

BIOGEOGRAFÍA DEL BACTERIOPLANCTON DE LAS LAGUNAS DEL PARQUE NACIONAL DE SIERRA NEVADA

ISABEL RECHE^{1,2} Y EMILIO O. CASAMAYOR³

RESUMEN

La incorporación de técnicas derivadas de la biología molecular para determinar las especies o unidades taxonómicas operativas (OTUs) en los procariotas está permitiendo a los ecólogos microbianos realizar estudios sobre sus patrones de distribución, esto es su biogeografía. En este estudio, se seleccionaron 11 lagunas del Parque Nacional de Sierra Nevada para comprobar si sus comunidades bacterianas se ajustan o no a las predicciones de la Teoría de Biogeografía de Islas sobre el tamaño y el aislamiento insular. Además, se realizó un análisis de anidamiento para valorar la importancia de los procesos de dispersión en la metacomunidad de las bacterias de Sierra Nevada.

El tamaño de las lagunas parece condicionar, en buena medida, la riqueza y diversidad de OTUs que aparecen en cada laguna. Las lagunas de mayor tamaño presentaron mayor riqueza y diversidad. El nivel de aislamiento de cada laguna se obtuvo calculando un índice de conectividad (C_i) que depende de la distancia entre cada laguna y el resto de las lagunas de Sierra Nevada y su tamaño relativo. Apparentemente, las lagunas mejor conectadas presentaron mayor riqueza y diversidad de OTUs, pero esta relación no fue estadísticamente significativa. La metacomunidad bacteriana de las lagunas de Sierra Nevada no está anidada cuando la métrica utilizada es la matriz de temperatura. La comunidad bacteriana de la laguna de Virgen Superior fue significativamente idiosincrática.

Palabras clave: biogeografía, estructura del bacterioplancton, área del lago, conectividad del lago, anidamiento bacteriano.

SUMMARY

With the advent of DNA-based molecular technologies to determine prokaryotic species or operational taxonomic units (OTUs), microbial ecologists now have the tools to search for their spatial patterns, that is their biogeography. In this study, we selected 11 high-mountain lakes from National Park of Sierra Nevada to test the predictions of island-biogeography theory in relation to ecosystem size and isolation. In addition, we performed a nestedness analysis to assess the significance of dispersal processes in the bacterial metacommunity of Sierra Nevada.

Lake size appeared to affect, to some extent, OTUs richness and diversity. Lakes with the biggest sizes housed more OTUs and had the highest diversity values. The isolation of each lake was obtained by using a connectivity index (C_i) that depends on the distance between each lake and the rest of Sierra

¹ Instituto del Agua, Universidad de Granada, 18071 Granada

² Departamento de Biología Animal y Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, E-mail: ireche@ugr.es

³ Centre d'Estudis Avançats de Blanes-CSIC, Acces Cala St Francesc, 14, 17300 Blanes, Girona, E-mail: casamayor@ceab.csic.es

Nevada lakes and its corresponding relative size. Seemingly, the lakes with the highest C_i values showed the highest OTUs richness and diversity, but this relationship was not statistically significant. Bacterial metacomunity of Sierra Nevada lakes was not nested when the matrix temperature was used as metric. Bacterial community from Virgen Superior lake was significantly idiosyncratic.

Key words: biogeography, bacterioplankton structure, lake area, lake connectivity, bacterial nestedness.

INTRODUCCIÓN

La biogeografía, el estudio de la distribución espacial y temporal de la diversidad biológica, ha estado centrada, casi exclusivamente, en los organismos de gran tamaño y los patrones de distribución de los microorganismos han sido tradicionalmente poco explorados. Esta escasez de estudios sobre biogeografía microbiana tiene su raíz en la asunción tradicional entre los microbiólogos que «*Everything is everywhere, but the environment selects* (BAAS-BECKING 1934)». Se asumía ubicuidad de los microorganismos basándose en sus elevadas tasas de dispersión. Esta hipótesis fue reforzada por estudios con microorganismos eucariotas como los ciliados (FINLAY & CLARKE 1999, FINLAY 2002). Sin embargo, recientes estudios han mostrado la existencia de patrones de distribución espacial a escala global (MARTINY *et al.* 2006) en taxones procariotas especialmente de ambientes extremos (WHITAKER *et al.* 2003, PAPKE *et al.* 2003). En esta última línea de pensamiento, recientemente se ha venido enfatizado la necesidad de considerar la estructuración espacial para comprender, en su mayor extensión, los patrones de distribución de los microorganismos (MARTINY *et al.* 2006, BARBERÁN & CASAMAYOR 2010). En esta búsqueda por determinar patrones de distribución espacial entre los microorganismos y por evaluar si éstos se ajustan o no a los principios de la teoría ecológica, HORNER-DEVINE *et al.* (2004) (en sedimentos y áreas contiguas) y RECHE *et al.* (2005) (en lagos) han mostrado que las bacterias presentan relaciones positivas entre el tamaño del área del ecosistema y la riqueza de unidades taxonómicas operativas (OTU). Estos autores han establecido por primera vez relaciones especie-área para bacterias que permiten ser comparadas con las ya existentes para las plantas y los animales de gran tamaño.

La mayoría de los estudios sobre la composición de la comunidad bacteriana en lagos se han centrado en determinar el papel ejercido por la variabilidad ambiental como por ejemplo la cantidad y calidad del carbono orgánico (CRUMP *et al.* 2003) o la disponibilidad de recursos minerales, quedando prácticamente relegados los factores históricos de localización geográfica, esto es su estructuración espacial. MARTINY *et al.* (2006) han subrayado la necesidad de usar diseños de muestreo específicos, así como herramientas estadísticas prestadas de la macroecología, que nos permitan evaluar la importancia relativa en la estructuración de las comunidades microbianas de los factores geográficos a escalas espaciales diferentes (local, regional y global).

Los lagos, en general, pueden ser considerados como islas dentro de un océano de tierra (DODSON 1992). Esta apreciación de los lagos como hábitats estructurados espacialmente, con comunidades microbianas conectadas por procesos de dispersión y que denominamos metacomunidades, está abriendo un nuevo paradigma en el estudio de los patrones de distribución de los microorganismos. En particular, los lagos de alta montaña, al encontrarse alejados de perturbaciones antrópicas significativas, pueden utilizarse como sistemas modelo para valorar la importancia de la estructuración espacial en metacomunidades microbianas y comprobar las predicciones de la Teoría de biogeografía de islas (MACARTHUR & WILSON 1967).

En este estudio hemos analizado la estructura (riqueza, diversidad y composición de OTUs) de las comunidades bacterianas en 11 de las lagunas de Sierra Nevada utilizando técnicas de biología molecular para comprobar las predicciones de la Teoría de Biogeografía de islas (importancia del

tamaño y aislamiento insular). Además, se realizó un análisis de anidamiento para valorar la importancia de los procesos de dispersión en la metacomunidad de las bacterias de Sierra Nevada.

Material y métodos

Las lagunas estudiadas se encuentran localizadas en el Parque Nacional de Sierra Nevada a altitudes comprendidas entre los 2800 y 3100 metros por encima del nivel del mar. Su origen es glaciar, son de carácter oligotrófico y con bajo contenido en materia orgánica disuelta (MORALES-BAQUERO *et al.* 1999, RECHE *et al.* 2001). Para este estudio se seleccionaron 11 lagunas intentando cubrir la mayor heterogeneidad paisajística posible de Sierra Nevada. Las lagunas de la Caldera (CA) y Yeguas (YE) se asientan directamente en terreno rocoso, Río Seco (RS), Aguas Verdes (AV), Virgen Superior (VS), Virgen Media (VM), Laguna 2 (L2), Laguna 4 (L4), Laguna 5 (L5), Laguna 7 (L7), and Peñón Negro (PN) están rodeadas por vegetación alpina (borreguiles) y además RS, AV y L7 tienen arroyos de entrada y salida visibles.

Se tomaron muestras epilimnéticas durante el período libre de hielo para el análisis de ácidos nucleicos del bacterioplancton, su abundancia celular, su producción, así como para la concentración de los nutrientes básicos para las bacterias como el fósforo y el carbono orgánico. Los procedimientos para la determinación de la obtención del DNA bacteriano, la abundancia celular y la producción bacteriana ya han sido descritos con mayor detalle en publicaciones previas (e.g. PULIDO-VILLENA *et al.* 2003, RECHE *et al.* 2005). Para la extracción de ácidos nucleicos un volumen variable (de 200 ml a 2.500 ml) de agua de las lagunas se filtró a través de filtros de 0,2 μm de policarbonato (Nuclepore) y se congelaron a -20°C hasta su procesamiento. Se procedió a la extracción del DNA, luego se amplificó en PCR para los genes del 16S rRNA y se realizó una electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE) siguiendo los mismos protocolos ya publicados en CASAMAYOR *et al.* (2000, 2001). Cada una de las bandas de cada carril (lago) del

gel se correspondería con una unidad taxonómica operativa (OTU) y su intensidad se correspondería con su frecuencia relativa. El número de bandas de cada sistema (carril) es la riqueza de OTUs y su intensidad relativa fueron utilizadas para calcular el índice de diversidad según Shannon-Weaver (H') como sigue:

$$H' = \sum_{i=1}^{i=n} p_i \ln p_i$$

donde n es el número de bandas en la muestra de cada lago y p_i es la intensidad relativa de cada banda.

Para comparar la composición bacteriana entre las diferentes lagunas se construyó un dendrograma. Las bandas en el gel que ocupan una misma posición en los diferentes carriles fueron identificadas y se construyó una matriz de presencia/ausencia de OTUs. Estos datos binarios fueron utilizados para obtener una matriz de similitud usando el coeficiente de Jaccard (S_j) con el software SYSTAT 5.2.1 y, luego, se obtuvo el dendrograma por UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic averages). Esta matriz de presencia/ausencia de OTUs se utilizó también para los cálculos en los análisis de anidamiento (véase más adelante).

Se han evaluado las dos principales predicciones de la Teoría de Biogeografía de Islas sobre la riqueza y la diversidad del bacterioplancton. La primera predicción es que a mayor tamaño de la laguna, cabría esperar mayor riqueza y diversidad de bacterias. La segunda es que en las lagunas que se encuentren menos aisladas de otras podrán ser diana más fácil para las bacterias inmigrantes y habrá una mayor riqueza y diversidad de bacterias. El nivel de aislamiento de cada una de las lagunas fue determinado usando un índice de conectividad (C_i) entre hábitas propuesto por HANSKI (1994) y que nosotros hemos simplificado para los lagos:

$$C_i = \sum_{j \neq i} e^{-d_{ij}} A_j$$

donde C_i es la conectividad de la laguna i con respecto al resto de las lagunas ($j \neq i$), d_{ij} es la distancia euclídea (Km) entre la laguna i y el resto de lagunas, incluso las que no están incluidas en este estudio, y A_j es el área (km²) de cada una de las laguna diferente de la laguna i ($j \neq i$). Un elevado valor de C_i indica que esa laguna está bien conectada y que las posibilidades de colonización son relativamente grandes y albergará más riqueza y diversidad de bacterias.

Más recientemente, el análisis de anidamiento se está popularizando para el estudio de patrones biogeográficos de especies de animales y plantas (ULRICH *et al* 2009), aunque nunca se ha utilizado para bacterias. El anidamiento mide el grado en el que el conjunto de especies de un parche (isla, laguna) más pequeño es representativo de parches (islas) de mayor tamaño o, por el contrario, aparecen peculiaridades (idiosincrasias) locales. Es decir, si en aquellas lagunas de menor tamaño aparecerán las OTUs que son más frecuentes en las lagunas de mayor tamaño. En este trabajo hemos calculado dos índices de ani-

damiento: la matriz de temperatura según ULRICH (2006) y el índice NODF (Nestedness measure based on Overlap and Decreasing Fills) propuesto por ALMEIDA-NETO *et al.* (2008) y ALMEIDA-NETO & ULRICH (2011). Este último índice además de medir el anidamiento en el conjunto de habitats (lagunas) proporciona información específica sobre el nivel de idiosincrasia tanto para los diferentes OTUs como para cada uno de los diferentes habitats (lagunas).

Resultados

La abundancia bacteriana en las lagunas estudiadas de Sierra Nevada osciló entre $0,6 \times 10^6$ cel ml⁻¹ y $10,2 \times 10^6$ cel ml⁻¹ y la producción bacteriana entre $3,3$ pmol leu l⁻¹h⁻¹ y $687,4$ pmol leu l⁻¹h⁻¹. La riqueza de OTUs bacterianos en el conjunto de las lagunas estudiadas en el Parque Nacional de Sierra Nevada fue de 26 OTUs. La riqueza y diversidad de OTUs en cada una de las lagunas varió entre 4 y 9 y entre 0,57 y 1,98, respectivamente (Tabla 1). Las lagunas 2 y 5 del conjunto denominado siete lagunas fueron los que presentaron

Lagunas	Localización UTM (30S)	Altitud Metros	Area ¹ ha	Conectividad C	Abundancia ² × 10 ⁶ cel ml ⁻¹	Producción ² pmol leu l ⁻¹ h ⁻¹	S	H'	Índice NODF
Río Seco (RS)	VG694009	3.020	0,42	0,01271	4,1 ± 0,0	24,8 ± 0,8	8	1,47	2,83
Caldera (CA)	VG708012	3.050	2,10	0,01441	0,9 ± 0,0	10,7 ± 0,3	6	1,20	2,50
Aguas Verdes (AV)	VG674006	3.050	0,19	0,00372	10,2 ± 0,5	83,2 ± 1,7	6	0,89	4,50
Yeguas (YE)	VG662013	2.880	0,33	0,00217	3,9 ± 0,1	3,3 ± 1,0	6	1,66	1,22
Virgen Superior (VS)	VG665008	2.950	0,08	0,00401	1,4 ± 0,1	392,5 ± 2,2	6	1,10	0,25*
Virgen Media (VM)	VG664009	2.940	0,01	0,00481	2,2 ± 0,1	373,3 ± 16,2	4	0,57	6,17
Siete lagunas-L2	VG735014	3.020	0,34	0,01405	2,8 ± 0,2	687,4 ± 12,1	9	1,98	1,60
Siete lagunas-L4	VG737012	2.970	0,19	0,01355	2,2 ± 0,1	115,8 ± 2,9	5	1,13	2,56
Siete lagunas-L5	VG734009	2.980	0,18	0,01403	1,9 ± 0,0	98,3 ± 19,3	9	1,98	2,43
Siete lagunas-L7	VG739004	2.890	0,53	0,00789	0,6 ± 0,1	162,7 ± 17,5	7	1,24	2,25
Peñón Negro (PN)	VF738983	2.820	0,67	0,00231	2,7 ± 0,0	391,4 ± 22,3	8	1,44	2,50

¹ Tomado de MORALES-BAQUERO *et al.* (1999)
² Tomado de PULIDO-VILLENA *et al.* (2003)
 *Presenta una comunidad significativamente idiosincrática.

Tabla 1. Localización geográfica, área, índice de conectividad (Ci) de cada laguna, abundancia celular y producción procariótica, riqueza de unidades operativas taxonómicas OTUs (S), diversidad de bacterias usando el índice de Shannon-Weaver (H') e idiosincrasia de cada laguna utilizando el índice NODF.

Table 1. Geographical location, lake area, lake connectivity (Ci), cellular abundance, prokaryotes production, richness of operational taxonomic unit using the Shannon-Weaver (H') index, idiosyncratic values for each lake using NODF index.

mayor riqueza y diversidad de OTUs, siendo la laguna de Virgen Media la que presentó una menor riqueza y diversidad. El OTU 5 fue encontrado en todas las lagunas excepto en Peñón Negro. Sin embargo, este OTU fue relativamente poco abundante con una intensidad relativa comprendida entre el 0,8% y el 8,7%. La similitud (S_j) en la composición bacteriana entre las lagunas se muestra en la Figura 1. Las lagunas 2, 5 y 7 del conjunto denominado Siete lagunas son muy parecidas entre sí en su composición y ellas se segregan del resto de las lagunas (Figura 1).

La teoría de Biogeografía de Islas propone que el tamaño y lo remoto que sea un sistema va a determinar su riqueza de especies. En este contexto, evaluamos si el área y la conectividad (C_i) de cada una de las lagunas afectaba a su riqueza y diversidad de OTUs. Nosotros hemos encontrado que existe una relación entre el área de la laguna y su riqueza en OTUs (Figura 2A) marginalmente significativa ($p = 0,072$) y entre el área de la laguna y su diversidad (Figura 2B) significativa ($p = 0,046$). La pendiente de la relación con la riqueza (z) fue de $0,104 \pm 0,051$.

Los valores de conectividad oscilaron entre 0,00231 y 0,01441 (Tabla 1), con valores particularmente elevados en el grupo de siete lagunas.

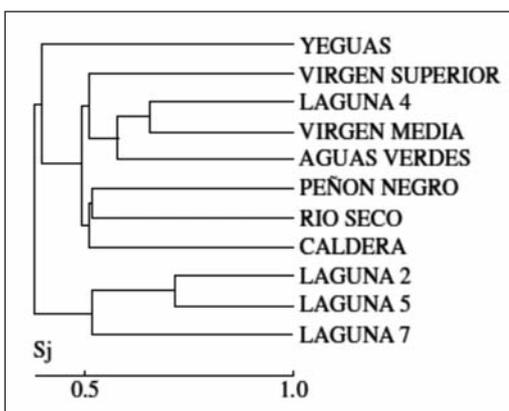


Figura 1. Dendrograma de las lagunas estudiadas de Sierra Nevada agrupadas por su similitud en composición de unidades taxonómicas operativas (OTUs).

Figure 1. Dendrogram of study lake from Sierra Nevada clustered by composition similarity of operational taxonomic units.

No encontramos relaciones significativas entre la conectividad de cada una de las lagunas y su riqueza en OTUs (Figura 3A) o su diversidad (Figura 3B). Sin embargo, para ambos parámetros (S and H') aparece una tendencia positiva con la conectividad de cada una de las lagunas. Es decir, aquellos lagos que se encuentran más cercanos a otros lagos de tamaño grande parecen presentar mayor riqueza y diversidad de OTUs.

La utilización del análisis de anidamiento (*nestedness*) para el estudio de metacomunidades (comunidades biológicas conectadas por procesos de dispersión) está siendo cada vez más robusto y extendido en la comunidad científica. En este estudio hemos calculado el anidamiento utilizando dos métricas diferentes: la matriz de temperatura y el índice NODF. La matriz de presencia/ausen-

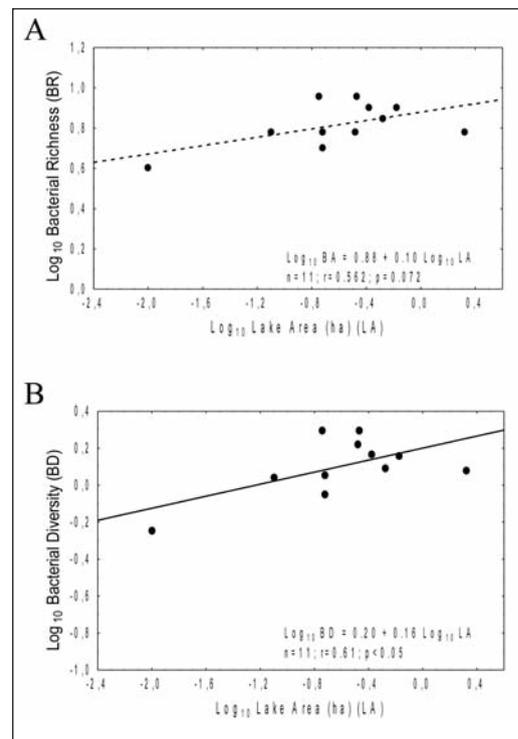


Figura 2. Relación entre el área de las lagunas y la riqueza (A) y diversidad (B) de unidades taxonómicas operativas bacterianas (OTUs).

Figure 2. Relationship between lake area and richness (A) and diversity (B) of bacterial operational taxonomic units (OTUs).

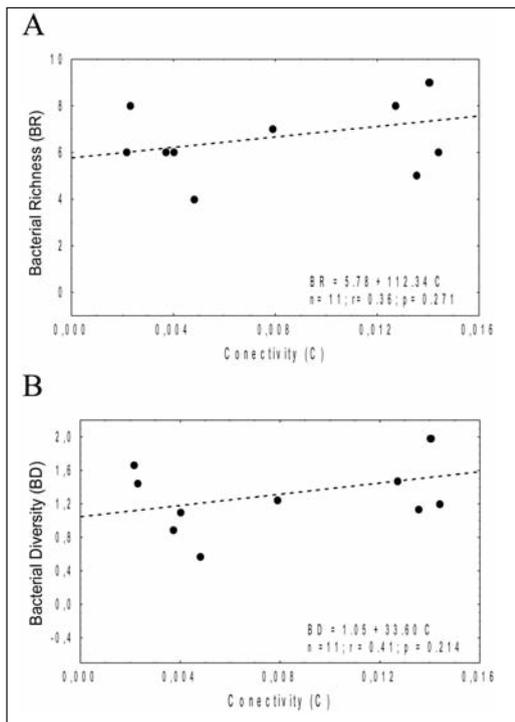


Figura 3. Relación entre la conectividad (C_i) de las lagunas y la riqueza (A) y diversidad (B) de unidades taxonómicas operativas (OTUs) bacterianas.

Figure 3. Relationship between connectivity (C_i) and richness (A) and diversity (B) of bacterial operational taxonomic units (OTUs).

cia se ordena de forma que las OTUs más frecuentes se colocan en la parte superior y los lagos con más OTUs en la izquierda (Figura 4). Esta ordenación se compara con una hipótesis nula (H_0) para la cual la distribución de OTUs sería aleatoria. Los resultados obtenidos para el análisis de anidamiento se muestran en la Tabla 2. Las comunidades bacterianas de las lagunas de Sierra Nevada no presentaron un patrón anidado de distribución cuando se utiliza la matriz de temperatura como métrica, esto sugiere que los OTUs encontrados en las lagunas pequeñas no son consistentemente subconjuntos de las de mayor tamaño con los OTUs más frecuentes. Por el contrario, si se obtuvo un anidamiento significativo cuando la métrica utilizada fue el índice NODF. Los valores de NODF específicos para cada una de las lagunas se recogen en la Tabla 1. La laguna Virgen Superior fue la única que mos-

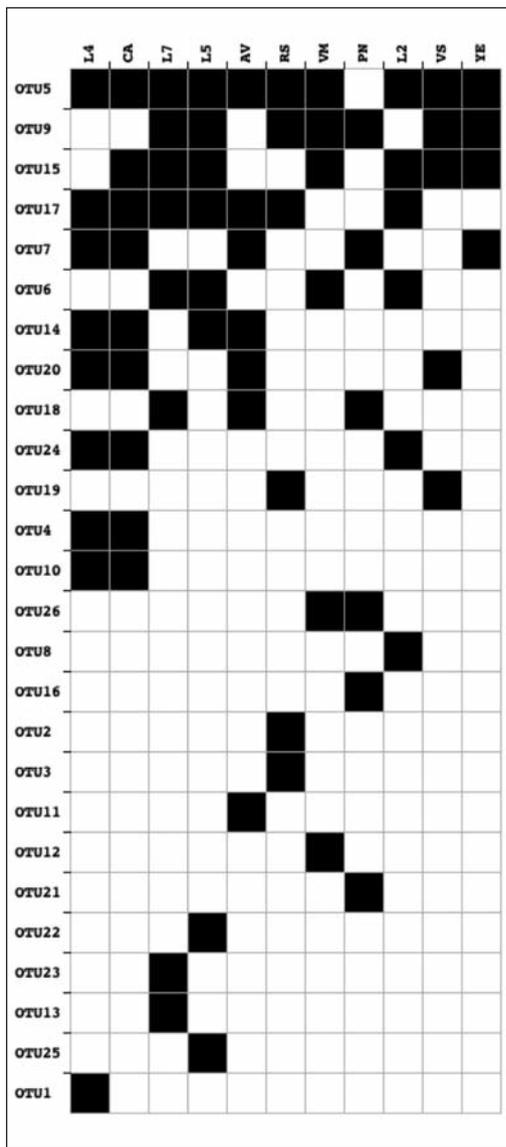


Figura 4. Matriz de presencia(negro)/ausencia(blanco) de las diferentes unidades taxonómicas operativas (OTUs) bacterianas para cada una de las lagunas estudiadas. La matriz está ordenada de forma que los OTUs más representados aparecen en la parte superior y las lagunas con mayor riqueza de OTUs a la izquierda. Esta matriz es la que se utiliza para calcular el anidamiento de las comunidades bacterianas en las lagunas de Sierra Nevada.

Figure 4. Matrix of presence (black)/absence (white) of bacterial operational taxonomic units (OTUs) for each study lake. The matrix is sorted by the most prevalent OTUs are in the top lines and the lakes with more OTUs richness on the left. This matrix was used for nestedness analysis.

tró una comunidad microbiana significativamente idiosincrática.

Discusión

Tradicionalmente, el estudio de los patrones de distribución de los microorganismos fue completamente relegado ante la dificultad de definir especie (ROSSELLÓ-MORA & AMANN 2001) y, por lo tanto, establecer su riqueza de especies. La utilización de técnicas derivadas de la biología molecular está permitiendo, finalmente, identificar OTUs e indagar sobre la existencia o no de patrones espaciales a nivel bacteriano y de cómo estos patrones difieren o no de los establecidos para los macroorganismos (MARTINY *et al.* 2006).

La riqueza de OTUs en las lagunas de Sierra Nevada fue bastante baja cuando se compara con la encontrada en otros lagos diferentes (ZWART *et al.* 2002, LINDSTROM & LESKINEN 2002). Este hecho puede estar relacionado con las condiciones extremas de la alta montaña como: las bajas temperaturas, la elevada intensidad de la radiación ultravioleta y la escasez de nutrientes tanto orgánicos como inorgánicos (MORALES-BAQUERO *et al.* 1999, RECHE *et al.* 2001) que pueden restringir el número de OTUs adaptados.

El área de las lagunas parece que determina en buena medida la riqueza y la diversidad de OTUs bacterianos en las lagunas de Sierra Nevada (Figura 2). Esta relación positiva entre la riqueza de OTUs bacterianos y el tamaño de la laguna se ajusta bien a las predicciones básicas de la Teoría de Biogeografía de Islas. Esta teoría representa uno de los pilares de los estudios biogeográficos tanto en animales como plantas. Un

estudio más detallado (incluyendo otros lagos diferentes) y comparativo (con diferentes grupos de macroorganismos) ha sido publicada previamente (RECHE *et al.* 2005). La existencia de más OTUs en las lagunas de mayor tamaño podría explicarse debido a las menores tasas de extinción local y mayores tasas de inmigración de especies (ANGERMEIER & SCHLOSSER 1989).

Alternativamente, la existencia de más especies y diversidad en las islas (lagunas) de mayor tamaño podría estar causada por la presencia de más nichos en estas islas más grandes (ANGERMEIER & SCHLOSSER 1989) y/o por contener redes tróficas más complejas (POST *et al.* 2000). A pesar de que las lagunas estudiadas son pequeñas, someras, no están estratificadas pero si bien iluminadas, la presencia/ausencia de vegetación alpina en la cuenca de drenaje y de arroyos pueden generar una cierta heterogeneidad (MORALES-BAQUERO 1999, RECHE *et al.* 2001, PULIDO-VILLENA *et al.* 2003, Tabla 1) que podría asociarse a un mayor conjunto de nicho en estos sistemas. Sin embargo, la conexión entre lagos más grandes-más nichos- redes tróficas más complejas no es tan obvia en estos sistemas con redes tróficas tremendamente sencillas. De hecho, no parece haber relaciones de congruencia entre los distintos taxones como los rotíferos (RECHE *et al.* 2005). Sin embargo, estudios más específicos sobre la relación entre el tamaño del lago y la complejidad trófica serían necesarios para clarificar la causa última de porqué las lagunas de mayor tamaño albergan más OTUs bacterianos.

La pendiente de la relación entre la riqueza de OTUs bacterianos y el área de las lagunas transformadas logarítmicamente fue de $0,104 \pm 0,051$ (Figura 2). Este valor es similar a las relaciones en-

	Medido	Simulado	PZ (H0)
Matriz de Temperatura	33,84	37,49	0,184
Índice NODF	34,41	25,39	<0,001

Tabla 2. Resultados del análisis de anidamiento de las comunidades bacterianas de las lagunas de Sierra Nevada utilizando como métricas la temperatura según ULRICH (2006) y el índice NODF según ALMEIDA-NETO *et al.* (2011).

Table 2. Results of nestedness analysis of bacterial communities from the Sierra Nevada lakes using the metric temperature proposed by ULRICH (2006) and the NODF index after ALMEIDA-NETO *et al.* (2011).

contradas para especies de crustáceos zooplantónicos en lagos de norteamérica (0,094) (DOBSON 1992), para rotíferos a nivel mundial (0,158) (datos recopilados por DOBSON *et al.* 2000) y también para datos de la riqueza de bacterias (0,161) de diversos lagos (ZWART *et al.* 2002, LINDSTROM & LESKINEN 2002) que incluyen las lagunas de Sierra Nevada (RECHE *et al.* 2005). Sin embargo, todas estas pendientes están en el límite inferior de lo reportado anteriormente (0,1-0,5) CONNOR & McCOY (1979) para taxones que incluyen macroorganismos. En general, las pendientes bajas en este tipo de relaciones especie-área se asocian a: 1) elevadas tasas de dispersión y bajas de extinción como resultado de abundancias poblacionales muy elevadas CONNOR & McCOY (1979), y 2) las islas dentro de los continentes (i.e. lagunas, montañas elevadas, habitats fragmentados) que suelen presentar pendientes que se encuentran en el rango de entre 0,12 y 0,17 menores que las observadas en islas oceánicas dónde la recolonización es más difícil (WILSON 1961).

La conectividad de cada lago (C_i) es una función de la distancia con otros lagos y su tamaño relativo, es decir como de aislado o agrupado está un determinado lago. Por lo tanto, es un factor clave para determinar las tasas de extinción, inmigración y especiación (HANSKI 1994). A pesar de que en este estudio no se obtuvieron relaciones estadísticamente significativas entre la conectividad de cada laguna y su riqueza y diversidad en OTUs bacterianos (Figura 3), si se aprecia una tendencia positiva. Es decir, cuanto mayor es el índice de conectividad de una laguna, mayor es su riqueza y su diversidad de OTUs. Probablemente el bajo número de lagunas estudiadas pueda ser la causa de la falta de significación estadística. Además, para el grupo de siete lagunas, que mostraron elevados valores de conectividad,

su composición específica también fue bastante similar (Figura 1). Por lo tanto, la distribución espacial de las lagunas de Sierra Nevada parece afectar a la riqueza, diversidad y composición de los OTUs de las comunidades bacterianas.

No existen trabajos publicados en la literatura científica que hayan utilizado el análisis de anidamiento (ULRICH *et al.* 2009) con comunidades bacterianas, ni en suelos ni en ecosistemas acuáticos. Este hecho, por un lado, nos impide realizar comparaciones con estudios previos y, por el otro, nos motiva a seguir indagando sobre esta potente herramienta para determinar el nivel de estructuración espacial que es posible encontrar en las comunidades microbianas utilizando los lagos como sistemas modelo. El análisis de anidamiento según ALMEIDA-NETO & ULRICH (2011) además identifica tanto especies (OTUs) como lugares con un elevado nivel de idiosincrasia. El poder indentificar las «islas» (lagunas) que por su localización espacial pueden albergar mayor riqueza y diversidad microbiana es, sin duda, una potente herramienta para la gestión de los espacios naturales.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a E. Pulido-Villena, E. Ortega-Reuters, F. Medialdea, P. Navarro su colaboración en los muestreos de campo. F. Perfectti y J.M. Gómez nos ayudaron con los cálculos del índice de conectividad y el análisis de anidamiento. Un especial agradecimiento para R. Morales-Baquero por su inagotable disponibilidad.

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Medio Ambiente/Organismo autónomo Parques Nacionales MICROBIOGEOGRAPHY (080/2007).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-NETO M., GUIMARAES P., GUIMARAES P.R.JR., LOYOLA R.D., ULRICH W. 2008. A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and quantification. *Oikos* 117: 1227-1239.
- ALMEIDA-NETO M. & ULRICH W. 2011. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environmental Modelling & Software* 26: 173-178.

- ANGERMEIER P.L., SCHLOSSER I.J. 1989. Species-area relationships for stream fishes. *Ecology* 70: 1450-1462.
- BAAS-BECKING L.G.M. 1934. *Geobiologie, of inleiding tot de milieukunde*, Serie 18/19. Van Stockum's Gravenhange, The Hague, The Netherlands.
- BARBERÁN A. & CASAMAYOR E.O. 2010. Global phylogenetic community structure and beta-diversity patterns of surface bacterioplankton metacommunities. *Aquatic Microbial Ecology* 59: 1-10.
- CASAMAYOR E.O., SCHÄFER H., BAÑERAS L., PEDRÓS-ALIÓ C., MUYZER G. 2000. Identification of and spatio-temporal differences between microbial assemblages from two neighboring sulfurous lakes: comparison by microscopy and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 499-508.
- CASAMAYOR E.O., MUYZER G., PEDRÓS-ALIÓ C. 2001. Composition and temporal dynamics of planktonic archaeal assemblages from anaerobic sulfurous environments studied by 16S rDNA denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing. *Aquatic Microbial Ecology* 25: 237-246.
- CONNOR E.F., MCCOY E.D. 1979. The statistics and biology of the species-area relationship. *Am. Nat.* 113: 791-833.
- CRUMP B., KLING G.W., BAHR M., HOBBIE J.E. 2003. Bacterioplankton community shifts in an arctic lake correlate with seasonal changes in organic matter source. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2253-2268.
- DODSON S.I. 1992. Predicting crustacean zooplankton species richness. *Limnology and Oceanography* 37: 848-856.
- DODSON S.I., ARNOTT S.E., COTTINGHAM K.L. 2000. The relationship in lake communities between primary productivity and species richness. *Ecology* 81: 2662-2679.
- FINLAY B.J. (2002) Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296, 1061-1063.
- FINLAY B.J., ESTEBAN G.F., FENCHEL, T. 1996. Global diversity and body size. *Nature* 383: 132-133.
- FINLAY B.J., CLARKE K.J. 1999. Ubiquitous dispersal of microbial species. *Nature* 400: 828.
- HANSKI I. 1994. A practical model of metapopulation dynamics. *Journal of Animal Ecology* 63: 151-162.
- HORNER-DEVINE M.C., LAGE M., HUGHES J.B., BOHANNAN B.J.M. 2004. A taxa-area relationship for bacteria. *Nature* 432: 750-753.
- LINDSTRÖM E.S., LESKINEN E. 2002. Do neighbouring lakes share common taxa of bacterioplankton? Comparison of 16S rDNA fingerprints and sequences from three geographic regions. *Microbial Ecology* 44: 1-9.
- MACARTHUR R.H., WILSON E.O. 1967. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- MARTINY *et al.* 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature* (4) 102-112.
- MORALES-BAQUERO R., CARRILLO P., RECHE I., SANCHEZ-CASTILLO P. 1999. Nitrogen-phosphorus relationship in high mountain lakes: effects of the size of catchment basin s, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56: 1809-1817.
- PAPKE R.T., RAMSING N.B., BATESON M.M., WARD D.M. 2003. Geographical isolation in hot spring cyanobacteria. *Environ Microbiol* 5, 650-659.
- POST D.M., PACE M.L., HAIRSTON JR. N.G. 2000. Ecosystem size determines food-chain length in lakes. *Nature* 405: 1047-1049.
- PULIDO-VILLENA E., ORTEGA-RETUERTA E., MORALES-BAQUERO R., RECHE I. 2003. El papel de la escala en los patrones de variación del bacterioplancton en lagunas de alta montaña. *Limnetica* 22: 183-193.
- RECHE I., PULIDO-VILLENA E., CONDE-PORCUNA J.M., CARRILLO P. 2001. Photoreactivity of dissolved organic matter from high mountain lakes of Sierra Nevada, Spain. *Artic, Antarctic and Alpine Research* 33: 426-434.
- RECHE I., PULIDO-VILLENA E., MORALES-BAQUERO R., CASAMAYOR E.O. 2005. Does ecosystem size determine aquatic bacterial richness? *Ecology* 86: 1715-1722.

- ROSSELLÓ-MORA R., AMANN R. 2001. The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews* 25: 39-67.
- ULRICH W. 2006 - Nestedness – a FORTRAN program for calculating ecological matrix temperatures. www.uni.torun.pl/~ulrichw
- ULRICH W., ALMEIDA-NETO M., GOTELLI N.J. 2009. A consumer's guide to nestedness analysis. *Oikos* 118: 3-17.
- WHITAKER R.J., GROGAN D.W., TAYLOR J.T. 2003. Geographic barriers isolate endemic populations of hyperthermophilic archaea. *Science* 301: 976-978.
- WILSON E.O. 1961. The nature of the taxon cycle in the Melanesian ant fauna. *American Naturalist* 95: 169-193.
- ZWART G., CRUMP B.C., KAMST-VAN AGTERVELD M.P., HAGEN F., HAN S.K. 2002. Typical freshwater bacteria: an analysis of available 16S rRNA gene sequences from plankton of lakes and rivers. *Aquatic Microbial Ecology* 28: 141-15.