos de mitigación y restauración del humedal.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. SITIO DE ESTUDIO

Este estudio se llevó a cabo en el "Parque Nacional Tablas de Daimiel" (PNTD), un humedal único en la Europa mediterránea (39° 08'N, 3° 43 'W; Fig. 1). Actualmente, el ecosistema conforma el núcleo de la Reserva de la Biosfera "La Mancha Húmeda" ($\approx 8.000 \text{ km}^2$), una de las principales regiones de humedales del sur de Europa (Sánchez Carrillo y Angeler, 2010). El área potencialmente inundada del PNTD es de $15,9 \text{ km}^2$ y la profundidad media máxima es de 0,9 m. El área inundada sufre grandes fluctuaciones estacionales anuales que dan lugar a cambios drásticos de los hábitats durante los ciclos más secos (Angeler et al., 2001).

El PNTD es el único superviviente de una extensa llanura de inundación que cubría un área de entre $150\text{-}250 \text{ km}^2$ a principios del siglo XX (Heras et al., 1971). Desde la década de 1950, la extensión del humedal se ha reducido drásticamente y su integridad ecológica está fuertemente

amenazada (Sánchez-Carrillo et al., 2010). La singularidad y riqueza del paisaje estuvieron determinadas en el pasado por dos principales procesos hidrológicos e hidroquímicos: la mezcla de aguas superficiales, estacionales y ricas en sulfatos, y aguas subterráneas, más dulces y estables (Coronado et al., 1974); sin embargo, actualmente este sistema funciona de forma muy diferente desde el punto de vista biogeoquímico: una gran cantidad de aportes externos de materia orgánica procedente de la cuenca (una fracción importante son aguas residuales sin tratar o con un tratamiento insuficiente) ha disparado la producción interna y ha convertido al humedal en un ecosistema acuático de aguas turbias (Álvarez-Cobelas et al., 2001; Sánchez-Carrillo et al., 2001). Así, el PNTD es un humedal hipertrófico debido a que recibe elevadas cargas orgánicas provenientes tanto de las aguas residuales con tratamientos insuficientes como de la contaminación agrícola difusa de la cuenca que llega por el río Gigüela (Sánchez-Carrillo y Angeler, 2010). Una descripción más extensa y detallada de la estructura y de las principales pautas del funcionamiento ecológico de Las Tablas de Daimiel se puede encontrar en Sánchez-Carrillo y Angeler (2010). En la Tabla 1 se muestran las condiciones físico-químicas del agua existentes durante el período de estudio en diferentes puntos del humedal.

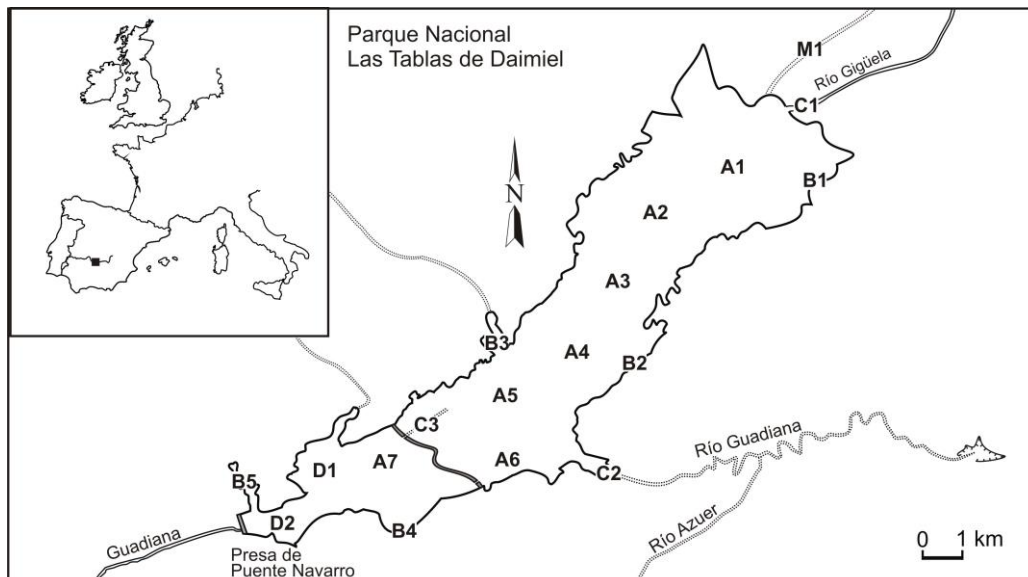


Fig. 1. Localización del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel y ubicación de los diferentes hábitats muestreados. Áreas interiores (n=7; A1-A7), litorales (n=5, B1-B5), zonas de canales (n=3, C1-C3), y zonas profundas (n=2, D1-D2).

Tabla 1. Condiciones físico-químicas de las 5 zonas de muestreo del PNTD durante el muestreo en Junio de 2011.

Zona	pH	Conductividad mS cm ⁻¹	MOT mg/L	COT mg C/L	COD mg C/L	DOC mg C/L	NT mg/L N	NH ₄ ⁺ mg NH ₄ ⁺ /L	NO ₃ ⁻ mg NO ₃ ⁻ /L	PT mg P/L	PO ₄ ³⁻ mg PO ₄ ³⁻ /L	Chl- <i>a</i> µg/L
Interiores	8.17±0.05	2.46±0.23	368.00±145.96	8.69±0.87	7.24±0.33	8.41±0.86	0.90±0.15	0.04±0.02	0.15±0.02	0.11±0.12	0.02±0.01	8.72±4.46
Litorales	7.88±0.38	2.56±0.12	327.00±45.77	12.00±2.85	8.53±2.48	11.48±2.36	1.11±0.29	0.04±0.04	0.12±0.02	0.06±0.06	0.02±0.01	6.00±4.36
Canales	8.09±0.06	2.20±0.26	314.67±46.40	7.27±2.10	7.08±2.09	6.67±2.36	2.30±2.1	0.55±0.73	3.91±6.0	0.15±0.17	0.06±0.01	22.69±17.24
Zonas profundas	8.29±0.24	2.19±0.04	262.00±31.11	9.50±0.37	6.48±0.01	9.12±0.13	0.84±0.05	0.03±0.00	0.17±0.04	0.02±0.02	0.02±0.00	2.84±2.87
Descargas de aguas residuales	8.06±0.03	2.35±0.99	296±196.61	5.97±1.15	5.46±0.92	5.84±1.22	5.89±6.44	3.93±6.45	3.75±4.20	0.52±0.73	1.09±1.83	80.62±96.33

2.2 COLECTA DE LAS FUENTES POTENCIALES DE C DEL HUMEDAL

Los reservorios de C vivo colectados fueron: macrófitos (4 emergentes: *Cladium mariscus*, *Phragmites australis*, *Typha dominguensis* y *Bolboschoenus maritimus*; y 3 sumergidos: *Potamogeton pectinatus*, *Ceratophyllum submersum* y *Chara hispida* var. *major*, el carófito más abundante en Las Tablas), *Tamarix canariensis* (que forma amplios bosquetes en zonas litorales del humedal y prolifera en zonas marginales), algas epifíticas, algas filamentosas, fitoplancton y tapetes microbianos. De los carófitos se colectaron ejemplares completos, limpios de sedimento. Del resto de macrófitos se colectaron hojas verdes de diferentes individuos y de los emergentes, además, rizomas. De *Tamarix* se tomaron hojas verdes sin restos leñosos. El epifiton se colecto raspando sustratos sumergidos de madera, macrófitos y rocas. Las algas filamentosas se colectaron en aquellos lugares en que estaban presentes. Las raíces fueron analizadas en las tres especies más abundantes del humedal (n=12): *C. mariscus*, *P. australis* y *T. dominguensis*.

El fitoplancton se separó del zooplancton mediante filtración con filtros de nytal (45µm) y posterior filtrado de un volumen de 10 L con filtros GF/F de 0,2 µm. Los tapetes microbianos (cianobacterias tales como *Microcoleus chthonoplastes*; Barón-Rodríguez, 2011) fueron colectados cuidadosamente eliminando la capa sobresaliente sobre el sustrato con una espátula y, posteriormente, pasando el material restante por una malla de 1 mm.

Los productores secundarios colectados en este estudio fueron macroinvertebrados bentónicos y zooplancton. Los invertebrados fueron colectados del sedimento usando una draga, almacenando los ejemplares vivos sin ningún conservante. Las especies de invertebrados

identificadas fueron *Crocothemis erythraea* (Odonata), *Naucoris maculatus* (Heteroptera) y *Chironomus sp* (Diptera). El zooplancton se extrajo por filtración de 40 L de agua a través de una red de nylal, y posteriormente, ese material fue puesto en suspensión y filtrado con con filtros de 0.45 μm para finalmente secarlo a 80°C. Los invertebrados fueron analizados como muestras compuestas debido a que no fue posible obtener suficiente masa de cada especie en cada sitio.

Del reservorio de C no vivo se tomaron muestras de sedimentos, a los que se les eliminaron los restos de vegetación visibles. El pool del C del agua fue medido a través del C orgánico particulado (COP), C orgánico disuelto (COD) y C inorgánico disuelto (CID), los cuales fueron colectados en cada sitio (Fig. 1). Las muestras para el $\delta^{13}\text{C}$ del CID se tomaron en viales 60 ml y fueron acidificadas a pH <2 con 1 ml de H_2SO_4 10 N (Carpenter et al., 2005). Para el análisis del $\delta^{13}\text{C}$ del COP y del COD se filtraron 250 ml de agua por una malla de GF/F 0.7 μm Para el $\delta^{13}\text{C}$ del COP se procedió a raspar el residuo del filtro y secarlo en estufa a 40°C y el $\delta^{13}\text{C}$ del COD se obtuvo tras evaporar el agua obtenida del filtrado a 40°C (Pace et al., 2007).

Durante el verano de 2011 (junio-julio) se realizaron los muestreos siguiendo un gradiente longitudinal para cubrir la heterogeneidad espacial ambiental, incluyendo áreas interiores (n=7; A1:A7), litorales (n=5, B1:B5), canales (n=3, C1:C3), y zonas profundas (n=2, D1:D2; Fig. 1). M1 es el canal donde se descargan las aguas residuales procedentes de Villarrubia de los Ojos tras su tratamiento. Las zonas interiores son someras (alrededor de 50-70 cm de profundidad) y con presencia de parches de macrófitos emergentes con zonas libres de vegetación. Las áreas litorales estuvieron, por lo general, cubiertas de macrófitos emergentes, con dominio del carrizo

y del taray. Estas zonas estuvieron desecándose con el paso de la estación seca. Las áreas más profundas corresponden a la parte terminal del humedal, con profundidades de 3-4 m, con vegetación emergente restringida al litoral y sin macrófitos sumergidos.

2.3 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ANÁLISIS

Los carbonatos de *Chara hispida* var. *major* y *Ceratophyllum submersum* fueron eliminados con HCl al 5% (Demopoulos et al., 2007). Los carbonatos del sedimento se retiraron usando HCl 1 M (Demopoulos et al., 2007). Posteriormente, todas las muestras fueron lavadas en repetidas ocasiones con agua destilada y consecutivamente secadas en la estufa a 40°C (los invertebrados), a 60°C (la vegetación; Boon y Bunn, 1994) y a 80°C (el detritus, fitoplancton y zooplancton). Posteriormente todas las muestras vegetales, el detritus y los invertebrados fueron trituradas mecánica y manualmente, con la ayuda de un mortero de ágata, y fueron tamizadas, con una malla de 1 mm.

2.4 ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES

Los análisis del cociente de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N C fueron determinados por espectrometría de Masas de Razones Isotópicas (IRMS, por sus siglas en inglés) en el Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Arizona, Estados Unidos (http://www.geo.arizona.edu/research/iso_lab.html) a través de la proporción de isótopos estables

($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Se utilizaron dos estándares, la desviación del estándar Peedee belemnite (PDB) para C y N_2 atmosférico para el N. Los resultados obtenidos se expresan en partes por mil (‰) respecto a las diferencias con los estándares según la siguiente ecuación: $\delta^{13}\text{C}$ o $\delta^{15}\text{N}$ (‰) = $[(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1] \times 10^3$, donde $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. La precisión analítica de las replicas de los análisis fue menor a 0.2‰.

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Previamente al análisis de los datos se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar la normalidad. Las diferencias en el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de cada fuente orgánica se evaluaron según tres criterios establecidos: 1) Por la ubicación espacial, para comprobar si existieron diferencias entre los diferentes hábitats estudiados, es decir zona de entrada –sometida a la influencia de las descargas de aguas residuales–, litorales, zonas interiores someras y zonas profundas. 2) Por diferencias derivadas de las características físicas y químicas del agua y del sedimento de los puntos de muestreo, para el cual se realizó un análisis de componentes principales (PCA) usando como variables explicativas las características físicas (profundidad) y químicas del agua (sólidos totales, materia orgánica total, N total, NO_3^- , COD, COT, Chl-*a* y pH) y del sedimento (PT). El PCA mostró tres grupos (66.5 % del total de la varianza acumulada): el primer grupo establecido por la alta concentración de sólidos totales, materia orgánica particulada, COT, COD y por el P del sedimento (sitios A2-A4, B3, B5; Fig. 2), el segundo grupo por la concentración de NT, pH y la profundidad (A5-A7, C2-C3, DI-D2, Fig. 2), y el tercero por los restantes puntos de muestreo, muy

dispersos entre sí (A1, B1, B2, B4, C1 Y M1; Fig. 2). 3) Por los efectos de las descargas de aguas residuales en el $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de las fuentes orgánicas: entrada, en la zona de descarga del Gigüela, parte intermedia, y parte final (Presa de Puente Navarro). Estas tres diferencias se determinaron mediante ANOVAS (univariado y bivariado), seguido de un análisis *post-hoc* de Bonferroni. La zona de entrada no pudo ser evaluada en el test ANOVA porque representó una réplica espacial. Se utilizó la correlación de Pearson para establecer relaciones entre el $\delta^{13}\text{C}$ y de $\delta^{15}\text{N}$ de los reservorios de C vivo y no vivo.

Finalmente, la estimación de la contribución de las fuentes de C autóctonas en la producción secundaria se realizó con ayuda del modelo bayesiano SISUS programado en R (disponible como paquete de R en cran.r-project.org/web/packages/sisus; Erhardt et al., 2014), considerando las diferencias isotópicas entre los ambientes descritos anteriormente.

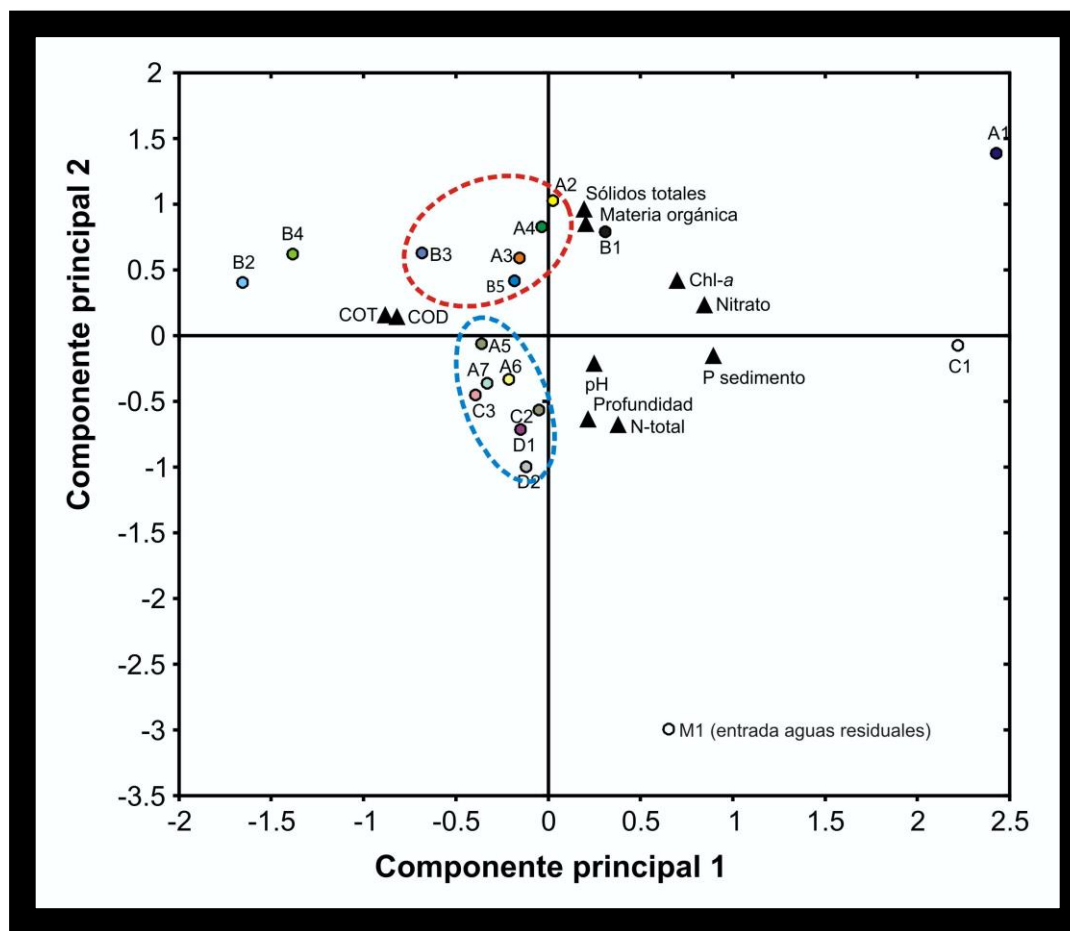


Fig. 2. Análisis de componentes principales (PCA) mostrando la agrupación de sitios de muestreo según las características físicas y químicas del agua y del sedimento. El componente 1 y 2 representan el 66.48% del total de la varianza acumulada explicada. Las variables incluidas son sólidos totales, materia orgánica total, nitrógeno total, NO_3^- , COD, COT, Chl- α , pH, profundidad y P del sedimento. Los círculos azul y rojo indican dos grupos diferentes.

3. RESULTADOS

Los resultados de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las principales fuentes de C del PNTD, están resumidos en la Tabla 2. La posición relativa de cada uno de los organismos esta representado en el espacio biplot del $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ en la Fig. 3.

Tabla 2. Composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (DE= Desviación estándar) de las principales fuentes de carbono C de Las Tablas de Daimiel durante el verano de 2011. (*) Los invertebrados proceden de una muestra completa.

Grupo	Fuentes de Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	DE	$\delta^{15}\text{N}$ ‰	DE	
Detritus del sedimento		-17.96	3.52	7.39	2.44	
Fuente inorgánica	CID	-7.74	0.87			
	COD	-8.83	2.78	7.66	1.98	
Materia orgánica particulada	COP	-26.89	4.36	7.82	3.02	
Productores primarios	Fitoplancton	-21.22	3.61	7.73	2.44	
Productores primarios	Epifiton	-22.35	6.00	10.14	4.12	
Productores primarios	Algas filamentosas	-22.92	3.90	10.06	2.93	
Productores primarios	Tapetes microbianos	-23.60	2.02	7.59	1.23	
Productores primarios	Macroalgas	<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i>	-14.94	0.43	9.14	1.76
Productores primarios	Macrófitos sumergidos	<i>Potamogeton pectinatus</i>	-18.86	0.62	10.01	1.99
Productores primarios	Macrófitos sumergidos	<i>Ceratophyllum submersum</i>	-24.82	1.35	8.32	1.83
Productores primarios	Macrófitos emergentes	<i>Cladium mariscus</i>	-26.28	0.41	5.56	4.00
Productores primarios	Macrófitos emergentes	<i>Phragmites australis</i>	-26.51	0.83	10.54	3.03
Productores primarios	Macrófitos emergentes	<i>Tamarix canariensis</i>	-28.15	0.79	4.85	1.12
Productores primarios	Macrófitos emergentes	<i>Bolboschoenus maritimus</i>	-28.33	1.65	11.03	2.88
Productores primarios	Macrófitos emergentes	<i>Typa dominguensis</i>	-28.35	0.79	10.64	3.78
Productores primarios	Raíces	-26.73	0.97	8.84	2.18	
Consumidores	Producción secundaria	Invertebrados*	-27.80	0.00	9.15	0.00
Consumidores	Producción secundaria	Zooplancton	-23.50	5.43	11.31	3.68

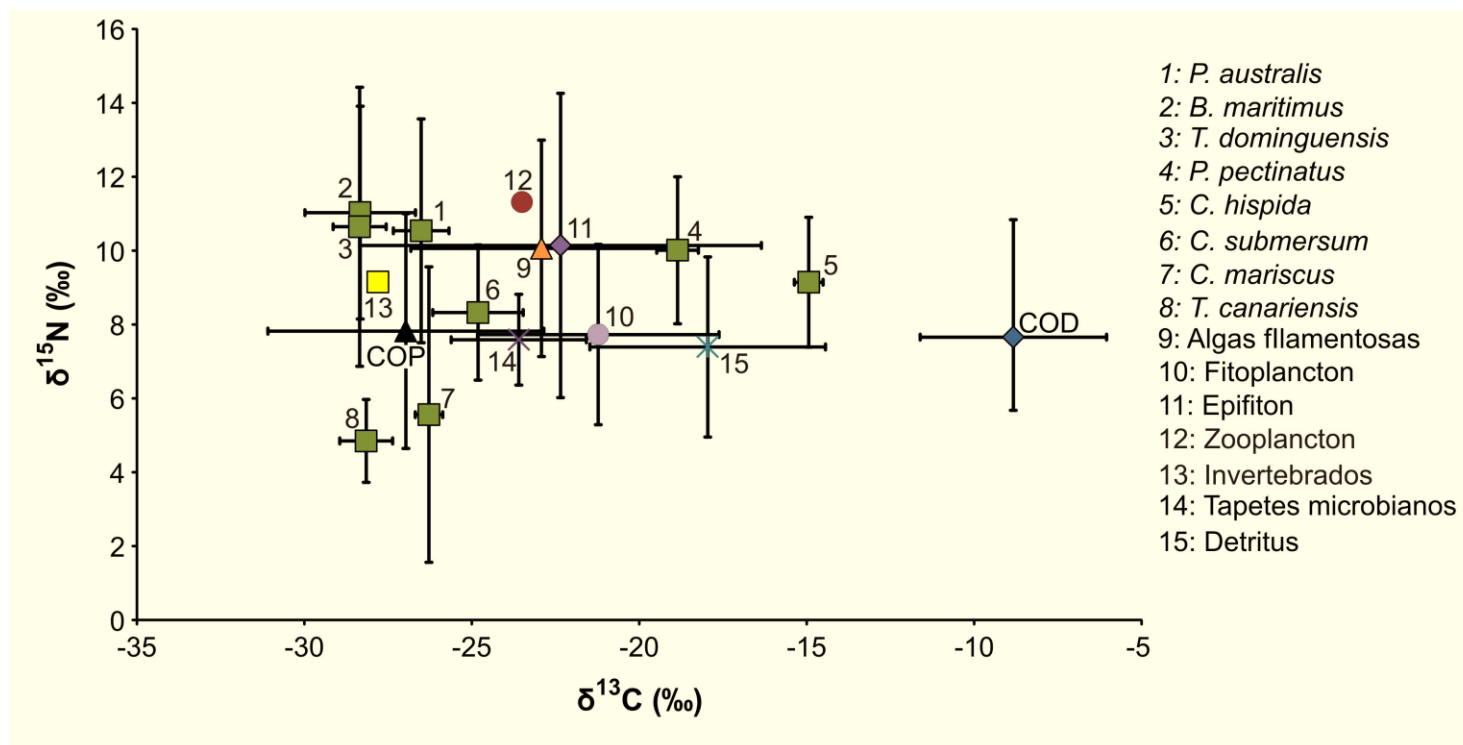


Fig. 3. Gráfico representando los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las principales fuentes de carbono y de la producción secundaria (invertebrados y zooplancton) del PNTD, colectados durante el verano de 2011. Cada símbolo representa un grupo. Las barras representan la desviación estándar para los análisis de diferentes individuos de la misma especie y para las muestras obtenidas en diferentes hábitats del ecosistema.

3.1 FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DEL RESERVORIO NO VIVO

Los reservorios de C no vivo del humedal mostraron amplia variación en la firma isotópica de ^{13}C . El COD presentó valores de $\delta^{13}\text{C}$ muy enriquecidos (promedio: $-8.83 \pm 2.78\%$; Tabla 2) y no mostró diferencias significativas en función de su ubicación espacial ($gl=2$; $F=3.562$, $p=0.096$; Fig. 4). En cambio, sí aparecieron diferencias significativas asociadas a las características ambientales de los sitios de muestreo ($gl=2$; $F=8.192$; $p=0.005$, Fig. 5) y por efecto de las descargas de las aguas residuales ($gl=2$; $F=6.053$; $p=0.010$; Fig. 6). Por su parte, el $\delta^{13}\text{C}$ del COP estuvo muy empobrecido ($-26.89 \pm 4.36\%$; Tabla 2) y mostró unas firmas muy homogéneas en todo el humedal (Tabla 2; Fig.4-6).

El NOD y el NOP mostraron firmas de ^{15}N muy similares (promedio: $7.66 \pm 1.98\%$ y $7.82 \pm 3.02\%$, respectivamente; Tabla 2). El $\delta^{15}\text{N}$ del NOD no presentó diferencias significativas según su ubicación espacial ($gl=2$; $F=0.944$; $p=0.440$; Fig. 4), pero sí por el ambiente físico-químico del agua y sedimento ($gl=2$; $F=4.163$, $p=0.040$; Fig. 5) y según la influencia de la descarga de aguas residuales ($gl=2$; $F=17.035$, $p<0.001$; Fig. 6). En cambio el $\delta^{15}\text{N}$ del NOP no difirió significativamente según los criterios estudiados ($p>0.05$, Fig. 4-6).

El detritus del sedimento mostró valores de $\delta^{13}\text{C}$ menos empobrecidos que el COP (promedio $-17.96 \pm 3.52\%$; Tabla 2), sin mostrar diferencias significativas según los criterios estudiados. No obstante, las firmas de ^{15}N del detritus del sedimento (promedio: $7.39 \pm 2.44\%$) sí mostraron diferencias singificativas tanto por las

características del ambiente de muestreo ($gl=2$, $F=7.906$ $p=0.005$) como por el efecto de las aguas residuales ($gl=2$, $F=3.897$, $p=0.040$).

Los valores de $\delta^{13}C$ del CID fueron en promedio de $-7.74 \pm 0.87\%$ y sólo mostraron diferencias significativas en función de la ubicación espacial ($gl=3$; $F=4.473$, $p=0.020$, Fig. 7).

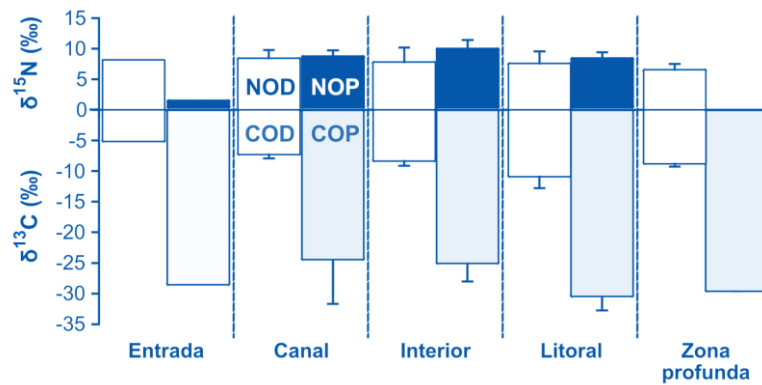


Fig. 4. Valores de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de la materia orgánica particulada y disuelta (COD, COP, NOD y NOP) en función de la ubicación espacial (promedios \pm DE). Resultados ANOVA: $\delta^{15}N$ -NOD $gl=2$; $F=0.944$; $p=0.440$; $\delta^{15}N$ -NOP $gl=2$; $F=0.451$, $p=0.666$; $\delta^{13}C$ -COD $gl=2$; $F=3.562$, $p=0.096$; COP $gl=2$; $F=0.979$; $p=0.451$.

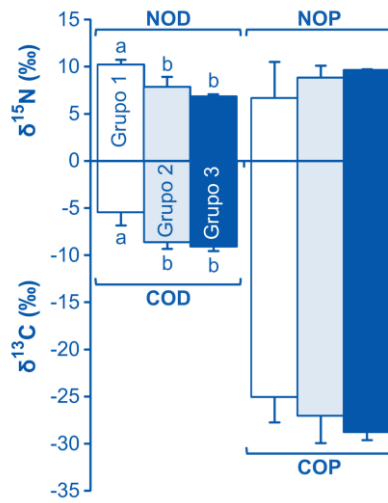


Fig. 5. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la materia orgánica particulada y disuelta (COD, COP, NOD y NOP) en función de las características físicas y químicas del agua y del sedimento de las zonas de muestreo. Grupo 1=A2-A4, B3 y B5; Grupo 2= A5-A7, C2-C3, D1-D2; Grupo 3=A1, B1-B2, B4, C1 y M1. Resultados ANOVA: $\delta^{15}\text{N}$ -NOD (gl=2; F=4.163, $p=0.040$); $\delta^{15}\text{N}$ -NOP (gl=2; F=0.525, $p=0.617$); $\delta^{13}\text{C}$ -COD (gl=2; F=8.192; $p=0.005$); $\delta^{13}\text{C}$ -COP (gl=2; F=0.330, $p=0.73$).

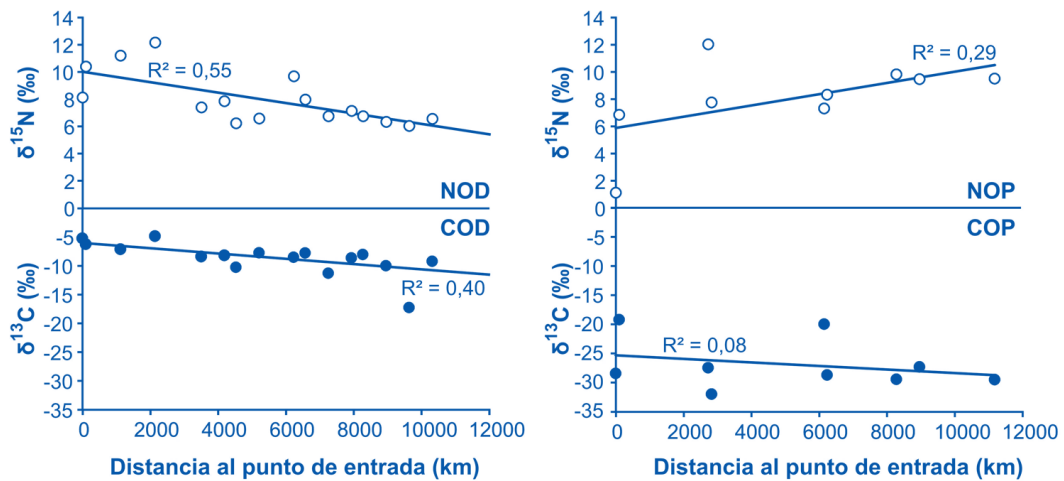


Fig. 6. Variación de las firmas de $\delta^{13}\text{C}$ -COP/ $\delta^{15}\text{N}$ -NOP con respecto a la distancia al punto de entrada del agua al humedal (incluyendo las aguas residuales).

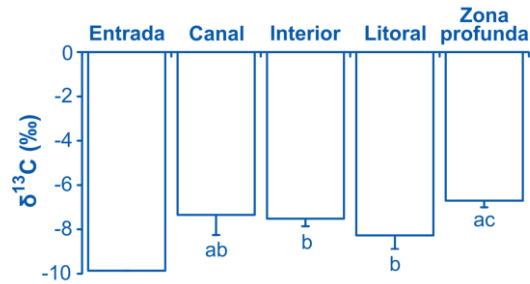


Fig. 7. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ del CID en función de la ubicación espacial (promedios \pm DE). Resultados ANOVA: $\delta^{13}\text{C}$ -CID (gl=3; $F=4.473$, $p=0.023$).

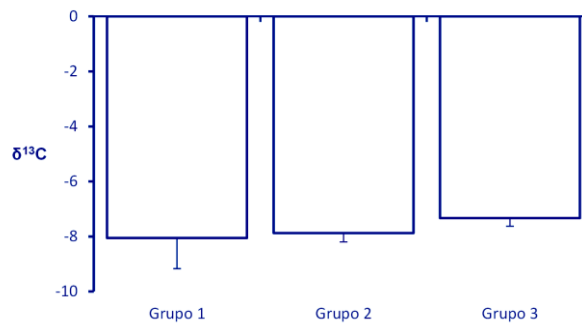


Fig. 8. Firmas de $\delta^{13}\text{C}$ del CID en función de las características físicas y químicas del agua y del sedimento de las zonas muestreadas. Grupo 1=A2-A4, B3 y B5; Grupo 2= A5-A7, C2-C3, D1-D2; Grupo 3=A1, B1-B2, B4, C1 y M1. Resultados ANOVA: $\delta^{13}\text{C}$ -CID (gl=2, $F=0.380$, $p=0.690$).

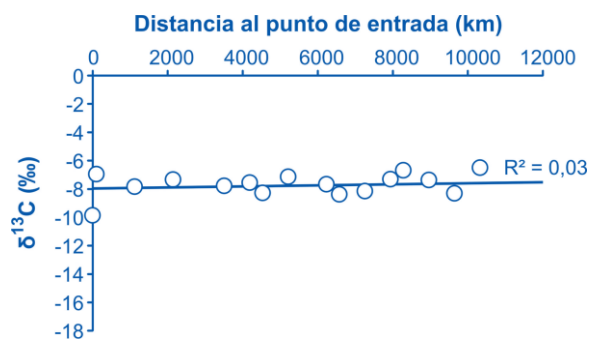


Fig. 9. Representación de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del CID con respecto a la distancia del punto de entrada de aguas

3.2 FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DEL RESERVORIO VIVO

De los productores primarios, los carófitos presentaron en promedio los valores de $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecidos ($-14.94 \pm 0.43\text{‰}$; Tabla 2), mientras que los macrófitos emergentes presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más empobrecidos ($\approx -28\text{‰}$ Tabla 2).

Con respecto a las firmas de ^{15}N , los valores promedio más bajos los presentó *T. canariensis* ($4.85 \pm 1.12\text{‰}$) y los más altos *B. maritimus* ($11.03 \pm 2.88\text{‰}$). Solamente el fitoplancton presentó diferencias espaciales significativas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}$ $p=0.028$, Tabla 3) mientras *T. dominguensis* las mostró según el ambiente físico-químico ($\delta^{15}\text{N}$, $p=0.02$; Tabla 3). El efecto de las descarga de aguas residuales en el $\delta^{15}\text{N}$ de los productores primarios no resultó significativo, aunque las firmas del epifiton mostraron cierta influencia en los registros del $\delta^{15}\text{N}$ con respecto a la distancia al punto de entrada del agua al PNTD ($R^2= 0.5174$; $p=0.057$; Tabla 3, Fig. 10). El efecto de las aguas residuales en las firmas del ^{13}C de los productores primarios fue insignificante desde el punto de vista estadístico (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados del análisis de ANOVA mostrando los valores de p en la comparación de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los productores primarios del PNTD en las tres categorías evaluadas durante el verano de 2011. Ubicación espacial (UE), características químicas y físicas del agua y sedimento (MIC) y efecto de la descarga de aguas residuales (DDAR). En negrita resaltados los valores significativos para $p < 0.05$.

Grupo	$\delta^{13}\text{C}$			$\delta^{15}\text{N}$		
	UE	MIC	DDAR	UE	MIC	DDAR
Algas filamentosas	0.658	0.336	0.477	0.818	0.752	0.451
Epifiton	0.127	0.190	0.315	0.322	0.212	0.057
Fitoplancton	0.352	0.822	0.978	0.028	0.254	0.473
<i>P. australis</i>	0.704	0.290	0.315	0.126	0.946	0.825
<i>T. dominguensis</i>	0.823	0.345	0.399	0.230	0.020	0.785
<i>B. maritimus</i>	0.666			0.552		

La producción secundaria, por su parte, mostró valores empobrecidos en $\delta^{13}\text{C}$, principalmente en los invertebrados (-27.80‰), con el zooplancton ligeramente más enriquecido (promedio: $-23.50 \pm 5.43\%$; Tabla 2). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$, estuvieron muy enriquecidos, principalmente los del zooplancton (Tabla 2).

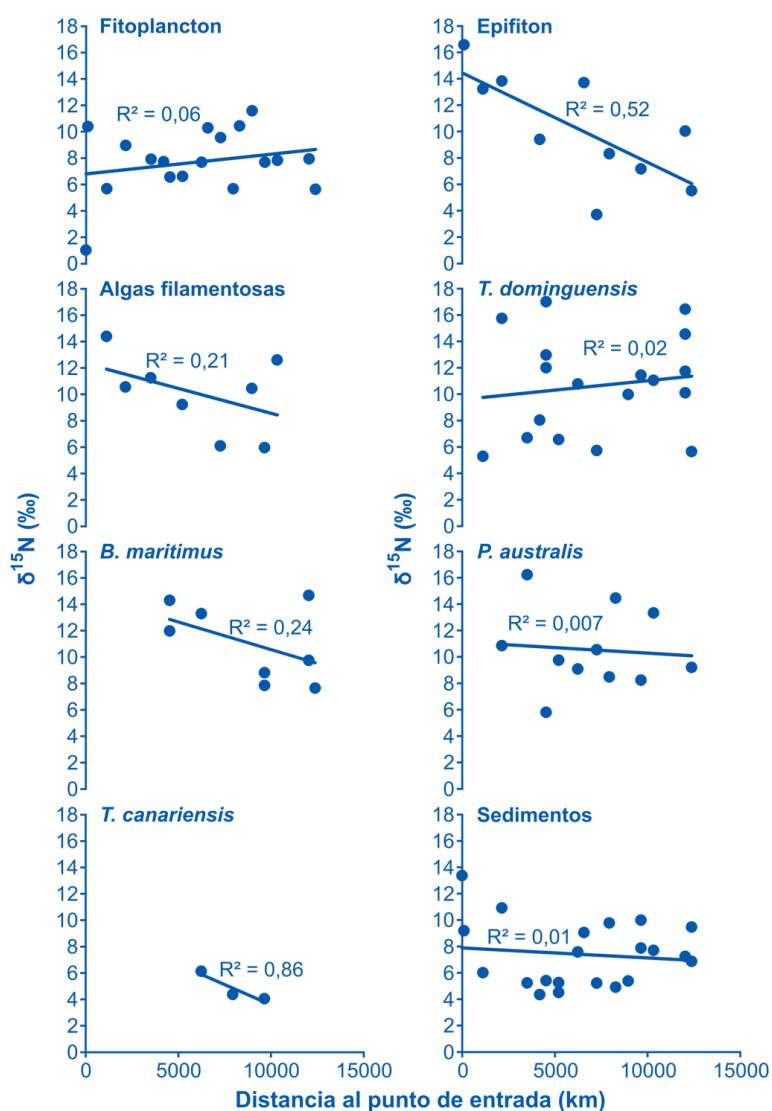


Fig. 10. Patrón espacial de $\delta^{15}\text{N}$ de los productores primarios en el PNTD conforme a la distancia al punto de entrada de las descargas de aguas residuales. El punto más lejano del humedal es la presa de Puente Navarro.

3.3 RELACIONES ENTRE EL RESERVORIO DE C VIVO Y EL RESERVORIO NO VIVO DE C DEL HUMEDAL

El $\delta^{13}\text{C}$ de los productores primarios y de la materia orgánica (COP y COD), no mostraron ninguna dependencia estadística (Tabla 4). Por el contrario, las firmas de $\delta^{15}\text{N}$ de los productores primarios si mostraron relación tanto con la materia orgánica particulada como con la disuelta (Tabla 4). Por ejemplo, el $\delta^{15}\text{N}$ del epifiton y del NOD ($R=0.808$, $p<0.001$), el $\delta^{15}\text{N}$ del NOP con el del fitoplancton ($R=0.775$, $p=0.024$), y el de las plantas vasculares ($R=0.742$, $p=0.035$). Las firmas isotópicas de ^{13}C de los productores primarios y del CID no mostraron relación significativa, aunque con *C. hispida* var. *major* el valor de R fue muy alto ($R=0.971$, $p=0.154$; Tabla 5). En cambio, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del CID del agua y los del detritus mostraron una cierta dependencia estadística ($R=0.486$, $p=0.025$; Tabla 5).

Tabla 4. Coeficientes de correlación de Pearson (r , $**=p<0.01$, $*=p<0.05$) mostrando las relaciones entre el $\delta^{13}\text{C}$ -COD/ $\delta^{15}\text{N}$ -NOD y el $\delta^{13}\text{C}$ -COP/ $\delta^{15}\text{N}$ -NOP de los productores primarios y el detritus del sedimento. Algas fil= algas filamentosas, Pl. vas= plantas vasculares, Sed= detritus del sedimento. / =No hay datos de correlación porque no hubo replicas suficientes.

		$\delta^{13}\text{C}$							
		Fitoplancton	Epifiton	Algas fil	<i>B. maritimus</i>	<i>P. australis</i>	<i>T. dominguensis</i>	Pl. vasc	Sed
$\delta^{13}\text{C}$ COD	R	0.065	0.558	0.280	-0.687	0.226	0.369	-0.234	0.193
$\delta^{13}\text{C}$ COP	R	0.063	-0.310	-0.233	0.304	0.026	0.188	1.000**	-0.119
		$\delta^{15}\text{N}$							
$\delta^{15}\text{N}$ NOD	R	0.050	0.808**	0.266	0.518	0.114	0.016	0.242	0.041
$\delta^{15}\text{N}$ NOP	R	0.775*	0.134	0.052	1.000**	0.768	0.423	-0.742*	/

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson (r) de las relaciones entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del CID y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los productores primarios y del detritus del sedimento.

		Sed.	Epifiton	Fitoplancton	<i>C. hispida</i> var. <i>major</i>	Mac. sumergidos	Mac. emergentes	Raíces
$\delta^{13}\text{C}$ CID	R	0.486*	0.422	0.362	0.971	-0.236	0.009	-0.199

3.4 CONTRIBUCIÓN DE LAS FUENTES DE C A LA MATERIA ORGÁNICA, PRODUCTORES PRIMARIOS Y PRODUCCIÓN SECUNDARIA DEL HUMEDAL

Las estimaciones usando el modelo de mezcla SISUS con los isótopos de ^{13}C y ^{15}N muestran que *T. canariensis* es la principal fuente que contribuye a la MOP, representado entre el 69 y el 84%, seguida por las raíces de los macrófitos emergentes más abundantes ($\approx 19\%$) y, con similar contribución, por *P. australis*, *C. mariscus* y *T. dominguensis* ($\approx 15\%$; Tabla 6).

Según el modelo SISUS, las fuentes de C del humedal que contribuyen a la producción secundaria son muy variables. La planta sumergida *C. submersum*, aparece como la principal dieta del zooplancton, aunque el COP y los tapetes microbianos representan una fracción importante (Tabla 6 y Fig. 11a; véanse los valores mínimos de todos). *T. canariensis* se presenta como la dieta principal de los invertebrados capturados durante el muestreo (Tabla 6). Otras fuentes como *T. dominguensis*, *P. australis*, *C. mariscus* y *B. maritimus* también mostraron cierto potencial (Tabla 6 y Fig. 11b).

Tabla 6. Rango de contribuciones (en %) de las principales fuentes de C – productores primarios y detritus del sedimento – a la MOP y a la producción secundaria del PNTD durante el verano de 2011, según el modelo SISUS.

	MOP		Invertebrados		Zooplancton	
	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx
Detritus del sedimento	0	2.89	0	3.87	0	46.28
COD (zona intermedia de DDAR)			0.00	2.02	0.00	24.29
COD (zona final de DDAR)			0.00	2.08	0.00	24.92
COD (zona de entrada DDAR)			0.00	1.74	0.00	20.83
COP			0.00	29.08	0.00	80.64
Fitoplancton	0.00	4.23	0.00	5.66	0.00	67.90
Epifiton	0.00	4.97	0.00	6.64	0.00	63.54
Algas filamentosas	0.00	5.49	0.00	7.35	0.00	63.83
Tapetes microbianos	0.00	6.40	0.00	8.55	0.00	77.87
<i>C. hispida var. major</i>	0.00	2.23	0.00	2.98	0.00	35.71
<i>C. submersum</i>	0.00	8.60	0.00	11.50	0.00	92.35
<i>P. pectinatus</i>	0.00	3.14	0.00	4.20	0.00	50.37
<i>B. maritimus</i>	0.00	14.58	0.00	20.41	0.00	48.06
<i>T. dominguensis</i>	0.00	15.52	0.00	21.75	0.00	51.21
<i>C. mariscus</i>	0.00	15.67	0.00	20.95	0.00	47.17
<i>P. australis</i>	0.00	16.21	0.00	21.66	0.00	54.00
<i>T. canariensis</i>	69.46	83.74	59.16	78.71	0.00	41.22
<i>Raíces</i>	0.00	19.02				

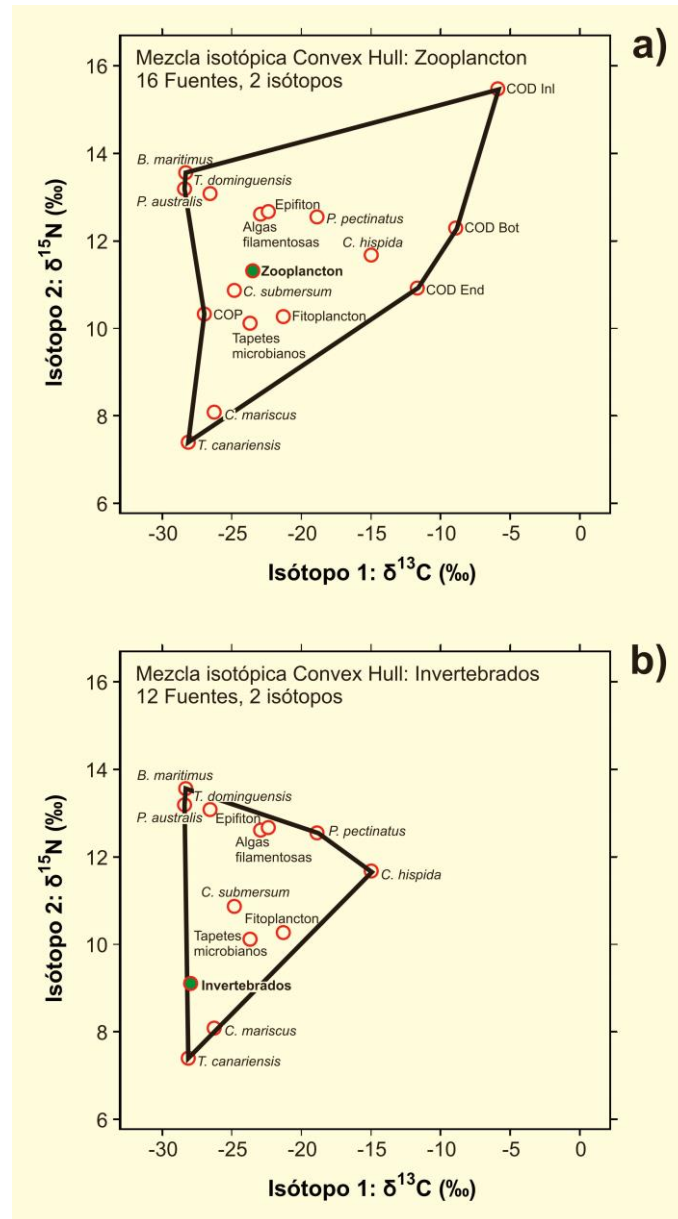


Fig. 11. Envoltures convexes (convex hull) de los gráficos $\delta^{13}\text{C}/\delta^{15}\text{N}$ mostrando la contribución de los principales reservorios de C al Zooplancton (a) y a los invertebrados (b). Con un máximo de contribución del zooplancton está *C. submersum* (hasta 92.35%) y de los invertebrados *T. canariensis* (hasta 78.71%).

4. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos en este estudio usando el $\delta^{13}\text{C}$ de las fuentes orgánicas de del humedal, tanto el C de los reservorios vivos como de los no vivos están condicionados más a la calidad del hábitat (ambiente fisicoquímico) que por las características del hábitat. Los efectos de las descargas de aguas residuales en el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las principales fuentes del humedal ejercen influencia, principalmente, en la fracción disuelta de la materia orgánica y en el detritus del sedimento. En este estudio no se observa una disminución del enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ de los productores primarios y del detritus, conforme se alejaban del punto de entrada de las aguas residuales. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de algunos productores primarios (epifiton, algas filamentosas y *B. maritimus*) sí mostraron clara disminución a medida que nos alejábamos de este punto de entrada, tal como se ha visto en otros sistemas influenciados por las descargas de aguas residuales (Costanzo et al., 2001). Es posible que los eventos de resuspensión puedan redistribuir después de la deposición los efectos de las descargas de aguas residuales hasta zonas más alejadas, acrecentando el papel potencial de este proceso en las áreas afectadas (Jones et al., 2001), sin embargo, el valor del $\delta^{15}\text{N}$, claro indicador de este tipo de contaminación, parece indicar que este efecto es limitado.

En este estudio hemos observado que el detritus de los sedimentos colonizados por los macrófitos emergentes más abundantes, *P. australis* y *C. mariscus*, estuvo relacionado con las firmas isotópicas con otras especies menos abundantes, como *B. maritimus* ($\delta^{13}\text{C}$) y *T. dominguensis* ($\delta^{15}\text{N}$). Este resultado es contrario a lo observado en

otros humedales de La Mancha Húmeda, donde el detritus está íntimamente relacionado con la vegetación dominante. La ausencia de relación puede deberse al (i) ciclo seco prolongado existente hasta enero de 2010 en el que el humedal estuvo expuesto (respiración de la materia orgánica) y colonizado por plantas terrestres ó a que (ii) durante 2008 y 2009 se realizó una retirada de biomasa de carrizo en el humedal que ha limitado considerablemente la generación de detritus procedente de esta planta dominante en el humedal.

Los valores registrados de $\delta^{13}\text{C}$ del CID en los diferentes sitios del humedal muestran un peso importante de la meteorización como fuente de C inorgánico (Mook, 1980), si bien en un ecosistema altamente productivo como este pudiéramos esperar mayor peso del CO_2 biogénico derivado de la descomposición de la MO y de la descomposición de los carbonatos, con firmas de ^{13}C oscilando de -12 a -14‰ (Mook, 1980). Extrañamente, los valores medidos se aproximan más a ecosistemas con escasa vegetación y MO (en el rango de numerosos lagos \approx -5‰; Bae et al., 2006), algo ajeno a lo que podemos entender como un humedal. Es posible sospechar un comportamiento anómalo asociado a ciclos de sequía prolongada registrado por el ecosistema un año antes del muestreo. La heterogeneidad de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del CID en todas las zonas de muestreo indica un patrón espacial bastante irregular al que no hemos podido atribuir una explicación plausible.

Aparentemente el fraccionamiento isotópico ocurrido en el fitoplancton durante la fotosíntesis está en el PNTD fuera del rango normal de observaciones (-13.4‰ en

nuestro caso, de -20 a 30‰; Jones et al., 1998). Aunque el análisis de las causas excede el objetivo de este estudio, estas pueden ser variadas y asociadas con la composición del fitoplancton, la temperatura e incluso la habilidad para usar el HCO_3^- por las algas, con más afinidad por el $\delta^{13}\text{C}$ y, por lo tanto, con menor fraccionamiento (Bade et al., 2006).

Por otro lado, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas revelan las vías de fijación del C distintivas según las especies: mientras los macrófitos, en general, están en el rango de los valores de las plantas C_3 , *C. hispida* var. *major* y *P. pectinatus* tienen firmas de plantas C_4 (Keeley, 1990). El registro de $\delta^{13}\text{C}$ de *C. submersum* revela una posible contaminación por carbonatos pues los valores deberían estar próximos a los de las plantas C_4 (Sensula et al., 2006). Algunos autores como Raz-Guzman et al. (1992) no consideran factible categorizar a la vegetación acuática exclusivamente como C_3 ó C_4 debido a que la relación entre el $\delta^{13}\text{C}$ y el mecanismo fotosintético no es tan estricto como en el caso de la vegetación terrestre y, además, la vegetación acuática refleja la composición isotópica del HCO_3^- , la cual a su vez depende de la salinidad, que puede interferir en las firmas y oscurecer la carboxilación. La ausencia de diferencias en las firmas isotópicas entre partes aéreas y subterráneas de los macrófitos indica que no existe una acumulación diferencial de los productos derivados de la fotosíntesis.

En el PNTD, estudios previos evaluaron que la vegetación emergente puede contribuir con un 45-65 % a la materia orgánica que se deposita en el humedal (materia orgánica autóctona; Sánchez-Carrillo et al., 2001). Nuestros resultados indican que la

principal contribución hacia la MOP en el PNTD resultó ser *T. canariensis*, mientras que los macrófitos emergentes y sumergidos representaron porcentajes máximos menores del 20%. Puesto que la mayor parte del carbono que contienen los macrófitos es recalcitrante (Mann, 1988), es de esperar que la mayor parte de estos restos vegetales entren al pool detrítico para ser eventualmente degradados por hongos y bacterias (Kuehn et al., 2000). Sin embargo, las condiciones reinantes durante los años previos al muestreo (2006-2010) y la retirada de biomasa pueden estar enmascarando el peso real de los macrófitos emergentes en el detritus del sistema.

Algunos estudios demuestran que *Tamarix* sp. presenta una baja calidad de la hojarasca, que tiende a reducir la biodiversidad de macroinvertebrados (Bailey et al., 2001) e incrementa su acumulación en los sedimentos. La fuerte proliferación de esta especie en el Parque durante los años secos previos al muestreo podría estar sobredimensionando sus efectos reales durante los ciclos húmedos cuando se retira a los márgenes del humedal (Bailey et al., 2001). La MOP mostró registros isotópicos consistentes con los de los macrófitos lo que puede indicar que, probablemente, su peso es variable temporalmente y necesita ser reevaluado en un ciclo húmedo largo. Sorprende, sin embargo, la importancia de *T. canariensis* en la producción secundaria, a pesar de su bajo valor nutritivo.

La familia Chironomidae, la más abundante de los macroinvertebrados bentónicos durante nuestro estudio, ha sido relacionada con semillas de *Tamarix* sp. (Campobasso et al., 1999) y con ciertas especies de algas (Maasri et al., 2008).

Principalmente la proliferación de *T. canariensis* durante los años secos ha dado lugar a que, en muchas zonas, sea la única especie vegetal ribereña frente a las plantas anuales terrestres. Esto podría haber incrementado su peso en la producción secundaria, puesto que habría desplazado a otras especies de macroinvertebrados que no toleran la calidad orgánica de su hojarasca (Bailey et al., 2001). Otra especie como *C. mariscus*, emblemáticas del PNTD, muestran una aportación sumamente baja a la MOP (menos del 20%) aunque representan una fuente de energía relativamente importante para el zooplancton (un máximo de 47.17%), probablemente como consecuencia de la reducción drástica de cobertura que ha sufrido durante los últimos 50 años (Cirujano et al., 2010). En cambio *P. australis*, que se ha incrementado hasta 22 veces desde 1950 (Alvarez-Cobelas et al., 2001), aunque no contribuye de manera significativa a la MOP, ni a los invertebrados (menor al 22%), puede representar hasta el 54% de la dieta del zooplancton. Gratton y Denno (2006) demostraron en un humedal costero que la gran cantidad de biomasa de *P. australis* no estaba integrada funcionalmente en la red trófica local (artrópodos) en comparación con otras plantas como *Spartina*. El bajo peso de *P. australis* en la MOP de las Tablas resulta paradójico considerando la importante biomasa que genera anualmente (Ribeiro, 2005). Podría pensarse que es una materia que se asimila rápidamente por los microorganismos, pero tampoco resultó significativo su peso en la dieta de los macroinvertebrados. Podríamos plantear la hipótesis de que *P. australis* hubiera sido lavado fuera del humedal como consecuencia de la gran inundación ocurrida en enero de 2010 o de que durante el periodo de muestreo no existieron frondes (al final del verano; Ortíz-Llorente, 2013). El impacto del carrizo en los

invertebrados aún no está claro (Angradi et al., 2001; Talley y Levin, 2001). En un estudio de un meta-análisis para cuantificar los efectos de la invasión de *P. australis* en la fauna estuarina residente a lo largo de la costa atlántica de Norte América encontraron que afectó negativamente al necton pero no a los invertebrados (Dibble et al., 2013). El impacto de su proliferación en este humedal parece ir por la misma vía.

La contribución directa del fitoplancton al zooplancton fue alta (hasta el 68%). Aquí la MOP fue la dieta principal del zooplancton, reafirmando lo observado en otros ecosistemas acuáticos, incluso de otras latitudes (Jones y Grey, 1999; Grey y Jones, 2000). Sin embargo, en el PNTD los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del zooplancton resultaron más enriquecidos que los de la MOP, a diferencia de lo observado en la mayoría de ecosistemas de agua dulce (empobrecidas en comparación con la MOP; Grey y Jones, 1999; Jones et al., 1999). Las relaciones isotópicas entre el zooplancton y las fuentes alimenticias pueden estar enmascaradas por la dominancia de una determinada especie, así como por la estación y el hábitat donde este es colectado (Grey y Jones, 1999; Grey et al., 2000).

Por último, en el PNTD los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los invertebrados indican una dependencia trófica de la vegetación pero no de las macroalgas, contrario a lo observado por Finlay et al. (2002), usando modelos de mezcla en un río de California de Estados Unidos. Estos autores encontraron que la mayoría de los invertebrados consumidores (p.e. efemerópteros, tricópteros, simúlidos, hidropsíquidos, plecopteros, hemipteros y odonatos) dependían de la producción algal, principalmente compuesta

por *Cladophora glomerata*. Similares conclusiones obtuvieron Bunn et al. (2003) en un arroyo Australiano, con los macrófitos a diferencia de las algas. Puede que los ciclos de sequía modifiquen los patrones tróficos de los macroinvertebrados o puede que en este tipo de sistemas lénticos semiáridos el peso de las macroalgas en la producción secundaria sea menor de lo esperado. En cualquier caso, nuestros resultados deberían ser corroborados con más estudios isotópicos en diferentes condiciones hidrológicas y ambientales para capturar toda la posible variabilidad de fuentes y procesos tróficos.



Arriba: *Tamarix canariensis* creciendo en los bordes de los canales y en los litorales de Las Tablas de Daimiel (arriba), pradera de *Chara hispida* y carrizal de *Phragmites australis* (abajo).

Referencias

- Albuquerque, A. L. S. & Mozeto, A. A. 1997. C:N:P ratios and stable carbon isotope compositions as indicators of organic matter sources in a riverine wetland system (Moji-Guacu River, Sao Paulo-Brazil). *Wetlands*, 17, 1-9.
- Alvarez-Cobelas, M., Cirujano, S. & Sanchez-Carrillo, S. 2001. Hydrological and botanical man-made changes in the Spanish wetland of Las Tablas de Daimiel. *Biological Conservation*, 97, 89-98.
- Angeler, D. G., Alvarez-Cobelas, M., Sánchez-Carrillo, S. & Rodrigo, M. A. 2002. Assessment of exotic fish impacts on water quality and zooplankton in a degraded semi-arid floodplain wetland. *Aquatic Sciences*, 64, 76-86.
- Angeler, D. G., Sánchez-Carrillo, S., García, G. & Alvarez-Cobelas, M. 2001. The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland. *Hydrobiologia*, 464, 89-98.
- Angradi, T. R., Hagan, S. M. & Able, K. W. 2001. Vegetation type and the intertidal macroinvertebrate fauna of a brackish marsh: *Phragmites* vs. *Spartina*. *Wetlands*, 21, 75-92.
- Bade, D. L., Pace, M. L., Cole, J. J. & Carpenter, S. R. 2006. Can algal photosynthetic inorganic carbon isotope fractionation be predicted in lakes using existing models? *Aquatic Sciences*, 68, 142-153.
- Bailey, J. K., Schweitzer, J. A. & Whitham, T. G. 2001. Salt cedar negatively affects biodiversity of aquatic macroinvertebrates. *Wetlands*, 21, 442-447.
- Barón-Rodríguez, M.M. 2011. La función del plancton y los tapetes microbianos en el Parque Nacional Las Tablas de Daimiel. Universitat de Valencia. Servei de publicacions.
- Benstead, J. P., March, J. G., Fry, B., Ewel, K. C. & Pringle, C. M. 2006. Testing isosource: Stable isotope analysis of a tropical fishery with diverse organic matter sources. *Ecology*, 87, 326-333.
- Boon, P. I. & Bunn, S. E. 1994. Variations in the stable-isotope composition of aquatic plants and their implications for food-web analysis. *Aquatic Botany*, 48, 99-108.
- Bunn, S. E. & Boon, P. I. 1993. What sources of organic-carbon drive food webs in billabongs - a study based on stable-isotope analysis? *Oecologia*, 96, 85-94.
- Bunn, S. E., Davies, P. M. & Winning, M. 2003. Sources of organic carbon supporting the food web of an arid zone floodplain river. *Freshwater Biology*, 48, 619-635.
- Campobasso, G., Colonnelli, E., Knutson, L., Terragitti, G., Cristofaro M. 1999. Wild Plants and Their Associated Insects in the Palearctic Region, Primarily Europe and the Middle East. United States Department of Agriculture, ARS-147, IV, Agricultural Research Service, Washington, USA. 243 pp.
- Carpenter, S. R., Cole, J. J., Pace, M. L., Van de Bogert, M., Bade, D. L., Bastviken, D., Gille, C. M., Hodgson, J. R., Kitchell, J. F. & Kritzberg, E. S. 2005. Ecosystem subsidies: Terrestrial support of aquatic food webs from C-13 addition to contrasting lakes. *Ecology*, 86, 2737-2750.
- Cirujano, S., Álvarez-Cobelas, M., & Sánchez-Andrés, R. 2010. Macrophyte Ecology and Its Long-term Dynamics. In *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands* (pp. 175-195). Springer Netherlands.
- Coronado, R. et al. 1974. Guía del Parque Nacional de Las Tablas de Daimiel. ICONA. Madrid.
- Costanzo, S. D., O'Donohue, M. J., Dennison, W. C., Loneragan, N. R. & Thomas, M. 2001. A new approach for detecting and mapping sewage impacts. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 149-156.
- Costanzo, S. D., Udy, J., Longstaff, B. & Jones, A. 2005. Using nitrogen stable isotope ratios ($\delta N-15$) of macroalgae to determine the effectiveness of sewage upgrades: changes in the extent of sewage plumes over four years in Moreton Bay, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 51, 212-217.
- Del Rio, C. M. & Wolf, B. O. 2005. Mass-balance models for animal isotopic ecology. *Physiological Adaptations to Feeding Invertebrates*, 141-174.
- Demopoulos, A. W. J., Fry, B. & Smith, C. R. 2007. Food web structure in exotic and native mangroves: a Hawaii-Puerto Rico comparison. *Oecologia*, 153, 675-686.
- Dibble, K. L., Pooler, P. S. & Meyerson, L. A. 2013. Impacts of plant invasions can be reversed through restoration: a regional meta-analysis of faunal communities. *Biological Invasions*, 15, 1725-1737.
- Erhardt, EB, BO Wolf, M Ben-David, and EJ Bedrick. May 2014). Stable Isotope Sourcing using Sampling. *Open Journal of Ecology* 4 (6). Pdf, pp. 289-298. Doi: 10.4236/oje.2014.46027.
- Finlay, J. C., Khandwala, S. & Power, M. E. 2002. Spatial scales of carbon flow in a river food web. *Ecology*, 83, 1845-1859.
- Fry, B. 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. *Ecology*, 2293-2297.
- Gratton, C. & Denno, R. F. 2006. Arthropod food web restoration following removal of an invasive wetland plant. *Ecological Applications*, 16, 622-631.
- Grey, J. & Jones, R. I. 1999. Carbon stable isotopes reveal complex trophic interactions in lake plankton. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13, 1311-1314.
- Grey, J., Jones, R. I. & Sleep, D. 2000. Stable isotope analysis of the origins of zooplankton carbon in lakes of differing trophic state. *Oecologia*, 123, 232-240.
- Grey, J., Jones, R. I. & Sleep, D. 2001. Seasonal changes in the importance of the source of organic matter to the diet of zooplankton in Loch Ness, as indicated by stable isotope analysis. *Limnology and Oceanography*, 46, 505-513.

- Gu, B. H., Schell, D. M. & Alexander, V. 1994. Stable carbon and nitrogen isotopic analysis of the plankton food-web in a sub-arctic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 1338-1344.
- Hedges, J. I., Clark, W. C. & Cowie, G. L. 1986. Particulate organic-matter sources to the water column of a coastal marine bay. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society*, 191, 1-GEOC.
- Heras G. Prieto E. Guerrero T., Oñate J.M. Ontalba A., Cortes M. Lorenzo A. Marcilla J.J Palomo J.L. Tudanca M. Carrión. 1971. Recursos y aprovechamientos hidráulicos. Consejo Económico Sindical Interprovincial de La Mancha, Ciudad Real.
- Hobson, K. A., & Wassenaar, L. I. 2008. Tracking animal migration with stable isotopes (Vol. 2). Academic Press. 2, 1-144.
- Hunsinger, G. B., Mitra, S., Findlay, S. E. G. & Fischer, D. T. 2010. Wetland-driven shifts in suspended particulate organic matter composition of the Hudson River estuary, New York. *Limnology and Oceanography*, 55, 1653-1667.
- Huxel, G. R. & McCann, K. 1998. Food web stability: The influence of trophic flows across habitats. *American Naturalist*, 152, 460-469.
- Jones, R. I., Grey, J., Sleep, D. & Arvola, L. 1999. Stable isotope analysis of zooplankton carbon nutrition in humic lakes. *Oikos*, 86, 97-104.
- Kaiser, E., Simpson, A. J., Dria, K. J., Sulzberger, B. & Hatcher, P. G. 2003. Solid-state and multidimensional solution-state NMR of solid phase extracted and ultrafiltered riverine dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 37, 2929-2935.
- Keeley, J. E. (1990). Photosynthesis in vernal pool macrophytes: relation of structure and function. *Vernal pool plants: their habitat and biology, studies from the Herbarium*, (8), 61-87.
- Keough, J. R., Sierszen, M. E. & Hagley, C. A. 1996. Analysis of a Lake Superior coastal food web with stable isotope techniques. *Limnology and Oceanography*, 41, 136-146.
- Kuehn, K. A., Lemke, M. J., Suberkropp, K. & Wetzel, R. G. 2000. Microbial biomass and production associated with decaying leaf litter of the emergent macrophyte *Juncus effusus*. *Limnology and Oceanography*, 45, 862-870.
- Maasri, A., Fayolle, S., Gandouin, E., Garnier, R. & Franquet, E. 2008. Epilithic chironomid larvae and water enrichment: is larval distribution explained by epilithon quantity or quality? *Journal of the North American Benthological Society*, 27, 38-51.
- Mann, K. H. 1988. Production and use of detritus in various freshwater, estuarine and coastal marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 33, 910-930.
- Mook, W. G., & Tan, F. C. (1991). Stable carbon isotopes in rivers and estuaries. *Biogeochemistry of major world rivers*, 42, 245-264.
- Mortillaro, J. M., Abril, G., Moreira-Turcq, P., Sobrinho, R. L., Perez, M. & Meziane, T. 2011. Fatty acid and stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) signatures of particulate organic matter in the lower Amazon River: Seasonal contrasts and connectivity between floodplain lakes and the mainstem. *Organic Geochemistry*, 42, 1159-1168.
- Nelson, P. N. & Baldock, J. A. 2005. Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state (^{13}C) NMR and elemental analyses. *Biogeochemistry*, 72, 1-34.
- Newbold, J. D., Mulholland, P. J., Elwood, J. W. & Oneill, R. V. 1982. Organic-carbon spiralling in stream ecosystems. *Oikos*, 38, 266-272.
- Ortiz-Llorente, M. J. & Alvarez-Cobelas, M. 2012. Comparison of biogenic methane emissions from unmanaged estuaries, lakes, oceans, rivers and wetlands. *Atmospheric Environment*, 59, 328-337.
- Pace, M. L., Carpenter, S. R., Cole, J. J., Coloso, J. J., Kitchell, J. F., Hodgson, J. R., Middelburg, J. J., Preston, N. D., Solomon, C. T. & Weidel, B. C. 2007. Does terrestrial organic carbon subsidize the planktonic food web in a clear-water lake? *Limnology and Oceanography*, 52, 2177-2189.
- Pace, M. L., Cole, J. J., Carpenter, S. R., Kitchell, J. F., Hodgson, J. R., Van de Bogert, M. C., Bade, D. L., Kritzberg, E. S. & Bastviken, D. 2004. Whole-lake carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs. *Nature*, 427, 240-243.
- Phillips, D. L. 2001. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia*, 127, 166-170.
- Phillips, D. L. & Gregg, J. W. 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136, 261-269.
- Polis, G. A. & Strong, D. R. 1996. Food web complexity and community dynamics. *American Naturalist*, 147, 813-846.
- Puckett, L. J., Woodside, M. D., Libby, B. & Schening, M. R. 1993. Sinks for trace-metals, nutrients, and sediments in wetlands of the Chickahominy River near Richmond, Virginia. *Wetlands*, 13, 105-114.
- Raz-Guzman, A., G. De la Lanza y L.A. Soto. 1992. Caracterización ambiental y $\delta^{13}\text{C}$ del sedimento, detrito y vegetación del sistema lagunar Alvarado, Veracruz, México. *Biología Tropical*. 40(2): 215-225.
- Reddy, K. R., & DeLaune, R. D. 2008. *Biogeochemistry of wetlands: science and applications*. Crc Press.
- Ribeiro M.D. 2005. *Biología de los macrófitos emergentes en Las Tablas de Daimiel*. Ph.D. Tesis. Universidad Complutense. Madrid.
- Rodriguez-Murillo, J. C., Almendros, G. & Knicker, H. 2011. Wetland soil organic matter composition in a Mediterranean semiarid wetland (Las Tablas de Daimiel, Central Spain): Insight into different carbon sequestration pathways. *Organic Geochemistry*, 42, 762-773.

- Rojo C, Rodrigo MA .2010. Plankton ecology and diversity. In: Sánchez-Carrillo S, Angeler DG (eds) Ecology of threatened semi-arid wetland long-term research in Las Tablas de Daimiel. Wetland: ecology, conservation and management, vol 2. Springer, Berlin, pp 137–173
- Sánchez-Carrillo, S., Alvarez-Cobelas, M. & Angeler, D. G. 2001a. Sedimentation in the semi-arid freshwater wetland Las Tablas de Daimiel (Spain). *Wetlands*, 21, 112-124.
- Sánchez-Carrillo, S., Alvarez-Cobelas, M., Benitez, M. & Angeler, D. G. 2001b. A simple method for estimating water loss by transpiration in wetlands. *Hydrological Sciences Journal-Journal Des Sciences Hydrologiques*, 46, 537-552.
- Sánchez-Carrillo S, Angeler D.G. 2010. Ecology of threatened semiarid wetlands: long-term research in Las Tablas de Daimiel. Springer, Wetland Ecology, Conservation and Management Series, Berlin.
- Sensula, B., Boettger, T., Pazdur, A., Piotrowska, N. & Wagner, R. 2006. Carbon and oxygen isotope composition of organic matter and carbonates in recent lacustrine sediments. *Geochronometria*, 25, 77-94.
- Serrano-Grijalva, L., Sánchez-Carrillo, S., Angeler, D. G., Sanchez-Andres, R. & Alvarez-Cobelas, M. 2011. Effects of shrimp-farm effluents on the food web structure in subtropical coastal lagoons. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 402, 65-74.
- Sullivan, M. J. & Moncreiff, C. A. 1990. Edaphic algae are an important component of salt-marsh food-webs - evidence from multiple stable isotope analyses. *Marine Ecology Progress Series*, 62, 149-159.
- Talley, T. S., & Levin, L. A. 2001. Modification of sediments and macrofauna by an invasive marsh plant. *Biological Invasions*, 3(1), 51-68.
- Teranes, J. L. & Bernasconi, S. M. 2000. The record of nitrate utilization and productivity limitation provided by delta N-15 values in lake organic matter - A study of sediment trap and core sediments from Baldeggersee, Switzerland. *Limnology and Oceanography*, 45, 801-813.
- Townsend-Small, A., McClain, M. E. & Brandes, J. A. 2005. Contributions of carbon and nitrogen from the Andes Mountains to the Amazon River: Evidence from an elevational gradient of soils, plants, and river material. *Limnology and Oceanography*, 50, 672-685.
- Valett, H. M., Baker, M. A., Morrice, J. A., Crawford, C. S., Molles, M. C., Dahm, C. N., Moyer, D. L., Thibault, J. R. & Ellis, L. M. 2005. Biogeochemical and metabolic responses to the flood pulse in a semiarid floodplain. *Ecology*, 86, 220-234.
- Zeug, S. C. & Winemiller, K. O. 2008. Evidence supporting the importance of terrestrial carbon in a large-river food web. *Ecology*, 89, 1733-1743.

Capítulo III: Estructura trófica de un humedal sometido a múltiples estresores durante los últimos 50 años, incluyendo la invasión de especies exóticas



Algunas de las diferentes zonas muestreadas del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel durante junio de 2011.

RESUMEN

La abundancia natural de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de los productores primarios, animales acuáticos así como del detritus del sedimento fueron evaluados con el modelo de mezcla SISUS para determinar la configuración de la red trófica de un humedal de llanura de inundación, Las Tablas de Daimiel. Este humedal sido sujeto a condiciones de perturbación y a la invasión de especies exóticas durante los últimos 50 años. El ecosistema estuvo caracterizado por una alta biodiversidad de las especies basales, incluyendo consumidores primarios (presencia de bivalvos y gasterópodos), organismos que actualmente están ausentes o son muy escasos. Nuestros resultados demuestran que el incremento de las perturbaciones antropogénicas y las alteraciones en la productividad primaria del humedal están afectando a la biodiversidad en cada nivel trófico (principalmente en peces herbívoros), pero no en la longitud de la cadena trófica, la cual se estimó de 3.9 a 4.4 niveles tróficos. La estructura de la red trófica actual demuestra una importante contribución de los macrófitos hacia los niveles tróficos superiores. La planta terrestre *Tamarix canariensis* es la principal fuente de energía para dos especies de mariposas (*Rhodometra sacraria* y *Pieris rapae*) así como para los invertebrados. Por su parte, *Thypa dominguensis* resultó ser la principal dieta del cangrejo americano, *Procambarus clarkii*, el cual ocupa nichos dejados por algunas especies nativas. La reducción del tamaño del área inundada en el humedal ha favorecido la incursión de especies exóticas que son más resistentes a la desecación y ha influenciado indirectamente en la posición trófica de aves como *Larus* sp.

ABSTRACT

Stable isotopes abundance natural of ^{13}C and ^{15}N of primary producers, aquatic animals and sediment detritus were evaluated using the mixing model SISUS in order to draw the food web structure of the floodplain wetland Las Tablas de Daimiel. This wetland has been subject to disturbance, including exotic species invasion over the past 50 years. The pristine ecosystem was composed by high biodiversity on basal species, including primary consumers (bivalves and gastropods) which currently are absent or rare. Our results demonstrate that the increase of anthropogenic disturbances and changes in primary productivity of wetland are affecting biodiversity at each trophic level (mainly on herbivorous fish) but not the length of the food chain, which was estimated from 3.9 to 4.4 trophic levels. The current structure of the wetland food web shows an important contribution of macrophytes to the higher trophic levels. *Tamarix canariensis* is the main energy source for two species of butterflies (*Pieris rapae* and *Rhodometra sacraria*) and for invertebrates. Meanwhile, *Thypa dominguensis* was the main source of the diet for the crawfish *Procambarus clarkii*, which occupies niches left by some native species. Reducing the size of the flooded area, the wetland has encouraged the incursion of alien species which are more resistant to longer drought periods, influencing indirectly the trophic position of birds such as *Larus* sp.

1. INTRODUCCIÓN

En el análisis de las redes tróficas existen múltiples fuentes alimenticias que tienen el potencial de contribuir a diferentes consumidores de la red. El uso de las abundancias naturales de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N en los organismos de una comunidad o ecosistema ayuda a determinar todas las combinaciones posibles de recursos para determinar el rango de contribuciones posibles de cada fuente (mezcla isotópica; Galvan et al., 2012). Puesto que las redes tróficas son demasiado complejas como para resolver los problemas de la dieta de los consumidores ante múltiples fuentes alimenticias (Layman et al., 2012), han sido diseñados diferentes modelos de mezcla para situaciones en las cuales usando n isótopos es posible determinar el rango de contribución de una mezcla de $n + 1$ fuentes con todas las combinaciones posibles de recursos (i.e., mínimo y máximo posible; Phillips y Gregg, 2003), limitado por balances de masa isotópica (Phillips, 2001) y enfatizando en la ausencia de una solución única para cada caso (Benstead et al., 2006). La incorporación de la estadística bayesiana a los modelos de mezcla (Holtgrieve et al., 2010; Solomon et al., 2011), ha permitido incorporar los registros de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de múltiples fuentes alimenticias para generar soluciones potenciales mediante distribuciones de probabilidad real. En este sentido, SISUS (Stable Isotope Sourcing Using Sampling; Erhardt et al., 2014), un modelo de mezcla basado en estadística bayesiana, ha sido desarrollado para estimar las contribuciones proporcionales de diversas fuentes a una mezcla utilizando datos de isótopos estables (Erhardt y Bedrick, 2013), permitiendo un número de soluciones exactas probabilísticas

a diferencia de otros modelos de mezcla deterministas como IsoSource (Phillips y Gregg, 2003) que sólo arroja aproximaciones.

Las perturbaciones en las redes tróficas derivadas del cambio climático, la sobreexplotación de los recursos naturales, la invasión de especies y la degradación del hábitat, causan, a menudo, una pérdida inicial de especies que resulta en una cascada de extinciones secundarias que alteran de manera sustancial la estructura trófica de los ecosistemas, generando desafíos considerables a los esfuerzos de conservación (Sahasrabudhe y Motter, 2011). Existen pocos estudios enfocados en el ensamblaje de una red trófica completa de un ecosistema donde coexistan especies alóctonas y autóctonas y donde, además, están sometidos a impactos antropogénicos que alteran la funcionalidad del ecosistema (Spies et al., 1989; Gatner et al., 2002; Costanzo et al., 2005). Sí se ha puesto especial atención al impacto que las especies alóctonas generan en la estructura de la red trófica (Rennie et al., 2009; Nilsson et al., 2012), encontrándose efectos dramáticos en el tamaño, la estructura y la diversidad de especies, provocando, en ocasiones, una pérdida de conectividad entre las especies nativas (Demopoulos et al., 2007; Woodward et al., 2008; Ings et al., 2009). Diversos estudios indican que la longitud de la cadena alimenticia no se ve alterada por las condiciones de perturbación (Pimm y Kitching, 1987; Marks et al., 2000; Walters y Post, 2008; McHugh et al., 2010); sin embargo, el enriquecimiento de nutrientes y la invasión de especies pueden provocar un impacto indirecto sobre la red trófica que se refleja principalmente en una disminución de la diversidad de cada nivel trófico (Pimm, 1982; Lawton, 1989; Vander

Zanden et al., 1999; Post, 2002; Schindler y Scheuerell, 2002; Sahasrabudhe y Motter, 2011; Woodward et al., 2012). El uso de isótopos estables para estudiar los cambios en la estructura de los ecosistemas relacionados con la invasión de especies exóticas es uno de los enfoques más útiles y novedosos de esta técnica que, desde una perspectiva ecológica, incorpora las interacciones de las especies derivadas de los efectos directos e indirectos (Micheli et al., 2001).

El Parque Nacional Tablas de Daimiel (PNTD) es uno de los pocos humedales de llanura de inundación relictos de la península Ibérica y ha sufrido numerosas presiones ambientales durante los últimos 50 años: desecación, canalización, reducción de la inundación, contaminación (principalmente orgánica) y entrada de especies exóticas, muchas de ellas introducidas con fines comerciales (Sánchez-Carrillo y Angeler, 2010). Aunque la biodiversidad y las causas potenciales de su reducción en el PNTD han sido objeto de numerosos trabajos (e.g. Álvarez-Cobelas y Cirujano, 1996; Álvarez-Cobelas et al., 2001; Sánchez-Carrillo y Angeler, 2010), no existe ningún estudio sobre la estructura de la red trófica y sobre los efectos de la degradación ambiental, incluyendo los derivados de las especies alóctonas. Hace 50 años el humedal presentaba una estructura trófica muy compleja que incluía, además del cangrejo europeo *Austropotamobius pallipes*, hasta 10 especies endémicas, todas ellas desaparecidas en la actualidad como consecuencia de la degradación a diferentes escalas espaciales (desde la cuenca hasta el ecosistema). Los efectos en el funcionamiento trófico del ecosistema y en los diferentes niveles tróficos son desconocidos y son claves para plantear estrategias de

conservación, mitigación y restauración. El objetivo de este estudio se centra en determinar la configuración actual de la red trófica del humedal, en tratar de reconstruir cómo fue en el pasado, antes de la degradación ambiental del ecosistema y en evaluar, finalmente, los cambios estructurales y funcionales más importantes, incluyendo los efectos de las especies exóticas introducidas. Para ello presentamos los resultados de un estudio basado en isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de las principales especies de consumidores del ecosistema.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. SITIO DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el PNTD (39°08'N, 3°43'W; ver detalles en material y métodos del Capítulo III de esta Tesis). Las especies representativas de la flora local que están restringidas a áreas litorales son los macrófitos acuáticos emergentes como la masiega europea (*Cladium mariscus*), el carrizo (*Phragmites australis*) y la enea (*Typha dominguensis*) (Cirujano, 1996), junto a otras especies como *Bolboschoenus maritimus* y *Potamogeton pectinatus* y a macrófitos sumergidos como los carófitos (*Chara* sp). Además de la carpa común (*Cyprinus carpio*), la fauna local está representada exclusivamente por especies exóticas como el cangrejo americano (*Procambarus clarkii*), el pez sol (*Lepomis gibbosus*), la gambusia (*Gambusia holbrookii*) y el pez gato (*Ameirus melas*). A mediados del siglo XX en el humedal coexistían con la carpa y la gambusia hasta 12 especies de peces nativos [lamprea marina (*Petromyzon marinus*),

anguila (*Anguilla anguilla*), barbo común, comiza y cabecicorto (*Barbus bocagei*, *B. comiza*, *B. microcephalus*), boga (*Condrostoma polylepis willkommii*), cachuelo (*Leuciscus pyrenaicus*), pardila (*Rutilus lemmingii*), tenca (*Tinca tinca*), calandino (*Tropidophoxinellus alburnoides*), colmilleja (*Cobitis palúdica*) y fraile (*Blennius fluviatilis*) (Elvira y Barrachina, 1996)], junto con otras especies de gasterópodos (*Lymnaea peregra*, *Pisidium* sp, *Bithynia tentaculata* y *Physella acuta*, entre otros; Casado et al., 1996), hoy día desaparecidas.

2.2. TOMA DE MUESTRAS

Para examinar la estructura y composición de la red trófica del PNTD este estudio se centró en los taxones dominantes representativos de todos los niveles tróficos. Se usaron datos de las fuentes de energía potenciales del humedal (detritus del sedimento, materia orgánica disuelta (COD) y particulada (COP), y productores primarios (fitoplancton, epifiton, algas filamentosas, macroalgas, vegetación acuática y terrestre), incluyendo a los tapetes microbianos (comunidades bentónicas formadas por diferentes capas de organismos procariontas y eucariotas fotosintéticos, tales como cianobacterias filamentosas y unicelulares y diatomeas, principalmente) ya presentados en el capítulo II. Los tapetes microbianos fueron incluidos por su participación en la producción primaria y en la descomposición de la materia orgánica (Goldsborough y Robinson, 1996). Como organismos consumidores primarios se consideró a los macroinvertebrados bentónicos y al zooplancton, mientras que como consumidores de

niveles superiores a los cangrejos, peces y aves acuáticas. Se incluyeron también a los insectos alados para evaluar su contribución e importancia en la red trófica del ecosistema. En el PNTD no existen moluscos bivalvos desde mediados de 1970 (existen restos de conchas del mejillón de agua dulce *Unio* sp.), y durante este estudio no fueron observados en el sustrato.

2.2.1. COLECTA DE ORGANISMOS CONSUMIDORES

La colecta y preparación de muestras de sedimento, productores primarios, zooplancton y macroinvertebrados bentónicos se realizó según lo explicado en el capítulo II. Las diferentes especies de insectos alados adultos se colectaron en la vegetación, aire (<2 m sobre la superficie del suelo) y nidos, en 12 puntos de muestreo aleatorios a lo largo del humedal durante el mes de junio de 2011. Los insectos fueron identificados por género y, cuando fue posible, por especie. La colección de los consumidores secundarios fue realizada empleando diferentes técnicas. Los peces y cangrejos fueron capturados usando trasmallos (paso de luz de 8 cm) y nasas de (1.5, 2.5, 4, 7 y 10 cm de apertura de boca) en 5 y 10 localidades del humedal, respectivamente (Tablazo, Algeciras, Casablanca, Vado de los Toros y Morenillo; Morenillo, Cachón de la Leona, Perinat, Vado de los Toros, Algeciras, Ricardo, El Hito, Tablazo, Casablanca y Suerte de Don Félix; véase <http://humedalesibéricos.com> para su ubicación). La captura de los peces de menor tamaño (gambusia y alevines del pez gato) se realizó usando sacaderas en las zonas del humedal donde se concentraban (Morenillo y Tablazo, principalmente). Para los análisis

isotópicos se conservaron de 5-10 ejemplares de cada especie por cada sitio de muestreo, los cuales fueron congelados hasta su posterior preparación.

Las muestras de aves acuáticas fueron facilitadas por el grupo de Toxicología de Fauna Silvestre del Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (IREC-CSIC), las cuales fueron recogidas *post-mortem* durante la primavera y verano de 2011 en el humedal y su entorno. Se trató de muestras de tejido muscular congeladas de especímenes que fueron empaquetados y congelados en N líquido inmediatamente después de su recogida en el campo. Las aves acuáticas estuvieron representadas por la cigüeñuela común (*Himantopus himantopus*), gaviota reidora (*Larus ridibundus*), gaviota amarilla (*Larus sp.*), focha común (*Fulica atra*), malvasía (*Oxyura leucocephala*), pato cuchara (*Anas clypeata*), ánade friso (*Anas strepera*) y garcilla bueyera (*Bubulcus ibis*). Puesto que los ejemplares capturados fueron *post-mortem* no pudo obtenerse muestra de todas las especies de anátidas presentes en el humedal.

Las algas filamentosas estuvieron representadas principalmente por *Cladophora glomerata*, *Spirogyra sp.* y *Vaucheria dichotoma* (Aboal, 1992); los carófitos consistieron en la especie *Chara hispida* var. *major*; los tapetes microbianos estuvieron formados principalmente por la cianobacteria *Schizothrix penicillata* (Barón-Rodríguez, 2011); el epifiton estuvo representado principalmente por *Pseudonabaena catenata*, *P. tenuis*, *Fragilaria acus*, *Nitzschia cf. capitellata* y *Navicula venta* y el fitoplancton por las especies de *Cyclotella meneghiniana*, *Cryptomonas erosa*, *Rhodomonas minuta* y *Monoraphidium griffithii* (Rojo y Rodrigo, 2010). La vegetación estuvo representada por

dos especies de macrófitos sumergidos vasculares (*Potamogeton pectinatus* y *Ceratophyllum submersum*), cuatro especies de macrófitos emergentes (*Cladium mariscus*, *Phragmites australis*, *Typha dominguensis* y *Bolboschoenus maritimus*) y la especie arbórea *Tamarix canariensis*.

Los organismos consumidores consistieron en zooplancton (rotíferos y ciliados, principalmente; Rojo y Rodrigo, 2010), macroinvertebrados bentónicos [un odonata (larvas de *Crocothemis erythraea*), un heteroptera (larvas de *Naucoris maculatus*) y un diptera (*Chironomus* sp.)], insectos alados (7 especies Lepidoptera (*Leptotes pirithous*, *Pieris rapae*, *Polyommatus icarus*, *Maniola jurtina*, *Pontia daplidice*, *Colias crocea*, *Rhodometra sacraria*) y 2 especies de Odonata (*Lestes* sp. y *Sympetrum* sp.), 1 crustáceo decápodo, *Procambarus clarkii* y 4 especies de peces (*Ameirus melas*, *Cyprinus carpio*, *Lepomis gibbosus* y *Gambusia holbrooki*).

De *A. melas* se pudieron capturar alevines y adultos en algunas localidades del Parque. Para la realización de análisis isotópicos, los individuos de *G. holbrooki* se separaron por tamaño (1.5-3 mm, 3.1-4 mm y >4.5 mm). Los individuos de *P. clarkii* fueron diferenciados entre machos y hembras. En cada localidad de muestreo los individuos de cada especie de peces y cangrejos fueron medidos y pesados (Tabla 1).

Tabla 1. Longitud (cm) y peso (g) de las especies de peces y cangrejos capturados en el PNTD durante el muestreo de verano de 2011. Se muestran el número de ejemplares medidos (No.) los valores promedio, la desviación estándar (Desvest) y los valores mínimo (min) y máximo (max). La clasificación de tamaños de los cangrejos fue: pequeños: <10.5 cm, medianos: 10.5-12 cm, grandes >12 cm.

Especie	Nombre común	Estado	No.	Longitud (cm)				Peso (g)			
				Promedio	Desvest	min	max	Promedio	Desvest	min	max
<i>Lepomis gibbosus</i>	Pez sol	Adulto	1	11.50	11.50	11.50	11.50	14.80	14.80	14.80	14.80
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpa	Adulto	61	35.34	1.69	32.00	39.00	648.13	91.05	500.00	800.00
<i>Ameiurus melas</i>	Pez gato	Adulto	38	17.96	2.48	11.50	22.00	114.52	90.49	21.60	400.00
<i>Ameiurus melas</i>	Pez gato	Alevín	40	2.35	0.35	1.80	3.00	0.18	0.08	0.06	0.37
<i>Gambusia holbrooki</i>	Gambusia	Alevín	76	3.44	1.23	1.70	5.60	0.72	0.65	0.06	2.31
<i>Procambarus clarkii</i>	Cangrejo americano	Pequeños	106	9.30	0.95	6.50	10.50	24.07	8.65	4.30	41.80
<i>Procambarus clarkii</i>	Cangrejo americano	Medianos	54	11.42	0.38	11.00	12.00	47.04	7.33	30.20	64.60
<i>Procambarus clarkii</i>	Cangrejo americano	Grandes	16	13.00	0.55	12.50	14.50	61.04	11.14	47.70	14.50

2.3 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS Y ANÁLISIS

Previo a los análisis isotópicos, todas las muestras fueron tratadas siguiendo los procedimientos citados en Lewis et al. (2001), Parkyn et al. (2001) y O'Reilly y Hecky (2002). A los insectos se les retiró cabeza y extremidades y se separaron abdomen y torax para realizar los análisis (Gratton y Forbes, 2006; Gratton y Denno, 2006). Siempre que hubo biomasa disponible se preparó una muestra compuesta combinando de 3-7 individuos de una misma especie por cada sitio de captura. Puesto que el principal limitante de los análisis es la obtención de suficiente material para el análisis isotópico (0.5 a 1 mg de masa seca), aquellas especies de insectos poco abundantes, cuya presencia fue esporádica en un determinado lugar de muestreo, tuvieron que ser analizadas en conjunto mediante una muestra compuesta de varios individuos, combinando los sitios más cercanos entre sí. En las muestras de peces y cangrejos se extrajo el tejido muscular, eliminando vísceras y tracto digestivo. Los lípidos del tejido muscular fueron eliminados de todas las muestras con una solución de

cloroformo:metanol (2:1), siguiendo los procedimientos descritos en Hobson y Welch (1992), Graves et al. (2002), Murry et al. (2006) y Logan y Lutcavage (2008). Posteriormente, todas las muestras fueron lavadas con agua destilada y secadas en la estufa a 60° C (insectos) y 80° C (cangrejos, peces y aves) de 24-48 h. Una vez secadas las muestras fueron trituradas con un molinillo, pulverizadas en un mortero de ágata y, finalmente, tamizadas por una malla de 1-mm. Por último, todas las muestras fueron almacenadas en recipientes herméticos de plástico (tipo ependorf) para su envío al laboratorio de isótopos estables.

2.4 ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES

Los análisis de isótopos estables de ¹³C y ¹⁵N fueron realizados el Laboratorio de Isótopos Ambientales de la Universidad de Arizona, Estados Unidos (<http://www.geo.arizona.edu/node/153>) por un espectrómetro de masa de cocientes isotópicos de flujo continuo (Finnigan Delta PlusXL) acoplado a un analizador elemental (Costech). Se emplearon dos estándares, Peedee belemnite para el C y N₂ atmosférico para el N. Los resultados son presentados como partes por mil (‰), unidades utilizadas para expresar los cocientes de los isótopos estables en la notación (δ), una forma común de la medida isotópica (Ben-David y Flaherty, 2012):

$$\delta^{13}\text{C} \text{ o } \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = [(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estandar}}) - 1] \times 10^3$$

Donde R = ¹³C/¹²C o ¹⁵N/¹⁴N. La precisión analítica fue mayor del ±0.2‰.

2.5 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES TRÓFICOS DE LOS CONSUMIDORES DE DAIMIEL

Se utilizó la ecuación desarrollada por Vander Zanden et al. (1997), y posteriormente modificada por Post (2002), para estimar los niveles tróficos de cada uno de los organismos: $NT = \lambda + (\delta^{15}N_C - \delta^{15}N_{base}) / \Delta_n$. Donde λ ($\lambda = 1$ ó 2) es la base del nivel trófico, ya sean productores primarios o consumidores primarios, respectivamente. En este estudio se determinaron los niveles tróficos con ambas λ (1 y 2) para comprobar si había diferencias. Para la línea de base $\lambda=2$ (consumidores primarios) se empleó el valor promedio de la firma de $\delta^{15}N$ del zooplancton al no existir moluscos bivalvos en este humedal. El uso de los consumidores primarios como línea base ($\lambda = 2$) reduce el error en la estimación de los niveles tróficos (Wolf et al., 2009). $\delta^{15}N_C$ es la composición isotópica de nitrógeno del consumidor, y $\delta^{15}N_{base}$ es la composición isotópica de la base utilizada. Finalmente, Δ_n es el enriquecimiento por nivel trófico, el cual se consideró como 2.54 sugerido en el meta-análisis de Vanderklift y Ponsard (2003).

2.6. ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para explorar las relaciones funcionales entre predadores y presas potenciales, primeramente, se investigó en la literatura los hábitos alimenticios de cada especie y, posteriormente, se empleó el modelo estadístico bayesiano SISUS (workbook vO.09 template; Erhardt et al., 2014) desarrollado en R, utilizando las firmas de los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N para estimar la contribución proporcional de cada fuente a cada consumidor. Para la aplicación del modelo SISUS, previo a la determinación de la dieta de cada consumidor, se realizaron incrementos en los valores de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de las

fuentes potenciales según los valores sugeridos por diversos autores ($\delta^{13}\text{C}$: 0-1‰ y $\delta^{15}\text{N}$: 2.54, 3.4 y 4‰; Minagawa y Wada, 1984; McCutchan et al., 2003; Post, 2002; Vanderklift y Ponsard, 2003). Finalmente se eligió el valor de entre 0 y 1‰ para el $\delta^{13}\text{C}$ y el valor de 3‰ para el $\delta^{15}\text{N}$, dado que en este estudio se observó que el incremento promedio en el $\delta^{15}\text{N}$ al aumentar el nivel trófico estuvo en torno al 3‰. Además, esta combinación mostró mayor número de relaciones entre los consumidores y las fuentes estudiadas en el ecosistema.

3. RESULTADOS

3.1 COMPOSICIÓN ISOTÓPICA DE LOS CONSUMIDORES PRIMARIOS Y SECUNDARIOS DEL HUMEDAL

Los valores isotópicos de ^{13}C y ^{15}N y los cocientes de C y N de los consumidores del PNTD están resumidos en la Tabla 2 (véase también la tabla 1 del Capítulo II para sedimento y productores primarios). Llama la atención que el conjunto de organismos consumidores presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más empobrecidos que los productores primarios (Fig. 1). Tanto *A. melas* como *P. clarkii* mostraron diferencias significativas en sus firmas isotópicas según los puntos donde fueron colectados dentro del humedal (Figs. 2a y 3a). El pez gato mostró una firma isotópica significativamente diferente según su tamaño, relacionado con su estado de desarrollo, así como también por su peso (Fig. 2b). El cangrejo también mostró una firma diferente de ^{15}N según su tamaño pero no mostró diferencias significativas según el sexo en ambas firmas (Fig. 3b).

Tabla 2. Composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, porcentajes de C y N y ratios C/N (promedio \pm desviación estándar) de los invertebrados, zooplancton, peces, crustáceos, aves e insectos alados del PNTD muestreados durante el verano 2011. n = número de individuos por mezcla analizada.

Consumidores	n	%C	%N	C/N	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	$\delta^{15}\text{N}$ ‰
Invertebrados	1	33.42	2.84	11.75	-27.80	9.15
Zooplancton	3	18.54 \pm 6.2	3.24 \pm 2.5	7.30 \pm 2.9	-25.16 \pm 5.5	11.31 \pm 3.7
Peces 178						
<i>Cyprinus carpio</i>	9	48.73 \pm 1.4	13.46 \pm 0.4	3.63 \pm 0.2	-30.66 \pm 0.6	15.16 \pm 0.8
<i>Ameirus melas</i>	64	47.04 \pm 2.4	13.57 \pm 1.1	3.48 \pm 0.3	-31.78 \pm 1.8	16.43 \pm 1.2
<i>Ameirus melas</i> pequeños	51	45.05 \pm 1.1	12.10 \pm 0.6	3.73 \pm 0.1	-34.70 \pm 0.2	18.04 \pm 0.0
<i>Ameirus melas</i> grandes	13	47.64 \pm 2.4	14.01 \pm 0.8	3.41 \pm 0.3	-30.91 \pm 0.9	15.95 \pm 0.8
<i>Lepomis gibbosus</i>	1	46.62	14.18	3.29	-28.98	16.60
<i>Gambusia holbrooki</i>	40	44.12 \pm 2.3	11.73 \pm 0.3	3.76 \pm 0.1	-31.50 \pm 0.6	15.43 \pm 0.9
Crustáceos 49						
<i>Procambarus clarkii</i>	49	45.0 \pm 0.8	13.15 \pm 0.3	3.4 \pm 0.1	-28.42 \pm 1.1	14.29 \pm 2.1
<i>Procambarus clarkii</i> pequeños	12	45.48 \pm 1.2	13.25 \pm 0.3	3.43 \pm 0.1	-27.98 \pm 1.1	15.93 \pm 1.8
<i>Procambarus clarkii</i> medianos	15	45.1 \pm 0.6	13.04 \pm 0.3	3.46 \pm 0.1	-28.81 \pm 1.1	14.64 \pm 1.9
<i>Procambarus clarkii</i> grandes	22	45.1 \pm 0.7	13.16 \pm 0.3	3.43 \pm 0.1	-28.38 \pm 1.0	13.18 \pm 1.8
Aves 14						
<i>Himantopus himantopus</i>	4	54.62 \pm 6.2	10.61 \pm 2.3	5.45 \pm 1.8	-22.53 \pm 1.1	11.31 \pm 2.9
<i>Fulica atra</i>	2	54.74 \pm 0.1	11.12 \pm 0.6	4.93 \pm 0.3	-22.66 \pm 1.8	13.69 \pm 3.2
<i>Oxyura leucocephala</i>	2	52.37 \pm 2.7	12.43 \pm 1.1	4.24 \pm 0.6	-24.73 \pm 5.2	17.37 \pm 0.8
<i>Larus ridibundus</i>	1	49.61	13.27	3.74	-22.69	10.15
<i>Larus</i> sp.	1	55.76	10.66	5.23	-21.75	8.78
<i>Anas clypeata</i>	1	51.67	11.96	4.32	-27.69	14.08
<i>Anas strepera</i>	1	48.93	13.68	3.58	-29.12	16.02
<i>Bubulcus ibis</i>	1	47.85	13.61	3.52	-25.08	7.83
<i>Aythya ferina</i>	1	59.53	10.90	5.46	-29.71	13.82
Insectos alados 32						
<i>Sympetrum</i> sp.	8	51.79 \pm 1.8	10.30 \pm 0.4	5.04 \pm 0.4	-24.54 \pm 0.9	10.91 \pm 0.5
<i>Lestes</i> sp.	1	48.80	11.03	4.43 \pm 4.4	-25.29	12.43
<i>Leptotes pirithous</i>	3	47.09 \pm 5.1	10.33 \pm 1.2	4.57 \pm 0.4	-23.64 \pm 0.9	4.70 \pm 2.4
<i>Maniola jurtina</i>	5	55.91 \pm 1.8	8.40 \pm 1.3	6.82 \pm 1.3	-26.89 \pm 0.9	5.27 \pm 2.9
<i>Polyommatus icarus</i>	2	49.26 \pm 2.7	10.68 \pm 0.7	4.63 \pm 0.6	-25.37 \pm 0.5	4.43 \pm 1.0
<i>Pieris rapae</i>	5	48.55 \pm 1.5	12.07 \pm 0.8	4.03 \pm 0.2	-27.8 \pm 1.1	8.11 \pm 1.2
<i>Pontia daplidice</i>	3	46.88 \pm 2.6	9.68 \pm 0.7	4.85 \pm 0.1	-26.24 \pm 1.7	4.77 \pm 2.4

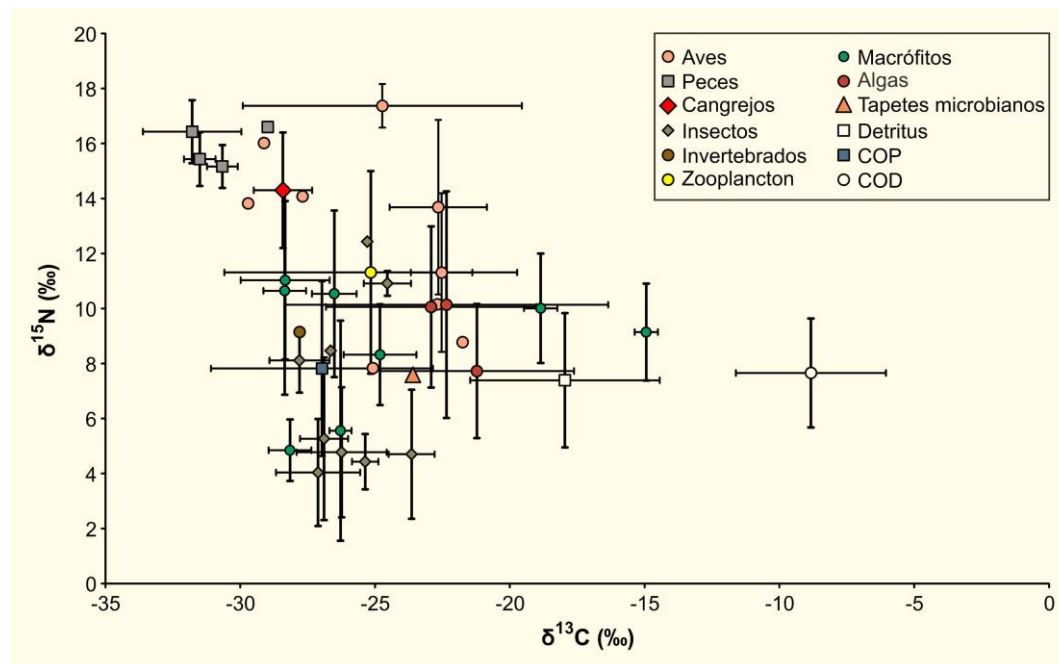


Fig. 1. Gráfico de dispersión de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (promedios y desviaciones estandar) de las principales fuentes, productores primarios y consumidores que conforman la red trófica actual del PNTD.

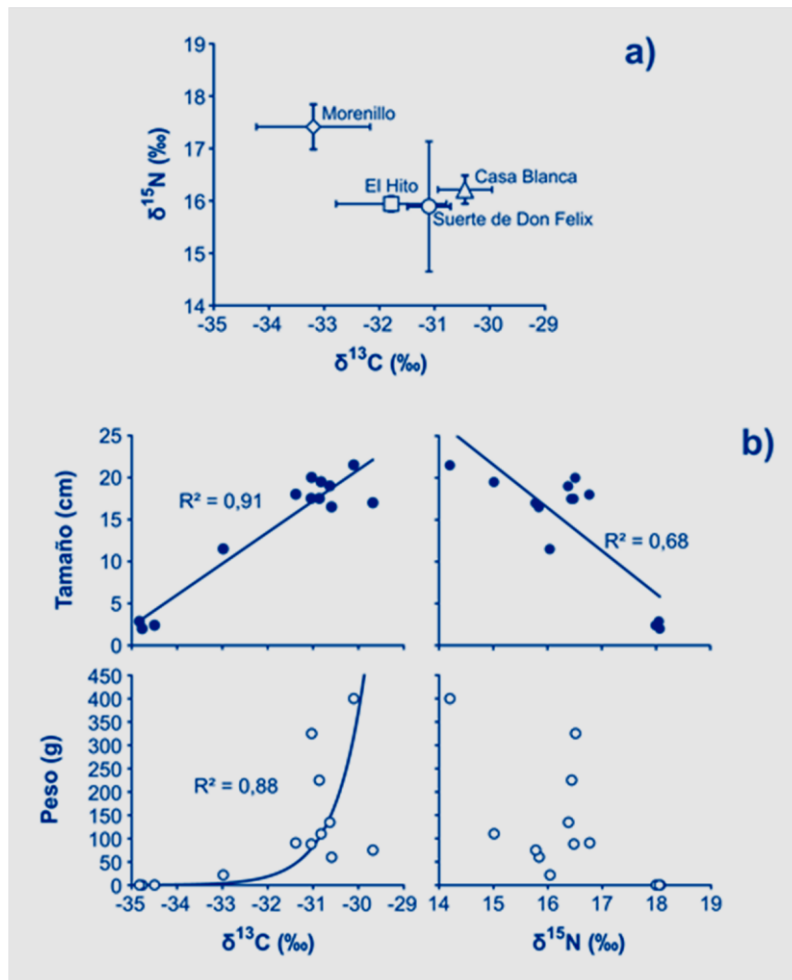


Fig. 2. a) Valores promedio y desviación estándar de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de *Ameirus melas* en los cuatro sitios colectados dentro del PNTD en el año 2011. ANOVA ($\delta^{13}\text{C}$ $p=0.003$ y $\delta^{15}\text{N}$ $p=0.036$). b) Correlación del tamaño (cm) y el peso (g) con las firmas isotópicas de *A. melas*. ANOVA (tamaño $\delta^{13}\text{C}$ $p<0.001$, $\delta^{15}\text{N}$ $p=0.003$); peso ($\delta^{13}\text{C}$ $p=0.384$, $\delta^{15}\text{N}$ $p=0.336$).

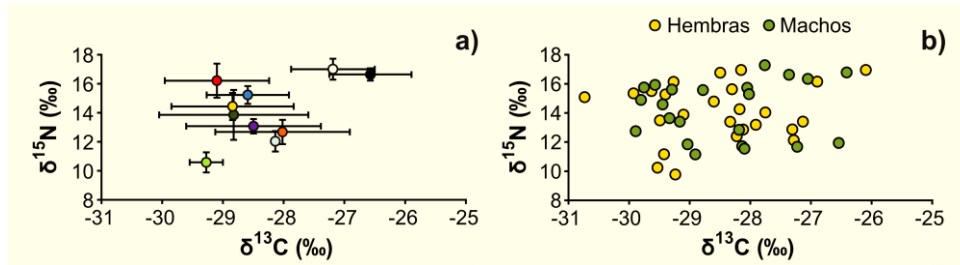


Fig. 3. Gráfico de dispersión de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las firmas de *P. clarkii* según (a) el sitio donde fue capturado durante el verano de 2011 en el PNTD (ANOVA $\delta^{13}\text{C}$ $p=0.005$ y $\delta^{15}\text{N}$ $p<0.001$) y (b) el sexo (ANOVA $\delta^{13}\text{C}$ $p>0.05$ y $\delta^{15}\text{N}$ $p>0.05$).

3.2 LONGITUD DE LA CADENA ALIMENTICIA Y NIVELES TRÓFICOS

La longitud de la cadena trófica (LCT) en el PNTD se estimó en 3.9 niveles tróficos (NTr), cuando se emplean los productores primarios como base, y en 4.4 NTr (Fig. 4a y 4b), cuando se emplean a los consumidores primarios como base. La descripción de la LCT de aquí en adelante se basa en los resultados obtenidos con los consumidores primarios como base de la cadena.

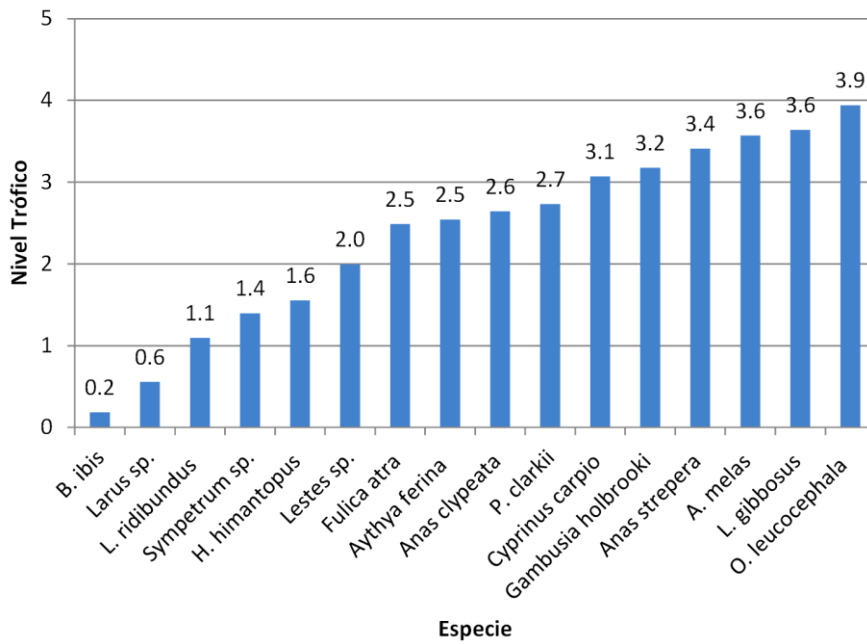


Fig. 4a. Niveles tróficos de los principales consumidores del PNTD durante el verano de 2011 cuando se emplea a los productores primarios como base.

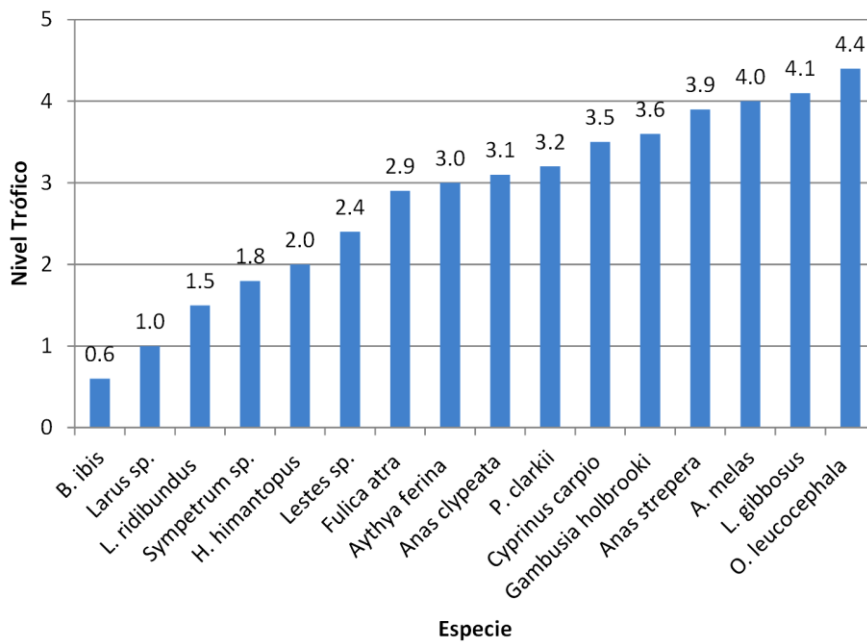


Fig. 4b. Niveles tróficos de los principales consumidores del PNTD durante el verano de 2011 cuando se emplea a los consumidores primarios como base.

Los invertebrados, el zooplancton, tres especies de aves (*B. ibis*, *Larus* sp. y *L. ridibundus*) y la mayor parte de los insectos alados (mariposas), así como el caballito del diablo (*Sympetrum* sp.), se ubicaron en la base los consumidores primarios. Los consumidores secundarios estuvieron representados por dos especies de aves (*H. himantopus* y *F. atra*) y el insecto alado *Lestes* sp. Las especies de peces *C. carpio*, *G. holbrooki*, 3 especies de aves (*Anas clypeata*, *A. strepera*, y *Aythya ferina*) y *P. clarkii* resultaron integrados dentro de los consumidores terciarios. Finalmente, en el techo de la red trófica del humedal fueron incluidos *A. melas* y *L. gibbosus* y, en lo más alto de la red la malvasía común (*O. leucocephala*).

3.3 CONTRIBUCIÓN DE LAS FUENTES ORGÁNICAS A LOS ORGANISMOS CONSUMIDORES DEL PNTD

Las aproximaciones del modelo SISUS utilizando los valores de los dos isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de los consumidores se muestran en la Tabla 3 (véase también la Tabla 6 y la Fig. 11a del Capítulo II para información sobre la producción secundaria). Respecto a las aves acuáticas, la gaviota reidora y la cigüeñuela mostraron que su dieta depende de los tapetes microbianos; aunque también el hábito alimenticio detritívoro de la gaviota reidora quedó puesto de manifiesto con la dependencia de los macroinvertebrados bentónicos y del detritus del sedimento en su dieta. El pato cuchara tiene como principal sustento al cangrejo americano y a los invertebrados. La dieta de la focha común reflejó unos hábitos alimenticios muy variados con un reparto similar entre zooplancton,

macrófitos y cangrejos (Tabla 3). La clase Odonata, representada por *Lestes sp.* y *Sympetrum sp.*, mostró que su principal sustento son los invertebrados (del 41 al 60.47% y del 23.05 al 60.25%, respectivamente).

Los macrófitos, en la mayor parte de los casos, fueron una fuente de energía primaria o secundaria para los organismos de los niveles tróficos superiores. Por ejemplo, *P. clarkii* (NTr=3.2) basó su dieta en la ingesta de los macrófitos emergentes, representando hasta el 81.98% y el 76.91% de su dieta (*T. dominguensis* y *B. maritimus*, respectivamente; Tabla 3). Otro claro ejemplo es el de los consumidores secundarios *H. himantopus* y *F. atra* (NTr=2.0 y 2.9, respectivamente), que pueden basar una fracción importante de su dieta en macrófitos sumergidos (Tabla 3). Las firmas isotópicas de *Tamarix canariensis* indicaron que fue una de las fuentes alimenticias principales para los insectos alados *Rhodometra sacraria* y *Pieris rapae* y para la garcilla bueyera (Tabla 3).

El modelo de mezcla indicó que la contribución de los macrófitos a la dieta de las especies piscívoras colectadas es despreciable (véase la ubicación de los peces en la Fig. 1). Tampoco fue posible vislumbrar con el modelo SISUS ninguna contribución a la dieta piscívora de los restantes organismos colectados.

Tabla 3. Contribución de las fuentes alimenticias colectadas a los consumidores del PNTD basados en el modelo de mezcla SISUS a través de los valores de isótopos estables de ¹³C y ¹⁵N. Los resultados están dados en mínimos y máximos (%). En negrita se resaltan las principales contribuciones de la fuente hacia el consumidor. Min.= Mínimo, Máx.=Máximo. *P. clarkii*^a= Sitio Vado de Toros.

	Insectos alados				Crustáceos		Aves															
	<i>R. saccharia</i>		<i>Pieris rapae</i>		<i>Lestes sp.</i>		<i>Sympetrum sp.</i>		<i>P. clarkii</i> ^a		<i>L. ridibundus</i>		<i>H. himantopus</i>		<i>Fulica atra</i>		<i>A. clypeata</i>		<i>Larus sp.</i>		<i>B. ibis</i>	
	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx	Mín	Máx
Detritus del sedimento					0.00	14.63	0.00	27.95	0.00	2.89	0.00	27.82	0.00	52.03					43.06	62.92	17.46	30.20
COP									0.00	23.12												
Fitoplancton					0.00	20.75	0.00	39.64			0.00	51.67	0.00	73.80					0.00	29.04	0.00	18.63
Epifiton					0.00	40.27	0.00	32.29			0.00	17.48	0.00	29.22					0.00	8.71	0.00	5.59
Algas filamentosas					0.00	44.58	0.00	35.75			0.00	19.35	0.00	30.39					0.00	8.57	0.00	5.50
Tapetes microbianos					0.00	26.73	0.00	51.07			16.90	83.51	0.00	73.53					0.00	20.84	0.00	13.37
<i>C. hispida var. major</i>	0.00	11.45	0.00	2.69					0.00	2.22			0.00	23.44	0.00	43.85	0.00	6.76				
<i>C. submersum</i>	0.00	5.15	0.00	6.35					0.00	8.59			0.00	72.74	0.00	21.33	0.00	25.33	0.00	12.68	0.00	8.14
<i>P. pectinatus</i>	0.00	5.76	0.00	3.79					0.00	3.13				0.00	61.45	0.00	9.37					
<i>B. maritimus</i>	0.00	1.97	0.00	2.43					0.00	76.91												
<i>T. dominguensis</i>	0.00	2.10	0.00	2.59					0.00	81.98									0.00	5.73	0.00	3.68
<i>C. mariscus</i>	0.00	80.64	0.00	18.94					0.00	15.65												
<i>P. australis</i>	0.00	2.39	0.00	2.95					0.00	16.14												
<i>T. canariensis</i>	18.68	86.88	78.80	95.08					3.02	21.53									25.66	33.76	62.47	67.67
Invertebrados					41.00	60.47	23.05	60.25			2.48	39.49	0.00	47.82	0.00	20.86	0.00	50.18	0.00	7.95	0.00	5.10
Zooplancton					0.00	32.27	0.00	25.88			0.00	14.01	0.00	20.36	0.00	76.06	0.00	16.88	0.00	6.31	0.00	4.05
<i>P. clarkii</i> pequeño														0.00	27.89	0.00	67.08					
<i>P. clarkii</i> mediano														0.00	45.77	0.00	83.35					
<i>P. clarkii</i> grande														0.00	41.76	0.00	49.53					

3.4 RED TRÓFICA DEL PNTD ANTES Y AHORA

En la fig. 5 se muestra un bosquejo de la red trófica que presentaba el humedal hacia 1950 cuando el humedal era una serie de cotos de caza antes de la introducción de la gambusia. De acuerdo a la literatura investigada, la red trófica del PNTD para el año 1950 estaría compuesta por 10 especies piscícolas, todas auctótonas y 8 especies de aves acuáticas soportadas por moluscos, macroinvertebrados, zooplancton y acompañados del cangrejo *Austropotamobius pallipes*. Los moluscos filtradores se alimentaban de fitoplancton, clarificando el agua y contribuyendo al desarrollo de los macrófitos sumergidos. Estos deberían ser alimento del cangrejo autóctono y de las anátidas, quienes consumían también macroinvertebrados blandos. Probablemente, la longitud de la cadena trófica fuese similar a la actual. En contraste en la fig. 6 se muestra la configuración de la red trófica existente en el año 2011, configurada estrictamente con los resultados obtenidos con el modelo SISUS. Aquí hemos incluido especies de insectos alados, aunque la mayoría de las mariposas no demuestran interacciones con las especies muestreadas. En la red trófica actual no existen moluscos y el cangrejo auctótono ha sido sustituido totalmente por el cangrejo americano, que presenta un número reducido de interacciones en comparación con las que potencialmente podía presentar *A. pallipes* en la red de 1950. Sorprende la presencia de organismos de los niveles superiores que no muestran ninguna interacción trófica (isotópica) con el resto. El detritus del sedimento sólo supone una fuente alimenticia para garcillas y gaviotas, mientras que para otros organismos bentónicos como el

cangrejo americano, aparece como marginal. Algunos ejemplos de cadenas alimenticias obtenida a través de las estimaciones de SISUS son: *T. dominguensis* – *P. clarkii*- *A. clypeata*; *Tamarix canariensis* –Invertebrados – *Lestes* sp. o detritus del sedimento – *Larus* sp.; *C. submersum* - Zooplancton - *F. atra*.



El Tablazo, el canal del Gigüela y algunas otras zonas interiores del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel en Junio de 2011.

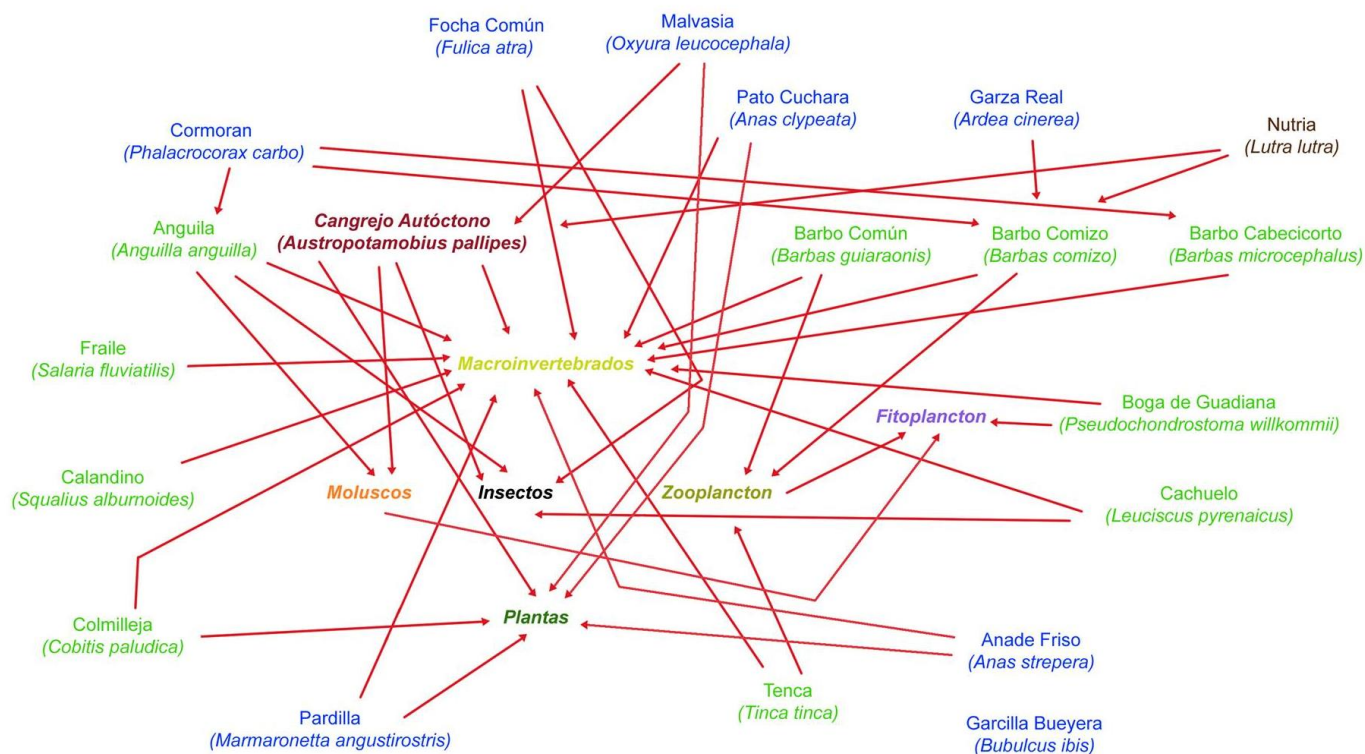


Fig. 5. Representación esquematizada de cómo debió ser la red trófica del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel hacia el año 1950. Los grupos de organismos están diferenciados por colores, fitoplancton, zooplankton, insectos, macroinvertebrados, moluscos, crustáceos, peces, aves y mamíferos. Esquema basado en datos procedentes de Álvarez-Cobelas y Cirujano (1996) y de Cirujano et al. (1998).

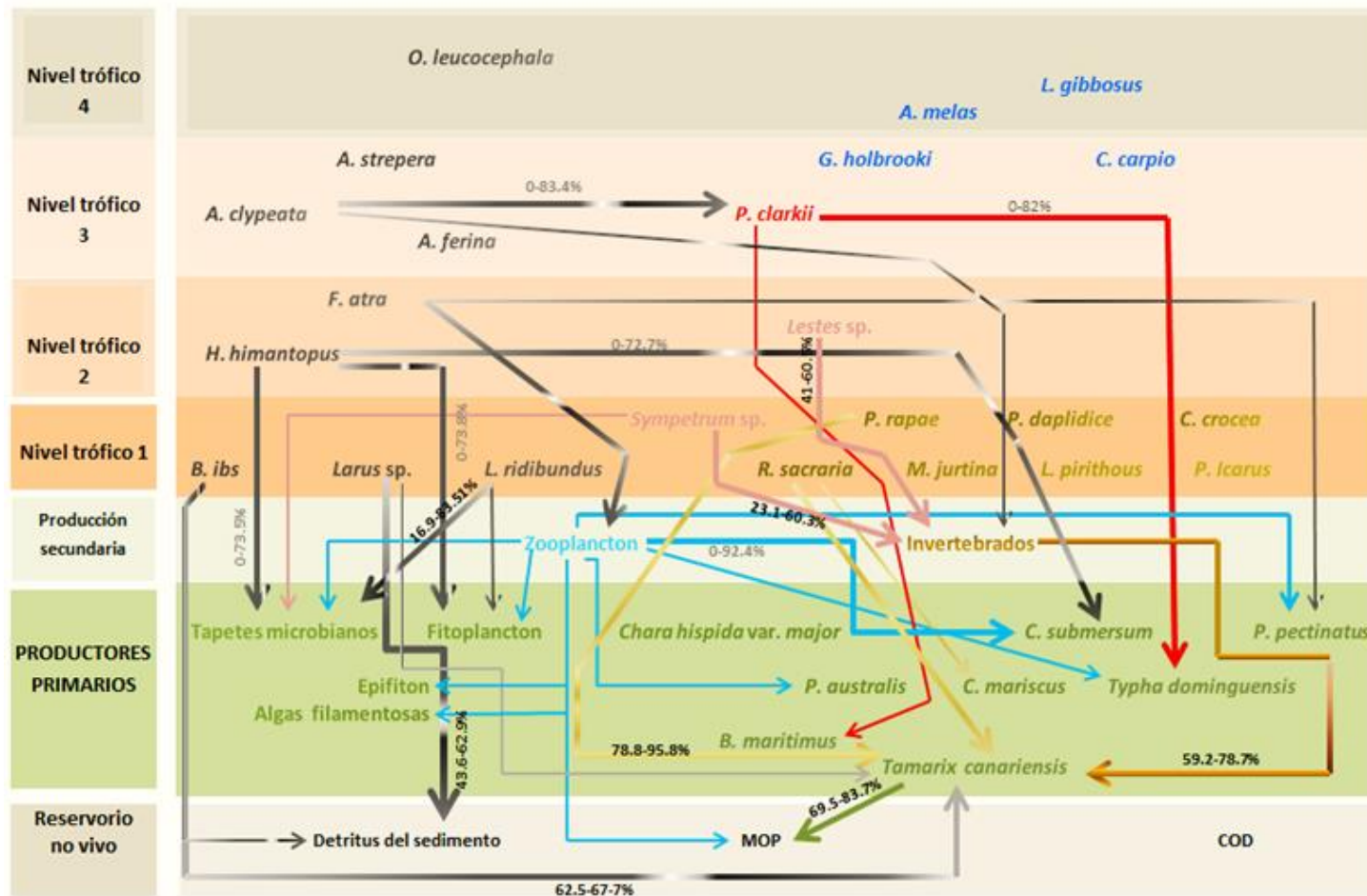


Fig. 6. Configuración de la red trófica del PNTD en 2011 obtenida a través de los resultados del modelo de mezcla SISUS. Se indica con flechas las contribuciones de las fuentes a los consumidores que representan $\geq 50\%$ del rango máximo. Las flechas más gruesas indican la contribución principal de la fuente. Los colores están diferenciados por los grupos de organismos: Productores primarios, Zooplancton, Invertebrados, mariposas, odonatos, crustáceos, aves y peces.

4. DISCUSIÓN

Los ecosistemas acuáticos de agua dulce se encuentran entre los más amenazados del mundo (Oberdorff et al., 2002). El alcance de la degradación puede ser funcional, afectando a los numerosos servicios ambientales que prestan (i.e. desnitrificación o retención de sedimento; MEA, 2005) o estructural. Los efectos estructurales más estudiados son los relativos a la pérdida de la biodiversidad (Dudgeon et al., 2006); sin embargo, los efectos en la estructura trófica derivados de la degradación ambiental por diversos factores son poco conocidos (Sondergaard y Jeppesen, 2007). Después de la pérdida del hábitat, la invasión de especies representa la segunda causa de pérdida de biodiversidad en los ecosistemas de agua dulce (Walker y Steffen, 1997; Mack et al., 2000). La ubicación (aislamiento e insularidad) de los ecosistemas de agua dulce potencia los efectos de la invasión de especies (Lodge, 2001; Dudgeon et al., 2006). La ictiofauna de Las Tablas de Daimiel se encuentra representada en la actualidad por especies exóticas oportunistas, tal como sucede en otros ecosistemas acuáticos de agua dulce altamente alterados (Copp et al., 2005; García-Berthou et al., 2005). Actualmente son cuatro especies, tres de ellas alóctonas, las que componen la fauna piscícola de este humedal: tres procedentes de Norteamérica, el pez sol (*Lepomis gibbosus*), la gambusia (*Gambusia holbrookii*), introducida para el control de la malaria en 1950 (Alvarez-Cobelas y Cirujano, 1996), y el pez gato (*Ameirus melas*), de reciente aparición en el humedal (primeros avistamientos en 2010; guardería del Parque, comunicación personal) y la carpa (*Cyprinus carpio*), que ya aparece citada en las Tablas hacia 1910 (Elvira y Barranchina, 1996). El PNTD ha sido invadido por el cangrejo rojo americano

(*Procambarus clarkii*), originario del sureste de Estados Unidos, que sustituyó al cangrejo de río europeo (*Austropotamobius pallipes*), también introducido a finales del siglo XIX en el PNTD y muy abundante en estas aguas hasta finales de la década de 1960, que se extinguió por la afanomicosis (Escuderos-Córdoba, 1996).

4.1 LONGITUD DE LA CADENA TRÓFICA DEL PNTD

La entrada de nutrientes (incluyendo N, P y elementos traza, entre otros) y la invasión de especies exóticas influyen sobremanera en las rutas de energía, el balance de C y el presupuesto de nutrientes de muchos hábitats (Woodward et al., 2012), pero poco sabemos sobre los efectos en los tamaños tróficos de estos ecosistemas. Las Tablas de Daimiel son un ecosistema hipertrófico (Sánchez-Carrillo et al., 2001; Álvarez-Cobelas et al., 2010) pero la LCT puede considerarse moderada en longitud (de 3.9 a 4.4 niveles tróficos; Briand y Cohen, 1987; Beaudoin et al., 2001). Un meta-análisis de diferentes redes tróficas determinadas a través de isótopos estables reveló que estas tienden a tener de 3 a 4 niveles tróficos (Vander Zanden y Fetzer, 2007), los cuales corresponden adecuadamente al número de NTr asumidos en los estudios de la dinámica de las cadenas alimenticias (Hairston et al., 1960; Carpenter et al., 1985; Briand y Cohen, 1987; Schoener, 1989; Hairston y Hairston, 1993). Estos autores estimaron la longitud de 219 redes tróficas y encontraron que los cursos fluviales tienen cadenas alimenticias más cortas (3.5 NTr, en promedio) que los ecosistemas marinos y los lagos (4 NTr, en promedio). Diversos autores han citado que la perturbación y los cambios en la productividad primaria derivados del

enriquecimiento de nutrientes no ejercen impactos directos en las LCT (e.g. Pimm y Kitching, 1987; Marks et al., 2000; Walters y Post, 2008; McHugh et al., 2010). A la vista de nuestros resultados, parece que las condiciones de perturbación registradas en Las Tablas de Daimiel no están influyendo en la LCT. Sin embargo, si hay claros indicios de que la productividad primaria (Pimm, 1982; Lawton, 1989; Hairston y Hairston, 1997; Vander Zanden y Fetzer, 2007, McHugh et al., 2010), el tamaño del ecosistema, (Shoener, 1989; Post, 2002) y la perturbación (Briand, 1983; Menge y Sutherland, 1987) son claves determinando la configuración de las redes tróficas en aspectos como la riqueza de especies dentro de los niveles tróficos, la conexión entre las especies y la influencia de la posición trófica de un organismo, entre otros.

El tamaño del ecosistema influye en la LCT generando un aumento o disminución del número de niveles tróficos, permitiendo la coexistencia de dos especies predatoras en el mismo nicho e, incluso, condicionando la abundancia de una especie en concreto (Takimoto et al., 2008). La perturbación, por el contrario, parece más determinante en el control de la abundancia de las especies en los niveles tróficos más altos (Takimoto et al., 2008). En una situación como la sufrida en el PNTD, es de esperar que la entrada de nutrientes haya contribuido a incrementar la productividad primaria neta y a que ésta influya en las especies consumidoras, modificando la estructura de la red trófica con un control trófico de abajo arriba de la red (bottom-up effects; Sahasrabudhe y Motter, 2011). Sin embargo, también los cambios en las especies consumidoras alteran la estructura de la cadena trófica mediante un efecto de cascada trófica de arriba abajo (top-down; Scheffer, 2004). El enriquecimiento de nutrientes registrado en Las Tablas de Daimiel

y el consecuente empeoramiento del hábitat han contribuido a la desaparición de numerosas especies de consumidores que han debido modificar significativamente la estructura de la red (véase Angeler et al., 2001 y 2005).

El nivel trófico más alto en Las Tablas está compuesto por dos especies de peces exóticas (*A. melas* y *L. gibbosus*) con una abundancia muy irregular a lo largo del tiempo (Álvarez-Cobelas et al., 2010), probablemente condicionada también por los cambios extremos que sufre el humedal de unos años a otros (sequía-inundación). De hecho, en muestreos recientes no se han observado ejemplares de *A. melas* en Las Tablas (Carlos Ruíz, comunicación personal), al contrario de lo que ocurre aguas abajo (Gabaldón y Robles, 2009). Las grandes fluctuaciones de la superficie inundada así como las condiciones de perturbación existentes en Las Tablas han favorecido la incursión de esas especies alóctonas más resistentes a esas nuevas condiciones hidrológicas (Dudgeon et al., 2006). De hecho, las poblaciones de *C. carpio* en la Cuenca del Alto Guadiana se concentran en Las Tablas. Evidentemente, la perturbación sufrida por el PNTD y la consecuente reducción tanto del tamaño del hábitat como de su calidad es un factor clave en la desaparición de poblaciones de especies piscícolas nativas, observadas aún en los tramos altos de los ríos Záncara, Gigüela y Riansares (7-8 especies endémicas: Elvira y Barrachina, 1996; Gabaldón y Robles, 2009). Si la superficie inundada se mantuviese constante durante un ciclo temporal largo (más de 10 años) y si la calidad del agua mejorase, sería muy probable que algunas especies nativas llegasen a poblar nuevamente el PNTD, lo que daría lugar a un reajuste de la estructura trófica para equilibrar los nichos ecológicos de las especies competidoras (Gathman

et al., 2005; Wilcox et al., 2007). El régimen de agua influye en la biodiversidad acuática por distintos mecanismos interrelacionados que operan en un rango de escalas espaciales y temporales, por lo que el mantenimiento de la variabilidad natural en los flujos y los niveles de agua es esencial para respaldar las estrategias de conservación de la biodiversidad en los hábitats de agua dulce (Dudgeon et al., 2006).

Recientemente se ha observado la presencia en el PNTD del barbo comiza (*Barbus comiza*) cuando la superficie de zona inundada aumentó considerablemente después una década casi sin agua. Pero su paso por el ecosistema ha sido efímero y desconocemos si las causas tienen que ver con la ocupación de su nicho por otras especies exóticas. Los cambios en el ecosistema también pueden alterar los hábitos alimenticios de ciertas especies de manera indirecta. Takimoto et al. (2008) observó que con la reducción del tamaño del ecosistema el efecto de cascada trófica se magnifica y las especies de los niveles tróficos más altos buscan alimentos en niveles tróficos inferiores, disminuyendo consecuentemente su posición trófica y la longitud de la cadena. Esta puede ser la causa de que los ejemplares estudiados aquí del género *Larus*, que en otros ecosistemas alcanzan un nivel trófico 4 (e.g. en la costa Mediterránea; Navarro et al., 2011), en el PNTD se situen en el nivel trófico 1.

4.2 CONTRIBUCIÓN DE LAS FUENTES DEL HUMEDAL AL SOSTENIMIENTO DE LA RED TRÓFICA DEL PNTD

En los humedales existe desde tiempo atrás una cierta controversia sobre la importancia de los macrófitos como la base de las redes tróficas acuáticas, dada su alta biomasa y producción en este tipo de ecosistemas (Murkin, 1989; Hamilton et al., 1992; Hart y Lovvorn, 2003). Algunos estudios con isótopos estables en redes tróficas acuáticas muestran que las plantas vasculares no son tan importantes en los flujos de C de las redes tróficas acuáticas (France, 1995). En los humedales, tradicionalmente se considera que las redes tróficas están sostenidas por la descomposición de los macrófitos ya que son una fuente de C importante para los macroinvertebrados bentónicos (Kornijów, 1996; James et al., 2000). Numerosos estudios muestran que el fitoplancton puede llegar a ser más importante como sostenedor de la producción secundaria (Hamilton et al., 1992; Hart y Lovvorn, 2003). Sólo algún estudio ha citado a las plantas vasculares como importantes en las redes tróficas de los humedales a través del herbivorismo y el detritivorismo (France, 1995). Los macrófitos ocupan una parte central en las interacciones tróficas de los lagos someros pues dirigen numerosas interacciones químicas, conductuales y estructurales (Burks et al., 2006).

Nuestros resultados isotópicos sugieren que en Las Tablas las plantas contribuyen a la dieta de algunos consumidores que ocupan los niveles tróficos más altos. *Tamarix canariensis* apareció como mayor sustento de las mariposas (a través de sus flores; los días de la colecta las hojas estaban impregnadas de polen indicando que era el momento de floración) y de los macroinvertebrados bentónicos (véase Capítulo II). Se ha citado el uso de las flores de *Tamarix*

sp. por *Pieris rapae* en el desierto de Mojave (EEUU; Andersen y Nelson, 2013). *T. dominguensis* y *B. maritimus* son la principal fuente de alimento de *P. clarkii* en el Parque. Hasta la fecha se ha citado que la dieta del cangrejo americano incluye diferentes macrófitos como *Callitriche brutia*, *Chara connivens*, *Ranunculus peltatus* (Alcorlo et al., 2004) y *T. dominguensis* (Rosenthal et al., 2005).

Seis de las 9 especies de aves acuáticas evaluadas en este estudio mostraron firmas isotópicas consistentes con las fuentes proporcionadas por este humedal (Carpenter y Lodge, 1986). *Fulica atra* basa aquí gran parte de su dieta en macrófitos sumergidos. La focha común tiene una dieta muy variada según la estación y, además de alimentarse de macrófitos y otras plantas acuáticas, su dieta incluye invertebrados, algas filamentosas, detritus, semillas, hierbas, insectos, caracoles, gusanos y hasta renacuajos (Phillips et al., 1978; Howes y Perrow, 1994).

En este estudio, sin embargo, la contribución de los macrófitos a la fauna piscícola fue nula, algo observado también por otros autores (Bunn y Boon, 1993; Keough et al., 1996). Los peces capturados en Las Tablas presentan valores de $\delta^{13}\text{C}$ más empobrecidos que los macrófitos ($-31.26 \pm 1.49\text{‰}$ vs $-26.30 \pm 3.80\text{‰}$; Fig. 8). Este mismo patrón ha sido observado en una Laguna del Complejo de Ruidera (Cueva Morenilla; Ruíz-Jiménez, 2015). Asimismo, la composición isotópica de la fauna piscícola de Las Tablas no refleja consistencia con ninguna de las fuentes de carbono evaluadas en este estudio, tal como observaron algunos autores en otros ecosistemas (Post, 2002; Matthews y Mazumder, 2003). Esto puede ser debido a que la comunidad de peces es subsidiada por habitats externos (Sierszen et al., 2012), o porque no se capturaron todas las

fuentes potenciales del humedal, o porque el ensamblaje isotópico del zooplancton del Parque es más heterogéneo del que fue registrado en este estudio. En un estudio en diferentes lagos de Finlandia, se demostró que el ^{13}C del zooplancton puede variar hasta 19 unidades delta (desde -46.0‰ a -27.2‰; Jones et al., 1999) en función de las condiciones hidrogeomorfológicas (Sierszen et al., 2006). El fraccionamiento isotópico que acompaña a la descomposición anaeróbica de las plantas vasculares en los humedales hace que los flujos de C estén desacoplados entre las poblaciones microbianas y los restos de los macrófitos, dando como consecuencia que las firmas isotópicas de los peces no reflejen los valores de las plantas vasculares (Boon y Sorrel, 1991). Otro factor puede ser la elevada concentración de sulfatos en el humedal, principalmente en el verano (Álvarez-Cobelas et al., 2010), que hace que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los consumidores estén mucho más empobrecidos que su fuente de alimento (Brooks et al., 1987; Robinson y Cavanaugh, 1995; Alongi, 1998).

La aportación de *P. australis*, el macrófito más abundante y productivo en el PNTD (Cirujano et al., 2010), a la red trófica del humedal es casi despreciable excepto para el zooplancton, que representó hasta un máximo de 54% de su dieta y para el cangrejo americano, que supuso menos de 20% (ver Tabla 6, Fig. 11a del Capítulo II de esta Tesis). No obstante, esta especie presenta un alto rango de variabilidad isotópica (Hines et al., 2006; Treydte et al., 2009) y es posible que su consumo quede enmascarado por otras fuentes (Chapin et al., 1995; Hines et al., 2006). De confirmarse este hecho, tendría importantes implicaciones en la gestión del ecosistema, pues la retirada de biomasa anual no implicaría ninguna interacción en el

funcionamiento trófico del ecosistema. Hasta la fecha, sólo en una marisma en la Bahía de Delaware, Estados Unidos, se tiene conocimiento de una contribución directa de *P. australis* en la dieta de la producción secundaria (73%; modelos de mezcla con ^{13}C y ^{34}S ; Wainright et al., 2000). La mayoría de estudios en humedales muestran efectos nocivos de la proliferación de *P. australis*: menor abundancia de peces (Able y Ragan, 2003; Hunter et al., 2006), menor abundancia de algunos grupos de algas, que indirectamente influyen en organismos de los niveles tróficos superiores (Pérez et al., 2013) y reducción de aves y mamíferos debido a la disminución de zonas favorables (Hauber et al., 1991).

4.3 LA RED TRÓFICA DE LAS TABLAS: PASADO Y PRESENTE

Hace más de cinco décadas la red trófica en las Tablas estaba representada por una alta diversidad de organismos, llegando hasta 10 especies de peces (1980). A mediados del siglo XX, es probable que coexistiesen especies piscícolas en todos los niveles tróficos y con un papel trófico del cangrejo *Austropotamobius pallipes* muy similar al del cangrejo rojo americano, a juzgar por los hábitos alimenticios de aquella especie (Reynolds y O'keeffe, 2005). Aunque es probable que en el pasado los recursos basales del humedal fuesen muy superiores (presencia, por ejemplos de moluscos bivalvos y gasterópodos), las escasas interacciones tróficas halladas en la actualidad sugieren que los recursos del ecosistema no están siendo explotados en su totalidad. Las causas pueden estar relacionadas con la calidad del ecosistema o con la presencia de ciertas especies versátiles oportunistas que minan las poblaciones de posibles competidores.

La configuración trófica del pasado ensayada en la Figura 5, muestra una gran diversidad de especies piscícolas, principalmente en los niveles tróficos más bajos, con una importancia elevada de los macroinvertebrados bentónicos en el sostenimiento de la red.

Actualmente, la red trófica del PNTD se caracteriza por una baja diversidad dentro de cada nivel trófico y pocas relaciones entre los organismos evaluados, como se ve en la Fig. 6. El ejemplo más claro de la discontinuidad en las interacciones tróficas existentes es el de los peces, que no mostraron ninguna relación con las fuentes presentes en el humedal durante el estudio. Aparentemente, excepto *L. gibbosus*, las cuatro especies de peces restantes comparten el mismo nicho isotópico, que no necesariamente implica nicho ecológico (Layman et al., 2012), sin embargo, por el espacio temporal (temporada de reproducción) que ocupan cada una pueden coexistir casi sin competencia.

Las limitaciones hídricas restringen la diversidad de especies piscícolas predatoras intermedias (Hairston y Hairston, 1997). En las Tablas es más probable que la ausencia de especies poblando los nichos inferiores (NTr 1 y 2), más que la limitación de recursos, pueda haber permitido la expansión de especies oportunistas y resistentes como *A. melas* y *P. clarkii*, tal como se ha citado en otros estudios (Winemiller y Rose, 1992; Braig y Johnson, 2003; Novomeská y Kovác, 2009). Esto influye en la baja complejidad trófica que tiene el humedal en el presente, si bien el deterioro de la calidad del agua también tiene efectos nocivos en la reducción de la diversidad de especies de peces (e.g. Serrano-Grijalva et al., 2011, ver Capítulo II de esta Tesis). Asimismo, el cangrejo rojo americano puede estar contribuyendo a un control

importante de ciertas poblaciones de peces de manera indirecta en este ecosistema y puede ser la clave de las interacciones tróficas de los consumidores. Se ha citado que *P. clarkii* beneficia a especies limnofílicas como *A. melas*, que dependen de ciertas condiciones específicas del sustrato para poner los huevos y construir sus nidos (Braig y Johnson, 2003; Cucherousset et al., 2006). Se ha citado también como *P. clarkii* controla la abundancia de ciertas especies como *L. gibbosus* a través de la reducción de los macrófitos de los cuales dependen (Roth et al., 2007). Incluso se ha citado la influencia indirecta de *P. clarkii* en la presencia de anfibios por la remoción de los sedimentos (Nystrom et al., 1999). Las especies oportunistas como *A. melas* y *P. clarkii* tienen una elevada versatilidad trófica y pueden ocupar más de un nivel trófico a lo largo de su vida (Matena et al., 1995). Aunque *A. melas* parece haber reducido su biomasa en el PNTD desde nuestros muestreos por causas poco claras, se desconocen los efectos ecológicos (incluidos los tróficos) de su presencia en el humedal a más largo plazo. La baja abundancia de la carpa, en declive desde 1983 en el PNTD puede estar permitiendo la entrada de otras especies exóticas a la estructura trófica del ecosistema. El cangrejo rojo americano extrae eficientemente recursos de los nichos dejados por otras especies autóctonas e incluso exóticas, desaparecidas de un ecosistema por el deterioro ambiental (Angeler et al., 2002; Leunda et al., 2008). La ausencia de éxito en la captura de la dieta de otras especies muy adaptadas al PNTD como la gambusia se debe a su peculiar alimentación basada en invertebrados capturados en un amplio abanico de microhábitats (desde el bentos (dípteros, odonatos y ostrácodos), superficie y columna de agua (hemípteros, coleópteros, copépodos, cladóceros), hasta aquellos que pululan sobre la

vegetación acuática (himenópteros); Rodríguez-Jiménez, 1987). En nuestro estudio el nivel trófico 3.18-3.6, ocupado por la gambusia, muestra la plasticidad de esta especie, ya que en otros sitios su nivel trófico resulta más bajo (2.2; Capps et al., 2009).

Referencias

- Able, K. W. & Ragan, S. M. 2003. Impact of common reed, *Phragmites australis*, on essential fish habitat: Influence on reproduction, embryological development, and larval abundance of mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Estuaries*, 26, 40-50.
- Aboal, M., Prefasi, M. & Asencio, A. D. 1996. The aquatic microphytes and macrophytes of the transvase Tajo-Segura irrigation system, southeastern Spain. *Hydrobiologia*, 340, 101-107.
- Alcorlo, P., Geiger, W. & Otero, M. 2004. Feeding preferences and food selection of the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in habitats differing in food item diversity. *Crustaceana*, 77, 435-453.
- Alongi, D.M. 1998. *Coastal Ecosystem Processes*. CRC Press. Australia. 419 pp.
- Alvarez-Cobelas, M., & Cirujano, S. 1996. Las Tablas de Daimiel. *Ecología acuática y sociedad*.
- Alvarez-Cobelas, M., Cirujano, S. & Meco, A. 2010. The Man and Las Tablas de Daimiel. *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas De Daimiel*, 2, 241-254.
- Alvarez-Cobelas, M., Cirujano, S. & Sánchez-Carrillo, S. 2001. Hydrological and botanical man-made changes in the Spanish wetland of Las Tablas de Daimiel. *Biological Conservation*, 97, 89-98.
- Andersen, D. C. & Nelson, S. M. 2013. Floral ecology and insect visitation in riparian *Tamarix* sp (saltcedar). *Journal of Arid Environments*, 94, 105-112.
- Angeler, D. G., Alvarez-Cobelas, M., Sanchez-Carrillo, S. & Rodrigo, M. A. 2002. Assessment of exotic fish impacts on water quality and zooplankton in a degraded semi-arid floodplain wetland. *Aquatic Sciences*, 64, 76-86.
- Barón-Rodríguez, M.M. 2011. La función del plancton y los tapetes microbianos en el Parque Nacional Las Tablas de Daimiel. *Universitat de Valencia. Servei de publicacions*.
- Beaudoin, C. P., Prepas, E. E., Tonn, W. M., Wassenaar, L. I. & Kotak, B. G. 2001. A stable carbon and nitrogen isotope study of lake food webs in Canada's Boreal Plain. *Freshwater Biology*, 46, 465-477.
- Benstead J.P., March J.G., Fry B., Ewel K.C., Pringle C.M. 2006. Testing isosource: Stable Isotope Analysis of a tropical fishery diverse organic matter sources. *Ecology*, 87, 326-333.
- Ben-David, M. & Flaherty, E. A. 2012. Stable isotopes in mammalian research: a beginner's guide. *Journal of Mammalogy*, 93, 312-328.
- Boon, P. I., & Sorrell, B. K. 1991. Biogeochemistry of billabong sediments. I. The effect of macrophytes. *Freshwater Biology*, 26(2), 209-226.
- Braig, E. C. & Johnson, D. L. 2003. Impact of black bullhead (*Ameiurus melas*) on turbidity in a diked wetland. *Hydrobiologia*, 490, 11-21.
- Briand, F. 1983. Environmental-control of food web structure. *Ecology*, 64, 253-263.
- Briand, F. & Cohen, J. E. 1987. Environmental correlates of food-chain length. *Science*, 238, 956-960.
- Brooks, J. M., Kennicutt, M. C., Fisher, C. R., Macko, S. A., Cole, K., Childress, J. J., Bidigare, R. R. & Vetter, R. D. 1987. Deep-sea hydrocarbon seep communities - evidence for energy and nutritional carbon-sources. *Science*, 238, 1138-1142.
- Bunn, S. E. & Boon, P. I. 1993. What sources of organic-carbon drive food webs in billabongs - a study based on stable-isotope analysis? *Oecologia*, 96, 85-94.
- Burks, R. L., Mulderij, G., Gross, E., Jones, I., Jacobsen, L., Jeppesen, E. & Van Donk, E. 2006. Center stage: The crucial role of macrophytes in regulating trophic interactions in shallow lake wetlands. *Wetlands: Functioning, Biodiversity Conservation, and Restoration*, 191, 37-59.
- Capps, Krista A. 2009. Behavioral responses of the endemic shrimp *Halocaridina rubra* (Malacostraca: Atyidae) to an introduced fish, *Gambusia affinis* (Actinopterygii: Poeciliidae) and implications for the trophic structure of Hawaiian anchialine ponds. *Pacific Science* 63.1. 27-37.
- Carpenter, S. R., Kitchell, J. F. & Hodgson, J. R. 1985. Cascading trophic interactions and lake productivity. *Bioscience*, 35, 634-639.
- Carpenter, S. R. & Lodge, D. M. 1986. Effects of submersed macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany*, 26, 341-370.
- Casado, S. 1996. Los primeros pasos de la ecología en España, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Publicaciones de la Residencia de Estudiantes, Madrid.
- Chapin, F. S., Shaver, G. R., Giblin, A. E., Nadelhoffer, K. J. & Laundre, J. A. 1995. Responses of arctic tundra to experimental and observed changes in climate. *Ecology*, 76, 694-711.
- Cirujano, S., Álvarez-Cobelas, M., & Sánchez-Andrés, R. 2010. Macrophyte Ecology and Its Long-term Dynamics. In *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands* (pp. 175-195). Springer Netherlands.
- Cirujano S., Alvarez-Cobelas M., Riobobos P., Sánchez-Carrillo S., Medina L., Aragones A., Rubio A., Angeler D.G. et al. 1998. Estudio limnológico y botánico del Parque Nacional Las Tablas de Daimiel. Informe final de Proyecto, organismo Autónomo Parques Nacionales.
- Copp, G. H., Bianco, P. G., Bogutskaya, N. G., Eros, T., Falka, I., Ferreira, M. T., Fox, M. G., Freyhof, J., Gozlan, R. E., Grabowska, J., Kovac, V., Moreno-Amich, R., Naseka, A. M., Penaz, M., Povz, M., Przybylski, M., Robillard, M., Russell, I. C., Stakenas, S., Sumer, S., Vila-Gispert, A. & Wiesner, C. 2005. To be, or not to be, a non-native freshwater fish? *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 242-262.
- Costanzo, S.D., O'Donohue, M.J., Dennison, W.C., 2004. Assessing the influence and distribution of shrimp pond effluent in a tidal mangrove creek in north-east Australia. *Mar Poll Bull.* 48, 514-525.

- Cucherousset, J., Paillisson, J. M., Carpentier, A., Eybert, M. C. & Olden, J. D. 2006. Habitat use of an artificial wetland by the invasive catfish *Ameiurus melas*. *Ecology of Freshwater Fish*, 15, 589-596.
- Del Rio, C. M. & Wolf, B. O. 2005. Mass-balance models for animal isotopic ecology. *Physiological Adaptations to Feeding Invertebrates*, 141-174.
- Del Rio, C. M., Wolf, N., Carleton, S. A. & Gannes, L. Z. 2009. Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, 84, 91-111.
- Demopoulos, A. W. J., Fry, B. & Smith, C. R. 2007. Food web structure in exotic and native mangroves: a Hawaii-Puerto Rico comparison. *Oecologia*, 153, 675-686.
- Deniro, M. J. & Epstein, S. 1981. Hydrogen isotope ratios of mouse-tissues are influenced by a variety of factors other than diet. *Science*, 214, 1374-1375.
- Dibble, K. L., Pooler, P. S. & Meyerson, L. A. 2013. Impacts of plant invasions can be reversed through restoration: a regional meta-analysis of faunal communities. *Biological Invasions*, 15, 1725-1737.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z.-I., Knowler, D. J., Leveque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A.-H., Soto, D., Stiassny, M. L. J. & Sullivan, C. A. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81, 163-182.
- Dunne, J. A. 2006. The network structure of food webs. Workshop on From Structure to Dynamics in Complex Ecological Networks, 2006 Feb 2004 Santa Fe Inst, Santa Fe, NM. 27-86.
- Elvira B. & Barrachina, P. 1996. Peces. In: Alvarez-Cobelas M, Cirujano S (eds) *Las Tablas de Daimiel, Ecología acuática y Sociedad*. ICONA, Madrid, pp 171-186.
- Erhardt, E. B. & Bedrick, E. J. 2013. A Bayesian framework for stable isotope mixing models. *Environmental and Ecological Statistics*, 20, 377-397.
- Erhardt, EB, BO Wolf, M., Ben-David, & E.J Bedrick. 2014. Stable Isotope Sourcing using Sampling. *Open Journal of Ecology* 4 (6). Pdf, pp. 289-298. Doi: 10.4236/oje.2014.46027.
- Escuderos-Córdoba, J. V. 1996. El último pescador. In: Alvarez-Cobelas M, Cirujano S (eds) *TDNP de Daimiel, Ecología acuática y sociedad*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid, pp 235-254.
- France, R. L. 1995. C-13 Enrichment in benthic compared to planktonic algae - foodweb implications. *Marine Ecology Progress Series*, 124, 307-312.
- Fry, B. 2013. Review: alternative approaches for solving underdetermined isotope mixing problems.
- Gabaldón Lozano LI. & Robles Peñas M. 2009. *Guía de peces y cangrejos de Castilla La Mancha*. Primera edición. Junta de comunidades de Castilla-la Mancha Consejería de agricultura y desarrollo rural dirección general de política forestal. España.
- Galván K., Fleeger J.W., Peterson B., Drake D., Deegan L.A., Johnson D.S. 2012. Natural abundance stable isotopes and dual isotope tracer additions help to resolve resources supporting a saltmarsh food web. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 410, 1-11.
- García-Berthou, E., Alcaraz, C., Pou-Rovira, Q., Zamora, L., Coenders, G. & Feo, C. 2005. Introduction pathways and establishment rates of invasive aquatic species in Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62, 453-463.
- Gartner, A., Lavery, P. & Smit, A. J. 2002. Use of delta N-15 signatures of different functional forms of macroalgae and filter-feeders to reveal temporal and spatial patterns in sewage dispersal. *Marine Ecology Progress Series*, 235, 63-73.
- Goldsborough, L. G. & G. G. Robinson. 1996. Patterns in wetlands. In: Stevenson, R. J., M. L. Bothwell & R. L. Lowe (eds), *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystems*. Acad. Press, New York: pp. 77-117
- Gratton, C. & Denno, R. F. 2006. Arthropod food web restoration following removal of an invasive wetland plant. *Ecological Applications*, 16, 622-631.
- Gratton, C. & Forbes, A. E. 2006. Changes in delta C-13 stable isotopes in multiple tissues of insect predators fed isotopically distinct prey. *Oecologia*, 147, 615-624.
- Graves, G. R., Romanek, C. S. & Navarro, A. R. 2002. Stable isotope signature of philopatry and dispersal in a migratory songbird. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 8096-8100.
- Hairton, N. G. 1993. Cause-effect relationships in energy-flow, trophic structure, and interspecific interactions. *American Naturalist*, 142, 379-411.
- Hairton, N. G. 1997. Does food web complexity eliminate trophic-level dynamics? *American Naturalist*, 149, 1001-1007.
- Hairton, N. G., Smith, F. E. & Slobodkin, L. B. 1960. Community structure, population control, and competition. *American Naturalist*, 94, 421-425.
- Hamilton, S. K., Lewis, W. M. & Sippel, S. J. 1992. Energy-sources for aquatic animals in the Orinoco river floodplain - evidence from stable isotopes. *Oecologia*, 89, 324-330.
- Hart, E. A. & Lovvorn, J. R. 2003. Algal vs. macrophyte inputs to food webs of inland saline wetlands. *Ecology*, 84, 3317-3326.
- Hauber, D. P., White, D. A., Powers, S. P. & DeFrancesch, F. R. 1991. Isozyme variation and correspondence with unusual infrared reflectance patterns in *Phragmites-australis* (poaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 178, 1-8.

- Hines, J., Megonigal, J. P. & Denno, R. F. 2006. Nutrient subsidies to belowground microbes impact aboveground food web interactions. *Ecology*, 87, 1542-1555.
- Hobson, K. A. & Wassenaar, L. I. 1999. Stable isotope ecology: an introduction. *Oecologia*, 120, 312-313.
- Hobson, K. A., & Wassenaar, L. I. 2008. Tracking animal migration with stable isotopes (Vol. 2). Academic Press.
- Hobson, K. A. & Welch, H. E. 1992. Determination of trophic relationships within a high arctic marine food web using delta-c-13 and delta-n-15 analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 84, 9-18.
- Holtgrieve G.W., Schindler D.E., Branch T.A., A'mar Z.T. 2010. Simultaneous quantification of aquatic ecosystem metabolism and reaeration using a Bayesian statistical model of oxygen dynamics. *Limnology and Oceanography*, 55,1047–1063.
- Howes, R. & M. R. Perrow. 1994. Macrophyte grazing by coot (*Fulica atra*) in the broads: bird-resource interactions. In Pitt, J.-A. & G. L. Phillips (eds), *The Development of Biomanipulation Techniques & Control of Phosphorus Release from Sediments*, EC LIFE project 92-3/UKI031, NRA Report No. No. 475121A. National Rivers Authority Broad's Authority, Bristol, UK
- Hunter, K. L., Fox, D. A., Brown, L. M. & Able, K. W. 2006. Responses of resident marsh fishes to stages of *Phragmites australis* invasion in three mid Atlantic estuaries. *Estuaries and Coasts*, 29, 487-498.
- Ings, T. C., Montoya, J. M., Bascompte, J., Bluethgen, N., Brown, L., Dormann, C. F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J. I., Lauridsen, R. B., Ledger, M. E., Lewis, H. M., Olesen, J. M., van Veen, F. J. F., Warren, P. H. & Woodward, G. 2009. Ecological networks - beyond food webs. *Journal of Animal Ecology*, 78, 253-269.
- James, M. R., Hawes, I. & Weatherhead, M. 2000. Removal of settled sediments and periphyton from macrophytes by grazing invertebrates in the littoral zone of a large oligotrophic lake. *Freshwater Biology*, 44, 311-326.
- Jones, R. I., Grey, J., Sleep, D. & Arvola, L. 1999. Stable isotope analysis of zooplankton carbon nutrition in humic lakes. *Oikos*, 86, 97-104.
- Keough, J. R., Sierszen, M. E. & Hagley, C. A. 1996. Analysis of a Lake Superior coastal food web with stable isotope techniques. *Limnology and Oceanography*, 41, 136-146.
- Kornijow, R. 1996. Cumulative consumption of the lake macrophyte *Elodea* by abundant generalist invertebrate herbivores. *Hydrobiologia*, 319, 185-190.
- Lawton, J.H. 1989. Food webs. *Ecological Concepts* (Ed. by J.M. Cherrett), pp. 43-78. Blackwell Scientific, Oxford.
- Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C. M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A. E., Vaudo, J. J., Yeager, L. A., Post, D. M. & Bearhop, S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87, 545-562.
- Leo-Smith, R. & T. Smith. 2001. *Ecología*. 4a. edición. Pearson Educación, S. A. Madrid, España. 642 pp.
- Leunda, P. M., Oscoz, J., Elvira, B., Agorreta, A., Perea, S. & Miranda, R. 2008. Feeding habits of the exotic black bullhead *Ameiurus melas* (Rafinesque) in the Iberian Peninsula: first evidence of direct predation on native fish species. *Journal of Fish Biology*, 73, 96-114.
- Lewis, W. M., Hamilton, S. K., Rodríguez, M. A., Saunders, J. F. & Lasi, M. A. 2001. Foodweb analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. *Journal of the North American Benthological Society*, 20, 241-254.
- Logan, J. M. & Lutcavage, M. E. 2008. A comparison of carbon and nitrogen stable isotope ratios of fish tissues following lipid extractions with non-polar and traditional chloroform/methanol solvent systems. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22, 1081-1086.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Lonsdale, W. M., Evans, H., Clout, M. & Bazzaz, F. A. 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10, 689-710.
- Marks, J. C., Power, M. E. & Parker, M. S. 2000. Flood disturbance, algal productivity, and interannual variation in food chain length. *Oikos*, 90, 20-27.
- Matena, J. 1995. The role of ecotones as feeding grounds for fish fry in a bohemian water-supply reservoir. *Hydrobiologia*, 303, 31-38.
- Matthews, B. & Mazumder, A. 2003. Compositional and interlake variability of zooplankton affect baseline stable isotope signatures. *Limnology and Oceanography*, 48, 1977-1987.
- McClelland, J. W. & Montoya, J. P. 2002. Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. *Ecology*, 83, 2173-2180.
- McCutchan, J. H., Lewis, W. M., Kendall, C. & McGrath, C. C. 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, 102, 378-390.
- McHugh, P. A., McIntosh, A. R. & Jellyman, P. G. 2010. Dual influences of ecosystem size and disturbance on food chain length in streams. *Ecology Letters*, 13, 881-890.
- Menge, B. & J. Sutherland. 1987. Community regulation: variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. *American Naturalist* 130:730-757
- Micheli, F., Polis, G. A., Boersma, P. D., Hixon, M. A., Norse, E. A., Snelgrove, P. V. R. & Soule, M. E. 2001. Human alteration of food webs - Research priorities for conservation and management. *Conservation Biology: Research Priorities for the Next Decade*, 31-57.
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, DC
- Minagawa, M. & Wada, E. 1984. Stepwise enrichment of n-15 along food-chains - further evidence and the relation between delta-n-15 and animal age. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 48, 1135-1140.
- Murkin H.R. 1989. The basis for food chains in prairie wetlands. In: Van der Valk A (ed) *Northern prairie wetlands*. Iowa State Univ Press, Ames, pp 316-338

- Murry, B. A., Farrell, J. M., Teece, M. A. & Smyntek, P. M. 2006. Effect of lipid extraction on the interpretation of fish community trophic relationships determined by stable carbon and nitrogen isotopes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63, 2167-2172.
- Navarro, J., Coll, M., Louzao, M., Palomera, I., Delgado, A. & Forero, M. G. 2011. Comparison of ecosystem modelling and isotopic approach as ecological tools to investigate food webs in the NW Mediterranean Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 401, 97-104.
- Nelson, S. M., & Wydoski, R. 2013. Butterfly Assemblages Associated with Invasive Tamarisk (*Tamarix* spp.) Sites: Comparisons with Tamarisk Control and Native Vegetation Reference Sites. *Journal of Insects*.
- Nilsson, E., Solomon, C. T., Wilson, K. A., Willis, T. V., Larget, B. & Vander Zanden, M. J. 2012. Effects of an invasive crayfish on trophic relationships in north-temperate lake food webs. *Freshwater Biology*, 57, 10-23.
- Novomeska, A. & Kovac, V. 2009. Life-history traits of non-native black bullhead *Ameiurus melas* with comments on its invasive potential. *Journal of Applied Ichthyology*, 25, 79-84.
- Nystrom, P., Bronmak, C. & Graneli, W. 1999. Influence of an exotic and a native crayfish species on a littoral benthic community. *Oikos*, 85, 545-553.
- O'Reilly, C. M., Hecky, R. E., Cohen, A. S. & Plisnier, P. D. 2002. Interpreting stable isotopes in food webs: Recognizing the role of time averaging at different trophic levels. *Limnology and Oceanography*, 47, 306-309.
- Oberdorff, T., Pont, D., Huguency, B. & Porcher, J. P. 2002. Development and validation of a fish-based index for the assessment of 'river health' in France. *Freshwater Biology*, 47, 1720-1734.
- Parkyn, S. M., Collier, K. J. & Hicks, B. J. 2001. New Zealand stream crayfish: functional omnivores but trophic predators? *Freshwater Biology*, 46, 641-652.
- Perez, A., Mazerolle, M. J. & Brisson, J. 2013. Effects of exotic common reed (*Phragmites australis*) on wood frog (*Lithobates sylvaticus*) tadpole development and food availability. *Journal of Freshwater Ecology*, 28, 165-177.
- Peterson, B. J. & Fry, B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293-320.
- Phillips, D. L. 2001. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia*, 127, 166-170.
- Phillips, D. L. & Gregg, J. W. 2003. Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136, 261-269.
- Phillips, G. L., D. Eminson, B. Moss. 1978. A mechanism to account for macrophyte decline in progressively eutrophicated freshwaters. *Aquat. Bot.* 4: 103-126.
- Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., Semmens, B. X. & Ward, E. J. 2014. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, 92, 823-835.
- Pimm, S. L. 1982. *Food webs*. Chapman & Hall, New York.
- Pimm, S. L. & Kitching, R. L. 1987. The determinants of food-chain lengths. *Oikos*, 50, 302-307.
- Post, D. M. 2002. The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 269-277.
- Post, D. M., Pace, M. L. & Hairston, N. G. 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature*, 405, 1047-1049.
- Rennie, M. D., Sprules, W. G. & Johnson, T. B. 2009. Resource switching in fish following a major food web disruption. *Oecologia*, 159, 789-802.
- Reynolds, J. D. & O'Keefe, C. 2005. Dietary patterns in stream- and lake-dwelling populations of *Austropotamobius pallipes*. *Bulletin Francais De La Peche Et De La Pisciculture*, 715-730.
- Robinson JJ, Cavanaugh CM. 1995. Expression of form I and form II Rubisco in chemoautotrophic symbioses: implications for the interpretation of stable carbon isotopic values. *Limnol Oceanogr.* 40:1496-1502.
- Rodríguez-Jiménez, A.J. 1987. Notas sobre ecología de *Rutilus lemmingii* (steindachner-1866) (pisces: cyprinidae). *Ecología* 1: 247-256.
- Rojo, C., Mercedes Baron-Rodríguez, M., Alvarez-Cobelas, M. & Rodrigo, M. A. 2010. Sustained primary production with changing phytoplankton assemblages in a semiarid wetland. *Hydrobiologia*, 639, 55-62.
- Rojo, C., Rodrigo M.A. 2010. Plankton ecology and diversity. In: Sánchez-Carrillo S, Angeler DG (eds) *Ecology of threatened semi-arid wetland long-term research in Las Tablas de Daimiel*. Wetland: ecology, conservation and management, vol 2. Springer, Berlin, pp 137-173.
- Rosenthal, S. K., Lodge, D. M., Mavuti, K. M., Muohi, W., Ochieng, P., Mungai, B. N., & Mkoji, G. M. 2005. Comparing macrophyte herbivory by introduced Louisiana crayfish (*Procambarus clarkii*) (Crustacea: Cambaridae) and native Dytiscid beetles (*Cybister tripunctatus*) (Coleoptera: Dytiscidae), in Kenya. *African Journal of Aquatic Science*, 30(2), 157-162.
- Roth, B. M., Tetzlaff, J. C., Alexander, M. L. & Kitchell, J. F. 2007. Reciprocal relationships between exotic rusty crayfish, macrophytes, and *Lepomis* species in northern Wisconsin lakes. *Ecosystems*, 10, 74-85.
- Ruiz-Jimenez, C. 2015. El uso de los isótopos estables para el análisis de la estructura trófica y la dinámica del nitrógeno de los ecosistemas de agua dulce. Museo Nacional de Ciencias Naturales, (CSIC). Madrid.
- Sahasrabudhe, S. & Motter, A. E. 2011. Rescuing ecosystems from extinction cascades through compensatory perturbations. *Nature Communications*, 2.
- Sánchez-Carrillo, S., Alvarez-Cobelas, M. & Angeler, D. G. 2001. Sedimentation in the semi-arid freshwater wetland Las Tablas de Daimiel (Spain). *Wetlands*, 21, 112-124.

- Sánchez-Carrillo S & Angeler D.G. 2010 Ecology of threatened semiarid wetlands: long-term research in Las Tablas de Daimiel. Springer, Wetland Ecology, Conservation and Management Series, Berlin.
- Scheffer, M. 2004. Ecology of shallow lakes. Springer
- Schindler, D. E. & Scheuerell, M. D. 2002. Habitat coupling in lake ecosystems. *Oikos*, 98, 177-189.
- Schoener, T. W. 1989. Food webs from the small to the large. *Ecology*, 70, 1559-1589.
- Serrano-Grijalva, L., Sánchez-Carrillo, S., Angeler, D. G., Sanchez-Andres, R. & Alvarez-Cobelas, M. 2011. Effects of shrimp-farm effluents on the food web structure in subtropical coastal lagoons. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 402, 65-74.
- Solomon C.T., Carpenter S.R., Clayton M.K., Cole J.J., Coloso J.J., Pace M.L., VanderZander M.J., Weidel B.C. 2011. Terrestrial, benthic, and pelagic resource use in lakes: results from a three-isotope Bayesian mixing model. *Ecology*, 92, 1115–1125.
- Sondergaard, M. & Jeppesen, E. 2007. Anthropogenic impacts on lake and stream ecosystems, and approaches to restoration. *Journal of Applied Ecology*, 44, 1089-1094.
- Spies, R. B., Kruger, H., Ireland, R. & Rice, D. W. 1989. Stable isotope ratios and contaminant concentrations in a sewage-distorted food web. *Marine Ecology Progress Series*, 54, 157-170.
- Takimoto, G., Spiller, D. A. & Post, D. M. 2008. Ecosystem size, but not disturbance, determines food-chain length on islands of the Bahamas. *Ecology*, 89, 3001-3007.
- Treydte, A. C., Heitkoenig, I. M. A. & Ludwig, F. 2009. Modelling ungulate dependence on higher quality forage under large trees in African savannahs. *Basic and Applied Ecology*, 10, 161-169.
- Vander Zanden, M. J., Cabana, G. & Rasmussen, J. B. 1997. Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta N-15$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 1142-1158.
- Vander Zanden, M. J. & Fetzer, W. W. 2007. Global patterns of aquatic food chain length. *Oikos*, 116, 1378-1388.
- Vander Zanden, M. J. & Rasmussen, J. B. 1999. Primary consumer $\delta C-13$ and $\delta N-15$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, 80, 1395-1404.
- Vanderklift, M. A. & Ponsard, S. 2003. Sources of variation in consumer-diet $\delta (15) N$ enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136, 169-182.
- Wainright, S. C., Weinstein, M. P., Able, K. W. & Currin, C. A. 2000. Relative importance of benthic microalgae, phytoplankton and the detritus of smooth cordgrass *Spartina alterniflora* and the common reed *Phragmites australis* to brackish-marsh food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 200, 77-91.
- Walker, B., & Steffen, W. 1997. An overview of the implications of global change for natural and managed terrestrial ecosystems. *Conservation Ecology*, 1(2), 2.
- Walters, A. W., & Post, D. M. 2008. An experimental disturbance alters fish size structure but not food chain length in streams. *Ecology*, 89(12), 3261-3267.
- Winemiller, K. O. & Rose, K. A. 1992. Patterns of life-history diversification in north-american fishes - implications for population regulation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49, 2196-2218.
- Wolf, N., Carleton, S. A. & Del Rio, C. M. 2009. Ten years of experimental animal isotopic ecology. *Functional Ecology*, 23, 17-26.
- Woodward, G., Brown, L. E., Edwards, F. K., Hudson, L. N., Milner, A. M., Reuman, D. C. & Ledger, M. E. 2012. Climate change impacts in multispecies systems: drought alters food web size structure in a field experiment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 367, 2990-2997.
- Woodward, G., Papanotiou, G., Edwards, F. & Lauridsen, R. B. 2008. Trophic trickles and cascades in a complex food web: impacts of a keystone predator on stream community structure and ecosystem processes. *Oikos*, 117, 683-692.

Capítulo IV: Efectos de las perturbaciones antropogénicas en los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de las plantas acuáticas y su uso como indicadores en humedales



Lagunas y humedales del Alto Guadiana.

RESUMEN

En este estudio se evalúan los efectos, a escala local y regional, de las perturbaciones antropogénicas sobre la calidad ecológica de un sistema de humedales altamente amenazado en la región semiárida del Centro de España (La Mancha Húmeda) en relación con las firmas isotópicas de ^{13}C y ^{15}N de las plantas acuáticas. Se analizaron 228 plantas acuáticas correspondientes a 8 especies clasificadas en tres grupos; carófitos, macrófitos marginales y plantas acuáticas vasculares. Gran parte de las lagunas estudiadas presentan baja calidad ambiental, con un estado ecológico entre deficiente y malo. A nivel general, las plantas que están expuestas a altos niveles de nitrógeno presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ muy empobrecidos. Las plantas acuáticas vasculares son las que mejor reflejaron los enriquecimientos de nutrientes al sistema lagunar a través de correlaciones significativas entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de NT y PT en el agua. *Bolboschoenus maritimus* y *Potamogeton pectinatus* presentan valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en las lagunas con altas concentraciones de NO_3^- . *Salicornia* sp. registró valores de $\delta^{15}\text{N}$ de hasta $\delta 32$ ‰ en lagunas que reciben aguas residuales con escaso o nulo tratamiento. *Cladium mariscus*, *Typha dominguensis*, *Salicornia* sp. y *Phragmites australis* son las especies que mostraron comparativamente valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos en las lagunas con aportes de NO_3^- agrícola o con entradas aguas residuales crudas o de EDAR. Los factores demográficos no mostraron una influencia clara (positiva o negativa) en relación a las firmas isotópicas. Se observaron correlaciones inversas entre la cobertura de la vegetación natural (a nivel regional) y el $\delta^{13}\text{C}$ del grupo de las plantas marginales y el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares. Por otro lado, las firmas isotópicas de *Phragmites australis*, presente en el 96 % de las lagunas estudiadas, no estuvieron correlacionadas significativamente con ninguna de las variables relacionadas con la calidad ambiental de los ecosistemas. Aunque las firmas del $\delta^{13}\text{C}$ en *Typha dominguensis* y *Cladium mariscus* aumentaron significativamente ante los cambios en la calidad del agua, la escasa variabilidad isotópica en las firmas a nivel regional y la ausencia de una explicación fisiológica a esos cambios limitan su uso como bioindicadora de los cambios ambientales que sufre este sistema de humedales.

ABSTRACT

This study evaluated, at both local and regional scales, the effects of anthropogenic disturbances on the ecological quality of a highly threatened wetlands located in the semi-arid central Spain (La Mancha Húmeda) according with the isotopic signatures of ^{13}C and ^{15}N recorded in aquatic plants. 228 aquatic plants were analyzed corresponding to 8 species classified in three groups: charophytes, marginal aquatic macrophytes as well vascular plants. Most of the studied water bodies presented a poor environmental quality (ecological status from poor to bad). In general basis, aquatic plants exposed to high levels of nitrogen showed very low $\delta^{13}\text{C}$ values. Vascular aquatic plants were best group reflecting the effects of nutrient enrichment in lagoon and ponds through significant correlations between their $\delta^{15}\text{N}$ values and TN and TP water concentrations. *Bolboschoenus maritimus* and *Potamogeton pectinatus* showed higher $\delta^{15}\text{N}$ values in ponds with high NO_3^- concentrations. *Salicornia* sp. $\delta^{15}\text{N}$ displayed values up to $\delta 32$ ‰ in ponds receiving sewage water with scarce treatment. *Cladium mariscus*, *Typha dominguensis*, *Salicornia* sp. and *Phragmites australis* exhibited $\delta^{15}\text{N}$ values comparatively higher in those ponds with agricultural NO_3^- or raw sewage inputs. Demographic factors exerted unclear influence on the isotopic signatures. Inverse correlations between the coverage of natural vegetation (at regional level) and $\delta^{13}\text{C}$ in the group of marginal plants and $\delta^{15}\text{N}$ in vascular plants were observed. Furthermore, the isotopic signatures of *Phragmites australis*, present in 96% of the studied ponds, were not significantly correlated with any of the environmental quality variables evaluated. Although $\delta^{13}\text{C}$ signatures in *Typha dominguensis* and *Cladium mariscus* increased significantly according with changes in water quality, the narrow isotopic variability at regional scale and the absence of a physiological explanation for these changes limit its use as a bioindicator of environmental changes in this wetland system.

1. INTRODUCCIÓN

Los humedales son uno de los ecosistemas que proporcionan mayor variedad de servicios ambientales a la sociedad: abastecimiento de agua, alimentos y acervo biológico o geológico (Maltby y Acreman, 2011), regulación (meteorológica, hídrica, geomorfológica y de calidad del agua) y bienes culturales/científico/recreativos (Maltby y Acreman, 2011). Sin embargo, estos ecosistemas son muy susceptibles a cualquier perturbación lo que altera o, en muchos casos, revierte sus capacidades funcionales como respuesta a los cambios en la estructura biológica del sistema (Moreno-Mateos et al., 2012). En España, el cambio de uso del suelo para la agricultura y la urbanización intensiva es el principal motor de la pérdida de biodiversidad y ha dado lugar a la conversión del 60% de la superficie original de los humedales en los últimos cincuenta años (EME, 2011). En un estudio de caso, Zorrilla-Miras et al. (2014) encontraron que el cambio en el uso del suelo en las marismas de Doñana (SW España) ha generado una importante disminución de los servicios ambientales locales que estos humedales proporcionaban.

Los humedales pueden ser alterados por una amplia variedad de factores que pueden medirse directamente, como la entrada de una determinada sustancia tóxica y sus efectos indirectos en los peces determinados vía mortandad como respuesta a los cambios en las comunidades de algas, invertebrados y a su productividad (Wray y Bayley, 2007). Sin embargo, las vías de disturbancia son tan numerosas que la medida de todas las respuestas potenciales o pérdidas de funciones del ecosistema resulta impracticable. La búsqueda de métodos o indicadores que evalúen mediante un simple esquema de causa-efecto la salud de los humedales

es clave para determinar el alcance de la degradación sin necesidad de medir numerosos procesos y variables que resultan muy costosos y requieren de gran esfuerzo.

El desarrollo de indicadores cuantitativos fiables para determinar la calidad de los ecosistemas es un tema de gran interés en la conservación y gestión ambiental (Sorgensen et al., 2005). En los ecosistemas acuáticos, los métodos basados en una rápida determinación de la calidad del agua son los más usados como herramientas indicadoras del estado ecológico o de su salud (Hatfield et al., 2004). Esta determinación es más compleja en humedales puesto que presentan unas condiciones ambientales muy peculiares (elevada actividad microbiana, por ejemplo). La mayor parte de los métodos de determinación se basan en medidas de diferentes variables abióticas y bióticas (hidrología, nutrientes, actividad biológica, presencia o ausencia de ciertas especies, etc.), que aunque proporcionen resultados fiables, su puesta en marcha requiere de un elevado esfuerzo humano, mucho tiempo y dinero y, además, se enfrentan a su carácter instantáneo (no reflejando lo que ha podido sino lo que puede estar ocurriendo). La sensibilidad de los macrófitos acuáticos a los cambios ambientales (Keddy, 2000) los hace candidatos ideales para ser usados como bioindicadores del estado de salud de los humedales (e.g. Floristic Quality Assessment Index, López y Fennessy, 2002).

Existen diferentes indicadores biológicos que se emplean para determinar la salud de los humedales, desde las asociaciones microbianas a las aves, pasando por las algas y la vegetación, el zooplancton, los macroinvertebrados, los anfibios y los peces (Custer y Osborn, 1977; Cronquist y Brooks, 1991; Lopez y Fennessy, 2002; Whitfiel y Elliott, 2002; Foote y Rice, 2005;

Sharma y Rawat, 2009). Las plantas vasculares de los humedales son usadas a menudo como indicadores dado que responden de manera característica a la perturbación (e.g. cambios en la biomasa y composición de la comunidad), lo que es fácilmente medible (Lopez y Fennessy, 2002; Güsewell et al., 2003). En los humedales, las comunidades de algas y las plantas vasculares son muy importantes puesto que pueden ser la principal fuente de energía de los organismos de los niveles tróficos más altos. La estructura de las comunidades de algas puede ser indicadora el estatus trófico del humedal y del origen de los nutrientes (McCormick y Cairns, 1994). Las comunidades de plantas acuáticas vasculares, que incluyen macrófitos emergentes, sumergidos o flotantes, son muy sensibles a los cambios en el nivel del agua, en la composición iónica del agua y a la disponibilidad de nutrientes (Keddy, 2000). Muchos macrófitos destacan por su habilidad de asimilar contaminantes y de ser tolerantes a la contaminación; por ejemplo *Typha dominguensis* ha demostrado ser una especie muy tolerante al enriquecimiento de nutrientes en los Everglades de Florida (Inglett y Reddy, 2006).

La diversidad de las comunidades de plantas puede incrementar o disminuir en respuesta a la perturbación (Englund, 1991), mientras que la biomasa de las especies dominantes puede ser indicadora de la salud de los humedales (Chow-Fraser, 1999). Muchos lagos someros son considerados saludables si contienen vegetación acuática sumergida (Chow-Fraser, 1999). El grado de turbidez (dominancia de macrófitos acuáticos sumergidos frente a algas) es usado como un indicador del estatus trófico del ecosistema (estados estables alternativos; Scheffer, 1997). Este aspecto predice desde un punto de vista teórico-ecológico la existencia estable de un

ecosistema bajo múltiples estados y su transición (regime shift) cuando sufre una perturbación. Sin embargo, no es posible ahondar en la incidencia real sobre los efectos estructurales y funcionales de la perturbación.

Los cambios en la abundancia de los isótopos de C (^{13}C) y de nitrógeno N (^{15}N) en las plantas acuáticas han sido empleados para mostrar las respuestas ante diferentes perturbaciones antropogénicas de los humedales tales como aquellas relacionadas con el cambio climático, los cambios en los usos del suelo, la deposición atmosférica de N y la contaminación por vertidos (Cole et al., 2005; Wigand et al., 2007; Benson et al., 2008; Aerts et al., 2009), entre otras. El cociente de $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ en macrófitos acuáticos se ha propuesto también como un indicador de cambios en los nutrientes limitantes independientemente de su origen (McKee et al., 2002; Jones et al., 2004). Sin embargo, pocos estudios han usado las firmas isotópicas de ^{13}C y de ^{15}N de las plantas para cuantificar los efectos de la degradación antropogénica en los ecosistemas acuáticos (e.g. De Brabandere et al., 2007; Matuszak et al., 2011). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en la biota se han empleado recientemente como indicadores de las entradas de nutrientes antropogénicos (Bannon y Roman, 2008; Viana et al., 2011). La firma de ^{15}N en las macroalgas se ha empleado como un indicador del enriquecimiento de nutrientes por distintos tipos de descargas en los ecosistemas, como por ejemplo aguas residuales urbanas sin tratar, efluentes agrícolas, efluentes de granjas acuícolas, etc. (Camusso et al., 1998; Rogers, 1999; Lepoint et al., 2008), debido a su mayor tasa de reciclado de N y a su facilidad para ser afectadas por cambios en el ambiente (p.e. McKinney et al., 2002; Vermeer et al., 2003; Xu et al., 2011). Igualmente, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en

los macrófitos también han sido usados como indicadores de perturbaciones a escala local (De Brabandere et al., 2007; Benson et al., 2008). Por ejemplo, en los Everglades de Florida, *Typha dominguensis* y *Cladium jamaicense* presentan valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en las zonas de descargas de aguas ricas en nutrientes, principalmente de nitratos y fósforo (Inglett y Reddy, 2006). Sin embargo, estos estudios son, por lo general, muy locales y dirigidos hacia una variable de perturbación concreta y no abundan aquellos que integran los efectos de los cambios en la calidad de los ecosistemas a una escala geográfica superior (por ejemplo a nivel regional; Chang et al., 2009; Piñón-Gimate et al., 2009).

La Cuenca del Alto Guadiana, que integra a la mayor parte de los humedales de La Mancha Húmeda (LMH), la principal región de humedales de la península Ibérica, es un lugar ideal para poder evaluar la capacidad que los isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de las plantas acuáticas tienen como indicadores de la degradación de los ecosistemas. En esta Reserva de la Biosfera, diferentes factores ambientales han generado un mosaico complejo de humedales que derivan tanto de la variabilidad natural del clima Mediterráneo continental como de los cambios ambientales que están teniendo lugar a diferentes escalas, local o de ecosistema (descargas de aguas residuales, desecación, etc.), regional (sobreexplotación hidrológica o sobrefertilización de los suelos agrícolas) o global (aumento del CO_2 atmosférico; Llamas, 1988; Yustres et al., 2013). Aunque numerosos humedales de LMH, principalmente Las Tablas de Daimiel y las Lagunas de Ruidera, han sido muy estudiados en relación a sus características ecológicas, biogeoquímicas e incluso socioeconómicas (Cirujano et al., 2002; Martín et al., 2003; Piña y Álvarez-Cobelas, 2006; Piña et

al., 2006; Álvarez-Cobelas et al., 2007; Álvarez-Cobelas et al., 2011), y hay numerosos estudios que han evaluado el estado de conservación de los ecosistemas (Rodríguez et al., 1989; Cirujano y Morales, 1997; Florín y Montes, 1999a; Álvarez-Cobelas et al., 2001; Sánchez-Carrillo y Álvarez-Cobelas, 2001; Cirujano y Medina, 2002; Cirujano et al., 2008; Florín-Beltran, 2011; Sánchez-Ramos et al., 2011), de estos estudios no es posible extraer información sobre indicadores de la perturbación y su implicación en la determinación de los efectos en la estructura de los ecosistemas.

En este estudio se ha caracterizado la variabilidad de las firmas isotópicas de ^{13}C y ^{15}N en la vegetación acuática de 25 lagunas en La Mancha Húmeda (Cuenca del Alto del Guadiana) y se ha evaluado su uso como indicadores de la perturbación antropogénica y del estado ecológico de los ecosistemas. Para ello, nos hemos planteado las siguientes cuestiones: i) cómo responden las firmas de ^{13}C y ^{15}N de la vegetación acuática a los diferentes tipos de perturbación presentes, ii) qué grupos de plantas o especies son las que más cambian sus firmas de ^{13}C y ^{15}N ante las perturbaciones, y iii) es posible o no usar una especie o grupo de plantas como indicadoras, a través de sus firmas de ^{13}C y ^{15}N , de la salud del ecosistema. Los macrófitos más abundantes y que presentan mayor distribución regional han sido seleccionados como potenciales indicadores frente a aquellas especies que son poco abundantes o solo están presentes en una o algunas lagunas ya que la variación en sus registros isotópicos de ^{13}C y ^{15}N puede responder más a la variabilidad espacial que a los efectos de las alteraciones ambientales (Rabinowitz, 1981; Hutcheson et al., 1999).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 LA CUENCA DEL ALTO GUADIANA Y LA MANCHA HÚMEDA

Este estudio fue llevado a cabo en la Cuenca del Alto Guadiana (39° 16'24'' N, 3° 24'E, Fig. 1), incluyendo la zona de la Reserva de la Biosfera LMH, que cubre una superficie de cerca de 2 millones de hectáreas (Sánchez-Carrillo y Angeler, 2010). La designación de esta zona como Reserva de la Biosfera por la UNESCO en 1980 se debe a la abundancia de humedales y a que posee un alto número de lagunas de gran singularidad que están amenazadas. El gradiente de elevación de la cuenca hidrográfica varía de 430 a 1.203 m. El clima en la cuenca es semiárido Mediterráneo, con un promedio de lluvia anual que varía de 300-500 mm y un promedio anual de temperatura del aire que varía de 14° a 15° C (Donaire y González, 1998). Actualmente, más del 50% del área históricamente cubierta por los humedales en la zona se ha perdido por la sobreexplotación del acuífero de la Llanura Manchega Occidental (Unidad Hidrogeológica 04.04; Mejías-Moreno et al., 2012). Este declive a gran escala de las aguas subterráneas se ha relacionado con un fuerte incremento en la superficie de irrigación y con cambios en los cultivos agrícolas (Llamas, 1988). La concentración de NO_3^- en las aguas superficiales y subterráneas se han incrementado en casi tres cuartas partes en los últimos 30 años como resultado de la fuerte contaminación ocasionada por las prácticas agrícolas (Alvarez-Cobelas et al., 2006). Las descargas de aguas residuales no tratadas o con una depuración insuficiente pueden suponer hasta el 100% del caudal que transportan los ríos en periodos secos y llegan hasta las lagunas y humedales, donde alteran su estado trófico y sus funciones (Álvarez-Cobelas et al., 2010).

El área estudiada supone más del 80% de los humedales presentes en la Cuenca del Alto Guadiana (Sánchez-Andrés et al., 2010), con cuencas hidrográficas cuya extensión varía de las 889 ha en las lagunas intermedias del complejo Lagunas de Ruidera hasta casi las 60,000 ha que ocupa la subcuenca que drena directamente sobre Las Tablas de Daimiel. Se evaluaron un total de 25 lagunas que se distribuyen por las provincias de Cuenca, Toledo, Albacete y Ciudad Real, y

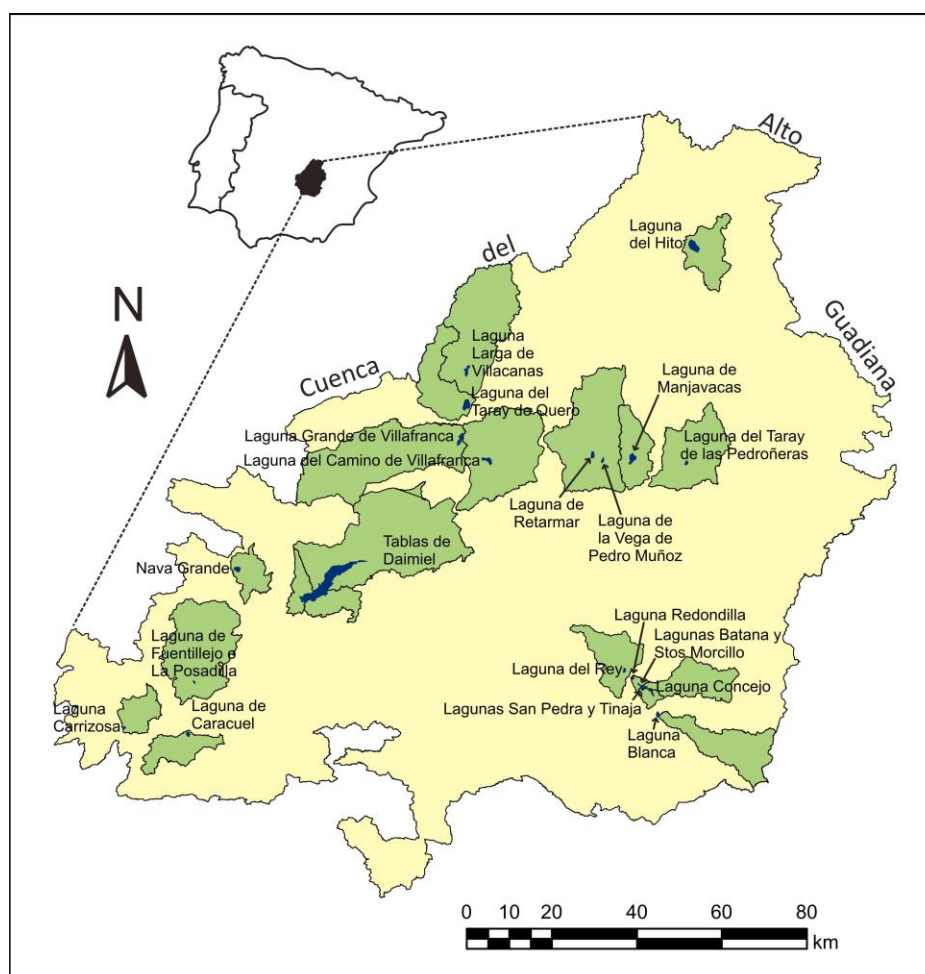


Fig. 1. Localización geográfica de la Cuenca Alta del Guadiana y de los humedales estudiados (en verde se muestran las subcuencas de cada laguna).

que pertenecen a 6 subcuencas: Ruidera, Daimiel, Riansares, Las Ánimas, Calatrava y Blanco (Tabla 1); las subcuencas de Daimiel y Ruidera son las que concentraron el mayor número de lagunas y humedales (por superficie). Las 25 lagunas estudiadas están relacionadas con 16 corrientes fluviales, siendo el río Guadiana el que llega a más lagunas (8 lagunas: Concejo, El Rey, Fuentillejo o La Posadilla, Morenilla, Redondilla, Santos Morcillo, Tablas de Daimiel y Tinaja), mientras que el resto de los ríos solamente alimentan a una o dos lagunas como máximo. El 60% de las lagunas se encuentran a más de 500 m de un curso de agua (lo que denominaremos lejos) y el 40% se encuentran a menos de 500 m (cerca).

La mayor parte de las lagunas, excepto las pertenecientes al complejo de la subcuenca Ruidera, son lagunas someras con profundidades máximas que raramente superan los 2 m. La altitud a la que se ubican oscila entre los 610 y 880 m (Tabla 1). Usando los criterios de Sánchez-Andrés et al. (2010), que agruparon los sistemas acuáticos de la cuenca según sus características hidrogeomorfológicas (Tabla 1), el 36% de las lagunas y/o humedales son masas de agua temporales, exclusivamente alimentadas por agua de lluvia, mientras que el 36% se desarrollan en llanuras de inundación (agua superficial y subterránea). Un 20% de las lagunas se alimenta en forma conjunta por aguas de lluvia y aguas subterráneas. Solamente un 4% son alimentados principalmente por aguas subterráneas (apoyados en acuíferos permeables), mientras que otro 4% también lo conforman las llanuras de inundación por agua superficial. De todas las lagunas existentes en la Cuenca del Alto Guadiana, para el propósito de este estudio sólo se consideraron

aquellas lagunas y humedales que contenían más del 5% de vegetación acuática. Son cuatro los acuíferos que abastecen a las 25 lagunas estudiadas: Mancha Occidental I, Mancha Occidental II, Campo de Montiel y Campo de Calatrava; 10 de las lagunas no cuentan con ningún acuífero (Laguna de Camino de Villafranca, Caracuel, Fuentillejo o la Posadilla, Grande de Villafranca, Hito, La Veguilla, Larga de Villacañas, Retamar, Salicor y Taray de Quero; Tabla 1).

Tabla 1. Las 25 lagunas estudiadas en la Cuenca del Alto Guadiana en LMH (39° 16' 24" N, 3° 24' E), indicando la cuenca a la que pertenecen y extensión de las subcuencas así como las características físicas básicas. Prof. Max= Profundidad máxima; Sup. Ha.= Superficie en Hectáreas de la Laguna; RH=Regímenes hidrológicos: E= estacional, SE= habitualmente estacional, en ocasiones permanente, P= permanente, SP= habitualmente permanente, en ocasiones estacional.

Laguna	Municipio	Provincia	Nombre de la cuenca	Hectareas Subcuenca	Acuífero	Clasificación hidrogomorfológica	Prof. Max.	Sup. Ha	Altitud	RH
Alcahozo	Pedro Muñoz	Toledo	Las Animas	11216.24	Mancha occidental II	LLuvia y agua subterránea	2.5	69.6	662	
Blanca	Villa hermosa	Ciudad Real	Ruidera	18255.23	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	2.0	22.0	880	SE
Camino de Villafranca	Alcázar de San Juan	Ciudad Real	Riansares	33498.47	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.0	138.5	645	SP
Caracuel	Caracuel	Ciudad Real	Calatrava	9507.02	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.4	63.0	675	SE
Concejo	Ossa de Montiel	Albacete	Ruidera	1597.77	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	14.0	29.0	880	P
El Rey	Ruidera	Ciudad Real	Ruidera	12883.03	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	20.0	38.0	800	P
Fuentillejo o La Posadilla	Valverde	Ciudad Real	Calatrava	31909.01	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.5	10.0	738	SE
Grande de Villafranca	Alcázar de San Juan	Ciudad Real	Riansares	45811.64	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.8	58.8	645	P
Hito	Montalbo-El Hito	Cuenca	Blanco	11466.37	No acuífero	Planicie inundada (agua superficial)	0.7	305.2	830	
La Inesperada	Pozuelo de Calatrava	Calatrava	Calatrava	26632.85	Campo de Calatrava	LLuvia y agua subterránea	0.3	50.7	624	
La Veguilla	Alcázar de San Juan	Ciudad Real	Riansares	33498.47	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.0	85.0	645	
Larga de Villacañas	Villacañas	Toledo	Riansares	35723.98	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.0	105.3	650	P
Manjavacas	Mota del Cuervo	Cuenca	Las Animas	11216.24	Mancha occidental II	Alimentado por agua subterránea	1.0	219.2	670	E
Morenilla	Ruidera	Ciudad Real	Ruidera	12883.03	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	6.5	6.9	785	
Navagrande	Malagón	Ciudad Real	Calatrava	7081.37	Campo de Calatrava	LLuvia y agua subterránea	1.8	100.0	620	SE
Redondilla	Ossa de Montiel	Albacete	Ruidera	889.35	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	10.0	3.0	840	SP
Retamar	Pedro Muñoz	Ciudad Real	Las Animas	36872.40	No acuífero	Alimentado por lluvia	0.8	56.0	657	E
Salicor	Campo de Criñana	Ciudad Real	Riansares	33498.47	No acuífero	Alimentado por lluvia	1.0	57.3	706	
San Pedro	Ossa de Montiel	Albacete	Ruidera	12792.30	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	21.0	29.0	840	P
Santos Morcillo	Ossa de Montiel	Albacete	Ruidera	889.35	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	14.0	12.0	800	P
Tablas de Daimiel	Daimiel/Villarrubia de los Ojos	Ciudad Real	Daimiel	58385.65	Mancha occidental I	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	2.5	1654.0	610	SP
Taray de las Pedroñeras	Las Pedroñeras-Las Mesas	Cuenca	Las Animas	22006.49	Mancha occidental II	LLuvia y agua subterránea	1.8	3.0	690	SP
Taray de Quero	Quero	Toledo	Riansares	15057.78	No acuífero	Alimentado por lluvia	2.0	231.0	649	P
Tinaja	Ossa de Montiel	Albacete	Ruidera	1597.77	Campo de Montiel	Planicie inundada (agua superficial y subterránea)	17.0	8.0	840	P
Vega de Pedro Muñoz	Pedro Muñoz	Toledo	Las Animas	36872.40	Mancha occidental II	LLuvia y agua subterránea	1.5	34.0	654	SP

2.2 MUESTREOS Y ANÁLISIS QUÍMICOS CONVENCIONALES

Se realizó un muestreo intensivo de la vegetación acuática en las citadas lagunas durante el verano de 2011. La vegetación acuática fue colectada aleatoriamente en tres sitios diferentes dentro de cada laguna. Estos sitios estuvieron suficientemente distantes entre sí como para recoger cualquier efecto de heterogeneidad espacial. El número de muestras de plantas recolectadas para cada especie en cada sitio fue, aproximadamente, en proporción a su abundancia y éstas fueron colectadas independientemente de su etapa de vida para eliminar el efecto de la edad. Solamente se muestrearon aquellas plantas que estaban presentes en al menos tres lagunas diferentes (Tabla 2).

Las especies muestreadas fueron clasificadas en tres grupos: (1) carófitos: *Chara hispida* var. *major*; (2) macrófitos emergentes marginales: *Phragmites australis*, *Cladium mariscus*, *Bolboschoenus maritimus*, *B. litoralis* y *Typha dominguensis* y; (3) plantas acuáticas vasculares: *Salicornia* sp. y *Potamogeton pectinatus*. La especie con mayor frecuencia dentro de las lagunas muestreadas fue *P. australis* (96% de las lagunas); el resto de las especies estuvieron presentes en menos del 50% de las lagunas muestreadas: *T. dominguensis* (44%), *B. maritimus* (40%), *C. mariscus* (32%), *P. pectinatus* (24%), *Salicornia* sp. (24%), *Chara hispida* var. *major* (20%) y *B. litoralis* (12%) (Tabla 2). Los carófitos fueron arrancados cuidadosamente de los sedimentos, mientras que de *P. australis*, *T. dominguensis* y *C. mariscus* se colectaron sólo hojas verdes. Del resto de especies se colectaron las plantas completas.

Todas las muestras fueron conservadas en frío (<4°C) durante su transporte al laboratorio para evitar cualquier degradación que pudiera generar algún tipo de fraccionamiento isotópico. Una vez en el laboratorio, todas las plantas fueron lavadas con HCl (5% y 1M respectivamente) durante 24-72 h para eliminar los carbonatos (Demopoulos et al., 2007; Serrano-Grijalva et al.,

Tabla 2. Inventario botánico que detalla la presencia o ausencia de las plantas acuáticas en las 25 lagunas estudiadas. 1=Presencia.

Laguna	Carófitos	Macrófitos marginales					Plantas acuáticas vasculares	
	<i>C. hispida</i> var. <i>major</i>	<i>Phragmites australis</i>	<i>Typha domingensis</i>	<i>Bolboschoenus maritimus</i>	<i>Bolboschoenus litoralis</i>	<i>Cladium mariscus</i>	<i>Salicornia</i> sp.	<i>Potamogeton pectinatus</i>
Alcahozo		1					1	
Blanca		1				1	1	
Camino de Villafranca		1		1			1	
Caracuel		1	1	1				
Concejo	1	1				1		
El Rey	1	1	1			1		
Fuentillejo o La Posadilla		1	1	1				1
Grande de Villafranca								1
Hito				1				
La Inesperada		1		1			1	
La Veguilla		1		1				
Larga de Villacañas		1						
Manjavacas		1		1			1	
Morenilla	1	1	1			1		
Nava Grande		1				1		1
Redondilla	1	1	1					
Retamar		1					1	1
Salicor							1	
San Pedra		1	1					
Santos Morcillo		1				1	1	
Tablas de Daimiel	1	1	1	1		1		1
Taray de las Pedroñeras		1	1					
Taray de Quero		1						
Tinaja		1				1		
Vega de Pedro Muñoz		1						

2011) y, posteriormente, lavados con agua destilada. Tras secado en estufa a a 60° C (>48 h), las muestras fueron trituradas mecánica y manualmente (mortero de ágata) hasta obtener un polvo fino (De Brabandere et al., 2007).

En todas las lagunas y humedales estudiados se colectaron muestras de agua en botellas de polietileno previamente lavadas con HCl, midiéndose *in situ*, conductividad y pH con una sonda Crison MM-40 multimeter (Crison Instruments, España) y temperatura del agua y oxígeno disuelto con una sonda proODO (YSI Inc., Estados Unidos). Las muestras de aguas se transportaron en frío (<4° C) al laboratorio y se congelaron hasta su preparación y posterior análisis. Se midió la concentración de clorofila-*a* del fitoplancton (extracción con metanol; Marker et al., 1980); se analizaron las diferentes fracciones del C (C orgánico total –COT, C orgánico disuelto –COD, C orgánico particulado –COP), y N orgánico disuelto-NOD empleando un analizador de C Orgánico Total marca Shimadzu, modelo TOC-V CSH, que lleva acoplado un módulo de detección de Nitrógeno Total (NT) para la serie TOC-V. Se analizaron las distintas fracciones del N inorgánico disuelto-NID (NO_3^- , NH_4^+) y el fósforo soluble (PO_4^{3-}) y total (PT) según APHA (2005), con un analizador de flujo segmentado en continuo (SEAL Analytical AutoAnalyzer 3). Todos estos análisis fueron realizados en el Laboratorio de Biogeoquímica del Museo Nacional de Ciencias Naturales del CSIC.

Tabla 3. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (promedio y error estándar) y ratios de C:N de las plantas acuáticas colectadas en cada una de las lagunas y humedales de LMH durante el verano de 2011. Tablas de Daimiel: T.P (Tabla de los Pesebres), E (Embarcadero), C. y P.N. (Corrales y Puente Navarro), Al (Algeciras), As (Asnos). Laguna de Manjavacas: canal y en la propia laguna de Manjavacas.

Especie	Laguna	Muestras	C		N		CN		$\delta^{13}\text{C}$ ‰		$\delta^{15}\text{N}$ ‰	
			PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i>	Concejo	3	27.72	1.83	1.95	0.11	14.17	0.25	-22.86	0.12	-0.89	0.06
	El Rey	3	28.16	0.69	1.94	0.03	14.56	0.42	-22.60	0.07	8.33	0.29
	Redondilla	3	20.10	0.30	0.76	0.02	26.31	0.67	-18.32	0.37	0.81	0.14
	Morenilla	4	17.66	1.97	0.94	0.16	19.29	1.75	-27.62	1.95	5.41	0.46
	Tablas de Daimiel (T.P.)	3	12.95	0.37	0.76	0.11	17.51	2.62	-14.94	0.31	9.14	1.25
<i>Bolbochoenus maritimus</i>	La Inesperada	3	40.36	0.25	1.37	0.02	29.57	0.38	-27.49	0.03	20.82	0.66
	La Veguilla	3	41.74	0.11	1.68	0.12	25.03	1.95	-27.72	0.12	17.07	0.76
	Caracuel	3	40.58	0.11	1.81	0.02	22.45	0.25	-29.97	0.15	4.88	0.05
	Fuentillejo o La Posadilla	3	43.81	0.09	2.06	0.12	21.33	1.29	-27.66	0.46	6.59	0.46
	Manjavacas	3	42.55	0.16	2.27	0.08	18.80	0.66	-28.14	0.16	16.63	0.23
	Camino de Villafranca	3	39.84	0.12	2.09	0.07	19.14	0.70	-28.45	0.06	15.40	0.09
	Hito	3	40.85	0.13	2.23	0.04	18.32	0.33	-27.90	0.11	10.21	0.22
	Tablas de Daimiel (C. y P. N.)	4	43.53	0.57	1.54	0.59	41.55	15.50	-27.10	0.57	10.26	1.75
	Tablas de Daimiel (E)	3	41.40	0.20	2.07	0.12	20.02	1.30	-30.11	0.84	13.13	1.63
	Blanca	3	40.70	0.62	0.64	0.01	63.20	1.28	-27.72	0.01	4.17	0.23
<i>Bolboschoenus litoralis</i>	Santos Morcillo	3	35.61	0.42	1.09	0.03	32.63	1.07	-28.68	0.01	16.24	0.10
	Navagrande	6	38.02	0.74	0.99	0.10	39.39	2.84	-27.00	0.70	14.79	0.92
<i>Cladium mariscus</i>	Blanca	3	45.69	0.20	0.82	0.04	55.92	2.50	-26.45	0.02	4.45	0.18
	Concejo	3	45.98	1.05	1.60	0.14	28.89	1.95	-27.24	0.25	26.52	1.13
	El Rey	3	44.77	1.19	1.26	0.04	35.65	1.68	-27.84	0.43	10.45	0.10
	Santos Morcillo	3	45.63	0.65	0.91	0.07	50.24	3.31	-26.62	0.04	7.87	0.13
	Tinaja	3	45.46	0.54	1.30	0.04	35.13	0.79	-27.56	0.13	14.31	2.33
	Morenilla	3	44.98	0.00	1.27	0.23	35.93	6.38	-27.19	0.46	7.91	0.25
	Tablas de Daimiel (Al)	1	47.29	0.00	1.07	0.00	44.10	0.00	-26.57	0.00	8.39	0.00
	Tablas de Daimiel (As)	1	47.25	0.00	1.25	0.00	37.77	0.00	-25.99	0.00	2.73	0.00
	<i>Phragmites australis</i>	Alcahozo control	3	42.59	0.37	2.68	0.13	15.96	0.78	-24.94	0.21	11.38
La Inesperada		3	40.38	0.22	2.54	0.04	15.92	0.34	-25.38	0.02	15.15	0.06
La Veguilla		3	40.41	0.20	3.03	0.04	13.36	0.24	-25.41	0.06	20.51	0.12
Blanca		3	46.07	0.20	2.96	0.05	15.57	0.28	-26.82	0.08	17.05	1.54
Caracuel		3	42.66	0.34	3.09	0.21	13.89	0.87	-26.54	0.02	9.03	0.12
Concejo		3	45.41	0.31	3.24	0.10	14.02	0.36	-25.62	0.01	26.45	1.65
Fuentillejo o La Posadilla		3	43.57	0.99	2.87	0.17	15.21	0.56	-26.40	0.21	5.00	0.08
Vega Pedro Muñoz		3	44.20	0.49	4.23	0.22	10.49	0.44	-25.89	0.57	13.46	1.06
Manjavacas		3	42.46	0.43	3.92	0.06	10.82	0.07	-26.17	0.06	0.12	0.09
Manjavacas (canal)		3	43.97	0.57	2.53	0.06	17.38	0.27	-26.21	0.13	11.84	0.74
Camino de Villafranca		3	44.15	0.34	2.58	0.18	17.18	1.02	-27.07	0.28	10.12	0.58
Retamar		3	44.09	0.25	2.61	0.08	16.93	0.58	-26.28	0.11	11.70	0.92
Taray de las Pedroñeras		3	45.94	0.57	4.21	0.13	10.91	0.26	-26.25	0.43	8.24	1.36

Tabla 3 (continuación). Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (promedio y error estándar) y ratios de C:N de las plantas acuáticas colectadas en cada una de las lagunas y humedales de LMH durante el verano de 2011. Tablas de Daimiel: G1 (parte baja del humedal), G2 (parte alta del humedal) P.N. (Puente Navarro).

Especie	Laguna	Muestras	C		N		CN		$\delta^{13}\text{C} \text{‰}$		$\delta^{15}\text{N} \text{‰}$		
			PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES	PROM	ES	
<i>Phragmites australis</i>	Taray de Quero	3	46.97	0.02	4.04	0.08	11.62	0.24	-25.21	0.08	9.85	0.01	
	El Rey	3	44.43	0.39	3.44	0.14	12.95	0.52	-26.19	0.18	9.30	0.75	
	Larga de Villacañas	3	43.32	0.10	3.70	0.13	11.71	0.38	-25.44	0.33	16.59	2.08	
	Redondilla	3	44.21	0.07	3.98	0.07	11.11	0.20	-27.63	0.13	8.21	1.69	
	San Pedra	3	45.32	0.24	3.62	0.02	12.51	0.09	-26.46	0.20	16.55	0.08	
	Santos Morcillo	3	40.50	0.28	3.04	0.03	13.33	0.03	-27.24	0.02	9.02	0.02	
	Tinaja	3	40.34	0.25	1.84	0.04	21.89	0.38	-26.52	0.01	14.28	0.33	
	Morenilla	3	39.78	1.20	2.59	0.18	15.39	0.65	-24.81	0.22	15.36	4.52	
	Navagrande	6	44.34	0.55	3.42	0.21	13.15	0.66	-26.39	0.10	11.52	0.61	
	Tablas de Daimiel (G1)	4	45.09	0.59	3.79	0.30	12.05	0.92	-27.01	0.66	11.70	1.56	
	Tablas de Daimiel (G2)	4	44.06	1.06	3.21	0.31	14.11	1.70	-26.08	0.22	11.06	1.99	
	<i>Thypha domingensis</i>	Caracuel	3	43.64	0.29	0.88	0.02	49.43	1.17	-28.93	0.07	9.09	0.08
		Fuentillejo o La Posadilla	3	43.03	0.33	1.36	0.05	31.80	1.02	-28.50	0.02	4.14	0.34
Taray de las Pedroñeras		3	43.81	1.04	1.97	0.08	22.21	0.56	-26.93	0.16	13.51	1.52	
El Rey		3	42.99	0.28	1.38	0.07	31.18	1.78	-28.83	0.02	21.53	0.09	
Redondilla		3	46.33	0.42	2.09	0.13	22.27	1.49	-29.06	0.16	6.45	0.17	
San Pedra		3	42.82	0.14	2.23	0.16	19.32	1.34	-29.81	0.04	14.98	0.21	
Morenilla		3	43.49	0.49	1.18	0.18	37.67	4.93	-27.24	0.28	14.70	1.71	
Tablas de Daimiel (G1)		4	46.17	5.21	1.63	0.15	28.57	2.67	-28.89	0.31	9.21	1.37	
Tablas de Daimiel (G2)		4	43.04	0.99	2.37	0.40	20.75	3.95	-27.84	0.30	7.16	0.90	
Tablas de Daimiel (P. N)		3	43.23	0.45	2.27	0.19	19.25	1.46	-27.72	0.30	14.24	1.67	
<i>Potamogeton pectinatus</i>	Fuentillejo o La Posadilla	3	38.39	1.00	2.43	0.10	15.87	0.99	-19.29	0.26	3.48	0.24	
	Retamar	3	36.93	0.30	2.96	0.11	12.48	0.39	-22.38	0.11	16.26	0.48	
	Grande de Villafranca	3	27.55	3.76	1.67	0.08	16.43	1.52	-14.10	0.26	2.43	0.64	
	Navagrande	6	36.10	0.91	2.17	0.12	16.76	0.57	-16.42	0.51	10.48	0.63	
<i>Salicornia</i>	Tablas de Daimiel	3	35.11	1.59	1.89	0.16	18.66	1.10	-18.86	0.62	10.01	1.99	
	Alcahozo control	3	22.07	0.61	1.90	0.09	11.63	0.25	-24.08	0.11	22.73	0.40	
	La Inesperada	3	23.56	0.31	2.34	0.04	10.06	0.08	-27.55	0.11	22.17	0.05	
	Manjavacas	3	24.50	0.46	1.49	0.06	16.42	0.63	-27.82	0.06	16.53	0.23	
	Camino de Villafranca	3	22.59	0.34	1.56	0.08	14.47	0.49	-25.54	0.04	32.14	0.37	
	Retamar	3	22.63	0.12	1.69	0.07	13.40	0.65	-25.42	0.08	14.61	0.37	
	Salicor	3	21.02	0.26	1.65	0.04	12.71	0.34	-24.64	0.16	17.56	0.06	

2.3 ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES

Se realizó el análisis de isótopos estables de ^{13}C y ^{15}N de un total de 228 muestras correspondientes a las 8 especies de plantas acuáticas citadas previamente (Tabla 3).

La composición isotópica fue determinada a través de espectrometría de Masas de Razones Isotópicas (IRMS) en el Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Arizona, Estados Unidos (http://www.geo.arizona.edu/research/iso_lab.html) a través de la proporción de isótopos estables ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$). Se utilizaron dos estándares, la desviación del estándar Peedee belemnite (PDB) para C y N_2 atmosférico para el N. Los resultados obtenidos se expresan en partes por mil (‰) respecto a las diferencias con los estándares según la siguiente ecuación: $\delta^{13}\text{C}$ o $\delta^{15}\text{N}$ (‰) = $[(R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1] \times 10^3$, donde $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ o $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. La precisión analítica de las replicas de los análisis fue menor a 0.2‰.

2.4 DATOS HISTÓRICOS DE CALIDAD DEL AGUA, USOS DEL SUELO Y SOCIOECONOMÍA

Se recopiló información ambiental histórica y actualizada de diferentes entidades gubernamentales de Castilla-La Mancha (Consejería de Medio Ambiente, Consejería de Agricultura, Confederación del Guadiana, Consorcio del Alto Guadiana, etc.). Se extrajo información espacial del Mapa Nacional de Usos y Cobertura del Suelo de 1978 (Ministerio de Agricultura), de la base de datos de uso y cobertura del suelo CORINE Land Cover para 1990 y 2000, del modelo de elevación digital del terreno del Centro Nacional de Información Geográfica (CNIG) a 25 m de resolución espacial, de fotografías aéreas del SIGPAC

(<http://pagina.jccm.es/agricul/sigpac.htm>) y de mapas geológicos digitales del IGME (Serie Magna 1:50.000). También se tomaron datos socioeconómicos y demográficos del Instituto Nacional de Estadística (INE; <http://www.ine.es/intercensal>). Otras fuentes de información consultadas fueron: Armengol et al. (1975), Cirujano (1980a, 1980b, 1980c), Velayos et al. (1989), Cirujano (1990), Cirujano et al. (1990), MOPU (1990), Cirujano et al. (1992), Cirujano et al. (1996), Vicente y Miracle (1998), Florín y Montes (1999b), Álvarez-Cobelas et al. (2001), y Cirujano y Medina (2002), Sánchez-Carrillo y Angeler (2010). Para detectar la escala a la que ocurren los cambios ambientales se evaluaron los usos y actividades socioeconómicas a escala local (en un buffer de 100 m alrededor de las lagunas o, en términos socioeconómicos, la población cercana a la laguna) y escala regional (la subcuenca que engloba a la laguna). Los datos de uso y cobertura del suelo fueron agrupados en 5 clases según el nivel de naturalidad: 1) Vegetación natural: compuesto por coníferas, bosques caducifolios, encinares, matorrales y pastizales, 2) Tierras de cultivo de secano: principalmente trigo, 3) Tierras de cultivo de regadío: maíz, girasol, y otros vegetales, así como olivos y viñedos, 4) Campos de cultivo de secano: una mezcla de tierras de cultivo de secano y regadío, y 5) Zonas urbanas.

Posteriormente se definieron distintas clases sintéticas según el uso del suelo/cobertura vegetal que dominaba en cada subcuenca. En esta unidad básica (subcuenca) se definieron posteriormente las variables espaciales relacionadas con los usos y coberturas del suelo así como las variables socioeconómicas de carácter regional de modo que pudieran utilizarse como indicadores de la presión ambiental que sufren las lagunas. Todos los datos espaciales fueron integrados mediante un SIG construido con el paquete ArcGIS 9.2 (ESRI, 2006).

Para determinar las principales fuentes de contaminación de las lagunas y humedales de este estudio, se consultaron las bases de datos e informes del estudio de las características medioambientales-hidrológicas de las lagunas y humedales pertenecientes a la Zona Húmeda Manchega (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM) y Confederación Hidrográfica del Guadiana (CHG) (2008). De igual forma, realizaron inventarios en cada una de las lagunas de LMH durante las visitas para toma de muestras.

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se utilizó la correlación de Pearson para relacionar las firmas isotópicas de ^{13}C y ^{15}N de los macrófitos acuáticos con (1) la calidad química del agua y (2) las variables fisiográficas, demográficas y socioeconómicas asociadas a las actividades antropogénicas. Para las correlaciones de Pearson entre las variables antropogénicas y las firmas isotópicas de las plantas acuáticas se tomaron en cuenta los datos más actuales de lo que se disponían (año 2000 y en algunos casos 2011), dado que la mayoría de las plantas analizadas tienen un ciclo de vida relativamente corto (entre uno y pocos años) y éstas, además, demostraron relacionarse mejor con las variables estudiadas en análisis exploratorios (datos no mostrados). Se realizaron test ANOVAs (con *post hoc* de Bonferroni) para comparar las firmas isotópicas entre los grupos de plantas y especies individuales y las lagunas donde fueron colectadas. Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo con el programa estadístico IBM SPSS base 20.

3. RESULTADOS

3.1 CAMBIOS EN LA COBERTURA VEGETAL Y LOS USOS DEL SUELO DE 1978-2000

En la región estudiada, el tipo de uso y cobertura del suelo dominante son los cultivos de secano que alcanzan una extensión actual de más de 282.000 ha. Las zonas con vegetación natural ocupan un 19% de la extensión total con algo más de 79.000 has. La principal variación desde 1978 ocurre en los cultivos de secano y en los campos de secano-regadío: en 1990 se había reducido la extensión de cultivos de secano en más de 63.000 ha (15%) a expensas del incremento de los campos de secano-regadío, que aumentaron su extensión a más de 64.000 ha. La cobertura total de vegetación natural se redujo en el ciclo 1978-1990 en 12.600 ha y solamente dos lagunas (Tinaja y Santos Morcillo) mantuvieron durante este periodo el 100% de su vegetación natural (Tabla 4). Los cambios reflejan pérdidas de más del 60% de la vegetación natural de 1978 a 2000, principalmente en tres lagunas: Blanca, San Pedra y Nava Grande. Las Tablas de Daimiel reflejan un declive de la vegetación natural de más del 40%.

De forma general, las lagunas donde domina la vegetación natural se encuentran en la subcuenca de Ruidera (excepto la laguna Blanca), mientras que en el resto predominan las tierras de cultivo de tipo secano (Tabla 4). Las Lagunas de Alcahozo, Grande de Villafranca, Hito, Manjavacas, Retamar, Taray de las Pedroñeras y Vega de Pedro Muñoz muestran mayor porcentaje de incremento de los cultivos de secano en el año 2000 (Tabla 4).

EFFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA DE LOS HUMEDALES A TRAVÉS DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES

Tabla 4. Cobertura y usos del suelo en el entorno local de las 25 lagunas estudiadas durante el periodo de 1978-2000. En % de la superficie total.

Laguna	Vegetación natural		Cultivos de seco			Regadío			Campos Secano regadío			Urbano		
	1978	1990	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000
Alcahozo	0	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Blanca	60	0	40	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Camino de Villafranca	0	0	100	0	50	0	38	38	0	63	13	0	0	0
Caracuel	10	0	90	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Concejo	60	53	0	7	7	13	0	0	0	0	0	27	40	40
El Rey	60	53	0	7	7	13	0	0	0	0	0	27	40	40
Fuentillejo o La Posadilla	9	0	82	87	87	9	13	13	0	0	0	0	0	0
Grande de Villafranca	0	0	100	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Hito	100	67	0	33	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0
La Inesperada	0	0	29	57	57	14	0	0	0	0	0	43	43	43
La Veguilla	0	0	100	0	50	0	38	38	0	63	13	0	0	0
Larga de Villacañas	45	6	55	18	53	0	41	41	0	35	0	0	0	0
Manjavacas	27	0	73	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Morenilla	86	67	14	0	0	0	33	33	0	0	0	0	0	0
Nava Grande	0	60	100	40	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Redondilla	67	100	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Retamar	0	0	63	0	25	0	0	0	0	25	0	38	75	75
Salicor	44	0	56	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
San Pedra	7	95	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Santos Morcillo	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tablas de Daimiel	42	0	5	93	93	53	0	0	0	7	7	0	0	0
Taray de las Pedroñeras	0	0	100	44	100	0	0	0	0	56	0	0	0	0
Taray de Quero	21	0	79	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Tinaja	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vega de Pedro Muñoz	0	0	63	0	25	0	0	0	0	25	0	38	75	75

A nivel Regional las subcuencas que engloban a las lagunas de El Hito, Vega de Pedro Muñoz y Retamar presentan los mayores porcentajes de cultivo de secano en el año 2000 (Tabla 5). Son pocas las lagunas que suprimieron cualquier actividad agraria a nivel local, como Redondilla, San Pedra, Santos Morcillo y Tinaja, las cuales presentaban cultivos de secano en el año de 1978 y en el año 2000 dejaron de registrar estas actividades.

Las áreas de influencia urbana se han incrementado del 2.3 al 3.3% y en el año 2000 ocupaban 13.770 ha en toda la región estudiada, una extensión superior a la que ocupan los campos de secano-regadío. La urbanización en las lagunas ha aumentado visiblemente desde 1990 (Tabla 4). A nivel local, las áreas urbanas se encuentran localizadas en cinco lagunas (Vega de Pedro Muñoz, Retamar, La Inesperada, El Rey y Conceja), que para el año 2000 alcanzaron porcentajes de cobertura del 75%, 75%, 43%, 40% y 40%, respectivamente (Tabla 4). No obstante, a nivel regional, las áreas urbanas influyen en todas lagunas, siendo las lagunas Redondilla y Santos Morcillo las que cuentan con porcentajes más altos (8.8% ambas), mientras que las lagunas Blanca y San Pedra son las que tienen porcentajes menores de cobertura urbana (0.7% y 0.8% respectivamente; Tabla 5).

EFFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA DE LOS HUMEDALES A TRAVÉS DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES

Tabla 5. Cobertura y usos del suelo en el entorno regional (subcuenca) de las 25 lagunas estudiadas durante el periodo de 1978-2000. Se da en % de la superficie de cada subcuenca.

Laguna	Vegetación Natural			Cultivos de Secano			Regadío			Campos secano regadío			Urbano		
	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000
Alcahozo	6	3	3	88	64	90	0	2	2	0	27	0	6	5	6
Blanca	36	38	37	62	53	51	1	8	11	0	1	0	1	1	1
Camino de Villa franca	15	3	2	80	62	74	1	11	11	0	18	6	5	6	7
Caracuel	35	47	47	62	48	42	1	1	1	0	3	8	1	2	2
Concejo	68	76	76	27	13	15	2	1	2	0	6	3	3	4	4
El Rey	68	76	76	27	13	15	2	1	2	0	6	3	3	4	4
Fuentillejo o La Posadilla	35	38	36	50	47	48	14	11	12	0	1	0	1	4	4
Grande de Villafranca	13	14	14	78	54	78	7	5	5	0	25	0	2	2	3
Hito	8	2	2	89	94	93	0	1	1	0	0	0	3	3	4
La Inesperada	10	12	11	58	50	56	30	2	3	0	34	27	2	2	3
La Veguilla	15	3	2	80	62	74	1	11	11	0	18	6	5	6	7
Larga de Villacañas	7	7	7	88	49	80	3	7	7	0	35	3	2	2	3
Manjavacas	6	3	3	88	64	90	0	2	2	0	27	0	6	5	6
Morenilla	68	76	76	27	13	15	2	1	2	0	6	3	3	4	4
Nava Grande	18	24	23	57	44	48	18	20	23	0	8	1	6	5	5
Redondilla	86	91	91	5	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9
Retamar	6	7	6	92	78	92	1	1	0	0	14	0	1	1	1
Salicor	15	3	2	80	62	74	1	11	11	0	18	6	5	6	7
San Pedra	42	46	46	53	38	46	4	4	7	0	11	0	1	1	1
Santos Morcillo	86	91	91	5	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9
Tablas de Daimiel	47	20	20	48	56	54	2	12	13	0	7	8	2	5	5
Taray de las Pedroñeras	8	10	9	81	66	82	8	3	3	0	20	5	3	1	1
Taray de Quero	10	5	5	87	26	86	0	1	2	0	63	2	3	5	5
Tinaja	70	83	83	17	5	5	3	5	5	0	0	0	10	7	7
Vega de Pedro Muñoz	6	7	6	92	78	92	1	1	0	0	14	0	1	1	1

3.2 DEMOGRAFÍA Y SECTORES PRODUCTIVOS EN EL PERIODO 1978-2000

Desde el punto de vista demográfico, aunque la tendencia es variable y depende del área seleccionada, en datos absolutos hay un incremento poblacional tanto a nivel de municipio (1978-90: 7.4%, 1990-00: 1.6%) como en las subcuencas (1978-90: 1.0%, 1990-00: 1.5%).

La tendencia de los sectores productivos es, en términos generales, bastante similar a escalas local y regional y puede resumirse en un fuerte declive de la ocupación del empleo en la agricultura, destacando un mayor porcentaje en esta actividad en las lagunas de Taray de las Pedroñeras, a nivel local (Tabla 6), y, a nivel regional, en la laguna de El Hito (30.4%; Tabla 7). En contraposición, aumentó la ocupación en la industria (más importante a nivel local), que llega a suponer hasta el 57% de la ocupación en el entorno local de la laguna Larga de Villacañas (Tabla 6).

EFFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA DE LOS HUMEDALES A TRAVÉS DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES

Tabla 6. Evolución de la ocupación laboral en los diferentes sectores productivos en los municipios a los que pertenecen las 25 lagunas y humedales estudiados durante el periodo de 1978-2000.

	% Empleo en Agricultura			% Empleo en Industria			% Empleo en Servicios			% Empleo en Construcción		
	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000
Alcahozo	39	21	14	15	21	20	30	38	47	18	19	19
Blanca	33	23	14	31	24	22	21	28	41	15	25	22
Camino de Villafranca	57	41	23	16	18	24	22	23	40	6	18	12
Caracuel	62	29	18	10	13	13	22	39	52	5	19	17
Concejo	71	35	19	7	12	18	21	32	40	2	22	23
El Rey	26	29	27	3	14	13	14	30	36	8	27	24
Fuentillejo o La Posadilla	4	2	2	11	10	7	78	80	85	7	8	7
Grande de Villafranca	47	12	6	8	17	19	21	30	40	23	41	35
Hito	70	40	33	0	7	7	18	34	52	13	18	10
La Inesperada	35	15	7	28	29	27	24	38	51	14	18	15
La Veguilla	57	41	23	16	18	24	22	23	40	6	18	12
Larga de Villacañas	22	10	6	31	52	57	31	24	30	16	15	7
Manjavacas	48	22	16	7	13	13	25	40	48	21	24	23
Morenilla	26	29	27	3	14	13	14	30	36	8	27	24
Nava Grande	46	21	16	9	21	18	35	39	48	10	19	18
Redondilla	71	35	19	7	12	18	21	32	40	2	22	23
Retamar	29	20	13	23	29	26	34	36	46	14	15	15
Salicor	27	13	7	20	23	19	43	47	55	11	17	20
San Pedra	71	35	19	7	12	18	21	32	40	2	22	23
Santos Morcillo	71	35	19	7	12	18	21	32	40	2	22	23
Tablas de Daimiel	43	19	12	12	15	13	28	33	46	17	33	29
Taray de las Pedroñeras	68	52	37	5	9	15	21	27	35	7	12	14
Taray de Quero	57	41	23	16	18	24	22	23	40	6	18	12
Tinaja	71	35	19	7	12	18	21	32	40	2	22	23
Vega de Pedro Muñoz	29	20	13	23	29	26	34	36	46	14	15	15

EFFECTOS DEL CAMBIO GLOBAL EN LA ESTRUCTURA TRÓFICA DE LOS HUMEDALES A TRAVÉS DEL USO DE ISÓTOPOS ESTABLES

Tabla 7. Evolución de la ocupación laboral en los diferentes sectores productivos en las subcuencas que drenan las 25 lagunas y humedales estudiados durante el periodo de 1978-2000.

Laguna	% Empleo en Agricultura			% Empleo en Industria			% Empleo en Servicios			% Empleo en Construcción		
	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000	1978	1990	2000
Alcahozo	47	28	20	13	19	17	26	33	42	15	21	21
Blanca	47	30	20	14	20	19	28	32	44	12	18	18
Camino de Villafranca	45	22	14	13	20	21	27	32	41	15	25	24
Caracuel	58	26	15	12	17	14	24	36	56	7	21	15
Concejo	52	29	17	19	18	20	21	30	41	9	23	23
El Rey	44	30	22	9	16	17	21	28	37	10	26	24
Fuentillejo o La Posadilla	30	18	10	10	15	11	43	46	58	17	21	22
Grande de Villafranca	38	18	11	14	21	21	31	33	41	17	29	27
Hito	64	42	30	6	12	11	22	31	45	8	15	14
La Inesperada	29	16	7	15	17	14	43	47	62	14	20	17
La Veguilla	45	22	14	13	20	21	27	32	41	15	25	24
Larga de Villacañas	43	27	16	18	25	33	24	28	36	15	20	14
Manjavacas	47	28	20	13	19	17	26	33	42	15	21	21
Morenilla	44	30	22	9	16	17	21	28	37	10	26	24
Nava Grande	45	28	15	8	14	11	34	35	51	12	23	23
Redondilla	52	29	17	19	18	20	21	30	41	9	23	23
Retamar	41	25	17	15	20	20	31	34	42	14	20	21
Salicor	45	22	14	13	20	21	27	32	41	15	25	24
San Pedra	52	29	17	19	18	20	21	30	41	9	23	23
Santos Morcillo	52	29	17	19	18	20	21	30	41	9	23	23
Tablas de Daimiel	49	22	15	11	16	18	27	32	41	13	30	26
Taray de las Pedroñeras	48	35	23	9	14	14	30	35	44	12	16	20
Taray de Quero	41	22	15	16	26	31	26	28	37	17	23	17
Tinaja	52	29	17	19	18	20	21	30	41	9	23	23
Vega de Pedro Muñoz	41	25	17	15	20	20	31	34	42	14	20	21

3.3 CALIDAD DEL AGUA DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES

Durante el periodo de muestreo (Mayo-Julio 2011) las condiciones físico-químicas de las lagunas fueron representativas del periodo más crítico por el que pasan los ecosistemas anualmente. En verano, la reducción de los aportes de agua, las elevadas temperaturas, la elevada producción orgánica y el incremento de las descargas residuales, aumentan la turbidez, las tasas de degradación orgánica y el déficit de oxígeno. Las lagunas se diferencian principalmente por las concentraciones de C orgánico total. De igual forma, las concentraciones de NO_3^- variaron considerablemente, fluctuando de 0 a 42.99 mg $\text{NO}_3^- \text{ l}^{-1}$ (Tabla 9). El PT y el NT también mostraron amplios rangos entre las lagunas (0.02 a 1.97 g P l^{-1} y 0.094 a 19.96 mg N l^{-1} , respectivamente; Tabla 8). El NH_4^+ y el PO_4^{3-} estuvieron casi siempre por debajo del límite de detección (menos de 0.1 mg $\text{NH}_4^+ \text{ l}^{-1}$ y menos de 0.1 mg P l^{-1}), aunque la laguna Taray de las Pedroñeras mostró altas concentraciones en ambos (ej. 21.2 mg $\text{NH}_4^+ \text{ l}^{-1}$ y 5.96 mg P l^{-1}).

La abundancia de algas fitoplanctónicas, medida como concentración de clorofila-*a*, fue muy variable entre las lagunas estudiadas, oscilando entre 0.28 y 42.20 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Tabla 9). También la conductividad fue una de las variables con alta oscilación, variando desde los valores más bajos en Caracuel (477 $\mu\text{S/cm}$) a los más altos en Salicor (76.000 $\mu\text{S/cm}$).

Según los criterios de la OCDE (Ryding y Rast, 1992), el 24% de las lagunas presentan rangos de concentraciones críticas de eutrofización (concentraciones de PO_4^{3-} mayores a 3.5 mg l^{-1} ; Tabla 8), mientras que el 76% de las lagunas, presenta condiciones ultraoligotróficas y

oligotróficas. La laguna de Fuentillejo muestra concentraciones de clorofila-*a* acordes con condiciones mesotróficas y la laguna de Taray de las Pedroñeras tiene índices asimilables a condiciones hipertróficas (según PT). Durante el periodo de 1978 a 2000 en el 99% de las lagunas se incrementó el grado de trófico (al menos se mantuvo en el mismo nivel en la Larga de Villacañas y Taray de Quero). Solamente una laguna, Retamar, presentó decremento en el grado de eutrofización (Tabla 8).

Tabla 8. Características fisicoquímicas del agua en las 25 lagunas estudiadas en verano del 2011. El grado de eutrofización corresponde al año 2011. Según criterios OCDE (Ryding y Rast, 1992): 1: oligotrófico= TP<0,01, 2: Mesotrófico= 0.01<TP<0,035, 3: eutrófico=0.035<TP<0.1, eutrófico, 4: hipertrófico= TP>0.1.

Laguna	pH	Conductividad	Oxígeno	Fluorescencia	Nitrógeno	Fósforo	Amonio	Nitrato	Ortofosfato	Chl-a	C orgánico	C orgánico	Nivel de eutrofización
		eléctrica	mg/L		Total	Total					Total	disuelto	
		µS/cm			mg N/L	mg P/L	mg NH ₄ ⁺ / L	mg NO ₃ ⁻ /L	mg P/ L	µg/L	mg C/L	mg C / L	
Alcahozo	9.89	15350	11.4	2.27	2.5240	0.0830	0.1300	0.0001	0.0150	2.00	18.22	18.13	3
Blanca	8.28	648	7.8	0.08	9.2300	0.0330	0.0300	38.5730	0.0400	0.40	2.05	2.02	2
Camino de Villafranca	9.30	33500	18.0	35.02	10.8000	0.8670	0.3930	0.0000	1.3520	42.20	63.58	53.34	3
Caracuel	10.05	477	12.3	2.65	1.2870	0.2300	0.1480	0.1900	0.3340	1.50	12.07	11.75	3
Concejo	7.97	694	8.3	0.11	9.6850	0.0360	0.0040	41.6410	0.0400	0.40	2.83	2.59	3
El Rey	7.97	511	9.5	0.70	9.8610	0.0200	0.0190	40.3710	0.0280	1.10	1.88	1.82	2
Fuentillejo o La Posadilla	8.18	1392	6.2	6.51	1.7210	0.1130	0.1770	0.2570	0.0140	10.10	19.20	19.03	3
Grande de Villafranca	8.66	9440	8.2	3.57	1.4220	0.0730	0.0810	0.2170	0.1350	0.50	15.19	14.92	3
Hito	9.18	68900	14.5	3.71	13.4500	0.0590	1.4640	0.0180	0.0400	1.00	132.70	125.00	4
La Inesperada	9.76	14380	10.7	3.32	2.7720	0.4350	0.3446	0.0133	0.5888	1.03	25.36	23.46	4
La Veguilla	9.10	32500	17.0	33.71	10.8000	0.8670	0.3930	0.0001	0.4412	42.20	63.58	53.34	2
Larga de Villacañas	8.60	21100	8.2	80.53	11.3400	0.7500	0.5340	0.0000	0.8310	35.30	48.66	44.00	0
Manjavacas	9.89	15350	11.4	2.27	2.5240	0.0830	0.1300	0.0000	0.0460	2.00	18.22	18.13	2
Morenilla	7.76	757	9.8	0.54	9.9134	0.2453	0.0808	42.2833	0.0369	1.93	1.70	1.58	2
Nava Grande	9.24	2080	11.6	4.74	1.3470	0.0530	0.0860	0.0710	0.0430	2.20	14.59	14.46	3
Redondilla	7.90	578	8.6	1.16	9.8190	0.0350	0.0170	42.3060	0.0370	1.40	2.04	1.49	2
Retamar	9.70	10170	12.0	2.27	1.9020	0.0440	0.0600	0.0220	0.0430	0.40	14.61	13.81	2
Salicor	8.45	76000	5.5	7.82	5.4080	0.2380	2.6794	2.8697	0.1012	0.28	44.43	41.57	3
San Pedra	7.94	615	9.6	0.59	9.9460	0.0670	0.0040	42.9880	0.0400	1.30	1.62	1.53	4
Santos Morcillo	8.13	626	9.1	0.50	9.6830	0.0160	0.0000	42.1420	0.0340	0.50	2.91	2.82	2
Tablas de Daimiel	8.11	2308	10.2	4.16	0.9432	0.0403	0.0400	0.2360	0.0187	7.50	9.72	9.17	4
Taray de las Pedroñeras	7.70	1365	2.9	4.04	19.9600	1.9650	21.2010	0.4160	5.9580	0.60	6.48	6.23	4
Taray de Quero	8.14	4370	9.9	62.56	3.0980	0.0410	0.1850	3.2730	0.0430	30.10	10.82	9.96	2
Tinaja	7.79	646	8.4	0.32	9.6070	0.0420	0.0140	41.4200	0.0370	0.40	1.56	1.46	2
Vega de Pedro Muñoz	7.59	8210	2.1	3.67	5.2570	0.6580	0.7350	0.0000	1.0330	0.40	24.83	22.40	3

3.4 PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES

En la Tabla 9 se presenta una clasificación cualitativa de las principales fuentes de contaminación que reciben las lagunas estudiadas y la alteración más destacada de su entorno. Las lagunas de LMH presentan entradas de contaminación principalmente por fuentes puntuales asociadas a las descargas de aguas residuales, residuos sólidos urbanos en los márgenes, aunque también algunas lagunas reciben, ocasionalmente, contaminación por descargas de industrias agroalimentarias, textiles y salineras e incluso metales, incluido cianuro y arsénico (e.g. Taray de Quero y Larga de Villacañas). La fuente difusa de contaminación predominante es la agricultura, principalmente por fertilizantes, la cual está presente en el 44% de las lagunas (Alcahozo, Camino de Villafranca, Fuentillejo o La Posadilla, El Hito, La Veguilla y Larga de Villacañas, Manjavacas, Morenilla, Redondilla, Salicor y Taray de las Pedroñeras). Seguidamente, los restos ganaderos (principalmente estiércol) están presentes en el 40% del entorno de las lagunas. Otra fuente de contaminación son las pérdidas de aguas sépticas en edificaciones instaladas en el litoral de algunas lagunas, hecho que ocurre en el 16% de las lagunas (El Rey, Morenilla, Tablas de Daimiel, Taray de Quero).

Tabla 9. Fuentes de contaminación, alteraciones y frecuencia de contaminantes, en las 25 lagunas y humedales estudiadas. EDAR= estaciones depuradoras de aguas residuales; RAR=Recibe aguas residuales o EDAR; FEC= Frecuencia de Entrada de Contaminantes. H: habitual, CN: casi nula, O: ocasional.

Laguna	RAR	FEC	Fuentes difusas	Fuente puntual
Alcahozo	Sí	H	Agricultura, residuos sólidos urbanos, extracción de masas subterráneas, zanjas de drenaje	Residuos sólidos urbanos
Blanca	No	CN	Canales de drenaje, conducciones y acueductos exteriores	
Camino de Villafranca	Sí	H	Agricultura, caminos, cultivos y granjas en la orla ecotonal	Vertidos de la EDAR de Alcázar por el canal del Taray
Caracuel	No	CN	Granja bovina, pozo fuente ferruginoso	
Concejo	No	CN	Áreas urbanas, canalización de diques travertinos	
El Rey	No	O	Descargas de aguas domésticas, caño modificados. Obras hidráulicas. Caseta Union Fenosa	
F.o La Posadilla	No	CN	Agricultura, ganadería no estabulada. Zanja. Pozo seco	No se han observado
Grande de Villafranca	Sí	H	Cantera para extracción de arcillas cercana	Vertidos urbanos y de tormentas pluviales de las urbanizaciones en el perímetro lagunar
Hito	No	CN	Agricultura, zanjas de drenaje, explotación ganadera	Vertedero urbano controlado de Montalbo. Vertido de residuos sólidos y líquidos
La Inesperada	Sí	H		Entrada habitual de aguas procedentes de depuradoras
La Veguilla	Sí	H	Rellenos, puentes, red pluvial. Agricultura, actividad ganadera	Vertido directo de las aguas de la EDAR de Alcázar de San Juan. Red de canalización de vertidos.
Larga de Villacañas	Sí	H	Actividad urbana, agrícola, industrial e infraestructura de transportes. Escombreras de residuos sólidos (Urbana e industrial)	Vertidos de la EDAR de Villacañas, Red de canalización, emisarios de la EDAR, industria de la madera vertidos. Depósitos químicos de sustancias con coloraciones, restos de industria salinera. (Cu, Zn, Mn y As)
Manjavacas	Sí	H	Agricultura, (extracción de masas subterráneas). Zanjas de entradas, Pozos de explotación	Vertido directo de las aguas de la EDAR de Mota del Cuervo.
Morenilla	Sí	H	Agricultura: cultivos, ganadería no estabulada. Explotaciones en proximidades de la laguna, rutas turísticas. Zanjas perpendiculares y perimetrales para recoger agua. Granja.	
Nava grande	No	CN		No se han observado
Redondilla	No	CN	Agricultura, ganadería, líneas de alta tensión (montones de residuos sólidos urbanos). Zona de drenaje	Cantera para extracción de yesos, circuito car/trial y nubes de polvo
Retamar	No	CN	Bombeo sistemático, zanjas, parcelas agrícolas en el vaso, granja de porcinos. Infraestructura de comunicación, industrial, granjas de porcino (extracción de masas subterráneas)	
Salicor	No	CN	Agricultura, infraestructuras de transportes para agricultura y ganadería. Zanja de canalización del arroyo de San Marcos	
San Pedra	No	O	Descargas de aguas domésticas	
Santos Morcillo	No	CN		
Tablas de Daimiel	Sí	H	Ganadería y pastoreo. Vertidos de contaminantes industriales, residuos sólidos urbanos, actividades urbanas (viviendas)	Estercoleras, vertidos residuales urbanos, vertido directo de las aguas de la EDAR de Villarubia. Entradas ocasional de contaminantes
Taray de las Pedroñeras	Sí	H	Plantaciones de olivos en el vaso de la laguna. Frutales. Residuos sólidos inertes. Construcción y derivados de la agricultura. Granjas	Entrada habitual de aguas procedentes de depuradora
Taray de Quero	Sí	O	Lixiviados, agroquímicos, residuos sólidos urbanos, depósitos de sales y lodos negros fétidos, actividades urbanas, escombros.	Vertido directo de la EDAR de Quero. Vertidos de la industria agroalimentaria. Entrada ocasional de aguas contaminadas. Metales como Ni, As, Ba y Mg así como cianuro.
Tinaja	No	CN		
Vega de Pedro Muñoz	Sí	H	Zanjas de drenaje, vertido de emisario del pueblo	Entrada habitual de aguas procedentes de depuradora

3.5 FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES DE LA MANCHA HÚMEDA

El rango de variación isotópico de las especies de plantas acuáticas muestreadas fue muy amplio, con valores de $\delta^{13}\text{C}$ que oscilaron desde -30.18 a -13.84‰ y de $\delta^{15}\text{N}$ de 0.99 a 32.74‰. *Potamogeton pectinatus* presentó los valores de $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecidos (promedio -17.91±2.8‰; Tabla 10), mientras que *T. dominguensis* y *B. maritimus* presentaron los valores de $\delta^{13}\text{C}$ más negativos (promedio -28.39±0.9‰ y promedio -28.01±0.94‰, respectivamente; Tabla 10). En contraste, *C. hispida* var. *major* presentó el promedio más bajo en el $\delta^{15}\text{N}$ (4.61±4.07‰) y *Salicornia* sp. mostró el promedio más alto (20.96±5.97‰; Tabla 10).

Todas las especies mostraron diferencias significativas en ambas firmas entre las lagunas colectadas ($p < 0.01$), con la única excepción de fue *B. litoralis*, que mostró valores de $\delta^{13}\text{C}$ similares en las tres lagunas donde fue colectada ($p = 0.18$). Las proporciones isotópicas de cada una de las especies en función de la laguna encontrada están representadas en la Fig. 2.

Las firmas isotópicas fueron diferentes significativamente en los tres grupos funcionales establecidos: carófitos, macrófitos marginales y plantas acuáticas marginales (test ANOVA: $\delta^{13}\text{C}$ gl:2, F:87.23, $p < 0.001$; $\delta^{15}\text{N}$ gl:2, F:16.59, $p < 0.001$; Tabla 10). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos se encontraron en el grupo de plantas vasculares y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ más bajos los mostraron los carófitos (Tabla 10). En cambio, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ fueron significativamente más negativos en

los macrófitos marginales y los valores de $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecidos se presentaron en carófitos y plantas vasculares, que también fueron muy similares (Tabla 10; Fig. 2).

Las especies que componen el grupo funcional de las plantas vasculares mostraron diferencias significativas en ambas firmas, (test ANOVA $\delta^{13}\text{C}$ gl:1, F:114.44, $p < 0.001$; $\delta^{15}\text{N}$ gl:1, F:43.88, $p < 0.001$), mientras que las especies representantes de los macrófitos emergentes marginales difirieron únicamente en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (gl:4, F:46.72, $p < 0.001$), siendo *P. australis* diferente del resto de las especies.

Tabla 10. Valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas acuáticas colectadas en las 25 lagunas de LMH estudiadas. Promedio, desviación estándar (DE), Min (mínimo), Max (Máximo) y rango.

	N	No. Lagunas	$\delta^{13}\text{C}$					$\delta^{15}\text{N}$				
			Promedio	DE±	Min	Max	Rango	Promedio	DE±	Min	Max	Rango
Todas las Plantas acuáticas	228	25	-25.87	3.39	-30.18	-13.84	16.40	12.04	6.35	-0.99	32.74	31.75
Por grupo												
Macroalgas	16	5	-21.66	4.85	-30.00	-14.62	15.38	4.56	4.07	-0.99	11.10	12.09
Plantas marginales	176	23	-27.15	1.27	-30.18	-24.51	5.67	12.13	5.49	0.01	28.56	28.54
Plantas vasculares	36	10	-21.88	4.58	-27.88	-13.84	14.04	14.91	8.18	1.66	32.74	31.08
Por especie												
<i>Chara hispida</i> var. <i>Major</i>	16	5	-21.66	4.85	-30.00	-14.62	15.38	4.61	4.07	-0.99	11.10	12.09
<i>Bolboschoenus maritimus</i>	27	8	-28.01	0.94	-30.18	-26.29	3.89	12.63	5.38	4.79	21.53	16.74
<i>Bolboschoenus litoralis</i>	12	3	-27.60	1.27	-28.83	-25.58	3.25	12.50	5.25	3.86	18.15	14.29
<i>Cladium mariscus</i>	19	7	-27.14	0.62	-28.25	-26.44	1.82	12.72	8.00	4.28	28.07	23.80
<i>Phragmites australis</i>	78	22	-26.20	0.77	-28.23	-24.51	3.72	12.21	5.30	0.01	28.56	28.54
<i>Typha dominguensis</i>	39	8	-28.39	0.91	-29.91	-26.62	3.29	11.29	5.10	3.60	21.64	18.04
<i>Potamogeton pectinatus</i>	18	5	-17.91	2.80	-22.47	-13.84	8.63	8.86	4.94	1.66	16.70	15.04
<i>Salicornia</i> sp.	18	6	-25.84	1.44	-27.88	-23.91	3.97	20.96	5.97	14.11	32.74	18.63

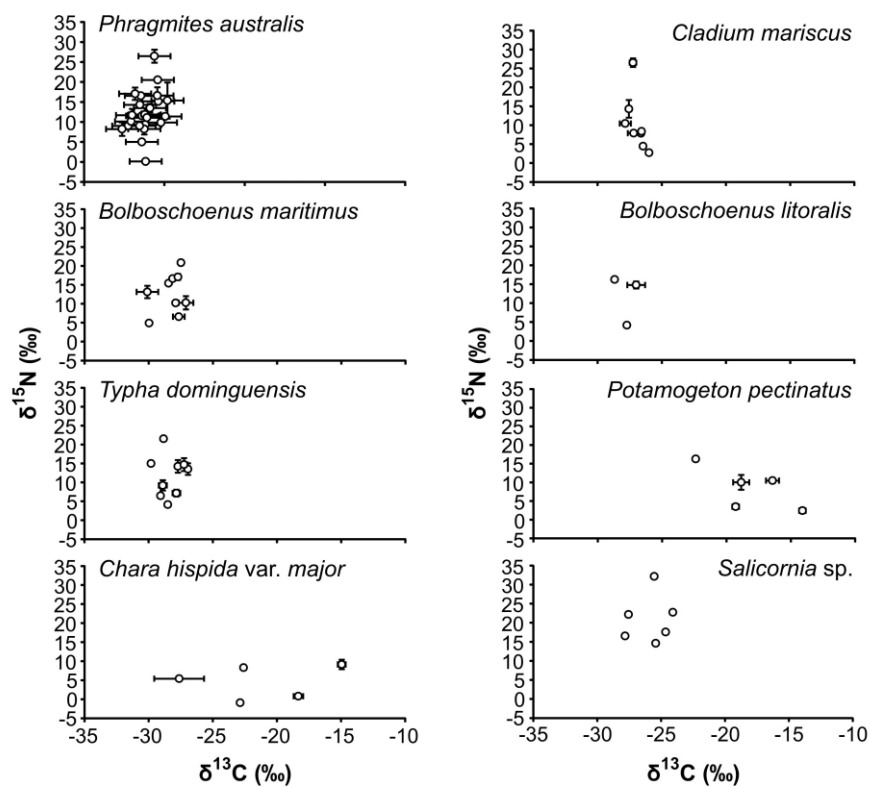


Fig. 2. Gráficos biplot enfrentando los promedios y desviaciones estándar de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de cada una de las plantas acuáticas colectadas en cada laguna y humedal donde fueron muestreadas durante el verano de 2011.

3.6 RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, LOS CAMBIOS DEMOGRÁFICOS, ASÍ COMO CALIDAD DEL AGUA DE LOS ECOSISTEMAS DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES Y LAS FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

La superficie inundada y el tamaño de la subcuenca mostraron una relación positiva con las firmas de ^{13}C de todas las plantas acuáticas estudiadas (Tabla 11). De igual forma, tanto la profundidad máxima como la población del municipio fueron correlacionadas positivamente con el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas vasculares (Tabla 11). Individualmente, la población de la subcuenca presentó una correlación negativa con el $\delta^{13}\text{C}$ de *P. australis*, pero se relacionó de forma positiva con *P. pectinatus*. La población a nivel de municipio se correlacionó positivamente con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de todas las plantas vasculares. Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *T. dominguensis* y de *P. pectinatus*, fueron correlacionados inversamente con la población de la subcuenca, mientras que el tamaño de población a nivel de municipio se correlacionó de forma positiva con el $\delta^{15}\text{N}$ de *T. dominguensis* (Tabla 11).

Las variables relacionadas con la calidad del agua parecieron influir más (mostraron un mayor número de correlaciones) en las firmas isotópicas de las plantas acuáticas estudiadas. La concentración del NT en el agua se correlacionó negativamente con el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas, cuando se incluyeron todas las especies (Tabla 11). El pH del agua explicó de manera inversa la variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas vasculares (Tabla 11). Las concentraciones de COT y de COD explicaron la variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ de *C. mariscus*. Las concentraciones tanto del PT como del NH_4^+ y del PO_4^{3-} explicaron la variabilidad de $\delta^{13}\text{C}$ de *T. dominguensis* (Tabla 11). Por

otra parte, el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares se correlacionó con las concentraciones del NT, oxígeno disuelto, PT, PO_4^{3-} , COT y COD (Tabla 11). Las concentraciones de NO_3^- en el agua se correlacionaron inversamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de *Bolboschoenus maritimus* y de *P. pectinatus* (Tabla 11). Asimismo, la fluorescencia, el PT, el PO_4^{3-} y la Chl-*a* explicaron la variabilidad del $\delta^{15}\text{N}$ de *Salicornia* sp. (Tabla 11).

Tabla 11. Valores de los coeficientes de correlación de Pearson (R) entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ medidos en las plantas acuáticas y las variables físicas, químicas y demográficas. Prof. Max.: Profundidad máxima (m), Altitud (msnm), Ha: Superficie promedio inundada promedio (1998-2011), Ha 2011 Superficie inundada 2011, Ha Sub.: Superficie promedio de la subcuenca, Población=Población (número de habitantes); Pob. Sb 2000=Población por Subcuenca año 2000=; Pob. mun 2000=Población por municipio año 2000=; Cond.: Conductividad eléctrica, Fluor.: Fluorescencia, NT: Nitrógeno Total, PT: fósforo total, NH_4^+ : Amonio, NO_3^- : Nitrito, PO_4^{3-} : Ortofosfato, COT=Carbono Orgánico Total; COD= Carbono Orgánico Disuelto. ** $P < 0.05$; *** $P < 0.001$.

$\delta^{13}\text{C}$	Prof. max.	Altitud	Ha	Ha 2011	Ha Sub	Pobl.	Pob.Sb 2000	Pob. mun 2000	pH	Cond.	O ₂	Fluor.	NT	PT	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	Chl a	COT	COD
Plantas acuáticas	-0.21	-0.33	0.01	0.43**	0.53***	0.10	0.16	0.32	-0.05	-0.07	-0.16	-0.01	-0.43**	-0.17	-0.09	-0.27	-0.12	-0.07	-0.14	-0.13
Por grupo																				
Pl. marginales	-0.31	0.07	-0.31	-0.07	0.02	-0.35	-0.28	-0.14	0.1	0.02	-0.2	0.44	-0.07	0.2	0.08	-0.26	0.12	0.21	-0.03	-0.03
Pl. vasculares	0.63**	0.30	-0.20	0.33	0.39	0.29	0.52	0.62**	-0.63**	-0.45	-0.33	-0.21	-0.49	-0.48	-0.29	-0.11	-0.39	-0.2	-0.48	-0.49
Por especie																				
<i>C. hispida</i> var. <i>major a</i>	-0.34	-0.56	0.73	0.73	0.59	0.60	0.78	0.70	0.82	0.66	0.09	0.8	-0.74	-0.78	-0.59	-0.73	-0.67	0.62	0.75	0.72
<i>B. maritimus b</i>	-0.31	0.14	-0.17	0.02	0.18	-0.11	0.06	-0.28	-0.36	0.15	-0.1	0.06	0.12	-0.05	0.12	-0.15	-0.09	-0.04	0.14	0.13
<i>B. litoralis b</i>	-0.91	-0.62	0.88	0.90	0.42	0.08	-0.90	-0.87	0.89	0.83	0.59	0.78	-0.85	0.99	0.97	-0.87	0.99	0.8	0.79	0.79
<i>C. mariscus b</i>	-0.67	-0.57	0.35	0.63	0.65	0.63	0.58	0.28	0.73**	0.64	0.23	0.6	-0.68	0.11	0.28	-0.66	-0.11	0.38	0.72**	0.72**
<i>P. australis b</i>	-0.16	-0.31	0.45	-0.01	0.07	-0.12	-0.49**	-0.35	0.13	0.24	0.01	0.31	-0.09	0.09	-0.01	-0.24	-0.01	0.18	0.19	0.21
<i>T. dominguensis b</i>	-0.40	-0.17	0.17	0.01	0.11	-0.07	-0.07	-0.14	-0.27	0.21	-0.51	0.22	0.37	0.65**	0.62**	-0.25	0.61**	-0.12	-0.01	-0.01
<i>P. pectinatus c</i>	0.56	-0.29	-0.06	-0.09	-0.13	-0.14	0.92***	0.79	-0.23	-0.03	-0.3	0.2	-0.29	0.19	0.07	0.44	0.67	-0.18	0.05	0.1
<i>Salicornia</i> sp c	0.67	0.45	-0.51	-0.44	0.20	0.75	0.08	-0.03	-0.41	0.41	-0.12	0.15	0.2	-0.08	0.35	0.38	-0.13	0.09	0.21	0.23
$\delta^{15}\text{N}$																				
Plantas acuáticas	0.09	-0.12	-0.10	-0.08	0.02	-0.08	-0.18	-0.28	0.22	0.35*	0.29	0.25	0.2	0.27	-0.03	-0.07	0.06	0.34	0.25	0.22
Por grupo																				
Pl. marginales	0.32	-0.03	0.13	-0.21	-0.14	-0.27	-0.21	-0.10	-0.04	0.09	0.09	0.15	0.28	0.12	-0.07	0.22	0.01	0.15	0.06	0.04
Pl. vasculares	-0.40	-0.25	-0.12	-0.26	-0.33	-0.21	-0.22	-0.47	0.6	0.46	0.70**	0.6	0.77***	0.75***	0.21	0.01	0.72**	0.55	0.71**	0.69**
Por especie																				
<i>C. hispida</i> var. <i>major a</i>	-0.18	-0.80	0.58	0.58	0.75	0.74	0.75	0.76	0.33	0.53	0.94**	0.59	-0.56	-0.01	0.31	-0.59	-0.83	0.67	0.49	0.52
<i>B. maritimus b</i>	-0.46	-0.43	-0.10	-0.11	0.00	-0.35	0.10	-0.11	0.36	0.24	0.37	0.35	0.25	0.52	0.03	-0.76**	0.42	0.33	0.1	0.07
<i>B. litoralis b</i>	0.58	-0.66	0.30	0.26	-0.97	-0.99	-0.27	0.64	0.28	0.39	0.68	0.47	-0.36	-0.06	0.06	-0.33	-0.3	0.45	0.46	0.45
<i>C. mariscus b</i>	0.54	0.50	-0.35	-0.38	-0.53	-0.50	-0.55	-0.21	-0.43	-0.37	-0.43	-0.43	0.42	-0.27	-0.23	0.42	0.35	-0.21	-0.35	-0.36
<i>P. australis b</i>	0.16	0.28	-0.17	-0.14	-0.01	-0.05	-0.05	-0.20	-0.2	0.1	0.06	0.12	0.29	0.02	-0.16	0.32	-0.12	0.14	0.11	0.09
<i>T. dominguensis b</i>	0.76	0.45	-0.09	-0.11	-0.16	0.02	-0.27**	0.23**	-0.24	-0.25	0.08	-0.57	0.42	0.12	0.12	0.43	0.12	-0.4	-0.56	-0.54
<i>P. pectinatus c</i>	-0.33	-0.44	0.21	0.26	-0.05	0.20	-0.84**	-0.57	0.57	0.17	0.89**	-0.61	0.02	-0.72	-0.56	-0.94***	-0.43	-0.46	-0.44	-0.48
<i>Salicornia</i> sp c	0.13	-0.45	0.10	-0.36	0.08	-0.10	0.63	0.14	-0.04	0.04	0.71	0.85**	0.81	0.89**	-0.16	-0.27	0.89**	0.87**	0.73	0.7

3.7 RELACIONES ENTRE EL USO Y COBERTURA DE LOS SUELOS, LOS ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS EN EL ENTORNO LOCAL Y REGIONAL DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES Y LAS FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

Se encontraron relaciones significativas entre las firmas isotópicas de las plantas tanto a nivel de grupo como por especies y las variables de cobertura y socioeconomía (Tabla 12 y 13). No obstante, no se observó un patrón de comportamiento definido. A escala local, el uso y la cobertura del suelo no mostró ningún efecto significativo en el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas estudiadas (Tabla 12). En cambio sí mostraron relación significativa con el $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla 12). Los cultivos de secano se relacionaron inversamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas marginales mientras que los cultivos de regadío se relacionaron positivamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de *Salicornia* sp. A escala regional, la vegetación natural influyó inversamente en el $\delta^{13}\text{C}$ de los macrófitos marginales y de las plantas vasculares, y particularmente de *C. mariscus* (Tabla 13). Por su parte, los campos de cultivo de secano se relacionaron positivamente con el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas marginales (Tabla 13), mientras que la vegetación natural se relacionó de manera inversa con el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares y de *B. maritimus* (Tabla 13).

Respecto a los aspectos socioeconómicos, a escala local, el empleo en la agricultura se relacionó inversamente con el $\delta^{13}\text{C}$ de todas las plantas acuáticas y de *C. mariscus*; el empleo en la industria se relacionó con el $\delta^{13}\text{C}$ de los macrófitos marginales; el empleo en la construcción se relacionó con el $\delta^{13}\text{C}$ de todas las plantas acuáticas; y el empleo en los servicios con el $\delta^{13}\text{C}$ de *C. mariscus*. Por su parte, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas acuáticas mostraron aún mayor

número de relaciones significativas con la socioeconomía local (Tabla 12). El empleo dedicado a la agricultura se relacionó positivamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares y de *T. dominguensis*. La ocupación industrial se relacionó con el $\delta^{15}\text{N}$ de todas las plantas acuáticas, macrófitos marginales, plantas vasculares y la especie *B. maritimus* y, finalmente, los servicios mostraron principalmente relaciones negativas con los valores $\delta^{15}\text{N}$ de los macrófitos marginales y, en particular con la especie *T. dominguensis*. A escala regional la influencia de la socioeconomía en el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas fue baja (Tabla 13). Únicamente el empleo en la industria mostró relación con el $\delta^{13}\text{C}$ de los macrófitos marginales y el empleo en la construcción con el $\delta^{13}\text{C}$ de todas las plantas acuáticas y de las plantas vasculares. En contraste, los aspectos socioeconómicos mostraron mayor influencia en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas acuáticas. Por ejemplo, el empleo en la agricultura se relacionó con el $\delta^{15}\text{N}$ de *T. dominguensis* y *P. pectinatus*, el empleo en la industria se relacionó negativamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de *C. hispida* var. *major*, el empleo en la construcción se relacionó con el $\delta^{15}\text{N}$ de *C. hispida* var. *major* y, finalmente, el empleo en los servicios, se relacionó inversamente con el $\delta^{15}\text{N}$ de *T. dominguensis* (Tabla 13). Sin embargo, a nivel de grupos no apareció ninguna con relación significativa entre el empleo y el $\delta^{15}\text{N}$ (Tabla 13).

Tabla 12. Correlaciones de Pearson (valores de R) entre los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ medidos en las plantas acuáticas y las variables de cobertura y uso de suelo y socioeconomía a nivel local del año 2000 (datos más recientes). ** $P < 0.05$; *** $P < 0.001$. a = carófitos; b = macrófitos marginales, c = plantas vasculares. Veg.Nat.= Vegetación natural año 2000; Cult.Sec.= Cultivos de Secano año 2000; Regadío= Cultivo de Regadío año 2000; Sec-Reg.= Cultivos de secano-regadío año 2000; Urbano= Urbano año 2000; % Agric.= % Empleo en agricultura año 2000; % Ind. = % Empleo en industria año 2000; % Const.= % Empleo en la construcción año 2000; % Serv.= % Empleo en los servicios año 2000.

	Veg. nat.	Cut. sec.	Regadío	Sec-Reg.	Urbano	% Agric.	% Ind.	% Const.	% Serv.
$\delta^{13}\text{C}$									
Plantas acuáticas (todas)	-0.25	0.30	-0.13	0.01	-0.04	-0.42**	0.04	0.49**	-0.02
Macrófitos marginales	-0.33	0.16	0.19	-0.20	0.23	-0.13	0.55***	-0.32	-0.22
Pl. acuat. vasculares	0.39	0.13	-0.19	0.00	-0.34	-0.28	-0.41	0.46	0.04
Por especie									
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> a	-0.45	0.91	-0.82	0.73	-0.15	-0.87	0.21	0.59	0.86
<i>Bolboschoenus maritimus</i> b	0.08	-0.25	0.08	0.06	0.21	-0.13	0.09	-0.08	0.09
<i>Bolboschoenus litoralis</i> b	-0.47	0.47	-	-	-	-0.62	0.09	-0.89	0.89
<i>Cladium mariscus</i> b	-0.63	0.77	-0.23	0.65	-0.59	-0.80**	0.14	0.51	0.08**
<i>Phragmites australis</i> b	-0.28	0.12	0.30	-0.10	0.11	0.00	0.26	-0.25	-0.09
<i>Typha dominguensis</i> b	-0.35	0.26	0.47	-0.01	-0.21	0.44	-0.29	-0.16	-0.16
<i>Potamogeton pectinatus</i> c	0.33	0.48	-0.17	-0.14	-0.71	-0.11	-0.16	0.57	-0.27
<i>Salicornia</i> sp c	-	0.11	0.10	0.10	-0.17	0.07	0.11	-0.19	-0.06
$\delta^{15}\text{N}$									
Plantas acuáticas (todas)	-0.07	-0.23	0.33	0.36	0.27	0.05	0.44**	-0.30	-0.25
Macrófitos marginales	0.27	-0.48**	0.33	0.08	0.15	0.07	0.39	-0.02	-0.42**
Pl. acuat. vasculares	-0.16	-0.30	0.49	0.39	0.16	0.64**	0.64**	-0.39	-0.38
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> a	-0.87	0.58	-0.10	0.57	0.47	0.02	-0.92	0.75	0.17
<i>Bolboschoenus maritimus</i> b	-0.16	-0.41	0.28	0.27	0.57	0.06	0.76**	0.02	-0.49
<i>Bolboschoenus litoralis</i> b	0.96	-0.96	-	-	-	0.89	0.10	-0.28	0.28
<i>Cladium mariscus</i> b	0.62	-0.58	0.13	-0.40	0.01	0.26	0.17	-0.40	-0.29
<i>Phragmites australis</i> b	0.25	-0.38	0.33	0.13	0.03	0.01	0.37	0.03	-0.38
<i>Typha dominguensis</i> b	0.26	-0.40	0.00	-0.12	0.70**	0.60**	0.24	0.33	-0.64**
<i>Potamogeton pectinatus</i> c	0.16	-0.74	-0.51	0.20	0.71	0.77	0.62	-0.16	-0.39
<i>Salicornia</i> sp. c	-	-0.13	0.86**	0.86**	-0.42	0.60	0.31	-0.57	-0.63

Tabla 13. Correlaciones de Pearson (valores de R) entre los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ medidos en las plantas acuáticas y las variables de cobertura y uso de suelo y socioeconomía a nivel regional del año 2000 (datos más reciente). * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$. a = carófitos; b = macrófitos marginales, c = plantas vasculares. Veg.Nat.= Vegetación natural año 2000; Cult.Sec.= Cultivos de Secano año 2000; Regadío= Cultivo de Regadío año 2000; Sec-Reg.= Cultivos de secano-regadío año 2000; Urbano= Urbano año 2000; % Agric.= % Empleo en agricultura año 2000; % Ind. = % Empleo en industria año 2000; % Const.= % Empleo en la construcción año 2000; % Serv.= % Empleo en los servicios año 2000.

	Veg.Nat.	Cult.Sec.	Regadío	Sec-Reg.	Urbano	% Agric.	% Ind.	% Const.	% Serv.
$\delta^{13}\text{C}$									
Plantas acuáticas (todas)	-0.19	0.17	0.24	-0.10	0.00	-0.34	0.14	0.49**	-0.13
Macrófitos marginales	-0.40**	0.44**	-0.13	-0.04	-0.11	-0.02	0.43**	-0.22	-0.20
Plantas acuáticas vasculares	0.66**	-0.45	0.55	-0.37	-0.21	-0.20	-0.16	0.71**	-0.09
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> a	-0.59	0.53	0.59	0.47	0.36	-0.79	0.29	0.34	0.73
<i>Bolboschoenus maritimus</i> b	-0.35	0.19	0.19	0.07	0.28	-0.06	-0.02	0.17	-0.04
<i>Bolboschoenus litoralis</i> b	-0.97	0.88	0.99	0.82	-0.53	-0.31	-0.91	0.00	0.96
<i>Cladium mariscus</i> b	-0.71**	0.70	0.66	0.48	-0.18	-0.53	-0.05	0.02	0.60
<i>Phragmites australis</i> b	-0.33	0.34	-0.14	0.20	-0.17	0.06	0.20	-0.22	-0.08
<i>Typha dominguensis</i> b	-0.24	0.29	-0.10	0.20	-0.06	0.47	-0.41	0.03	-0.10
<i>Potamogeton pectinatus</i> c	0.14	-0.23	0.35	-0.12	0.36	-0.50	-0.01	0.61	-0.02
<i>Salicornia</i> sp. c	-0.50	0.34	0.32	-0.48	0.24	0.32	0.57	0.59	-0.56
$\delta^{15}\text{N}$									
Plantas acuáticas (todas)	-0.25	0.17	0.09	0.37	0.09	-0.07	0.23	-0.04	-0.11
Por grupo									
Macrófitos marginales	0.11	-0.15	0.01	0.16	0.10	-0.13	0.28	0.06	-0.16
Plantas acuáticas vasculares	-0.73**	0.38	-0.27	0.33	0.42	0.22	0.30	-0.44	-0.10
Por especie									
<i>Chara hispida</i> var. <i>major</i> a	-0.70	0.76	0.43	0.85	-0.79	0.33	-0.89**	0.91**	-0.47
<i>Bolboschoenus maritimus</i> b	-0.75**	0.43	-0.07	0.48	0.48	-0.20	0.46	0.11	-0.12
<i>Bolboschoenus litoralis</i> b	0.42	-0.63	-0.10	0.40	0.93	-0.88	-0.24	0.98	0.10
<i>Cladium mariscus</i> b	0.56	-0.60	-0.32	-0.46	0.44	-0.13	0.55	-0.05	-0.09
<i>Phragmites australis</i> b	0.16	-0.20	0.15	0.08	-0.07	-0.09	0.30	0.00	-0.18
<i>Typha dominguensis</i> b	0.17	-0.10	-0.28	-0.01	-0.27	0.73**	0.30	0.20	-0.61**
<i>Potamogeton pectinatus</i> c	-0.56	0.33	-0.13	0.22	-0.21	0.94***	0.21	-0.32	-0.36
<i>Salicornia</i> sp. c	-0.15	-0.39	0.53	0.22	0.47	-0.27	0.10	0.19	0.06

4. DISCUSIÓN

4.1 CALIDAD AMBIENTAL DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES

Aunque el periodo de muestreo representa las condiciones físico-químicas anuales más críticas de las lagunas y humedales, no parece que el oxígeno sea un limitante de los procesos biogeoquímicos (oxidación de la materia orgánica, principalmente), y el cual está condicionado por la actividad fotosintética de algas y macrófitos sumergidos. Una fracción importante de las lagunas estudiadas puede considerarse como lagos salinos, con concentraciones superiores a 5 mg/L de sales disueltas (Hardie et al., 1978) y, algunas de ellas, como la Laguna del Camino de Villafranca, Salicor y la Laguna del Hito, rozan la hipersalinidad. Esta salinidad, en cualquier caso, es variable anualmente y se incrementa durante el periodo de estiaje debido a la intensa evaporación. El tipo iónico más frecuente en la región es el sulfatado clorurado-magnésico sódico (Cirujano y Medina, 2002). Este aspecto tiene consecuencias importantes en la presencia o ausencia de ciertas plantas acuáticas y con diferentes estrategias de adaptación (reducción de tamaño, acortamiento de ciclos biológicos, producción de gran cantidad de semillas y esporas; Cirujano y Medina, 2002).

Las Lagunas de Ruidera, La Veguilla, Larga de Villacañas, San Pedra, Santos Morcillo, Tinaja, Camino de Villafranca, Taray de las Pedroñeras e Hito, muestran elevadas concentraciones de N, aunque la fracción dominante es distinta: en las lagunas pertenecientes a la subcuenca Ruidera domina el NO_3^- , mientras que en el resto de las lagunas lo hace el NH_4^+ . La

elevada carga de NO_3^- se asocia con la sobrefertilización del acuífero del Campo de Montiel (Eugercios-Silva, 2013), que drena sus aguas ricas en NO_3^- en las lagunas, con concentraciones superiores a 50 mg/L, por encima del límite máximo establecido según la Directiva 80/778/CE (Varela, 1991; Álvarez-Cobelas y Cirujano, 2007). Las altas concentraciones de NH_4^+ llevan asociadas elevados niveles de PT y proceden de descargas de aguas residuales domésticas.

Desde la década de 1960 se vienen publicando numerosos trabajos sobre el impacto de las aguas residuales en los ecosistemas acuáticos del Alto Guadiana (e.g., Armengol et al., 1975; Sáez-Royuela, 1977; Alvarez-Cobelas y Cirujano 1996; Sánchez-Carrillo y Álvarez-Cobelas 2001; Cirujano et al., 2002; Alvarez-Cobelas et al., 2007; Sánchez-Carrillo y Angeler, 2010). Sin embargo, la gestión de las aguas residuales sigue siendo un punto débil que impide la conservación e incluso la recuperación de numerosas lagunas de elevada importancia ecológica. En los países mediterráneos las precipitaciones son, en promedio, escasas e irregulares, lo que da como resultado flujos fluviales con bajos y esporádicos caudales, que no ayudan a la reducción de los impactos de las aguas residuales por dilución ya que ésta es, en muchas ocasiones durante el ciclo estival, la única aportación de agua que recibe el ecosistema acuático (Álvarez-Cobelas et al., 2011).

Gran parte de las lagunas estudiadas presentan baja la calidad ambiental, con estado ecológico entre deficiente y malo. El 48% recibe aguas residuales, de las cuales el 12% no recibe ningún tratamiento y, tomando en cuenta que en la mayoría de las lagunas el agua descargada

supone el 100% de su caudal, en estos humedales semiáridos que son altamente dependientes de la hidrología, esto representa una alteración significativa en el flujo de los nutrientes, el metabolismo de las comunidades y en la descomposición, así como en las interacciones y respuestas de las plantas (Wetzel, 1990). Este impacto es más acentuado en las comunidades planctónicas y bentónicas y, como consecuencia, en sus redes tróficas (Gislason et al., 2009; Rojo y Rodrigo, 2010).

4.2 RESPUESTA DE LAS FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DE LA VEGETACIÓN ACUÁTICA A LOS DIFERENTES TIPOS DE PERTURBACIÓN PRESENTES EN LMH

La alta variabilidad en el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas acuáticas así como las diferencias significativas entre las especies y los tres grupos estudiados confirman, de manera general, el alto grado de variación en el fraccionamiento isotópico del ^{13}C y ^{15}N dentro de las lagunas y humedales estudiados, mostrando, a su vez, una gran diversidad de fuentes de C y de N, y su sesgo de las transformaciones biogeoquímicas en función de las fuentes y condiciones bióticas y abióticas (Heaton, 1986; Robinson, 2001; Bedard-Haughn et al., 2003; Burks et al., 2006). En este estudio se observa claramente cómo las especies de plantas acuáticas están influenciadas isotópicamente tanto a nivel local como a regional por las perturbaciones antropogénicas y que éstas, a su vez, muestran un carácter distintivo en función de las condiciones biofísicas de partida de cada humedal.

El patrón observado de los valores promedios de $\delta^{13}\text{C}$ muy negativos en las plantas acuáticas se explicó estadísticamente en relación a las altas concentraciones de NT y por las diversas fuentes de C y P, que están claramente relacionadas con las entradas de contaminantes orgánicos en el agua. El proceso de empobrecimiento en $\delta^{13}\text{C}$ en las plantas acuáticas tiene una explicación fisiológica relacionada con la actividad fotosintética, que disminuye ante los enriquecimientos de nutrientes mediante una mayor apertura de los estomas, que hace que se equilibren los niveles de CO_2 internos en las hojas con la concentración del CO_2 atmosférico, dándose una discriminación en contra del ^{13}C que ocasiona que las hojas de las plantas fijen C isotópicamente más negativo (Inglett y Reddy, 2006). *Cladium mariscus* fue la especie que mostró una respuesta más evidente en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ a las fuentes de C. *Typha dominguensis*, por su parte, mostró una fuerte dependencia en la firma de ^{13}C a las concentraciones del PT y PO_4^{3-} en el agua, como ya han citado otros autores (Khan y Ansari, 2005; Verhoeven et al., 2006; Inglett y Reddy, 2006). Todas las lagunas donde *T. dominguensis* fue colectada mostraron un estado de eutrofización de moderado a elevado. De igual modo, la relación positiva de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *T. dominguensis* con el NH_4^+ puede indicar o una posible preferencia de NH_4^+ frente a NO_3^- , cuya absorción tiene un menor coste energético (De Brabandere et al., 2007), o una mayor adaptación de esta planta a los ambientes que reciben descargas de aguas residuales (Reddy y Delaune, 2008), sin ser ambas excluyentes.

Las actividades humanas interfieren con el fraccionamiento del ^{15}N a través de procesos bióticos y abióticos, lo cual da lugar a variaciones en el $\delta^{15}\text{N}$ que dependen de la fisiología de las plantas (Gu et al., 2006). Cole et al. (2005) encontraron que el $\delta^{15}\text{N}$ en los macrófitos se incrementa significativamente cuando las cargas de N aumentan, sugiriendo que esto es una respuesta común al enriquecimiento en N. Según se incrementa la disponibilidad de N en el ecosistema, el ciclo del N es más abierto y, por lo tanto, hay mayor pérdida de ^{14}N vía fraccionamiento en las rutas microbianas, lo que lleva a la acumulación de ^{15}N y por lo tanto a valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en los tejidos de las plantas (Martinelli et al., 1999; Medina et al., 2008). Nosotros encontramos que las plantas vasculares presentaron valores muy altos de $\delta^{15}\text{N}$ y son las que mejor reflejan las entradas de nutrientes al sistema lagunar a través de las correlaciones significativas entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y las concentraciones de NT y PT en el agua.

Las relaciones inversas entre concentraciones de NO_3^- en el agua y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *Bolboschoenus maritimus* y de *Potamogeton pectinatus* han sido citadas también por otros autores en otras plantas acuáticas, en lugares dedicados a la agricultura intensiva (e.g., Chang et al., 2002). El rango de valores del $\delta^{15}\text{N}$ de ambas plantas (21.53‰ y 16.70‰, respectivamente) están más en el rango de los desechos de animales (entre 10‰ y 20‰; Kreitler y Jones, 1975; Heaton, 1986; Kroeger et al., 2006), pero ninguna correlación significativa con la concentración de NH_4^+ pudo avalar esta suposición. Puesto que las plantas acuáticas absorben dichos compuestos de composición isotópica más ligera, es de suponer que el NH_4^+ y el NO_3^- residuales

que permanecen en los sedimentos deben estar enriquecidos en ^{15}N (Vitória et al., 2008). En cualquier caso, es posible pensar que estas dos especies –*B. maritimus* y *P. pectinatus*– pueden estar actuando como buffer en la captación y asimilación del NO_3^- del agua, contribuyendo a la reducción de las concentraciones de NO_3^- en el agua de las lagunas, algo similar a lo observado en bosques ribereños (Correll et al., 1992; Eugercios-Silva, 2013).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ promedio más altos los registró *Salicornia* sp., con valores extremos de hasta 32.7‰ en la Laguna del Camino de Villafranca. Savage y Elmgren (2004), Fair y Heikoop (2006) y Bannon y Roman (2008) atribuyen los valores de $\delta^{15}\text{N}$ cercanos a 30‰ a los efectos de los efluentes de aguas residuales humanas con escaso tratamiento, hecho que se corrobora en nuestro estudio ya que las lagunas donde fue colectada esta especie reciben aguas residuales crudas.

Cladium mariscus, *Typha dominguensis*, *Salicornia* sp. y *Phragmites australis* son las especies que mostraron comparativamente valores de $\delta^{15}\text{N}$ más altos en las lagunas con aportes de NO_3^- agrícola o con entradas de aguas residuales crudas o de EDAR (Laguna Conceja, Laguna El Rey, Camino de Villafranca, Alcahozo, La Inesperada y La Veguilla). En los Everglades de Florida, *Typha dominguensis* y *Cladium jamaicense* presentaron valores más altos de $\delta^{15}\text{N}$ en las zonas de descargas de aguas ricas en nutrientes, principalmente nitratos y fósforo (Inglett y Reddy, 2006). *Phragmites australis*, que está ampliamente distribuida por las lagunas y humedales del Alto Guadiana, no presentó correlaciones significativas con las variables de calidad del agua; sin

embargo, el amplio rango de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ puede sugerir una cierta respuesta a las diferentes fuentes de N que existen en la región. Así, los valores tan bajos que registra *P. australis* en la Laguna Manjavacas podrían estar asociados a la entrada de fertilizantes inorgánicos, isotópicamente más ligeros, por las aguas subterráneas (Kreitler et al., 1978; McClelland y Valiela, 1998a; Kohl et al., 1971; Peterson y Fry, 1987; Dillon y Chanton, 2005). *Chara hispida* var. *major* también mostró valores de $\delta^{15}\text{N}$ excepcionalmente muy bajos, incluso negativos, en ciertas lagunas. Este carófito, de vida corta comparada con *P. australis*, claramente reflejó lo que ocurre en la calidad del agua de una laguna en un periodo de tiempo de pocas semanas (Horne y Goldman, 1994; Toda et al., 2002), mostrando, en este caso, las condiciones ambientales reinantes (véase Tabla 3, en la Laguna Conceja y Redondilla).

La extensión de la superficie inundada de las lagunas y humedales influyó significativamente en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas de las lagunas estudiadas. Este hecho puede estar relacionado con la sobreexplotación hidrológica de la zona que está incrementando el carácter somero de las lagunas, lo que, a su vez, incrementa la sobrecarga de nutrientes y reduce el potencial redox en los sedimentos (anaerobiosis por elevada carga orgánica). El bajo potencial redox en los sedimentos como consecuencia de la reducción del nivel de agua y aumento de la carga de nutrientes ha sido citado como uno de los factores que incrementan la inhibición fotosintética de las plantas lo que podría producir valores de $\delta^{13}\text{C}$ muy negativos (Pezeshki et al., 1996).

4.3 EFECTOS DE LOS CAMBIOS EN LOS USOS Y COBERTURAS Y EN LA DEMOGRAFÍA, (LOCAL Y REGIONAL) EN LAS FIRMAS ISOTÓPICAS DE ^{13}C Y ^{15}N DE LAS PLANTAS ACUÁTICAS

Se ha citado previamente que en España el aumento de la superficie dedicada a la agricultura y a la urbanización es el principal motor de la pérdida de biodiversidad y ha dado lugar a la conversión del 60% de la superficie original de los humedales desde mediados de 1950 (EME, 2011). En este estudio hemos comprobado que las lagunas con peor calidad del agua, que reciben entradas de nutrientes principalmente por actividades agrícolas y que cuentan con áreas urbanas cerca, presentan plantas acuáticas con valores de $\delta^{13}\text{C}$ más negativos dado que están expuestas a altos niveles de contaminación orgánica (Serrano-Grijalva et al., 2011). A escala local y regional, las lagunas con más espacios dedicados a la agricultura mostraron valores de $\delta^{13}\text{C}$ más negativos en las plantas acuáticas. Las plantas acuáticas que son las que reciben mayor cantidad de aguas residuales domésticas, tienen más población humana y más desarrollos residenciales presentan valores de $\delta^{15}\text{N}$ más enriquecidos (Cole et al., 2004 y 2005; Bannon y Roman, 2008). Estos aspectos fueron puestos de manifiesto a nivel local mediante las relaciones positivas encontradas entre los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas acuáticas y el porcentaje de población dedicado a la agricultura, la industria y los servicios.

La reducción de la vegetación natural a escala regional incrementa el $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas marginales (principalmente en la especie de *C. mariscus*), y el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares (especialmente en *B. maritimus*). Aunque esta dependencia indirecta es clara, a día de hoy no

tenemos una explicación convincente de la causa, aunque podría estar relacionada con las entradas de nutrientes vía esorrentía en las lagunas y con la citada inhibición fotosintética.

Por su parte, los factores demográficos no mostraron una influencia clara (positiva o negativa) en las firmas isotópicas de las plantas acuáticas. A escala local no existió ninguna relación entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$, pero a escala regional, *P. pectinatus* y *P. australis* mostraron cierta dependencia. Esa variabilidad emergió también y de manera más clara en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *T. dominguensis*, que exhibió una dependencia inversa a escala regional y directa a escala local. Resultados similares encontraron Bannon y Roman (2008) en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *Spartina* sp., en un estudio sobre los efectos del desarrollo residencial en las firmas isotópicas.

4.4 GRUPO O ESPECIES DE PLANTAS ACUÁTICAS BIOINDICADORAS DE LAS PERTURBACIONES ANTROPOGÉNICAS EN LAS LAGUNAS DE LMH

Las macroalgas suelen ser las mejores bioindicadoras en relación al $\delta^{13}\text{C}$ y/o $\delta^{15}\text{N}$ debido a que asimilan más eficientemente los nutrientes en comparación con las plantas vasculares que crecen en los sistemas acuáticos (Kufel y Kufel, 2002). Sin embargo, nuestros resultados confirman una amplia variabilidad del género *Chara* en los valores de $\delta^{13}\text{C}$, incluso a nivel regional, algo observado también por James et al. (2000), y una escasa dependencia del $\delta^{15}\text{N}$ de las variables indicadoras de una baja calidad del agua. Aunque se reconoce que *C. hispida* presenta una asimilación de N diferencial según la edad sexual (Rodrigo et al., 2007), hay algunos autores que

la consideran como un un buen trazador de las fuentes de N a través del $\delta^{15}\text{N}$ (Cabana y Rasmussen, 1996; Post 2002; Vermeer et al., 2003). En nuestro caso, hay una cierta tendencia a valores muy negativos de $\delta^{15}\text{N}$ asociados a la presencia de fertilizantes inorgánicos pero sin un sustento estadístico que sugiera su potencial carácter como bioindicador de la calidad de los ecosistemas acuáticos. *Phragmites australis*, que podría ser un buen bioindicador por su amplia distribución en las lagunas estudiadas (se distribuye en el 96% de ellas), tampoco mostró influencia en sus firmas isotópicas de las variables ambientales consideradas.

De los tres grupos de plantas estudiadas, el $\delta^{15}\text{N}$ de las plantas vasculares respondió en mayor grado a los indicadores de degradación ambiental, con *Salicornia* sp. como la más susceptible a la calidad del agua. Las plantas vasculares de los humedales han sido frecuentemente utilizadas como indicadoras dado que responden fisiológicamente a la perturbación (López y Fennessy, 2002). A la vista de nuestros resultados, *Salicornia* sp., a través de un aumento en las firmas de ^{15}N , podría ser una indicadora útil de enriquecimiento de nutrientes por descargas de aguas residuales (véase Tabla 11 y capítulo I). *P. pectinatus*, por su parte, resulta el mejor indicador de contaminación agrícola a través de una reducción en sus firmas de $\delta^{15}\text{N}$. El hecho contrario de que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de esta especie se incrementen cuando aumenta la ocupación en la agricultura simplemente indica la tendencia del sector, que va perdiendo empleo a medida que se intensifica y se generaliza el uso de fertilizantes.

La variabilidad del $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas acuáticas como indicadora de cambios en la calidad de los ecosistemas parece menos clara. *T. dominguensis* y *C. mariscus* mostraron un elevado número de relaciones significativas entre las firmas del $\delta^{13}\text{C}$ y las variables asociadas con la calidad del agua y con otros aspectos ambientales de los humedales, pero la estrecha variación en los rangos de $\delta^{13}\text{C}$ dentro de las lagunas estudiadas (menos de 4 unidades del δ), puede estar solapando distintos procesos simultáneos que dificulten la identificación de las causas. Boon y Bunn (1994) citan que las variaciones isotópicas estacionales de *T. dominguensis* son imperceptibles, por lo que cualquier variación en su firma podría evidenciar la perturbación a la que el ecosistema está sometido. De hecho *Typha dominguensis* es considerada como muy agresiva, con una elevada capacidad para extenderse en condiciones de alta inundación, con una elevada capacidad fotosintética incluso cuando está en suelos muy reducidos (< 200 mV de Eh; Pezeshki et al., 1996) y con un ciclo de vida lo suficientemente corto (88 semanas; otras especies como la masiega ≈ 400 semanas) como para que la tasa de renovación foliar permita que el tejido foliar sea joven y pueda realizar la fotosíntesis más eficientemente (Pezeshki et al., 1996). Sin embargo, puesto que la capacidad fotosintética es inferior a la existente en condiciones normales, deberíamos esperar una reducción de las firmas del $\delta^{13}\text{C}$ de estas plantas, algo contrario a lo observado. Inglett y Reddy (2006) sugirieron que *T. dominguensis* puede servir como una alarma temprana y sensible indicadora del enriquecimiento del P a través de los cambios en la morfología de las hojas, alteración de la distribución de la biomasa (raíces frente a

brotos) e incluso a través de diferencias anatómicas promovidas por el ciclo interno del CO₂ derivado del suelo. Sin embargo, nuestros resultados, si bien confirman que existen cambios fisiológicos derivados de su adaptación a ambientes más agresivos no permiten confirmar su papel como bioindicador bajo las condiciones ambientales observadas en nuestras lagunas.

Referencias

- Aerts, J., & Droogers, P. 2009. Adapting to climate change in the water sector. *Climate Change Adaptation in the Water Sector*. Ludwig F., Kabat P., van Schaik H. van der Valk M. (Eds). Earthscan: London, UK, 87-108.
- Álvarez-Cobelas M, Cirujano, S. 1996 *Las Tablas de Daimiel: Ecología Acuática y Sociedad*. Ministerio de Medio Ambiente, Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid.
- Álvarez-Cobelas, M. & Cirujano, S. 2007. Multilevel responses of emergent vegetation to environmental factors in a semiarid floodplain. *Aquatic Botany*, 87, 49-60.
- Álvarez-Cobelas, M., Cirujano, S. & Sanchez-Carrillo, S. 2001. Hydrological and botanical man-made changes in the Spanish wetland of Las Tablas de Daimiel. *Biological Conservation*, 97, 89-98.
- Álvarez-Cobelas, M., Cirujano, S., Rojo, C., Rodrigo, M.A., Piña, E., Rodríguez-Murillo, J.C. & Montero, E. 2006. Effects of changing rainfall on the limnology of a Mediterranean, flowthrough-seepage chain of lakes. *International Review of Hydrobiology* 91: 466-482.
- Álvarez-Cobelas, M., Sanchez-Carrillo, S. & Cirujano, S. 2007. Strong site effects dictate nutrient patterns in a Mediterranean floodplain. *Wetlands*, 27, 326-336.
- Álvarez-Cobelas, M., Sánchez-Carrillo, S., Cirujano, S., & Angeler, D. G. 2010. A story of the wetland water quality deterioration: salinization, pollution, eutrophication and siltation. In *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands* (pp. 109-133). Springer Netherlands.
- Apha, A. 2005. WEF, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21, 258-259.
- Armengol J, Estrada M, Guiset A, Margalef R, Planas D, Toja J, Vallespinós, F. 1975. Observaciones limnológicas en las lagunas de la Mancha. *Boletín Estación Central de Ecología* 4:11-17.
- Bannon, R. O. & Roman, C. T. 2008. Using stable isotopes to monitor anthropogenic nitrogen inputs to estuaries. *Ecological Applications*, 18, 22-30.
- Bedard-Haughn, A., van Groenigen, J. W. & van Kessel, C. 2003. Tracing N-15 through landscapes: potential uses and precautions. *Journal of Hydrology*, 272, 175-190.
- Benson, E. R., O'Neil, J. M. & Dennison, W. C. 2008. Using the aquatic macrophyte *Vallisneria americana* (wild celery) as a nutrient bioindicator. *Hydrobiologia*, 596, 187-196.
- Boon, P. I. & Bunn, S. E. 1994. Variations in the stable-isotope composition of aquatic plants and their implications for food-web analysis. *Aquatic Botany*, 48, 99-108.
- Burks, R. L., Mulderij, G., Gross, E., Jones, I., Jacobsen, L., Jeppesen, E., & Van Donk, E. 2006. Center stage: the crucial role of macrophytes in regulating trophic interactions in shallow lake wetlands (pp. 37-59). Springer Berlin Heidelberg.
- Cabana, G. & Rasmussen, J. B. 1996. Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 10844-10847.
- Camusso, M., Martinotti, W., Balestrini, R. & Guzzi, L. 1998. C and N stable isotopes and trace metals in selected organisms from the river Po delta. *Chemosphere*, 37, 2911-2920.
- Chang, C. C. Y., Kendall, C., Silva, S. R., Battaglin, W. A. & Campbell, D. H. 2002. Nitrate stable isotopes: tools for determining nitrate sources among different land uses in the Mississippi River Basin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59, 1874-1885.
- Chang, C. C. Y., McCormick, P. V., Newman, S. & Elliott, E. M. 2009. Isotopic indicators of environmental change in a subtropical wetland. *Ecological Indicators*, 9, 825-836.
- Chow-Fraser, P. 1999. Seasonal, interannual, and spatial variability in the concentrations of total suspended solids in a degraded coastal wetland of Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 25, 799-813.
- Cirujano, S. 1980a. Estudio florístico, ecológico y sintaxonómico de la vegetación higrófila de la submeseta sur. Tesis Doctoral. Universidad Complutense Madrid
- Cirujano, S. 1980b. Las lagunas manchegas y su vegetación I. *Anales Jar Bot* 37:155-192
- Cirujano, S. 1990. Flora y vegetación de las lagunas y humedales de la provincia de Albacete. Instituto de Estudios Albacetenses de la Excm. Diputación de Albacete. CSIC. Confederación Española de Centros de Estudios Locales. Serie I. Ensayos Históricos y científicos 52
- Cirujano S, Velayos M, Carrasco, M.A. 1990. Notas sobre higrófitos peninsulares III. *Anales Jar Bot* 47:519-520
- Cirujano, S. & Morales, R. 1997. El carrizo y sus utilidades. *Quercus* 136: 36-37.
- Cirujano S, Casado C, Bernués, M., Camargo, J.A. 1996 Ecological study of the National Park of Las Tablas de Daimiel (Ciudad Real, Spain): changes in the physico-chemical characteristics of the waters and the vegetation between 1974-1989. *Biol Conserv* 75:211-215.
- Cirujano, S. & Medina, L. 2002. PLANTAS ACUÁTICAS DE LAS LAGUNAS Y HUMEDALES DE CASTILLA-LA MANCHA. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha -CSIC.

- Cirujano, S., Medina, L., & Chirino, M. 2002. Plantas acuáticas de las lagunas y humedales de Castilla-La Mancha. Real Jardín Botánico, CSIC.
- Cirujano, S.; Cambra, J.; Sánchez Castillo, P.; Meco, A.; Flor Arnau, N. 2008. Flora ibérica. Algas continentales. Carófitos. Real Jardín Botánico, CSIC – Universidad de Barcelona. 132 pp. (F)
- Cirujano, S, Velayos M, Carrasco, M.A. 1992. Aspectos dinámicos de la flora acuática y cambios físico-químicos del agua en dos lagunas continentales españolas: laguna de la Albardiosa (Toledo) y las Tablas de Daimiel (Ciudad Real). *Historia Natural* 91:249-256
- Cole, M. L., Kroeger, K. D., McClelland, J. W. & Valiela, I. 2005. Macrophytes as indicators of land-derived wastewater: Application of a delta N-15 method in aquatic systems. *Water Resources Research*, 41.
- Cole, M. L., Valiela, I., Kroeger, K. D., Tomasky, G. L., Cebrian, J., Wigand, C., McKinney, R. A., Grady, S. P. & da Silva, M. H. C. 2004. Assessment of a delta N-15 isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33, 124-132.
- Correll, D. L., Jordan, T. E. & Weller, D. E. 1992. Nutrient flux in a landscape - effects of coastal land-use and terrestrial community mosaic on nutrient transport to coastal waters. *Estuaries*, 15, 431-442.
- Croonquist, M.J. & Robert P. Brooks. 1991. Use of avian and mammalian guilds as indicators of cumulative impacts in riparian-wetland areas. *Environmental Management* 15.5. 701-714.
- Custer, T., W., & Osborn, R. 1977. Wading birds as biological indicators: 1975 colony survey.
- De Brabandere, L., Frazer, T. K. & Montoya, J. P. 2007. Stable nitrogen isotope ratios of macrophytes and associated periphyton along a nitrate gradient in two subtropical, spring-fed streams. *Freshwater Biology*, 52, 1564-1575.
- Demopoulos, A. W. J., Fry, B. & Smith, C. R. 2007. Food web structure in exotic and native mangroves: a Hawaii-Puerto Rico comparison. *Oecologia*, 153, 675-686.
- Dillon, K. S. & Chanton, J. P. 2005. Nutrient transformations between rainfall and stormwater runoff in an urbanized coastal environment: Sarasota Bay, Florida. *Limnology and Oceanography*, 50, 62-69.
- Donaire, J. J. S., & González, M. E. P. 1998. Clima y microclima de La Mancha húmeda. In *Anales de geografía de la Universidad Complutense* (No. 18, pp. 239-256). Servicio de Publicaciones.
- EME (Spanish Millennium Ecosystem Assessment). *La Evaluación de los Ecosistemas del Milenio de España. Síntesis de resultados [Millennium Ecosystem Assessment. Results synthesis]*. 2011. Fundación Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, Spain.
- Englund, G. 1991. Effects of disturbance on moss cover and benthic invertebrate community structure. *Journal of North American Benthological Society* 10:143-153
- Eugercios Silva A. R. 2013. Interacciones acuífero-lago y biogeoquímica del nitrógeno en ambientes kársticas. Departamento de Geodinámica. Facultad de Ciencias Geológicas. Universidad Complutense de Madrid. España.
- ESRI (2006) Redlands, California, USA
- Fair, J. M. & Heikoop, J. A. 2006. Stable isotope dynamics of nitrogen sewage effluent uptake in a semi-arid wetland. *Environmental Pollution*, 140, 500-505.
- Florin, M. & Montes, C. 1998. Fluctuations of hydrochemical equilibrium in temporary saline lagunas with different primary producer communities. 26th Congress of the International-Association-of-Theoretical-and-Applied-Limnology, Sao Paulo, Brazil. 1387-1391.
- Florin, M. & Montes, C. 1999. Functional analysis and restoration of Mediterranean lagunas in the Mancha Humeda Biosphere Reserve (Central Spain). *Aquatic Conservation-Marine and Freshwater Ecosystems*, 9, 97-109.
- Florin Beltran, M. 2011. Investigación aplicada a la gestión y conservación de los humedales de la Mancha Húmeda. *Reserva de la Biosfera de la Mancha Húmeda: Retos y Oportunidades de Futuro* pág. 147-155, 2011.
- Gislason, A., Petursdottir, H., Astthorsson, O. S., Gudmundsson, K. & Valdimarsson, H. 2009. Inter-annual variability in abundance and community structure of zooplankton south and north of Iceland in relation to environmental conditions in spring 1990-2007. *Journal of Plankton Research*, 31, 541-551.
- González, P. M. E. & Sanz Donaire, J.J. 1998. Clima y microclima de la Mancha Húmeda. In *Anales de Geografía de la Universidad Complutense* No. 18, pp. 205-237.
- Gu, B., Chapman, A. D. & Schelske, C. L. 2006. Factors controlling seasonal variations in stable isotope composition of particulate organic matter in a soft water eutrophic lake. *Limnology and Oceanography*, 51, 2837-2848.
- Güsewell, S., Koerselman, W., & Verhoeven, J. T. (2003). Biomass N : P ratios as indicators of nutrient limitation for plant populations in wetlands. *Ecological Applications*, 13(2), 372-384.
- Hatfield CA, Mocos JT, Hartman JM, Kaplan M (2004) Development of wetland quality and function assessment tools and demonstration. Technical report. US Environmental Protection Agency and New Jersey Department of Environmental Protection
- Hardie, L.A., Smoot, J.P. & Eugster, H.P (1978) Saline lakes and their deposits: a sedimentological approach. In: *Modern and Ancient Lake sediments* (Ed. by A. Matter and M.E.Tucker). Spec. Publs int. Ass. Sediment. 2, 7-41. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- Heaton, T. H. E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere - a review. *Chemical Geology*, 59, 87-102.
- Hoffman, J. C., Kelly, J. R., Peterson, G. S., Cotter, A. M., Starry, M. A. & Sierszen, M. E. 2012. Using delta N-15 in Fish Larvae as an Indicator of Watershed Sources of Anthropogenic Nitrogen: Response at Multiple Spatial Scales. *Estuaries and Coasts*, 35, 1453-1467.
- Horne, A. J., & Goldman, C. R. (1994). *Limnology* McGraw-Hill. New York, 465.
- Hutcheson, J., Walsh, P., & Given, D. R. (1999). Potential value of indicator species for conservation and management of New Zealand terrestrial communities. Department of Conservation.
- IGME. 1985. Síntesis hidrogeológica de Castilla-La Mancha. Colección informe. Instituto Geológico y Minero de España y Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha. Servicio de Publicaciones. Ministerio de Industria y Energía, Madrid, 107 pp.
- IGME 2010. Estimación de los recursos disponibles para cada masa de agua subterránea de la cuenca alta del Guadiana, basada en el análisis de los informes y referencias bibliográficas precedentes y en los datos de infraestructura hidrogeológica y conocimiento experto del IGME. Encomienda de gestión para la realización de trabajos científico-técnicos de apoyo a la sostenibilidad y protección de las aguas subterráneas. Estudio complementario. Instituto Geológico y Minero de España y Dirección General del Agua. 69 pp.
- Inglett, P. W. & Reddy, K. R. 2006. Investigating the use of macrophyte stable C and N isotopic ratios as indicators of wetland eutrophication: Patterns in the P-affected Everglades. *Limnology and Oceanography*, 51, 2380-2387.
- Instituto Geológico Y Minero De España. 1988. Mapa geológico de España. Escala 1/200.000. Hoja nº 760 (19-30), Daimiel. Segunda serie. Primera edición. Servicio de Publicaciones MIE. Madrid, 58 p. y mapa.
- James, M. R., Hawes, I., Weatherhead, M., Stanger, C. & Gibbs, M. 2000. Carbon flow in the littoral food web of an oligotrophic lake. *Hydrobiologia*, 441, 93-106.
- Jones, R. I., King, L., Dent, M. M., Maberly, S. C. & Gibson, C. E. 2004. Nitrogen stable isotope ratios in surface sediments, epilithon and macrophytes from upland lakes with differing nutrient status. *Freshwater Biology*, 49, 382-391.
- Khan, F. A., & Ansari, A. A. 2005. Eutrophication: an ecological vision. *The botanical review*, 71(4), 449-482.
- Keddy, P. A. 2000. *Wetland ecology: principles and conservation*. Cambridge Univ. Press.
- Kreitler, C. W., & Jones, D. C. 1975. Natural Soil Nitrate: The Cause of the Nitrate Contamination of Ground Water in Runnels County, Texas. *Groundwater*, 13(1), 53-62.
- Kohl, D. H., Shearer, G. B. & Commoner, B. 1971. Fertilizer nitrogen - contribution to nitrate in surface water in a Corn Belt watershed. *Science*, 174, 1331.
- Kreitler, C. W., Ragone, S. E., & Katz, B. G. 1978. N15/N14 Ratios of Ground-Water Nitrate, Long Island, New York. *Groundwater*, 16(6), 404-409.
- Kroeger, K. D., Cole, M. L., York, J. K. & Valiela, I. 2006. Nitrogen loads to estuaries from waste water plumes: Modeling and isotopic approaches. *Ground Water*, 44, 188-200.
- Kufel, L. & Kufel, I. 2002. *Chara* beds acting as nutrient sinks in shallow lakes - a review. *Aquatic Botany*, 72, 249-260.
- Lee Foote, A., & Christine L. Rice Hornung. 2005. Odonates as biological indicators of grazing effects on Canadian prairie wetlands. *Ecological Entomology* 30.3: 273-283.
- Lepoint, G., Frederich, B., Gobert, S. & Parmentier, E. 2008. Isotopic ratios and elemental contents as indicators of seagrass C processing and sewage influence in a tropical macrotidal ecosystem (Madagascar, Mozambique Channel). *Scientia Marina*, 72, 109-117.
- Llamas, M. R. 1988. Conflicts between wetland conservation and groundwater exploitation - 2 case-histories in Spain. *Environmental Geology and Water Sciences*, 11, 241-251.
- Lopez, R. D. & Fennessy, M. S. 2002. Testing the floristic quality assessment index as an indicator of wetland condition. *Ecological Applications*, 12, 487-497.
- Maltby, E. & Acreman, M. C. 2011. Ecosystem services of wetlands: pathfinder for a new paradigm. *Hydrological Sciences Journal-Journal Des Sciences Hydrologiques*, 56, 1341-1359.
- Marker, A. F. M. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Arch Hydrobiol Beih*, 14, 91-106.
- Martín, J.; Cirujano, S.; Peris, J. B.; Stübing, G. 2003. La vegetación protegida en Castilla-La Mancha. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
- Martinelli, L. A., Piccolo, M. C., Townsend, A. R., Vitousek, P. M., Cuevas, E., McDowell, W., Robertson, G. P., Santos, O. C. & Treseder, K. 1999. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry*, 46, 45-65.
- Matuszak, A., Voigt, C. C., Storch, I., Bauer, H.-G. & Quillfeldt, P. 2011. Depth-specific and spatiotemporal variation of delta C-13 and delta N-15 in Charophytes of Lake Constance: implications for food web studies. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, 2089-2094.
- McClelland, J. W. & Valiela, I. 1998. Changes in food web structure under the influence of increased anthropogenic nitrogen inputs to estuaries. *Marine Ecology Progress Series*, 168, 259-271.

- McCormick, P. V., & Cairns Jr, J. 1994. Algae as indicators of environmental change. *Journal of Applied Phycology*, 6(5-6), 509-526.
- McKee, K. L., Feller, I. C., Popp, M. & Wanek, W. 2002. Mangrove isotopic (δ N-15 and δ C-13) fractionation across a nitrogen vs. phosphorus limitation gradient. *Ecology*, 83, 1065-1075.
- McKinney, R. A., Lake, J. L., Charpentier, M. A. & Ryba, S. 2002. Using mussel isotope ratios to assess anthropogenic nitrogen inputs to freshwater ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 74, 167-192.
- Medina, E., Francisco, M., & Quilice, A. 2008. Isotopic signatures and nutrient relations of plants inhabiting brackish wetlands in the northeastern coastal plain of Venezuela. *Wetlands Ecology and Management*, 16(1), 51-64
- Mejías Moreno, M., López Gutiérrez, J., & Martínez Cortina, L. 2012. Características hidrogeológicas y evolución piezométrica de la Mancha Occidental. Influencia del periodo húmedo 2009–2011 [Hydrogeological characteristics and piezometrical evolution of the Western Mancha. Influence of the humid period 2009–2011]. *Boletín Geol. Minero*, 123, 91-108.
- MOPU. 1990. Estudio de las zonas húmedas en la España peninsular, inventario y tipificación, relación con el régimen hídrico general y medidas de protección. Informe técnico. Dirección General de Obras Hidráulicas, MOPU, Madrid
- Moreno-Mateos, D., Power, M. E., Comin, F. A. & Yockteng, R. 2012. Structural and Functional Loss in Restored Wetland Ecosystems. *Plos Biology*, 10.
- Peterson, B. J. & Fry, B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293-320.
- Peterson, G. S., Sierszen, M. E., Yurista, P. M. & Kelly, J. R. 2007. Stable nitrogen isotopes of plankton and benthos reflect a landscape-level influence on great lakes coastal ecosystems. *Journal of Great Lakes Research*, 33, 27-41.
- Pezeshki, S. R., DeLaune, R. D., Kludze, H. K. & Choi, H. S. 1996. Photosynthetic and growth responses of cattail (*Typha domingensis*) and sawgrass (*Cladium jamaicense*) to soil redox conditions. *Aquatic Botany*, 54, 25-35.
- Piña-Ochoa, E. & Alvarez-Cobelas, M. 2006. Denitrification in aquatic environments: A cross-system analysis. *Biogeochemistry*, 81, 111-130.
- Piña-Ochoa, E., Alvarez-Cobelas, M., Rodrigo, M. A., Rojo, C. & Delgado, A. 2006. Nitrogen sedimentation in a lake affected by massive nitrogen inputs: autochthonous versus allochthonous effects. *Freshwater Biology*, 51, 2228-2239.
- Piñon-Gimate, A., Soto-Jimenez, M. F., Julia Ochoa-Izaguirre, M., Garcia-Pages, E. & Paez-Osuna, F. 2009. Macroalgae blooms and δ N-15 in subtropical coastal lagoons from the Southeastern Gulf of California: Discrimination among agricultural, shrimp farm and sewage effluents. *Marine Pollution Bulletin*, 58, 1144-1151.
- Post, D. M. 2002. The long and short of food-chain length. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 269-277.
- Rabinowitz, D. 1981. Seven forms of rarity. The biological aspects of rare plant conservation (ed. by H.Synge), pp. 205-217. John Wiley & Sons, Chichester.
- Robinson, D. 2001. Root proliferation, nitrate inflow and their carbon costs during nitrogen capture by competing plants in patchy soil. *Plant and Soil*, 232, 41-50.
- Rodrigo, M. A., Rojo, C., Alvarez-Cobelas, M. & Cirujano, S. 2007. *Chara hispida* beds as a sink of nitrogen: Evidence from growth, nitrogen uptake and decomposition. *Aquatic Botany*, 87, 7-14.
- Rogers, K. M. 1999. Effects of sewage contamination on macro-algae and shellfish at Moa Point, New Zealand using stable carbon and nitrogen isotopes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 33, 181-188.
- Rodríguez, M. V., Cirujano, S., & de Salazar, M. A. C. 1989. Las Lagunas del campo de Calatrava (Ciudad Real). *Botanica Complutensis*, 14, 9.
- Rojo C. & Rodrigo M. A. 2010. Plankton ecology and diversity. In: Sánchez-Carrillo S, Angeler DG (eds) *Ecology of threatened semi-arid wetland long-term research in Las Tablas de Daimiel. Wetland: ecology, conservation and management*, vol 2. Springer, Berlin, pp 137–173
- Ryding & Rast. 1992: RYDING, S. O. & W. RAST. 1992. El control de la eutrofización en Lagos y pantanos. Madrid: Pirámide.
- Sánchez-Andrés, R., Viedma, M. O. & Sánchez-Carrillo, S. 2010. The Effects of Anthropogenic Stressors on Wetland Loss and Habitat Quality Deterioration in the Upper Guadiana River Basin: A Long-Term Assessment (1970-2000). *Ecology of Threatened Semi-Arid Wetlands: Long-Term Research in Las Tablas De Daimiel*, 2, 85-107.
- Sánchez-Carrillo, S. & Alvarez-Cobelas, M. 2001. Nutrient dynamics and eutrophication patterns in a semi-arid wetland: The effects of fluctuating hydrology. *Water Air and Soil Pollution*, 131, 97-118.
- Sánchez Ramos, D.; Sánchez Emeterio, G.; García Fernández, B.; Florín Beltrán, M. 2011. Wastewater reuse in Las Tablas de Daimiel National Park by improving its quality through constructed wetlands. Spain.
- Savage, C. & Elmgren, R. 2004. Macroalgal (*fucus vesiculosus*) δ N-15 values trace decrease in sewage influence. *Ecological Applications*, 14, 517-526.
- Serrano-Grijalva, L., Sánchez-Carrillo, S., Angeler, D. G., Sánchez-Andrés, R. & Alvarez-Cobelas, M. 2011. Effects of shrimp-farm effluents on the food web structure in subtropical coastal lagoons. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 402, 65-74.
- Sharma, R.C., & Jitendra S. R. 2009. Monitoring of aquatic macroinvertebrates as bioindicator for assessing the health of wetlands: A case study in the Central Himalayas, India." *Ecological Indicators* 9.1 118-128.

- Scheffer, M. Ecology of shallow lakes. New York: Chapman & Hall; 1997
- Toda, H., Uemura, Y., Okino, T., Kawanishi, T. & Kawashima, H. 2002. Use of nitrogen stable isotope ratio of periphyton for monitoring nitrogen sources in a river system. *Water Science and Technology*, 46, 431-435.
- Varela, M. 1991. Situación de la contaminación por nitratos en las aguas subterráneas del territorio peninsular y balear. *Informaciones y Estudios*, (53).
- Velayos M, Carrasco M.A. & Cirujano, S. 1989. Las lagunas del Campo de Calatrava (Ciudad Real). *Botánica Complutensis* 14:9-50
- Verhoeven, J. T., Arheimer, B., Yin, C., & Hefting, M. M. 2006. Regional and global concerns over wetlands and water quality. *Trends in ecology & evolution*, 21(2), 96-103.
- Vermeer, C. P., Escher, M., Portielje, R. & de Klein, J. J. M. 2003. Nitrogen uptake and translocation by Chara. *Aquatic Botany*, 76, 245-258.
- Viana, I. G., Fernandez, J. A., Aboal, J. R. & Carballeira, A. 2011. Measurement of delta N-15 in macroalgae stored in an environmental specimen bank for regional scale monitoring of eutrophication in coastal areas. *Ecological Indicators*, 11, 888-895.
- Vicente, E. Rosa, Miracle, M.R. 1998. Estudio limnológico de 28 humedales de Castilla La Mancha como base para la elaboración del Plan de Ordenación de recursos Naturales. Universidad de Valencia y Junta de Comunidades de Castilla La Mancha.
- Vitoria, L., Soler, A., Canals, A. & Otero, N. 2008. Environmental isotopes (N, S, C, O, D) to determine natural attenuation processes in nitrate contaminated waters: Example of Osona (NE Spain). *Applied Geochemistry*, 23, 3597-3611.
- Wetzel, R.G. 1990. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Verhand. Internat. Verein. Theoret. Angewand. Limnol.* 24 pp. 6-24.
- Whitfield, A. K., and M. Elliott. 2002. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future." *Journal of Fish Biology* 61.Sa. 229-250.
- Wigand, C., McKinney, R. A., Cole, M. L., Thursby, G. B. & Cummings, J. 2007. Varying stable nitrogen isotope ratios of different coastal marsh plants and their relationships with wastewater nitrogen and land use in New England, USA. *Environmental Monitoring and Assessment*, 131, 71-81.
- Wray, H. E. & Bayley, S. E. 2007. Denitrification rates in marsh fringes and fens in two boreal peatlands in Alberta, Canada. *Wetlands*, 27, 1036-1045.
- Xu, J., Zhang, M. & Xie, P. 2011. Sympatric variability of isotopic baselines influences modelling of fish trophic patterns. *Limnology*, 12, 107-115.
- Yustres, A., Navarro, V., Asensio, L., Candel, M. & García, B. 2013. Groundwater resources in the Upper Guadiana Basin (Spain): a regional modelling analysis. *Hydrogeology Journal*, 21, 1129-1146.
- Zorrilla-Miras, P., Palomo, I., Gomez-Baggethun, E., Martin-Lopez, B., Lomas, P. L. & Montes, C. 2014. Effects of land-use change on wetland ecosystem services: A case study in the Doñana marshes (SW Spain). *Landscape and Urban Planning*, 122, 160-174.

Discusión general

Todos los humedales están sujetos a un aumento en el grado de presión humana, de manera directa e indirecta, sin precedente, cuyos efectos son, todavía, incalculables a escala global. Parece que el régimen de perturbaciones que sufren los humedales los hace más vulnerables a la invasión de especies exóticas (Junk et al., 2006), un fenómeno con efectos difíciles de evaluar. El 62% de los servicios ambientales proporcionados por los humedales ha disminuido durante los últimos cincuenta años como resultado de la desaparición o degradación ambiental (EME, 2011), un hecho con importantes consecuencias en los ciclos biogeoquímicos globales y regionales pero del que se conoce muy poco sobre los efectos estructurales (redes tróficas y complejidad). Este ha sido el objetivo principal de esta tesis, en la que se han abordado los efectos de los principales motores del cambio global en la estructura de los humedales desde diferentes perspectivas y ecosistemas, usando como herramienta básica las firmas isotópicas de ^{13}C y ^{15}N y sus variaciones en especies de las diferentes comunidades acuáticas ante diferentes impactos (Fig. 1).

Existen tres hipótesis propuestas para explicar la variación en la longitud de las cadenas tróficas de todos los ecosistemas, incluyendo la disponibilidad de recursos, el tamaño del ecosistema y la estabilidad dinámica (Sabo et al., 2009). También algunos autores han considerado, ocasionalmente, el rol del ensamblaje de las comunidades y el tamaño del cuerpo como aspectos clave en la definición de la longitud trófica. Todas ellas predicen una variación lineal ante sistemas tróficos con complejidad estructural limitada (i.e., cadenas lineales; Sabo et al., 2009). La hipótesis de la estabilidad dinámica predice que la longitud de las cadenas tróficas

de los ecosistemas sometidos a intensas o frecuentes perturbaciones debe ser más corta, basándose en la menor resiliencia de las cadenas largas frente a las cortas (Carpenter et al., 1992; DeAngelis, 1992). La hipótesis del tamaño del ecosistema, la más moderna de todas, predice que la longitud de la cadena trófica aumenta con el incremento del tamaño del ecosistema, incluyendo cambios en el área o en el volumen (Post et al., 2007), asociando estos cambios a variaciones en la riqueza de especies, a la dinámica de colonización y extinción, a cambios en el tamaño corporal de los depredadores y a cambios en la complejidad de la red trófica y la onmivoría (Sabo et al., 2009).

Los humedales de agua dulce tienen diversas y complejas redes tróficas (Mitsch y Gosselink, 2000). Hasta ahora se sabe muy poco acerca de la estructura de las redes tróficas de estos sistemas. Como en el caso de los ríos (Post et al., 2007), la delimitación del tamaño efectivo del ecosistema para la red alimentaria continúa siendo uno de los grandes desafíos. En uno de los análisis más completos hasta la fecha, Williams y Trexler (2006) examinaron los factores que afectan a la longitud de la cadena de 20 humedales del sur de los Everglades de Florida, incluyendo gradientes de productividad y diferentes regímenes hidrológicos (frecuencias de periodos secos). Sus resultados sugieren que la perturbación y la estructura del hábitat influyen de manera significativa en la longitud de la cadena trófica de los humedales. En este estudio, sin embargo, los resultados indican que la longitud de la red trófica de los humedales no cambia significativamente ante las perturbaciones sostenidas en el tiempo, confirmando lo observado

por Vander Zanden y Fetzer (2007) sobre el efecto despreciable que ejerce el tamaño del ecosistema. Nuestros resultados resaltan más la importancia de la composición de las especies de consumidores en el control de la longitud de la cadena (Rasmussen y Vander Zanden, 2004). El efecto de la sequía en la red trófica de los ríos ha demostrado resultados similares (Closs y Lake, 1994), con cambios estructurales mediados por la complejidad trófica (Walters y Post, 2008). La teoría de la estabilidad dinámica de las redes tróficas ya predice de manera simple que las perturbaciones a largo plazo afectan a la habilidad de persistencia de los depredadores superiores, que tienen tiempos de retorno más largos después de las perturbaciones e insuficiente resiliencia (Pimm, 1982), haciendo poco factibles o poco observables las cadenas tróficas largas (Moore et al., 1993).

En los ecosistemas acuáticos estudiados en esta tesis, distantes tanto geográfica como latitudinalmente, hemos mostrado como las variaciones ambientales sostenidas en el tiempo, en este caso asociadas a la entrada de aguas enriquecidas en nutrientes de distinto origen, tienden a modificar la composición biótica de los niveles tróficos intermedios y altos (incluyendo una reducción de la biodiversidad), con dominancia de especies consumidoras versátiles y oportunistas como *Mugil cephalus* o *Procambarus clarkii*, y cambios en las estrategias de alimentación asociados a la variación en la disponibilidad de recursos. Estos cambios modifican la arquitectura de la red trófica, incluyendo una reducción del grado de agregación en los niveles tróficos de los consumidores. Hay evidencias de que estos cambios en la arquitectura trófica

median los efectos de gradientes ambientales como la disponibilidad de recursos, el tamaño del ecosistema y, por supuesto la perturbación (Post et al., 2002), influenciando, en definitiva, la longitud de las cadenas tróficas (Post y Takimoto, 2007). Numerosos estudios han demostrado que los modelos reticulados con depredación intragremio o basados en los detrita, predicen una respuesta más compleja de la longitud de la cadena trófica, incluyendo, por ejemplo, su reducción, con el aumento de la disponibilidad de recursos (Moore et al., 1993; Diehl y Feissel, 2000; Post y Takimoto, 2007). De hecho, el carácter compartimentado de las redes tróficas parece un fenómeno que incrementa la estabilidad (Krause et al., 2003) y la persistencia (Stauffer y Bascompte, 2011) de las redes tróficas ante las perturbaciones. Esto abre una nueva perspectiva sobre cómo la estructura trófica de los ecosistemas y, en particular, de los humedales se ajusta a los diferentes tipos de perturbación, incluyendo la entrada de especies exóticas. A la vista de estos resultados, la importancia relativa de la longitud de la cadena alimentaria frente a otras métricas como indicador de la estabilidad trófica ante perturbaciones sostenidas como las que induce el cambio global debe ser reevaluada y redefinida.

Una cuestión que subyace a los efectos del cambio global y a las perturbaciones es si están cambiando las fuentes orgánicas que sostienen a los ecosistemas acuáticos. La dilatada discusión sobre el papel de la vegetación acuática y del fitoplancton en el sostenimiento de las redes tróficas ha dado múltiples y variados resultados durante las últimas décadas (France, 1995; James et al., 2000; Hart y Lovvorn, 2003; Burks et al., 2006). Parece claro que la aportación de las

especies vegetales más oportunistas como *Phragmites australis*, que muestran una gran expansión en la mayor parte de los humedales, es despreciable e incluso nociva (e.g. Hunter et al., 2006; Pérez et al. 2013), lo que puede tener consecuencias negativas de cara a la estabilidad estructural de estos ecosistemas. Los resultados isotópicos obtenidos confirmarían que en este humedal eutrofizado y perturbado la aportación de los macrófitos como fuente orgánica es menor, aunque, la variabilidad hidrológica a la que es sometido precisa de un estudio más prolongado que capture todos los escenarios posibles antes de sacar una conclusión firme. La importante contribución de *Tamarix canariensis* en la fracción orgánica particulada (COP) de sistemas tan fluctuantes como Las Tablas puede entenderse desde dos vías: la primera, asociada a la gran expansión que experimenta durante los ciclos secos prolongados, donde su cobertura se extiende hacia el interior del humedal, magnificando su producción total; y la segunda, relacionada con la baja calidad de su hojarasca, que aunque es usada por ciertos invertebrados (*Chironomidae*; Campobasso et al., 1999), tiende a una acumulación neta en los sedimentos en forma de detritus. De confirmarse el peso de *T. canariensis* en la producción de los macroinvertebrados revelaría un aspecto hasta ahora desconocido de la comunidad vegetal. Sin embargo, han de confirmarse experimentalmente sus efectos tanto en la reducción potencial de especies de macroinvertebrados, en su biomasa y en la dinámica de la descomposición.

Nuestros datos indican que la severa alteración hidrológica de Las Tablas de Daimiel, con ciclos de sequía cada vez más prolongados y pronunciados, afecta más a la estructura trófica de

los peces que de las aves. Mientras que muchos invertebrados bentónicos (moluscos y gasterópodos) han desaparecido de la mayor parte de los humedales, tanto por la reducción de caudales como por la elevada contaminación (Bond et al., 2008), sabemos muy poco sobre los efectos en las interacciones tróficas de una fauna piscícola, cada vez más exótica. En humedales sometidos a perturbaciones sostenidas como Las Tablas de Daimiel, desconocemos cómo la fauna piscícola exótica está encajada en la red trófica y el carácter y el tamaño de sus interacciones. La ausencia de señal en las fuentes orgánicas de los peces ha sido explicada en la mayor parte de los casos por la variabilidad del zooplancton y por la simplificación de estos como un nivel trófico simple (e.g. Post, 2002b; Matthews y Mazumder, 2003). Esta simplificación, que suele usarse muy a menudo en estudios de redes tróficas a escala de ecosistema, demuestra que se puede estar menospreciando la importancia de la red trófica planctónica en la estructura trófica global de los humedales ya que puede estar enmascarando numerosas interacciones clave como respuestas ante las perturbaciones.

Se asume que las especies invasoras afectan a la disponibilidad de recursos, pudiendo suprimir o incrementar la abundancia relativa de las especies nativas, sin ser necesariamente la fuerza conductora del cambio (Didham et al., 2005). La dominancia de las especies exóticas ocurre en paralelo a la alteración antropogénica del hábitat, por lo que algunos autores consideran que no es resultado de las interacciones entre especies, como el desplazamiento competitivo, sino de procesos no interactivos como la capacidad de dispersión relativa o los

regímenes de perturbación, que son más limitantes para las especies nativas que para las invasoras (MacDougall y Turkington, 2005). Así, si las interacciones juegan un papel clave en el declive de las especies nativas, la supresión de las especies exóticas debería tener un efecto directo en el incremento de la riqueza de las especies nativas; sin embargo, si ese efecto es no interactivo, su supresión debería tener un impacto mínimo (MacDougall y Turkington, 2005). Este aspecto resulta clave para entender como los cambios en la riqueza de especies y la presencia o ausencia de especies exóticas pueden estar afectando realmente a la estructura y a la estabilidad trófica de los ecosistemas.

Los indicadores ecológicos pueden ser usados para detectar, diagnosticar y resumir información relacionada con los problemas ambientales de los ecosistemas. A pesar de su importante valor, pocos indicadores han sido validados sistemáticamente, incluyendo información amplia de su relevancia, viabilidad, varianza e interpretación. En esta tesis se muestra una validación regional del potencial de las firmas isotópicas de las plantas acuáticas como indicadoras del estado de salud de los humedales. El efecto en las firmas isotópicas de las distintas perturbaciones a las que son sometidos simultáneamente los ecosistemas acuáticos resulta complejo de discernir en la mayor parte de las plantas acuáticas. Nuestros resultados validan el efecto fisiológico del enriquecimiento de nutrientes en las firmas del ^{13}C de la mayor parte de las plantas acuáticas (Inglett y Reddy, 2006), con claras respuestas en dos plantas emergentes como *Cladium mariscus* y, sobre todo, *Typha dominguensis*, que, sin embargo,

muestran limitaciones en su uso como indicadoras de enriquecimiento nutrientes. También confirma el enriquecimiento en ^{15}N de los macrófitos como una respuesta común ante el aumento de las cargas de N en los humedales (Cole et al., 2005). Los efectos indirectos de los usos del suelo y de distintos indicadores socioeconómicos confirman estas respuestas. Sin embargo, nuestros resultados indican una imposibilidad de separar los efectos entre las distintas fuentes potenciales de contaminación –aguas residuales o agricultura– e, incluso, entre las distintas causas de perturbación, incluida la alteración de los regímenes hidrológicos. El por qué las plantas marginales y vasculares aparecen enriquecidas en $\delta^{13}\text{C}$ con la reducción de la vegetación natural en el entorno de las lagunas es, cuando menos, sorprendente y un efecto al que no hemos encontrado una explicación plausible. La versatilidad de especies como *Phragmites australis*, con tendencia a un fraccionamiento isotópico muy variable en función de la contaminación que recibe, impide su uso como indicador ecológico.

Los humedales cubren alrededor del 6% de la superficie continental y almacenan sobre el 12% del carbono global, jugando un papel clave en el ciclo del C (Ferrati et al., 2005). En un mundo sometido al cambio global, los humedales son considerados una de las mayores incógnitas en el futuro más cercano con respecto a la dinámica de los elementos y los flujos de materia (Paul et al., 2006). La mayor parte de los humedales responden específicamente ante ligeros cambios en la hidrología y la calidad del agua, pero los impactos del cambio global en la estructura y dinámica de las redes tróficas acuáticas permanecen aún muy poco conocidos. Existe abundante literatura

sobre las funciones y la gestión de los humedales, incluyendo la restauración, pero no de los efectos, por ejemplo, del cambio climático. Basado en el efecto sinérgico de múltiples estresores, la gestión y la restauración de estos hábitats puede ser más difícil en el futuro debido a la presente disponibilidad de especies colonizadoras mucho más eficientes como *Phragmites*, *Melaleuca quiquenervia*, *Lygodium microphyllum* e *Imperata cylindrical* (Erwin, 2009). Los resultados de este trabajo pretenden dar un poco de claridad al oscuro entendimiento de cómo las actividades humanas están cambiando el funcionamiento de los ecosistemas para generar otros nuevos, con estructuras adaptadas a las nuevas condiciones, y con pautas de estabilidad diferentes de las actuales. Esta información es útil como parte del conocimiento básico de estos ecosistemas, pero también es esencial para el desarrollo de planes de manejo y ordenación de los humedales como una herramienta que permita establecer medidas de conservación a largo plazo. Asimismo, el conocimiento de cómo la estructura de los humedales cambia y evoluciona ante los impactos del cambio global debe revertir en una revisión de cómo estamos restaurando actualmente estos ecosistemas, para asegurar que los planes de rehabilitación de sus funciones o servicios ambientales consideren aspectos estructurales, y que sean tan versátiles como para permitir la adaptación a los cambios ambientales impredecibles que pueden ocurrir a diferentes escalas en los próximos 100 años.

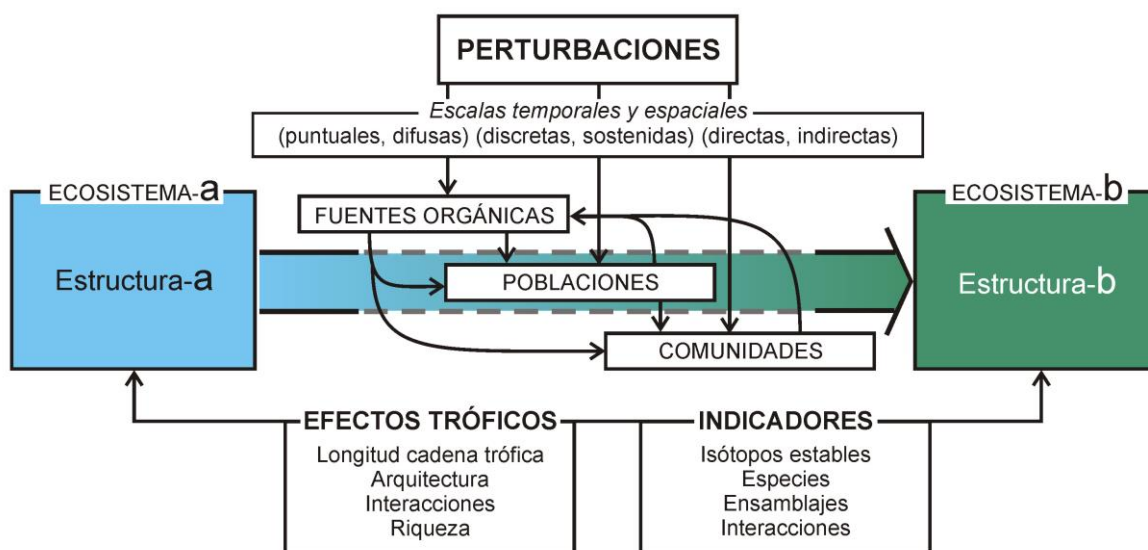


Fig. 1. Los efectos de los principales motores del cambio global crean ecosistemas nuevos con estructuras tróficas distintas. Cómo detectar esos cambios tróficos, sus efectos y cómo discernir sobre potenciales indicadores son las claves para la conservación de los humedales.

Referencias

- Bond NR, Lake P S, Arthington AH. 2008. The impacts of drought on freshwater ecosystems: an Australian perspective. *Hydrobiologia* 600:3–16.
- Carpenter SR, Kraft CE, Wright R, He X, Soranno PA, Hodgson JR. 1992. Resilience and resistance of a lake phosphorus cycle before and after food web manipulation. *American Naturalist* 140:781–798.
- Davis, S.E., Childers, D.L., Noe, G.B. 2006. The contribution of leaching to the rapid release of nutrients and carbon in the early decay of wetland vegetation. *Hydrobiologia* 569, 87–97
- Dierberg, F.E., DeBusk, T.A., Jackson, S.D., Chimney, M.J., Pietro, K. 2002. Submerged aquatic vegetation-based treatment wetlands for removing phosphorus from agricultural runoff: response to hydraulic and nutrient loading. *Water Res.* 36, 1409–1422.
- Davis, S.E., Childers, D.L., Noe, G.B. 2006. The contribution of leaching to the rapid release of nutrients and carbon in the early decay of wetland vegetation. *Hydrobiologia* 569, 87–97.
- Closs GP, Lake PS. 1994. Spatial and temporal variation in the structure of an intermittent-stream foodweb. *Ecological Monographs* 64:1–21.
- DeAngelis DL 1992. *Dynamics of Nutrient Cycling and Food Webs*. Chapman & Hall. London.
- Didham RK, Tylianakis JM, Hutchison MA, Ewers RM, Gemmill NJ 2005. Are invasive species the drivers of ecological change? *Trends in Ecology and Evolution* 20:470-474.
- Diehl S, Feissel M 2000. Effects of enrichment on three-level food chains with omnivory. *American Naturalist* 155:200–218.
- EME (Spanish Millennium Ecosystem Assessment). *La Evaluación de los Ecosistemas del Milenio de España. Síntesis de resultados [Millennium Ecosystem Assessment. Results synthesis]*. 2011. Fundación Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, Spain.
- Erwin KL. 2009. Wetlands and global climate change: the role of wetland restoration in a changing world. *Wetlands Ecology and Management* 17:71–84.
- Ferrati R, Canziani GA, Moreno DR 2005. Estero Del Ibera: hydrometeorological and hydrological characterization. *Ecological Modelling* 186:3–15.
- Jenkins KM, Boulton AJ 2007. Detecting impacts and setting restoration targets in arid-zone rivers: Aquatic micro-invertebrate responses to reduced floodplain inundation. *Journal of Applied Ecology* 44: 823–832.
- Junk, W. J., Brown, M., Campbell, I. C., Finlayson, M., Gopal, B., Ramberg, L. & Warner, B. G. 2006. The comparative biodiversity of seven globally important wetlands: a synthesis. *Aquatic Sciences*, 68, 400-414.
- Krause AE, Frank KA, Mason DM, Ulanowicz R.E. & Taylor WW 2003. Compartments revealed in food-web structure. *Nature* 426:282–285.
- Layman, C. A., Araujo, M. S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C. M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A. E., Vaudo, J. J., Yeager, L. A., Post, D. M. & Bearhop, S. 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87, 545-562.
- MacDougall AS, Turkington R 2005. Are invasive species the drivers or passengers of change in degraded ecosystems? *Ecology* 86:42–55.
- Matthews B, Mazumder A 2003. Compositional and interlake variability of zooplankton affect baseline stable isotope signatures. *Limnology and Oceanography* 48:1977–1987.
- Moore JC, Deruiter PC, Hunt HW 1993. Influence of productivity on the stability of real and model ecosystems. *Science* 261:906–908.
- Paul S, Jusel K, Alewell C 2006. Reduction processes in forest wetlands: tracking down heterogeneity of source/link functions with a combination of methods. *Soil Biology and Biochemistry* 38:1028–1039.
- Pimm SL 1982. *Food Webs*. Chapman & Hall. London.
- Post DM 2002. The long and short of food-chain length. *Trends Ecology and Evolution* 17:269–277.
- Post DM 2002b. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology* 83:703–718.
- Post DM, Doyle MW, Sabo JL. & Finlay JC. 2007. The problem of boundaries in defining ecosystems: a potential landmine for uniting geomorphology and ecology. *Geomorphology* 89:111–126.
- Post DM. & Takimoto G 2007. Proximate structural mechanisms for variation in food-chain length. *Oikos* 116:775–782.
- Rasmussen JB. & Vander Zanden JM 2004. The variation of lake food webs across the landscape and its effect on contaminant dynamics. In: *Food Webs at the Landscape Scale*, GA Polis, ME Power, GR Huxel Eds., University of Chicago Press, Chicago. pp. 169–182.
- Sabo JL, Finlay JC. & Post DM. 2009. Food Chains in Freshwaters. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1162:187–220.
- Sahasrabudhe, S. & Motter, A. E. 2011. Rescuing ecosystems from extinction cascades through compensatory perturbations. *Nature Communications*, 2.
- Stouffer DB. & Bascompte J. 2011. Compartmentalization increases food-web persistence. *PNAS* 108: 3648–3652.
- Vander Zanden MJ. & Fetzer WW. 2007. Global patterns of aquatic food chain length. *Oikos* 116:1378–1388.

- Walters AW. & Post DM. 2008. An experimental disturbance alters fish size-structure, but not food-chain length in streams. *Ecology* 89:3261–3267.
- Williams AJ. & Trexler JC. 2006. A preliminary analysis of the correlation of food-web characteristics with hydrology and nutrient gradients in the southern Everglades. *Hydrobiologia* 569:493–504.

Conclusiones

- 1) La firma de $\delta^{15}\text{N}$ en sedimentos, macroalgas y algas bentónicas es un buen indicador de los efectos derivados de los vertidos procedentes de la camaronicultura (enriquecidos en nutrientes). Sin embargo, isotópicamente no se detectan cambios en las firmas de los consumidores.
- 2) Los vertidos acuícolas reducen significativamente la diversidad de especies y cambian la composición biótica de la red trófica e imponen redes basadas en detritus.
- 3) Los efectos tróficos de los efluentes camaronícolas afectan a la dispersión de especies en los niveles tróficos de los consumidores, incrementando la fragilidad de la estructura trófica ante la desaparición de especies y limitando la diversificación trófica.
- 5) La calidad ambiental de los diferentes hábitats de los humedales ejerce más influencia que las condiciones físicas en las firmas isotópicas de los reservorios de carbono.
- 6) Los efectos isotópicos de las aguas residuales en un humedal muestran un gradiente zonal con respecto a la distancia del punto de descarga en la firma $\delta^{15}\text{N}$ de algunos productores primarios (epifiton, algas filamentosas y *Bolboschoenus maritimus*).
- 7) En el periodo de estudio (2011), la principal fuente de C inorgánico en Las Tablas de Daimiel procede de la meteorización y no del CO_2 biogénico originado durante la descomposición, aunque este fenómeno debe estar muy relacionado con las condiciones hidrológicas.

8) Durante el año de estudio (2011), la principal fuente de carbono particulado en Las Tablas de Daimiel fue *Tamarix canariensis*, mientras que los macrófitos ocuparon una posición marginal, siendo posible que estas aportaciones cambien con las condiciones hidrológicas.

9) Según los registros isotópicos, *Tamarix canariensis* soporta una fracción importante de la producción secundaria en Las Tablas de Daimiel, mientras que *Phragmites australis* resulta totalmente despreciable.

10) La longitud de la red trófica de los humedales no cambia significativamente ante las perturbaciones sostenidas en el tiempo. Parece mucho más importante la composición de las especies de consumidores, que genera cambios estructurales mediados por la complejidad trófica.

11) En los ecosistemas acuáticos estudiados en esta tesis hemos mostrado como las variaciones ambientales sostenidas en el tiempo, asociadas a la entrada de aguas enriquecidas en nutrientes de distinto origen, tienden a modificar la composición biótica de los niveles tróficos intermedios y altos, donde se da el predominio de especies consumidoras versátiles y oportunistas y donde ocurren cambios en las estrategias de alimentación asociados a la variación.

12) La severa alteración hidrológica que sufren los humedales semiáridos, con ciclos de sequía cada vez más prolongados y pronunciados, afecta más a la estructura trófica de los peces que de las aves.

13) El papel de la red trófica planctónica en la estructura trófica global de los humedales necesita ser considerado ya que puede estar enmascarando numerosas interacciones clave como respuestas ante las perturbaciones.

14) Aunque la exposición a aguas enriquecidas produce un aumento de los valores de ^{13}C en algunas plantas acuáticas como *Cladium mariscus* y *Typha dominguensis*, la ausencia de una plausible explicación fisiológica y el bajo rango de variación regional limita el uso de estas especies, de gran difusión global, como indicadoras, al menos en La región de La Mancha Húmeda.

15) Los macrófitos muestran un inequívoco enriquecimiento en ^{15}N como respuesta común al aumento de las cargas de N que reciben los humedales. Sin embargo, resulta imposible separar los efectos de las distintas fuentes potenciales de contaminación –aguas residuales o agricultura– e, incluso, entre las distintas causas de perturbación, incluida la alteración de los regímenes hidrológicos usando isótopos estables.

16) La versatilidad de especies como *Phragmites australis*, con tendencia a un fraccionamiento isotópico muy variable en función de la contaminación que recibe, impide su uso como indicador ecológico.

17) La variación en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *Salicornia* sp. es la que resulta más adecuada para ser usada como indicadora de perturbación en los humedales.