

# INFLUENCIA DE LA PRESION, LUZ Y TEMPERATURA SOBRE LA PRODUCCION DE MACROFITOS EN PERIODOS CORTOS. PROBLEMAS METODOLOGICOS DE LA TECNICA DEL OXIGENO

**Josep Peñuelas**

Departament d'Ecologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, Barcelona 08028

Palabras clave: Hydrostatic pressure, light, temperature, macrophytes, production, oxygen.

## ABSTRACT

EFFECT OF HYDROSTATIC PRESSURE, LIGHT INTENSITY AND TEMPERATURE ON MACROPHYTE PRODUCTION DURING SHORT PERIODS. METHODOLOGICAL PROBLEMS OF THE OXYGEN TECHNIQUE

Higher plants are not found below 8-10 m depth in lakes. Hydrostatic pressure appears to be a plausible determinant of this limitation because in many cases there are light intensities above compensation points further below 8-10 m depth. Bryophytes and algae are found much deeper. It has been studied the effect of hydrostatic pressure, light and temperature on macrophyte (a bryophyte, an alga and a higher plant) production during short periods (1 day) in an experimental system that enables the control of these parameters. Oxygen technique and pH measurement have been used.

Results do not show any significant effect of pressure. Optimum temperature descends at low light intensities. Oxygen technique deficiencies in these experiments are discussed. The high oxygen partial pressure in aerial spaces is thought to be the cause of inviability of higher plants at depths below 10 m.

## INTRODUCCION

Los macrófitos, plantas macroscópicas que se desarrollan en el agua, comprenden macroalgas, briófitos y fanerógamas. Estas últimas, las plantas superiores, desaparecen por debajo de 8-10 m de profundidad en las aguas continentales de todo el mundo (Hutchinson, 1975). Por el contrario, algas y briófitos no presentan este límite llegando a encontrarse hasta 60 y 153 m respectivamente en el lago Tahoe (USA, Frantz & Cordone, 1967). Este comportamiento parece relacionado con un rasgo distintivo de las fanerógamas, la presencia de espacios aéreos. Alguna planta superior marina que los tiene muy reducidos, como *Posidonia oceanica*, llega a colonizar hasta los 50 m de profundidad (Gessner, 1961).

Los factores potencialmente determinantes y que están relacionados con la profundidad son la presión hidrostática, la irradiancia y la temperatura.

La presión hidrostática fue considerada primordial ya por Schimper (1854) y posteriormente por Gessner (1952, 1955 y 1961) que, aunque no encuentra diferencias significativas en los procesos asimiladores de *Hippuris vulgaris* ni inhibición del crecimiento en *Myriophyllum* de 0 a 1 atm de sobrepresión (en este trabajo los valores de presión que se citan se refieren siempre al exceso sobre la presión atmosférica), halla que 0.75 atm detienen completamente el crecimiento apical de *Hippuris vulgaris* y *Criptomocoryne* y el desarrollo floral de *Potamogeton densus*. Ferling (1957) halla que 1 atm inhibe el crecimiento de las ramas laterales y reduce el de las raíces en *Groenlandia densa*. Golubbić (1961, 1963) encuentra muy difícil explicar el límite inferior de *Myriophyllum spicatum* en el lago Vrana (Yugoslavia) por deficiencia de luz o temperatura, dado que están por encima del punto de compensación, y concluye que se debe a la presión. Hutchinson (1975) asimismo argumenta que el des-

Limnética 3: 189-195 (1987)

© Asociación Española de Limnología, Madrid. Spain

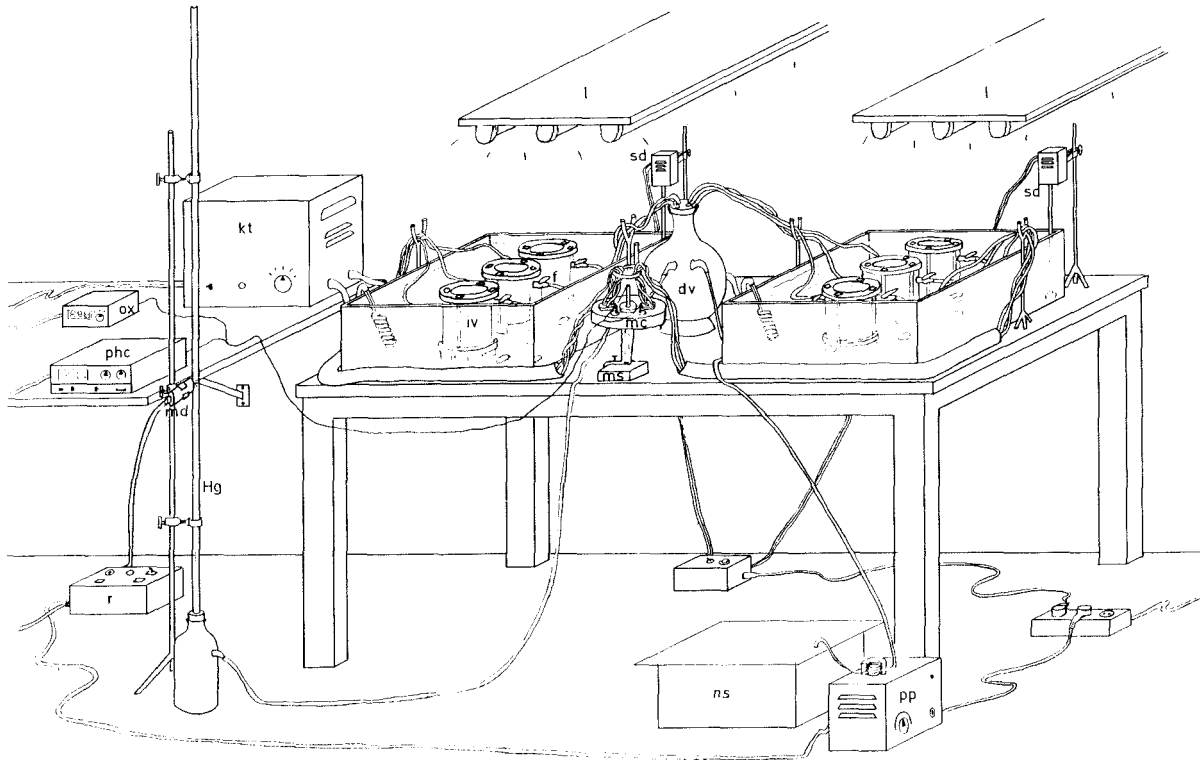


Fig. 1.- Dispositivo experimental: ox = oxímetro, phc = pHmetro y conductímetro, r = relé, kt = criostato y termostato, md = detector de metales, Hg = columna de mercurio, iv = cámaras de cultivo, f = válvulas, l = lámparas, sd = sistema agitador, ms = agitador, dv = recipiente de distribución de solución nutritiva, mc = cámara de medida, ns = solución nutritiva, pp = bomba peristáltica.  
 Experimental System: DV = Distribution vessel, Hg = Mercury column, IV = Incubation vessel, KT = Kryostat and thermostat, L = Lamps, MC = Measurement Chamber, MD = Metal detector, MS = Magnetic stirring device, NS = Nutrient solution, OX = Oxymeter, pHCT = pHmeter conductimeter, PP = Peristaltic pump, R = Relee, SD = Stirring device, T = Thermometer, V = Faucets.

censo del límite inferior a 11 m en el lago Titicaca (altura sobre el nivel del mar de 3.815 m) se puede explicar como consecuencia del descenso de presión atmosférica en 275 mm de Hg respecto a la del nivel del mar.

Spence (1982), por contra, no atribuye ningún papel significativo a la presión, considerando únicamente a la irradiancia como determinante de la distribución. Se basa en los trabajos de Sheldon & Boylen (1977) quienes hallaron *Elodea canadensis* a 12 m en un lago de baja altitud, el George (New York) y de Bodkin *et al* (1980) que halló crecimiento apical y en grosor de *Hippuris vulgaris* independientemente de la presión, siempre que las condiciones de luz y temperatura eran las adecuadas. Tampoco Dale (1984) ha encontrado ningún efecto significativo de la presión. Esta tesis y estos resultados no explican sin embargo el que el propio Bodkin (1979) halle puntos de compensación luminosa que no coincidan con los límites

de profundidad. Asimismo, tampoco se entiende la desaparición de las angiospermas a partir de 6,5 m en un lago tan transparente como el Tahoe (USA), en el que los briófitos llegan a 153 m. No parece que la única razón estribe en los menores puntos de compensación luminosa por los musgos.

Otros autores han atribuido un papel importante a la temperatura puesto que en algunos casos el límite de profundidad a que crecen las fanerógamas coincide con el de máxima penetración de la termoclina (Sheldon & Boylen, 1977). Pero, en muchos otros no ocurre así (Golubić, 1963; Hutchinson, 1975; Bodkin *et al*, 1980).

Hay otros factores como el tipo de sustrato, la concentración de nutrientes, las fuentes de carbono, el oxígeno, la tasa de sedimentación, etc. que son importantes en la distribución de los macrófitos, pero no de manera general como los tres anteriores: presión, luz y temperatura, que son los estudiados en

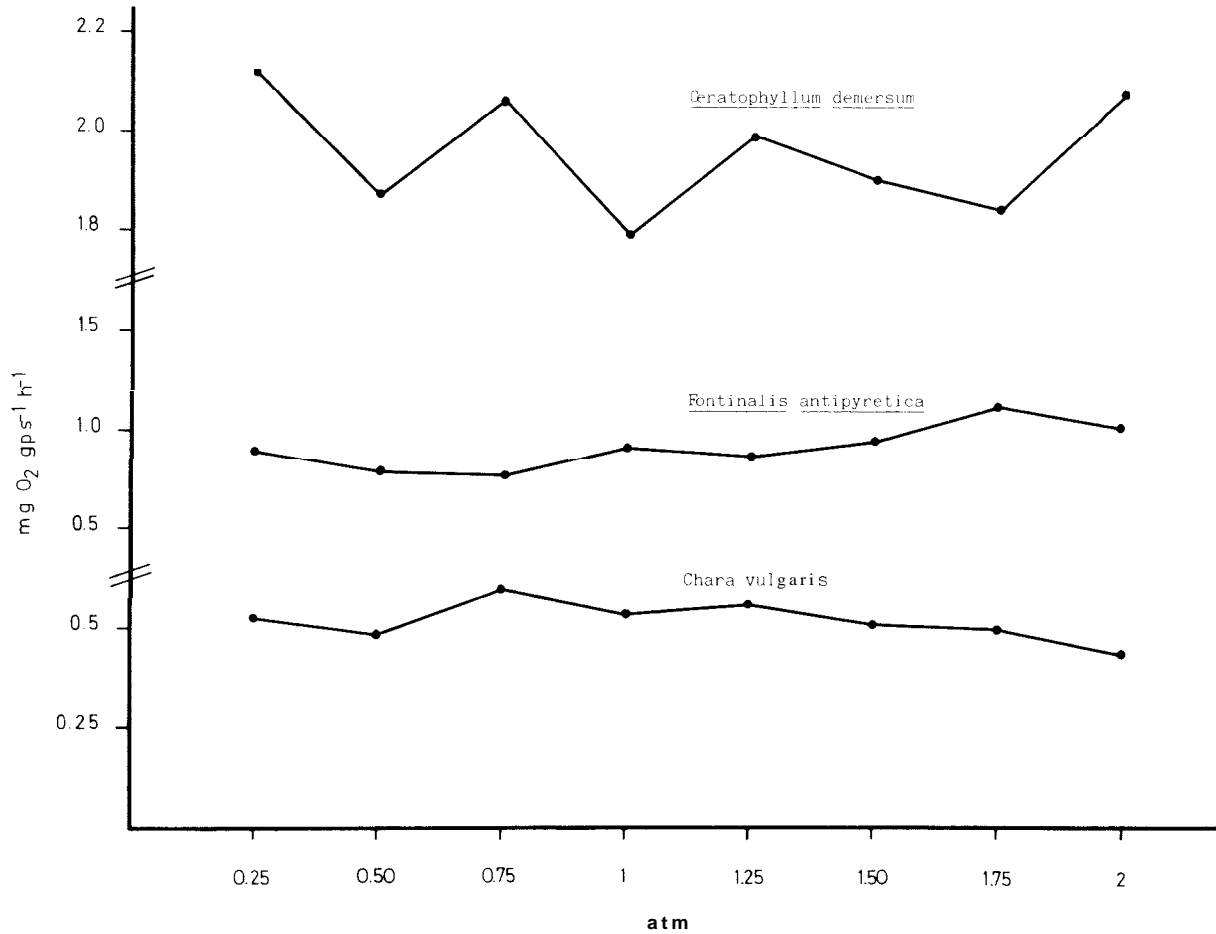


Fig. 2.- Tasa de fotosíntesis neta en función de la presión hidrostática. Experiencias repetidas se desarrollaron siempre según este mismo patten. Las medidas fueron tomadas al mediodía (12-13 horas). Temperatura 23°C.  
 Net Photosynthetic rateas a function of hydrostatic pressure. The same patten was found in repeated measures.

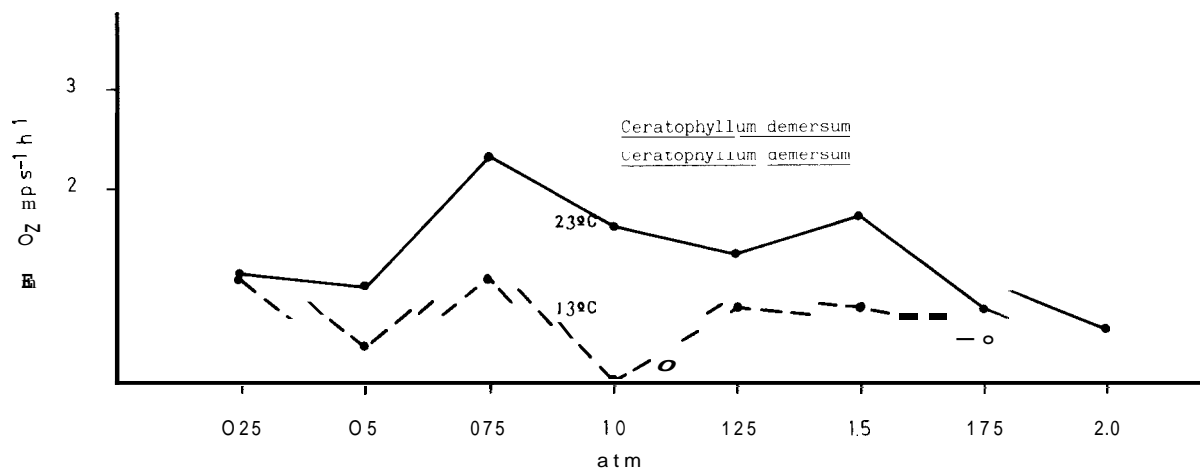


Fig. 3.- Tasa fotosintética neta a 13°C y 23°C en función de la presión.  
 Net Photosynthetic rate at 13°C and 23°C as a function of irradiance in *Ceratophyllum demersum*.

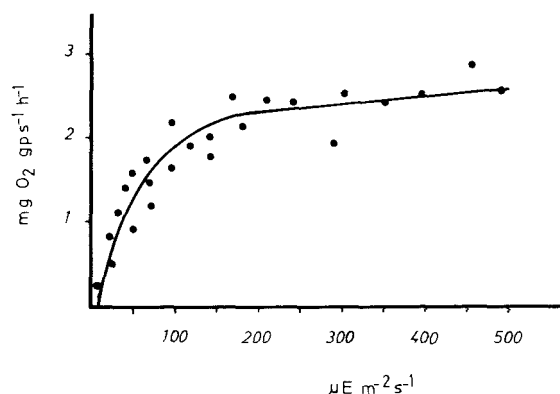


Fig. 4.- Tasa fotosintética neta de *Ceratophyllum demersum* en función de la irradiancia.

Net Photosynthetic rate as a function of irradiance in *Ceratophyllum demersum*.

este trabajo. En él se lleva a cabo un estudio experimental del efecto de la presión, la luz y la temperatura sobre la tasa fotosintética, con lo que se pretende contribuir a un mejor conocimiento de los aspectos del metabolismo de las angiospermas que las limitan a zonas muy por encima de la máxima profundidad alcanzada por musgos y algas; y a partir de los resultados obtenidos, se critica la metodología habitual en este tipo de experiencias.

## MATERIAL Y METODOS

Las plantas se cultivaron en una serie de recipientes de 1 l. sobre los que incidían intensidades controlables. Estaban sumergidos en baños de agua termostatazados, y se les aplicaba la presión deseada gracias a una bomba peristáltica y una columna de mercurio (manómetro y presostato a la vez) (Peñuelas, 1987). Todos se comunicaban con una cámara en la que se medía el oxígeno, el pH y la conductividad (fig. 1).

Las plantas utilizadas fueron una macroalga, *Chara vulgaris*, un briófito, *Fontinalis antipyretica*, y una fanerógama, *Ceratophyllum demersum*, que fue escogida por tratarse de una de las que alcanza mayor profundidad en los lagos y porque al no tener raíces (Gluck, 1905) plantea menos problemas metodológicos para acondicionarla a las cámaras de cultivo. En cada recipiente se introducían de 3 a 5 brotes de 10 cm. El medio nutritivo utilizado constaba de 0.5 mg/l de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.125 mg/l de  $\text{KNO}_3$ , 0.125 mg/l de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.125 mg/l de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , y de 125 mg/l de  $\text{NaHCO}_3$ .

Se calculó la energía de activación,  $E_a$ , de la producción neta en distintas condiciones de luz y presión. Para ello se utilizó la ecuación de Arrhenius

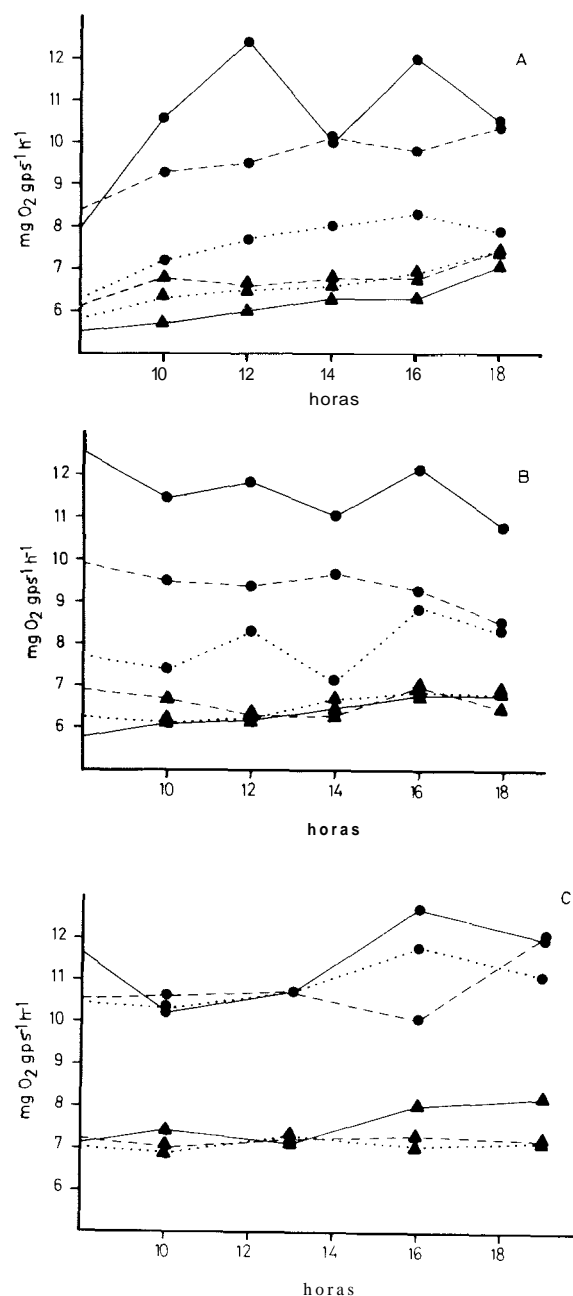


Fig. 5.- Evolución de la concentración de oxígeno en las cámaras de cultivo en el primer, quinto y octavo día (A, B y C). (—) 0.1 atm., (---) 1.5 atm y (.....) 1.0 atm. (●) 300 y (▲) 30  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

$[\text{O}_2]$  in incubation vessels along the first, fifth and eighth incubation days (A, B, C) — 0.1 atm., ..... 1 atm. --- 1.5 atm. ● 300  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , ▲ 30  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

	Ea (Kcal mol <sup>-1</sup> )		Q <sub>10</sub>	
	15 μE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	250 μE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	15 μE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	250 μE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
0.1 atm	-8.01 - -37.6	-6.36 - 15.91	0.62 - 0.32	0.68 - 2.61
1.5 atm	1.52 - 2.90	29.72 - 32.30	1.10 - 1.19	6.00 - 7.01

Tabla 1.- Valores de la Ea energía de activación y de Q<sub>10</sub> factor de cambio de la tasa fotosintética al aumentar 10°C (en este trabajo de 10 a 20°C), en distintas condiciones de luz y presión.

Activation energy, Ea, and Q<sub>10</sub> factor (change of photosynthetic rate between 10°C and 20°C) under different light and temperature conditions.

$Pro = Ae^{-Ea/RT}$  donde Pro es la producción, A es la constante particular del proceso, Ea es la energía de activación (cal mol<sup>-1</sup>), R es la constante de los gases (cal °K mol<sup>-1</sup>) y T la temperatura absoluta. Se calculó la recta de regresión  $\ln Pro = f(1/T)$  de la que Ea/R es la pendiente. Se halló después el factor de cambio de la tasa de producción al aumentar 10°C la temperatura, Q<sub>10</sub>, mediante la expresión  $\ln Q_{10} = \frac{Ea}{10RT_1 T_2}$ , donde T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub> son los límites de temperatura (en este estudio 283-y 293°K).

En cada experiencia se midió el peso fresco de la planta después de enjuagar con papel de filtro, el peso seco tras secar en estufa a 70°C hasta peso constante. y las cenizas después de incinerar a 550°C durante 6 horas.

Todos los experimentos descritos, realizados de octubre de 1983 a junio de 1984, se repitieron dos veces. Las plantas se lavaron previamente con KMnO<sub>4</sub> 0.01 M durante 1.5 minutos y con agua destilada, con lo que se logró eliminar gran parte de los epífitos. Se realizaron bancos de dilución de bacterias para discernir su importancia. Se comprobó en todos los casos que eran intrascendentes, con un máximo de 13.000 bacterias aeróbicas ml<sup>-1</sup> y ninguna anaeróbica.

## RESULTADOS

Tanto el musgo *Fontinalis antipyretica* como la carácea *Chara vulgaris* y la fanerógama *Ceratophyllum demersum* se comportaron de manera similar, sin ningún efecto evidente del incremento de presión entre 0 y 2 atm en los experimentos realizados a corto plazo (1 día en las mismas condiciones) (fig. 2). La producción neta de oxígeno disminuye por la tarde, ya sea por fotorrespiración, fotoinhibición o ritmo interno; por ello los valores representados en la figura 2 corresponden a los tomados al mediodía (12-13 horas). En los experimentos diseñados según modelos diversos del análisis de la varianza se obtuvieron los mismos resultados negativos sobre el efecto de la presión. La temperatura alta (23°C) presentó un claro efecto positivo (fig. 3) que permitió el cálculo de la Ea

y de Q<sub>10</sub> (tabla 1). Sin someter las plantas a presión, la producción que se obtiene en función de la irradiancia muestra un comportamiento ajustable a una cinética de Michaelis-Menten (fig. 4) con una K<sub>M</sub> de 75 μE m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> y una producción neta máxima de 1.2 mg O<sub>2</sub> gps<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en las condiciones de estas experiencias. Cuando a las plantas se les aplicaba presión en exceso, no había efecto aparente de la luz.

En la fig. 5 se aprecia cómo evoluciona la concentración de oxígeno manteniendo a las plantas en unas mismas condiciones a lo largo de varios días. Sólo bajo irradiancias altas y presión baja se producen cambios claros. En los demás casos, sea por intensidad luminosa baja o por presión elevada, los cambios están amortiguados. A presión baja, los incrementos de oxígeno disminuyen cuando la concentración de este gas es alta con máximos antes del mediodía y a primera hora de la tarde. En los demás casos las curvas de incremento no presentan inflexiones tan importantes, especialmente cuando la intensidad luminosa es menor. En estas experiencias se aprecia un efecto significativo de la presión sobre la concentración de oxígeno a pesar de que el crecimiento es inhibido (Peñuelas, 1987a).

Las medidas de pH siguieron un comportamiento similar, con mayor variabilidad y con respuestas más rápidas indicando una más rápida difusión del CO<sub>2</sub> al medio.

## DISCUSION

En estos experimentos no se ha hallado efecto significativo de la presión lo que en principio induce a pensar, como Spence (1982) y Dale (1984), que dicho factor es intrascendente en la producción y distribución de los macrófitos. Mientras que para briófitos y algas se acepta bien esta conclusión, en las fanerógamas sorprende porque no explica su desaparición en profundidad. Estos resultados, como los de otros autores (Gessner, 1961), que a pesar de hallar inhibición del crecimiento, no encuentran cambios asimilatorios con la presión, pueden ser el resultado de la utilización de unas variables inadecuadas. En efecto, la me-

didada de la concentración de oxígeno es un método que, aunque menos sensible que el del  $C^{14}$ , permite un registro continuo a lo largo del tiempo y la estimación de la respiración (Azcón-Bieto *et al.*, 1987) pero, con estas plantas y en estos experimentos, puede dar valores positivos tanto cuando las condiciones son adecuadas y la planta fotosintetiza, como cuando son inadecuadas como serían las de un exceso de presión que provocaría la difusión del gas de los espacios aéreos de las plantas. En los experimentos de larga duración (fig. 5) se aprecia que sólo se incrementa rápidamente la concentración de oxígeno cuando la presión es baja y la irradiación alta. Cuando la presión es elevada los aumentos son graduales y pequeños mostrando una difusión lenta de oxígeno al medio. De hecho la actividad fotosintética de estas plantas superiores no se refleja inmediatamente en cambios de la concentración de oxígeno en el medio, e incluso no llega a reflejarse cuando la intensidad luminosa es baja (fig. 5) (Hartman & Brown, 1967). A medida que aumenta la presión hidrostática, la presión parcial del gas en los espacios aéreos aumenta linealmente con lo que su disolución en las células adyacentes puede hacer lo propio, activando la fotorrespiración (Farquhar & Von Caemmerer, 1982) y otros procesos tóxicos derivados de la consiguiente formación de  $H_2O_2$ ,  $O_2$  singlete y superóxidos (Peñuelas, 1987b). Se ha medido por tanto una variable, el oxígeno, que puede comportarse como un factor negativo de la producción, y que además, viene determinado por la presión, cuyo efecto no queda claro con estos resultados, porque, o bien no ejerce ninguno, con lo que la concentración de oxígeno aumenta por la fotosíntesis, o bien lo ejerce negativo pero como la presión parcial aumenta, la concentración del medio también se incrementa. Por otra parte, los procesos rítmicos diarios y estacionales y el gran rango de variación natural que ya de por sí presentan estas plantas (Sheldon & Boylen, 1977) introducen gran variabilidad en los resultados. Se deduce pues que su medida, como un parámetro aislado, no es adecuada en este tipo de experiencias.

La medida de los cambios de pH presenta problemas parecidos puesto que el  $CO_2$ , es otro de los gases presentes en los espacios aéreos. Además el  $CO_2$ , difunde más fácilmente y no se acumula en gran cantidad en su interior (Hartman & Brown, 1967). De hecho, cuando se ha mantenido la presión constante durante periodos largos, se ha podido establecer que el pH disminuye con la presión y aumenta con la irradiación.

Por las razones explicitadas, es aconsejable realizar experimentos de larga duración -1 semana o más- para simular mejor lo que ocurre en la naturaleza y para poder medir variables que claramente indiquen viabilidad y producción como crecimiento, incremen-

to de peso, aumento de hojas, cambios pigmentarios, anatomía de los espacios aéreos, ...

Los cambios en la concentración de oxígeno en función de la temperatura permitieron calcular las energías de activación y los  $Q_{10}$  de la producción neta en condiciones distintas de presión y de luz. Los valores obtenidos (tabla 1), como los hallados en el estudio del fitoplancton (9-90 Kcal mol<sup>-1</sup> y 2.3) (Priscu & Goldman, 1984) presentan una gran variabilidad explicable al haber utilizado la ecuación de Arrhenius en un proceso tan complejo como el de la producción. A intensidades luminosas bajas, correspondientes a mayores profundidades, los valores son menores, incluso negativos, es decir, las temperaturas óptimas son más bajas que a irradiancias superiores correspondientes a la superficie. Parece que las plantas que crecen bajo intensidades de luz menores se adaptan a temperaturas más bajas. Los mayores valores de  $E_a$  y  $Q_{10}$  a presiones altas son explicables por los problemas metodológicos de la técnica del oxígeno en este tipo de experimentos.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco la ayuda prestada por el Prof. Margalef y el soporte económico de la CAYCIT (592/81).

## BIBLIOGRAFIA

- Azcón-Bieto, J., Murillo, J. & Peñuelas, J. 1987. Cyanide-resistant respiration in photosynthetic organs of freshwater aquatic plants. *Plant Physiology* (en prensa).
- Bodkin, P.C. 1979. Control of growth in *Hippuris vulgaris*. Ph D Thesis, University of St. Andrews, Scotland.
- Bodkin, P.C.; Poluszny, U. & Dale, H.M. 1980. Light and pressure in two freshwater lakes and their influence on the growth, morphology and depth limits of *Hippuris vulgaris*. *Freshwater Biology* 10, 545-52.
- Dale, H.M. 1984. Hydrostatic pressure and aquatic plant growth: a laboratory study. *Hydrobiologia* 111, 193-200.
- Farquhar, G.D. & Von Caemmerer, S. 1982. Modelling of Photosynthetic Response to Environmental Conditions. A: O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & Ziegler (eds.), *Physiological Plant Ecology* vol. B, *Water Relations and Photosynthetic Productivity*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 549-587.
- Ferling, E. 1957. Die Wirkungen des erhöhten hydrostatischen Druckes auf Wachstum und Differenzierung submerser Blütenpflanzen. *Planta*, 49, 235-270.
- Frantz, T.C. & Cordone, A.J. 1967. Observations on deep water plants in lake Tahoe, California and Nevada. *Ecology*, 48 (5):709-14.
- Gessner, F. 1952. Der Druck in seiner Bedeutung für das Wachstum submerser Blütenpflanzen. *Planta*, 40, 391-97.

- Gessner, F. 1955.** *Hydrobotanik: Die Physiologischen Grundlagen der Pflanzenverbreitung in Wasser I: Energiehaushalt*. Berlin. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften. 517 pp.
- Gessner, F. 1959.** *Hydrobotanik II. Stoffhaushalt*. Hochschulbücher für Biologie Band (8) Berlin, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften.
- Gessner, F. 1961.** Hydrostatischer Druck und Pflanzenwachstum. A: W. Ruhland (ed.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, Berlin, Springer-Verlag 16, 668-90.
- Golubic, S. 1961.** Der Vrana-See an der Insel Cres-ein Chara-See. *Ver int. Verein. theor. angew. Limnol.*, 14, 846-49.
- Golubic, S. 1963.** Hydrostatischer Druck Licht und submerse Vegetation in Vrana-See. *Int. Revue. Ges. Hydrobiol. Hydrogr.*, 48, 1-7.
- Gluck, H. 1906.** Biologische und Morphologische Untersuchungen über Wasser- und Sumpfgewächse. II Untersuchungen über die mitteleuropäische *Utricularia* Arten, über die Turionienbildung bei Wasserpflanzen, sowie über *Ceratophyllum*. Fischer, Jena.
- Hartman, R.T. & Brown, D.L. 1967.** Changes in internal atmosphere of submerged vascular hydrophytes in relation to photosynthesis. *Ecology*, 38 (2), 252-258.
- Peñuelas, J. 1987a.** An experimental study of hydrostatic pressure and irradiance effects on a two submerged aquatic plants. *Pol. Arch. Hydrobiol* (en prensa).
- Peñuelas, J. 1987b.** High Oxygen Tension Inhibits Vascular Aquatic Plant Growth in Deep Waters. *Photosynthetica* (en prensa).
- Prisco, J.C. & Goldman, C.R. 1984.** The effect of temperature on photosynthetic and respiratory electron transport system activity in the shallow and deep-living phytoplankton of a subalpine lake. *Freshwater Biology*, 14, 143-55.
- Sheldon, R.B. & Boylen, C.W. 1977.** Maximum depth inhabited by aquatic vascular plants. *Am. Midl. Nat.*, 97, 248-254.
- Spence, D.H.N. 1982.** The zonation of plants in freshwater lakes. *Advances in Ecological Research* 12, 37-125.