

Tesis Doctoral

Influencia de las macrófitas flotantes en la comunidad fitoplanctónica en un humedal del bajo Paraná (Reserva natural de Otamendi, Argentina)

de Tezanos Pinto, Paula

2008

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

de Tezanos Pinto, Paula. (2008). Influencia de las macrófitas flotantes en la comunidad fitoplanctónica en un humedal del bajo Paraná (Reserva natural de Otamendi, Argentina). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

de Tezanos Pinto, Paula. "Influencia de las macrófitas flotantes en la comunidad fitoplanctónica en un humedal del bajo Paraná (Reserva natural de Otamendi, Argentina)". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2008.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

“INFLUENCIA DE LAS MACRÓFITAS FLOTANTES
EN LA COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA EN UN
HUMEDAL DEL BAJO PARANÁ (RESERVA
NATURAL DE OTAMENDI, ARGENTINA)

TESISTA: LIC. PAULA de TEZANOS PINTO
DIRECTORA DE TESIS: DRA. INES O'FARRELL
CONSEJERO DE ESTUDIOS: DR. GUILLERMO H. TELL

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR DE LA UNIVERSIDAD DE
BUENOS AIRES EN EL ÁREA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Buenos Aires, diciembre 2008

A los míos,
que me quieren
y yo a ellos

Lo que hacemos no es más que una gota en el océano,
pero sin ella, el océano tendría una gota menos.
(Madre Teresa de Calcuta)

Agradecimientos

Un día, cuando tenía quince años (de esto hace 19 años!), viendo “Orca, la ballena asesina” supe que cuando fuera grande quería ser bióloga. Desde ese momento empecé a recortar todos los artículos que salían en el diario de ballenas, pingüinos y etc.; armé una carpeta de cetáceos y hasta mis amigas y profesoras del colegio me traían recortes y peluches de ballenas. Todavía tengo esta carpeta y muchos de los peluches! Y en estos 19 años, me anoté en biología, en la UBA, yo viniendo de un colegio privado y de monjas! Y me encontré fascinada con la vida universitaria, y padeciéndola también en las químicas sobre todo! Ocho años después me recibí, y de las ballenas gigantes giré hacia las algas microscópicas, igual de fascinantes, un descubrimiento. Como un llamado, dentro del llamado. Me recibí y viaje por el mundo, me bajé del tren de la biología por más de dos años y hubo un momento en el que pensé que el tren había pasado para mí, pero no, la biología fue más fuerte. Y un día, las fichas del dominó vertiginoso, en el que estoy inmersa hace casi cinco años, empezaron a caer “taca taca taca”. La Antártida, el inicio del doctorado y todo el resto. Gracias al doctorado conocí Estambul y Chascomús, fui a la República Checa, a Israel y tres veces a Michigan en Estados Unidos. También casi pierdo la vida atacada por las hormigas rojas en el humedal y casi no la contamos con Pati en la Panamericana, pero por suerte sí que lo podemos contar! Nada de todo este camino y de estas aventuras a lo largo de mi doctorado hubiera sido posible sin el apoyo de la Dra. Inés O’Farrell, mi directora de tesis. Ella me introdujo a las macrófitas flotantes y su influencia sobre el fitoplancton, un tema del que me fui enamorando al mejor estilo hindú “first marriage and then love”, así que dije “si acepto” sin saber mucho de que se trataba y claro, el amor no tardó en llegar. Inés querida, gracias por invitarme a participar de este proyecto en mi vida, por

acompañarme a lo largo de todos estos años en los que crecimos juntas tanto profesionalmente como humanamente, por tu constante compromiso y dedicación, por sumarme a tus proyectos, por creer en mí, por hacerme reflexología cuando lloraba desconsoladamente picada por las hormigas! Gracias totales por corregirme esta tesis a máxima velocidad, incluso en Navidad. Nada de todo lo que me pasó hubiera sido posible sin vos. Mil veces gracias.

Quiero agradecerle al Dr. Guillermo Tell, a quien admiro profundamente, gracias por tanta alegría siempre! Porque vos de la nada armaste algo tan pujante como nuestro laboratorio de Limnología. Gracias Guillermo por recibirme siempre con los brazos abiertos, desde que era estudiante en tu materia. Siempre me gusta escucharte y reírme con tus cuentos geniales!

Gracias a mis compañeros del laboratorio de limnología, a todos ellos: a Iri, Haydecita, Rubén, Gabilingi, Alili, Luchi Lu, Rodri, Pati, Laurita, Romi, Sole, Solange, Griselda, Gabita y Eugenia, por todo el tiempo compartido y el camino recorrido juntos. En particular, gracias especiales a Gabilingi por llevarme a esos lugares únicos de la vida y del alma, gracias Iri por tu ejemplo, admiro tu polenta y tu empuje, gracias Luchi Lu por tener siempre ese minuto mágico para mí, gracias Romi, por festejar todos mis chistes: “this body is leaving!” y gracias totales a Pati y a Rodri, porque son lo más en mi vida, mis almas gemelas, no podría respirar sin ustedes.

A la Dra. Elena Litchman, un referente en mi vida, gracias infinitas. Gracias por introducirme en el mundo de la fisiología de las algas que me enseñó a comprender mejor la ecología del fitoplancton. Gracias por iluminar mi pensamiento, por la sinergia fantástica. Gracias por todos los momentos alucinantes y vertiginosos vividos en el Kellogg Biological Station (KBS) donde fui tratada como a una reina. Los datos de dos capítulos de esta tesis (III y IV) fueron

obtenidos bajo su coordinación. En el KBS no sólo crecí científicamente sino que tuve el honor de conocer gente increíble que hoy son amigos de corazón, particularmente Jorge, Jarad y Kohei. Su equipo fue de infinita ayuda y apoyo, especialmente gracias querida Pam. A Ali también, claro!

Al Dr. Erik Jeppesen, una de las mejores personas que conozco en este mundo, por su humildad siendo un gigante, por su apoyo constante siempre. Erik me escuchó, me enseñó a pensar mejor, a ser mejor científica, a ser mejor persona; me recomendó, siempre quiso lo mejor para mí. Cualquier agradecimiento es poco.

A la Dra. Eliska Zapomělová, por sus consejos para cultivar a nuestras queridas cianobacterias fijadoras de nitrógeno, por compartir su conocimiento conmigo y su amistad.

A mis padres, por creer en mí, incluso cuando yo no creía en mi misma. Mi mamá que me cortaba avisos de bióloga cuando yo no encontraba mi camino y me decía: ya vas a encontrar, y mira mamá como se dieron las cosas! A papá que hoy se siente orgulloso de su hija y que apoya desde el momento cero todos mis proyectos por más locos que sean, por más que me lleven lejos de mi familia y de mi Buenos Aires querido. Mi papá, el mismo que allá en el tiempo y a la distancia un día me preguntó “Porqué no te conseguís un trabajo de verdad?”. Y lo espectacular es como este trabajo de verdad es parte de toda mi familia ahora. A mis hermanos, claro, que son la alegría en mi vida, María, Grace, Cesar, Agus, Ale, Javi y Delfi. Que sería yo sin ellos? A mis abuelos, que amo profundamente, tanto Juanchín y Muma que siempre están ahí para mí, y a Vatti y Mami que ya no están. A Patán, mi compañero de todas mis rutas, por tanta alegría y momentos juntos, por aguantarse tantas horas, y a veces meses, sin que lo acompañe y por siempre traerme su hueso cuando me ve.

A mis amigas, a todas, que siempre están ahí para mí, que sea alegran con mis victorias y se entristecen con mis derrotas, tenerlas en el paisaje de mi vida no tiene precio.

Al personal de la Reserva de Otamendi, por su ayuda. Esta reserva, uno de los lugares más lindos que conozco en mi mundo y que no importa cuántas veces vaya, siempre me gratifica. Deseo, espero que no inocentemente, que pueda ser preservada como un lugar prístino por mucho más tiempo.

Quisiera agradecer particularmente a todas las entidades que apoyaron mis proyectos, nada de todo lo que transcurrió en estos años hubiera sido posible sin su ayuda. Primero y principal, al CONICET, por la beca de post grado tipo I, lloré frente de la computadora el día que recibí ese email que me llevaría de lleno otra vez a la biología. Varios subsidios Nacionales financiaron los proyectos en los que participé como colaboradora (ver sección subsidios) y varias instituciones en el exterior me apoyaron monetariamente: la Society de Wetland Scientists dos veces, el Kellogg Biological Station tres veces, la SIL, la Universidad de Estambul y la British Phycological Society dos veces. Gracias totales por creer en mí!

A mis jurados de tesis por sus comentarios enriquecedores, aprendo de ellos para el presente y para el futuro: Gracias Bibi (Dra. Conforti), Claudia (Dra. Feijoó) y Javier (Dr. López de Casenave)!

A las algas, por su infinita belleza. Ese fantástico mundo microscópico al que sólo algunos tenemos el privilegio de explorar y disfrutar. Ellas mantienen mi cabeza pensando hace años, me empujan a querer ser más inteligente, a quererlas comprender más. Siendo tan chiquitas y simples, son a la vez tan complejas! Existen y trato de entenderlas y a veces pienso que se rien de mí y también conmigo, claro!

A la ciencia, por darme el mejor trabajo del mundo.

Índice

	Página
Resumen	1
Summary	2
Introducción General	3
Objetivos e Hipótesis	7
Área de Estudio	9
Metodología General	11
Capítulo I	12
Capítulo II	24
Capítulo III	36
Capítulo IV	48
Capítulo V	60
Discusión General	82
Referencias	89
Anexo 1. Subsidios que financiaron la presente tesis	96
Anexo 2. Grupos Funcionales	98
Anexo 3. Lista de especies, GFx y rasgos ecológicos	100
Anexo 4. Artículos publicados y enviados	118

INFLUENCIA DE LAS MACRÓFITAS FLOTANTES EN LA COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA EN UN HUMEDAL DEL BAJO PARANÁ (RESERVA NATURAL DE OTAMENDI, ARGENTINA)

Resumen

Se analizaron los efectos de las plantas flotantes libres (PFL) sobre la ecología del fitoplancton a través de experimentos en microcosmos en laboratorio y en mesocosmos en el campo, además de un relevamiento en un ecosistema frecuentemente vegetado con PFL. La cubierta de PFL determinó una columna de agua cuasi oscura y anóxica, que generó liberación de nutrientes desde los sedimentos. La fuerte limitación por luz ejerció un intenso control sobre la biomasa fitoplanctónica, generando ensambles con baja riqueza, pero elevada diversidad y de similar composición específica. Si bien la disponibilidad de nutrientes jugó un rol menor en modelar la respuesta ecológica fitoplanctónica, ésta generó respuestas fisiológicas diferentes. Por el contrario, en ausencia de PFL (mejor clima lumínico) la biomasa fitoplanctónica fue elevada, el oxígeno alcanzó valores de sobresaturación y los nutrientes fueron activamente consumidos. En estos escenarios bien iluminados, los niveles y la relación de nutrientes jugaron un rol fundamental en la estructuración de la composición y la abundancia algal. Así, en altas relaciones de nitrógeno: fósforo (N:P) dominaron especies de la clase Chlorophyceae, mientras que en bajas relaciones de N:P prevalecieron las cianobacterias fijadoras de nitrógeno. La fluctuación periódica en la cobertura de PFL generó una rápida respuesta del ambiente fisicoquímico, pero pobres mecanismos de control sobre el fitoplancton.

Palabras clave: cianobacterias, estados alternativos, fitoplancton, humedal, luz, nutrientes, plantas flotantes libres, relación nitrógeno: fósforo.

INFLUENCE OF THE FREE FLOATING PLANTS ON THE PHYTOPLANKTON COMMUNITY IN A WETLAND FROM THE LOWER PARANA (OTAMENDI NATURAL RESERVE, ARGENTINA)

Summary

The effects of free floating plants (FFP) on the ecology of phytoplankton were analyzed performing indoor experiments in laboratory and outdoor experiments in the field, plus a field survey in a ecosystem frequently vegetated with FFP. The FFP cover determined an almost dark and anoxic water column that triggered the release of nutrients from the sediments. The strong light limitation exerted a strong control on phytoplankton biomass, resulting in assemblages with low richness, but high evenness and similar specific composition. Even if the availability of nutrient played a minor role in shaping the phytoplankton ecological response, yet it triggered different physiological responses. On the other hand, the absence of FFP (better light climate) the phytoplankton biomass was high, oxygen reached super saturation concentrations and nutrients were up taken. In this well illuminated scenario, the levels and ratios of nutrients played a major role in structuring the phytoplankton composition and abundance. Hence, in high nitrogen to phosphorus (N:P) ratios green algae dominated, whereas in low N:P ratios nitrogen fixing cyanobacteria prevailed. The periodic fluctuation in the FFP cover resulted in a quick environmental response, yet a poor control on phytoplankton biomass.

Key words: alternative stable states, cyanobacteria, free floating plants, light, nutrients, nitrogen to phosphorous ratio, phytoplankton, wetland.

Introducción

Rol estructurador de las plantas flotantes libres

Numerosos aspectos del funcionamiento y la estructura de sistemas someros acuáticos dependen de la presencia de macrófitas acuáticas, tanto en zonas templadas como tropicales (Moss, 1990, Jepessen *et al.*, 1997, Talling y Lemoalle, 1998). Carpenter y Lodge (1986) y Jeppesen *et al.* (1997) afirmaron que las plantas afectan la estructura y los procesos físicos y químicos de la zona litoral, influyendo en la totalidad del ecosistema. Luego, Meerhoff (2006) sugirió que el efecto sobre el ecosistema depende de la densidad de las macrófitas, del volumen del lago poblado por las plantas, y también del estado trófico del lago.

Los efectos de las plantas sumergidas en el funcionamiento del ecosistema y del fitoplancton han sido ampliamente estudiados (Scheffer, 1998), sin embargo el estudio de los efectos de las plantas flotantes libres (PFL) ha recibido una atención mucho menor (Pompêo y Moschini-Carlos, 2003, Meerhoff y Mazzeo, 2004). Tanto las plantas sumergidas como las PFL suelen limitar la biomasa fitoplanctónica, aunque actúan a través de diferentes mecanismos (ej. competencia por nutrientes, o interceptación de la luz). Las plantas sumergidas generan ambientes pobres en nutrientes, con una buena disponibilidad de luz y óxicos, mientras que las PFL determinan ambientes con escasa disponibilidad de luz y anóxicos. En lagos someros templados, las plantas sumergidas pueden influenciar positivamente sobre la biodiversidad y la transparencia (Jeppesen *et al.*, 2000). Por el contrario, la limitación de luz y la anoxia generada por las PFL, influyen negativamente sobre muchos de los componentes bióticos (Sheffer *et al.*, 2003).

Las PFL constituyen una comunidad típica de sistemas acuáticos en climas tropicales, subtropicales ó templados húmedos, particularmente en humedales de llanuras de inundación (Bini *et al.*, 1999, Heckman, 1998, Neiff, 1986); éstas incluyen taxa de talla pequeña (*Wolffiella*, *Azolla*, *Ricciocarpus*, *Lemna*, *Salvinia*), mediana (*Pistia*) y grande (*Eichhornia*).

La ocurrencia de PFL depende principalmente del área y la morfometría del lago, el nivel hídrico, la concentración de nutrientes y la temperatura (van der Heide *et al.*, 2006; Camargo y Esteves, 1995). La sensibilidad de las PFL a las bajas temperaturas del aire y a las heladas se refleja en su amplia distribución tropical y subtropical (Sculthorpe, 1967); su estabilidad y persistencia durante la estación cálida depende de la intensidad y la dirección del viento, entre otros factores.

En los escenarios de cambio climático global, al considerar la aceleración de la eutrofización (Scheffer *et al.*, 2003) y el incremento de las temperaturas mínimas del aire, se pronostica una ampliación del rango de distribución de las PFL hacia sistemas acuáticos someros de climas fríos o templados fríos (Meerhoff, 2006). La invasión de PFL en nuevos ecosistemas puede generar impactos negativos sobre la diversidad, la calidad de agua y la dinámica trófica de los ecosistemas donde se establezcan. Asimismo, existe un creciente interés en comprender el rol que cumplen las PFL en el funcionamiento y en la estructura de las lagunas, especialmente sobre los mecanismos que promueven la dominancia de PFL como un estado auto-estabilizado y su potencial habilidad de controlar al fitoplancton (ver sección Estados Auto-estabilizados y Alternativos). El reconocimiento que las PFL constituyan un estado auto-estabilizado implica que una vez establecidas, su dominancia representa un

punto atractor o de equilibrio estable que es poco resiliente al cambio.

En los ecosistemas donde las PFL ocurren naturalmente es frecuente encontrar una densa cobertura o una completa ausencia de PFL. Cuando las PFL forman matas extensas cubriendo la superficie del espejo de agua, se genera un ambiente extremo debido a la combinación de una mínima penetración de luz, generado por la barrera física formada por las PFL, y anoxia en la columna de agua. La anoxia es producto de la alta demanda biológica de oxígeno debido a la acumulación de materia orgánica en descomposición que es degradada a una tasa que supera la difusión del gas desde la superficie (Caraco *et al.*, 2006), siendo mayor que su generación por fotosíntesis. Los ecosistemas anaeróbicos son generalmente netos productores de amonio debido a la reducción del nitrato en los sedimentos (Beutel, 2006) y en la columna de agua, aunque también existen pérdidas de nitrógeno debido a la denitrificación. La anoxia también genera la liberación de fosfato inmovilizado en los sedimentos, a partir de la solubilización parcial de los precipitados de fosfato-calcio, fosfato-aluminio o fosfato-hierro (formados en aerobiosis). La anoxia además impacta negativamente sobre los procesos de descomposición de la materia orgánica ya que los polímeros de plantas son degradados de forma incompleta y una porción de carbono permanece atrapada como metano.

Los escenarios netamente anóxicos así como los frecuentemente expuestos a períodos de anoxia, favorecen el desarrollo de microorganismos capaces de tolerar muy bajas tensiones de oxígeno (Powell, 1989); estos se caracterizan por pequeña talla o su capacidad para realizar fotosíntesis anoxigénica. Asimismo, la fotosíntesis oxigénica se ve perjudicada y la anoxigénica toma mayor relevancia. En ambientes anóxicos la presión de pastoreo sobre los microorganismos es relativamente baja debido a los pobres rendimientos energéticos asociados al metabolismo anae-

róbico (Fenchel y Finlay, 1990).

Estados Auto-estabilizados y Alternativos

En los distintos ecosistemas acuáticos someros se han identificado tres estados auto-estabilizados caracterizados por distintas comunidades productoras: i) dominancia de plantas sumergidas, ii) dominancia de fitoplancton y iii) dominancia por PFL. Un mismo ecosistema puede alternar entre estos estados auto-estabilizados, lo que se conoce como estados alternativos estables para sistemas acuáticos someros. Scheffer *et al.* (1993) definieron detalladamente la alternancia entre un estado auto-estabilizado claro con dominancia de macrófitas sumergidas y uno auto-estabilizado turbio con dominancia de fitoplancton. Recientemente, Scheffer *et al.* (2003) y Scheffer y van Nes (2007) reconocieron la dominancia de PFL como un estado alternativo estable a la dominancia de plantas sumergidas, y posiblemente a la dominancia fitoplanctónica (Roijackers *et al.*, 2004).

Esto se debe básicamente a las diferentes habilidades competitivas relacionadas con la luz y los nutrientes de las comunidades productoras. Por ejemplo, en términos de la competencia por la luz, las PFL están mejor posicionadas que las plantas sumergidas o que el fitoplancton, ya que su superficie foliar flota sobre la superficie del agua quedando directamente expuesta a los rayos de luz. Si bien la competencia entre PFL y el fitoplancton es desigual en términos de la luz, la competencia por nutrientes es similar, ya que ambas comunidades toman los nutrientes de la columna de agua (Scheffer *et al.*, 2003). Las PFL limitan la biomasa fitoplanctónica debido a que generan una fuerte disminución de la luz incidente (Meerhoff *et al.*, 2003), a la secreción de compuestos químicos alelopáticos (Gross, 2003) y a la competencia por nutrientes. A su vez, el fitoplancton puede afectar el crecimiento de las PFL por medio de la disminución de los nutrientes disponibles en

la columna de agua en general y del nitrógeno en particular (Carignan y Neiff, 1992), y viceversa. Recientemente, Meerhoff y Mazzeo (2004) propusieron un esquema que integra los tres estados posibles: dominancia por PFL, por macrófitas sumergidas o por fitoplancton, a lo largo de los ejes de transparencia y de concentración de nutrientes (Fig.1).

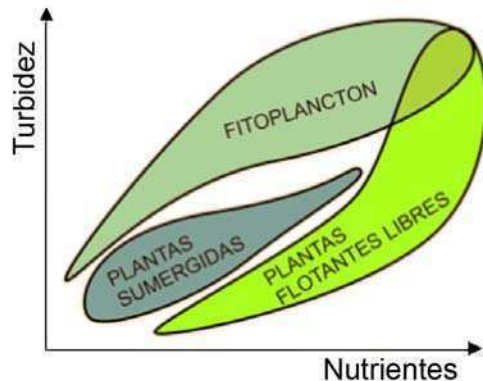


Fig. 1. Gradientes de turbidez y de nutrientes donde pueden ocurrir los distintos grupos de productores primarios en un sistema acuático somero. Es importante destacar que cada tipo de productor primario puede modificar estas variables, por ejemplo, el aumento del fitoplancton aumenta la turbidez y lo opuesto ocurre con las plantas acuáticas. Tomado y modificado de Meerhoff y Mazzeo (2004).

Efectos de las PFL sobre el fitoplancton y las comunidades acuáticas heterótrofas

La cobertura de PFL ha sido descrita como un factor regulador en la selección del fitoplancton en humedales de llanura de inundación (Zalocar de Domitrovic, 1993; Izaguirre *et al.*, 2004); su presencia determina una menor biomasa fitoplanctónica (Bicudo *et al.*, 2007, Abdel-Tawwab, 2006). Izaguirre *et al.* (2001 y 2004) y O'Farrell *et al.* (2003) discutieron la importancia de una cobertura persistente de PFL en la estructura del fitoplancton en la Reserva Natural de Otamendi, área de estudio de la presente tesis doctoral. Las severas restricciones impuestas por la

limitación de luz y la anoxia se manifestaron en una flora con adaptaciones a estas condiciones (O'Farrell *op. cit.*; Izaguirre *op. cit.*). De esta manera, los ambientes con limitación de luz marcada presentaron dominancia de cianobacterias adaptadas a baja luz, mientras que aguas libres de PFL mostraron una mayor diversidad funcional revelada por un mayor número de especies y diversas estrategias nutricionales. En particular, O'Farrell *et al.* (2003) observaron que en los ambientes extremos caracterizados por oscuridad persistente, a consecuencia de la permanente cobertura de PFL, la diversidad del fitoplancton fue baja y el reemplazo de especies lento, mientras que lo contrario ocurrió cuando la cobertura de PFL fue fluctuante. Asimismo, en el humedal de Otamendi, Sinistro *et al.* (2006) observaron que la cobertura de PFL generaba un incremento de los componentes microbianos planctónicos heterotróficos y mixotróficos.

Las evidencias del efecto de la persistencia de PFL sobre las comunidades acuáticas heterotróficas incluyen una disminución de la abundancia zooplanctónica (Abdel-Tawwab, 2006, Meerhoff *et al.*, 2003), pero respuestas contradictorias en peces (Abdel-Tawwab, *op. cit.*, Meerhoff *et al.*, *op. cit.*). En el caso particular del zooplancton, Meerhoff *et al.* (2006) demostró que las PFL de gran tamaño no funcionan como refugio para los cladóceros grandes.

El fitoplancton y la luz

La luz, al igual que los nutrientes, es un recurso esencial para el fitoplancton. El crecimiento algal depende de la intercepción de una suficiente cantidad de energía para realizar la fotosíntesis necesaria para sustentar la fijación del carbono. La respuesta fotosintética de las algas dependerá de la calidad, intensidad y atenuación sub-superficial de la radiación solar y de la eficiencia de los pigmentos en captar la luz, entre otros factores. En los ambientes acuáticos, la luz está fuertemente

atenuada por el medio acuático, las sustancias disueltas y las partículas en suspensión, incluyendo al fitoplancton. Esto genera un gradiente vertical en la intensidad y distribución espectral de la luz (Kirk, 1994). La disponibilidad y periodicidad de la luz, modelan las respuestas fitoplanctónicas a nivel fisiológico (fotosíntesis, tasas de crecimiento, concentración de clorofila, concentración de pigmentos accesorios, captación de nutrientes y fijación de nitrógeno, entre otros factores) afectando de forma última los niveles fitoplanctónicos poblacionales y de comunidad.

Las especies fitoplanctónicas que viven en condiciones sub-óptimas de luz, tales como las generadas por la presencia de PFL, poseen mecanismos para ajustar la variación en la intensidad, distribución espectral y periodicidad de la radiación fotosintéticamente activa de manera de mantener una eficiente captación de luz (Fallkowski y La Roche, 1991).

Grupos no taxonómicos del fitoplancton: nuevas aproximaciones.

Se ha observado que grupos polifiléticos de algas responden de manera similar a un determinado conjunto de condiciones ambientales en virtud de sus requerimientos ecológicos y sus características adaptativas. Basándose en esta noción, Reynolds *et al.* (2002) clasificaron al fitoplancton en grupos no taxonómicos denominados “grupos funcionales”. Este sistema involucra 31 ensambles fitoplanctónicos y asigna grupos según su ocurrencia recurrente en la naturaleza, basándose en sus tolerancias y sensibilidades a los recursos lumínicos y minerales, factores ambientales (mezcla y lavado) y pérdidas (sedimentación y predación) y ha sido validado en distintas latitudes y estados tróficos (Reynolds *et al.*, 2002). El Anexo 2 resume las características principales de ésta clasificación. Otra aproximación recientemente utilizada para el análisis de fitoplancton a lo largo de

gradientes ambientales es la utilización de rasgos ecológicos (Weithoff, 2003, Litchman y Klausmeier, 2008). Los rasgos ecológicos definen los nichos ecológicos del fitoplancton, y se clasifican según su función ecológica (reproducción, adquisición de recursos o resistencia al pastoreo) y su tipo (rasgo morfológico, fisiológico, de comportamiento y de historia de vida). En el fitoplancton, los rasgos ecológicos son fácilmente identificables y cuantificables, lo que convierte a esta comunidad en un excelente modelo para explorar las relaciones entre los rasgos ecológicos y las variables ambientales. La clasificación en rasgos ecológicos y/o en grupos funcionales puede arrojar resultados complementarios o contrastantes. El abordaje de una pregunta ecológica en términos conjuntos (específicos, de grupos funcionales o rasgos ecológicos) puede brindar una visión novedosa, compleja e integral que permita explicar y predecir la reorganización de las comunidades fitoplanctónicas ante cambios ambientales.

Aproximaciones utilizadas en esta tesis doctoral

En la presente tesis doctoral se analizarán los efectos directos e indirectos de la influencia de las PFL sobre la comunidad fitoplanctónica. El análisis se aborda utilizando diferentes aproximaciones: tanto experimentos controlados en el laboratorio utilizando microcosmos a nivel poblacional y de comunidad, y experimentos en el campo utilizando mesocosmos, tanto a corto como mediano plazo. También se realizó un relevamiento en el campo a escala de dos años y se compararon los efectos de la ausencia/presencia de PFL sobre el ecosistema de Otamendi. El fitoplancton se analiza utilizando tanto las aproximaciones tradicionales como funcionales y los resultados se discuten en el marco de la teoría de los estados alternativos para sistemas someros. En la siguiente sección se detallan los objetivos e hipótesis.

Objetivos e Hipótesis

Objetivo 1. Caracterizar y evaluar los efectos directos e indirectos generados por la presencia de plantas flotantes libres (PFL) sobre el fitoplancton y sobre las variables ambientales.

Hipótesis 1.1. Una persistente y densa cubierta de PFL produce una fuerte disminución de la luz en la columna de agua que perjudica el desarrollo del fitoplancton.

Hipótesis 1.2. Una persistente y densa cubierta de PFL produce anoxia que perjudica el desarrollo del fitoplancton.

Hipótesis 1.3 La remoción de la cubierta de PFL incrementa la penetración de la luz en la columna de agua que favorece el desarrollo del fitoplancton y genera un aumento del oxígeno disuelto.

Objetivo 2. Explorar el efecto interactivo de la disponibilidad de luz y la relación nitrógeno:fósforo (N:P) en la composición, estructura y función de la comunidad fitoplanctónica.

Hipótesis 2.1. La combinación de elevada luz y baja relación N:P favorece la dominancia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno.

Hipótesis 2.2. La combinación de elevada luz y elevada relación N:P favorece la dominancia de algas no fijadoras de nitrógeno.

Objetivo 3. Evaluar la influencia de la limitación de la luz producida por la cobertura de PFL sobre las estrategias nutricionales del fitoplancton.

Hipótesis 3.1. Una persistente y densa cubierta de PFL favorece la multiplicación de organismos fitoplanctónicos mixotróficos.

Hipótesis 3.2. La ausencia de PFL favorece la multiplicación de organismos fitoplanctónicos caracterizados por autotrofia obligada.

Objetivo 4. Caracterizar los ensamblajes fitoplanctónicos encontrados en aguas sin PFL y en aguas profusamente cubiertas por PFL.

Objetivo.5. Evaluar la influencia de la luz en la plasticidad morfológica de los grupos funcionales fitoplanctónicos dominantes y vincular esta variabilidad con la habilidad del fitoplancton en utilizar exitosamente los recursos en distintos regímenes de luz.

Hipótesis 5.2. A nivel poblacional, las especies que evidencian plasticidad morfológica prosperan exitosamente en ambientes con cobertura fluctuante de PFL.

Hipótesis 5.3. A nivel de comunidad, la baja luz favorece el desarrollo de organismos de pequeña talla y/o de formas atenuadas.

Objetivo.6. Evaluar el efecto de la fluctuación de la cobertura de PFL, sobre la diversidad del fitoplancton.

Hipótesis 6.1 Una fluctuación de frecuencia intermedia en la cobertura de PFL genera un aumento en la diversidad fitoplanctónica.

Hipótesis 6.1. Los ambientes no fluctuantes (persistentemente cubiertos por PFL o permanentemente libres de PFL) generan una disminución en la diversidad fitoplanctónica.

Área de Estudio

La Reserva Natural Otamendi (34°10' a 34°17' S; 58°48' a 58°53' O) es un humedal de llanura de inundación RAMSAR, ubicado al sur del partido de Campana (provincia de Buenos Aires) y delimitada por los ríos Paraná de las Palmas y el Río Luján. El clima de la región es templado húmedo (Juliarena de Moretti, 1982) con un efecto moderado debido a las masas del Océano Atlántico, al Río de la Plata y al río Paraná de las Palmas. Las temperaturas medias en verano son de 22 C° y en invierno de 9,5 C° (Chichizola, 1993). El ciclo hidrológico presenta un patrón irregular debido a la influencia de las mareas del Río de la Plata y las sudestadas. Las precipitaciones ocurren durante el todo el año, con valores anuales promedio de 950 mm.

En el humedal, comprendido entre el Río Paraná de las Palmas y el Río Luján, también se encuentran los canales Santa María y Tajiber, dos zanjas grandes en los bordes del camino Islas Malvinas, dos lagunas y dos antiguos meandros relictuales del río. El drenaje es limitado y está sujeto a la influencia de una napa freática alta y fluctuante. El escurrimiento superficial es deficiente y el área se mantiene permanentemente o en forma periódica anegada por el agua de lluvia, provocando condiciones edáficas altamente reductoras (Chichizola, 1993). En las épocas de grandes crecidas de los ríos, el pulso de inundación puede contribuir a las fluctuaciones del nivel de las aguas de la laguna, ya que están vinculadas subterráneamente con los ríos Lujan y Paraná de las Palmas (Atlas Ambiental de Buenos Aires, 2008).

Los estudios de campo de esta tesis doctoral se centraron en las laguna Grande y Pescado, y en dos meandros abandonados del río (Fig. 2). La laguna Grande, es el mayor cuerpo de agua de la reserva, y posee una superficie aproximada de 156 hectáreas, una longitud máxima de 2100 m, un ancho

máximo de aproximadamente 430 m y una profundidad generalmente inferior a un metro. La laguna Pescado tiene una superficie aproximada de 39 hectáreas y el meandro mayor de 17 hectáreas, ambos con una profundidad que oscila entre 0,3 y 1 m. En todos estos cuerpos de agua existe un profuso desarrollo de macrófitas emergentes en la zona litoral, caracterizados por diversas comunidades de herbáceas robustas que crecen en manchones, con predominio de junco (*Schoenoplectus californicus*), tatora (*Typha latifolia*), paja cortadera (*Scirpus giganteus*), saeta (*Sagittaria montividentis*), paja brava (*Scirpus giganteus*) y espadaña (*Zizaniopsis bonariensis*), entre otras.

Las plantas flotantes libres (PFL) suelen encontrarse en la zona litoral, y en algunas situaciones, en las zonas pelágicas. Las PFL más frecuentemente encontradas son la lenteja de agua (*Lemna minima*), helecho de agua (*Azolla filiculoides*), repollito de agua (*Pistia stratiotes*), *Wolffiella oblonga*, *Salvinia rotundifolia* y *Ricciocarpus natans*. En el período 1998-2000 y en el 2003 el desarrollo de PFL fue profuso, mientras que en 2004-2006 el desarrollo de PFL fue escaso. La cobertura de PFL es variable ya que pueden desplazarse por acción del viento y prácticamente desaparecen con las bajas temperaturas invernales.

Las diferencias en el clima lumínico sub-superficial en este ecosistema están básicamente reflejadas en la heterogeneidad espacio-temporal generado por la fluctuante cobertura de PFL. Además, las aguas en el humedal poseen un color acaramelado debido a la gran cantidad de sustancias orgánicas disueltas que generan una importante atenuación de la luz en la columna de agua (Rodríguez y Pizarro, 2007). Según las descripciones dadas por Williamson *et al.*, (1999), se puede definir a este sistema como un típico “ecosistema de lagos mixotróficos”, con alto contenido de

carbono orgánico disuelto y fósforo total. Sin embargo el nitrógeno puede ser limitante para el fitoplancton (Unrein, 2001).

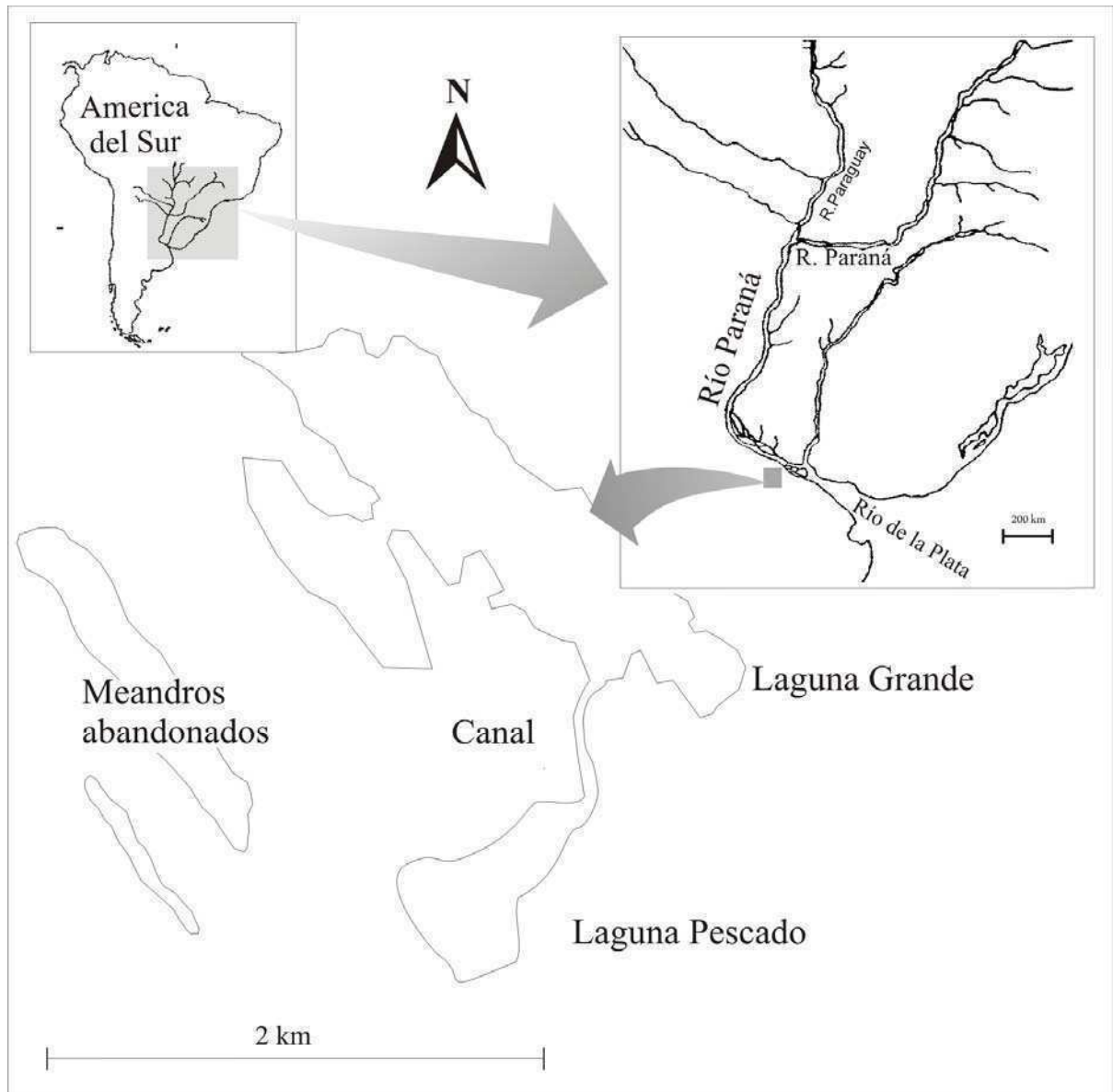


Fig. 2. Área de Estudio, Reserva Natural de Otamendi, Buenos Aires, Argentina.

Metodología General

Diseño experimental y análisis estadísticos

En cada capítulo se detallan los diseños experimentales y de muestreo correspondientes. Además se explicitan los análisis estadísticos realizados en cada estudio.

a) Análisis físico-químicos (Capítulos I, II y V)*

Se midió *in situ* la temperatura, el pH y la conductividad con un sensor de campo HI 991301 Hanna y la concentración de oxígeno disuelto con un sensor de campo HI 9143 Hanna, la intensidad de radiación fotosintética (400-700 nm) con un espectroradiómetro sumergible: LI-193SA, Li-Cor, Lincoln, Neb., USA) y la profundidad con cinta métrica. Se tomaron muestras subsuperficiales (Capítulo I, V) e integradas (Capítulo II) para el análisis en laboratorio de sólidos en suspensión, ácidos húmicos, nutrientes (fósforo reactivo soluble, nitratos y amonio) y clorofila *a* fitoplanctónica (ver inciso *b*). Los sólidos en suspensión se filtraron a través de filtros Whatman GF/C previamente desecados en estufa a 103-105°C y pre-pesados. Luego, el filtro con el residuo no filtrable se secó hasta alcanzar peso constante. Los sólidos se estimaron sustrayendo el peso del filtro sin material al peso del filtro con material. La fracción disuelta de los nutrientes se analizó luego de la filtración de la muestra a través de filtros Whatman GF/F. El fósforo reactivo soluble se analizó de acuerdo al método del cloruro estañoso, el nitrato según el método de la reducción con cadmio (Mackereth *et al.*, 1978) y el amonio por espectrofotometría según el método del indofenol (APHA 1992). La concentración de ácidos húmicos se cuantificó de forma relativa según la absorbancia de una muestra de agua a 250 nm (Williamsom *et al.*, 1999).

*b) Análisis de la concentración de clorofila *a* fitoplanctónica (Capítulos I, II y V*)*

Las muestras para clorofila *a* fitoplanctónica fueron filtradas a través de filtros de fibra de

vidrio tipo Whatman GF/F y almacenados a -20°C por 24 horas. Luego se extrajo el pigmento con etanol caliente (60-70°C); la concentración del pigmento se midió espectrofotométricamente según Marker *et al.* (1980).

c) Análisis cuali y cuantitativo del fitoplancton (Capítulos I, II y V)*

Para el análisis cualitativo del fitoplancton se tomaron muestras con red de 15 µm de diámetro de poro, se fijó una fracción con formol al 4% y se mantuvo otra fracción sin fijar para el análisis microscópico de los organismos vivos. Para los análisis cuantitativos se tomaron muestras subsuperficiales (Capítulos I y IV) e integradas (Capítulo II) en frascos de plástico de 1 litro y se fijaron con solución ácida de lugol al 1%. Los recuentos se realizaron siguiendo el método de Utermöhl (1958), con un error inferior al 20% para la especie dominante, calculado según Venrick (1978). Las especies fitoplanctónicas fueron clasificadas en grupos funcionales *sensu* Reynolds *et al.* (2002) (ver Anexo 2). El biovolumen fitoplanctónico se estimó calculando los volúmenes (V) algales por especie, utilizando las fórmulas y los criterios propuestos por Hillebrand *et al.* (1999) y Jun y Dongyan (2003); en el Capítulo V se calculó también la superficie para calcular la relación superficie:volumen (S:V).

*La metodología de los capítulos III y IV se detalla en cada capítulo.

I. Una aproximación experimental para evaluar la influencia de las plantas flotantes sobre el fitoplancton*

Resumen

Se estudió la influencia de las plantas flotantes libres (PFL) sobre la estructura de un ensamble natural fitoplanctónico y sobre las variables ambientales, utilizando mesocosmos *in situ* en la zona litoral de la laguna Grande. Las situaciones de baja intensidad lumínica (cobertura natural de PFL y cobertura artificial de PFL simulado con una malla oscura) determinaron la dominancia de cianobacterias filamentosas y coloniales tolerantes a condiciones de escasa luz (grupos **S** y **Lo** *sensu* Reynolds *et al.*, 2002). El biovolumen, la densidad y la clorofila *a* fitoplanctónica permanecieron bajos. La columna de agua fue anóxica, con pH circumneutral y niveles de nutrientes elevados y constantes. Los efectos fisicoquímicos y biológicos asociados con la remoción de las PFL (tratamiento sin cobertura) solamente se observaron luego de cuatro días. El persistente mejoramiento en la disponibilidad de luz determinó el reemplazo de los grupos **S-Lo** de crecimiento lento, por el grupo **X**, caracterizado por Chlorophyceae nanoplanctónicas (**X₁** y **X₂**) y por picoplancton eucariótico (**X₃**) de crecimiento rápido que provocaron un incremento de hasta 8 veces en la biomasa fitoplanctónica. Asimismo, los grupos **S₁** y **S_N** evidenciaron plasticidad morfológica intra-específica en términos de incremento en la longitud de sus filamentos y una disminución en el contenido de vesículas de gas. También ocurrieron cambios en el ambiente fisicoquímico: la columna de agua se tornó óxica y las concentraciones de nutrientes disminuyeron significativamente; el nitrógeno se tornó potencialmente limitante para el crecimiento algal. Se propone que en humedales cálidos y ricos en nutrientes, el efecto del sombreado generado por las PFL es la fuerza conductora en moldear la respuesta fitoplanctónica y de las variables

ambientales. Además, los resultados sugieren que si las fluctuaciones en la cobertura ocurren por períodos cortos (iguales o menores a 4 días) no se deberían registrar alteraciones significativas ni en el ambiente fisicoquímico ni en la estructura del fitoplancton.

Introducción

Los lagos someros tropicales, subtropicales y templados cálidos se encuentran frecuentemente dominados por PFL, sin embargo su influencia en el funcionamiento del ecosistema ha sido escasamente estudiada, y su rol estructurador en los ensambles fitoplanctónicos es prácticamente desconocido (Meerhoff y Mazzeo, 2004). Las PFL afectan la biomasa y la composición del fitoplancton debido a una fuerte disminución de la energía radiante solar (Meerhoff *et al.*, 2003), a través de la competencia por nutrientes, y por secreción de compuestos alelopáticos activos (Gross, 2003).

En particular, Nasselli-Flores y Barone (2000) observaron que la luz influenciaba las dimensiones y las formas del fitoplancton a nivel morfológico, afectando su habilidad para explotar recursos. Los organismos de una misma especie pueden mostrar una morfología altamente variable bajo diferentes climas lumínicos sub-superficiales. La plasticidad morfológica puede ser vista como una manera de mantener el rendimiento durante los cambios ambientales (Morales *et al.*, 2002). Asimismo, Padisák *et al.* (2003) mostraron que variaciones leves en la morfología tienen significados adaptativos en cuanto a diferentes comportamientos de hundimiento o de flotabilidad, que a su vez están relacionados con la eficiencia en la captación de luz.

El presente estudio fue diseñado para evaluar *in situ* el efecto de una densa y

persistente cobertura de PFL, y su remoción, sobre un ensamble fitoplanctónico natural. Se estudió la respuesta de los ensambles fitoplanctónicos en términos de composición y de las respuestas morfológicas de los taxa dominantes.

Metodología

Diseño experimental

El experimento se realizó a fines de la primavera de 2003, del 27 de noviembre al 2 de diciembre en la zona litoral de la laguna Grande de la Reserva Natural de Otamendi. Este ambiente se encontraba completamente cubierto con PFL de pequeño porte (*Lemna* sp.) y no presentaba plantas sumergidas. Se colocaron nueve encerramientos circulares (mesocosmos) de policarbonato transparente, enclavados en los sedimentos para asegurar el aislamiento de la columna de agua. La penetración lateral de luz se considera despreciable ya que la laguna se encontraba totalmente cubierta por PFL. Cada mesocosmos tenía una superficie de 1,6 m² y una profundidad media de 46 cm, delimitando un volumen de 180 litros.

El experimento consistió de tres tratamientos, realizados por triplicado: PFL-dominancia (densa cobertura de PFL correspondiendo al sistema natural), PFL-malla (remoción de las PFL y adición de una malla negra sobre la superficie del agua imitando la atenuación de la luz generada por las PFL) y PFL-ausencia (remoción de las PFL permitiendo la penetración de la luz) (Fig. 1-I). Para evaluar posibles efectos de encerramiento, se analizó el agua circundante a los mesocosmos (Laguna) con la misma frecuencia para todas las variables. Una vez que se colocaron los mesocosmos, se dejaron transcurrir 2 horas para permitir el restablecimiento de la estabilidad de la columna de agua y de los sedimentos; luego se procedió al muestreo inicial. La frecuencia de muestreo fue 2 hs (día 0), 18 hs (día 0,5), 26 hs (día 1), 48 hs (día 2), 72 hs (día 3), 96 hs (día 4) y 120 hs (día 5).

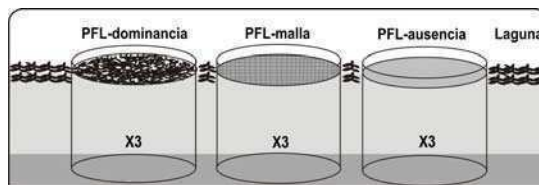


Fig. 1-I. Esquema del diseño experimental. Tratamientos: PFL-dominancia (intacta cobertura de PFL), PFL-malla (remoción de PFL y agregado de una malla oscura sobre la superficie del agua) y PFL-ausencia (remoción de PFL). Laguna: agua circundante a los mesocosmos. Cada tratamiento fue realizado por triplicado.

Se midió *in situ* la temperatura, conductividad, pH y la radiación fotosintéticamente activa (inciso a, Metodología General). La fracción disuelta de los nutrientes, sólidos en suspensión, la clorofila *a* fitoplanctónica y los recuentos fueron analizados en el laboratorio (incisos a y b, Metodología General). El coeficiente de extinción de la luz se calculó en un área sin PFL siguiendo a Kirk (1994).

Los análisis cuantitativos, cualitativos y de biovolumen del nano y micro fitoplancton (fitoplancton, de aquí en adelante) se realizaron en el laboratorio (incisos c, Metodología General). La unidad de recuento fue el individuo (célula, filamento o colonia). Se utilizó la aproximación de grupos funcionales fitoplanctónicos (GFx) (Reynolds *et al.*, 2002, Anexo 2) para describir las respuestas fitoplanctónicas en cada escenario ensayado. Asimismo, se utilizó la abundancia relativa y no el biovolumen relativo de los GFx para analizar la estructura y comportamiento de la comunidad fitoplanctónica, debido a que el biovolumen subestima la importancia numérica de muchas especies de pequeña talla, pero abundantes en el ecosistema.

Las muestras para los análisis cuantitativos del picoplancton autotrófico (PPA, de aquí en adelante) fueron tomadas en el tiempo inicial 2 hs (día 0) y en el tiempo final 120 hs (día 5). El PPA fue analizado en epifluorescencia por la Dra. Luz Allende; la metodología correspondiente se detalla en de Tezanos Pinto *et al.* (2007).

Se estudiaron las características morfológicas de las especies dominantes (69-77% de la abundancia fitoplanctónica total): *Planktothrix agardhii* (S_1), *Raphidiopsis mediterranea* (S_N) y *Planktolyngbya limnetica* (S_2), todas cianobacterias filamentosas. Se calculó la máxima dimensión lineal (MDL), el diámetro, la relación diámetro: MDL, la relación superficie: volumen (S:V), la presencia o ausencia de vesículas de gas, y para *R. mediterranea*, la presencia de acinetas. Al menos 50 ejemplares de *P. agardhii*, 20 ejemplares de *R. mediterranea* y 20 ejemplares de *P. limnetica* fueron analizados en cada tratamiento y en cada fecha de muestreo.

Análisis estadístico

Se utilizó un ANOVA de dos factores con medidas repetidas (MR-ANOVA) para analizar el efecto de los tratamientos (condición de luz) sobre la clorofila *a*, pH, concentración de oxígeno y nutrientes; con tratamiento como el factor principal y tiempo como la medida repetida. Para evaluar diferencias significativas entre los tratamientos, se realizaron comparaciones *post hoc* utilizando la prueba de Student-Neuman-Keuls (Underwood, 1997). Cuando los datos no cumplieron con el supuesto de esfericidad, se realizaron transformaciones logarítmicas (log 10) y de raíz cuadrada. La esfericidad se constató con la prueba de Mauchly. Los cambios temporales en la estructura de los GFx del fitoplancton dentro y entre tratamientos fueron analizados de pares utilizando el índice de similitud de Stander SIMI ($0 \leq \text{SIMI} \leq 1$) (Elber y Shanz, 1988). La respuesta del PPA a los distintos tratamientos fue analizada utilizando un ANOVA de un factor siempre y cuando se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza; en caso contrario se realizó una prueba robusta de comparación de medias (Zar, 1996). Se realizaron comparaciones *a posteriori* (Duncan y Dunett PFL-ausencia) para

evaluar las diferencias entre tratamientos. Se utilizó la diferencia absoluta de las abundancias del PPA (abundancia día final-inicial) como variable para estudiar las respuestas de los distintos tratamientos.

Resultados

Variables físicas y químicas

La irradiancia sub-superficial osciló entre 0,1 y 1,2 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-dominancia, 8 y 44 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-malla, y 86 y 787 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-ausencia, implicando una atenuación del 99%, 98% y 70% de la radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente, respectivamente. En la Laguna, que estaba profusamente cubierta con PFL, la irradiancia sub-superficial osciló entre 1 y 2 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valores similares a los observados en PFL-dominancia. El coeficiente de extinción fue de 5 m^{-1} , indicando que la RFA es fuertemente atenuada en la columna de agua. La conductividad fluctuó entre 1400 y 2000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y la temperatura del agua entre 20 y 28 $^{\circ}\text{C}$.

En cada fecha de muestreo la temperatura fue similar en todos los tratamientos y en la Laguna. Al inicio del experimento se registró anoxia en todos los tratamientos y en la Laguna (Fig. 2a-I). La anoxia persistió durante todo el experimento en PFL-dominancia, PFL-malla y en la Laguna, pero en PFL-ausencia, la anoxia se revirtió a los tres días alcanzando una media de 3,6 mg L^{-1} . Este valor se encontraba todavía debajo de los valores de saturación, aunque fue significativamente diferente de los demás tratamientos (Tabla 1-I). En los días 4 y 5, el oxígeno alcanzó valores de sobresaturación (media 19 mg L^{-1} , 150% saturación) y fue significativamente diferente a los otros tratamientos (Tabla 1-I). En PFL-ausencia, el pH se incrementó desde 7,3 a 8,5; los valores en los días 4 y 5 fueron significativamente superiores a los observados en PFL-dominancia y PFL-malla (Tabla 1-I) que siempre fueron

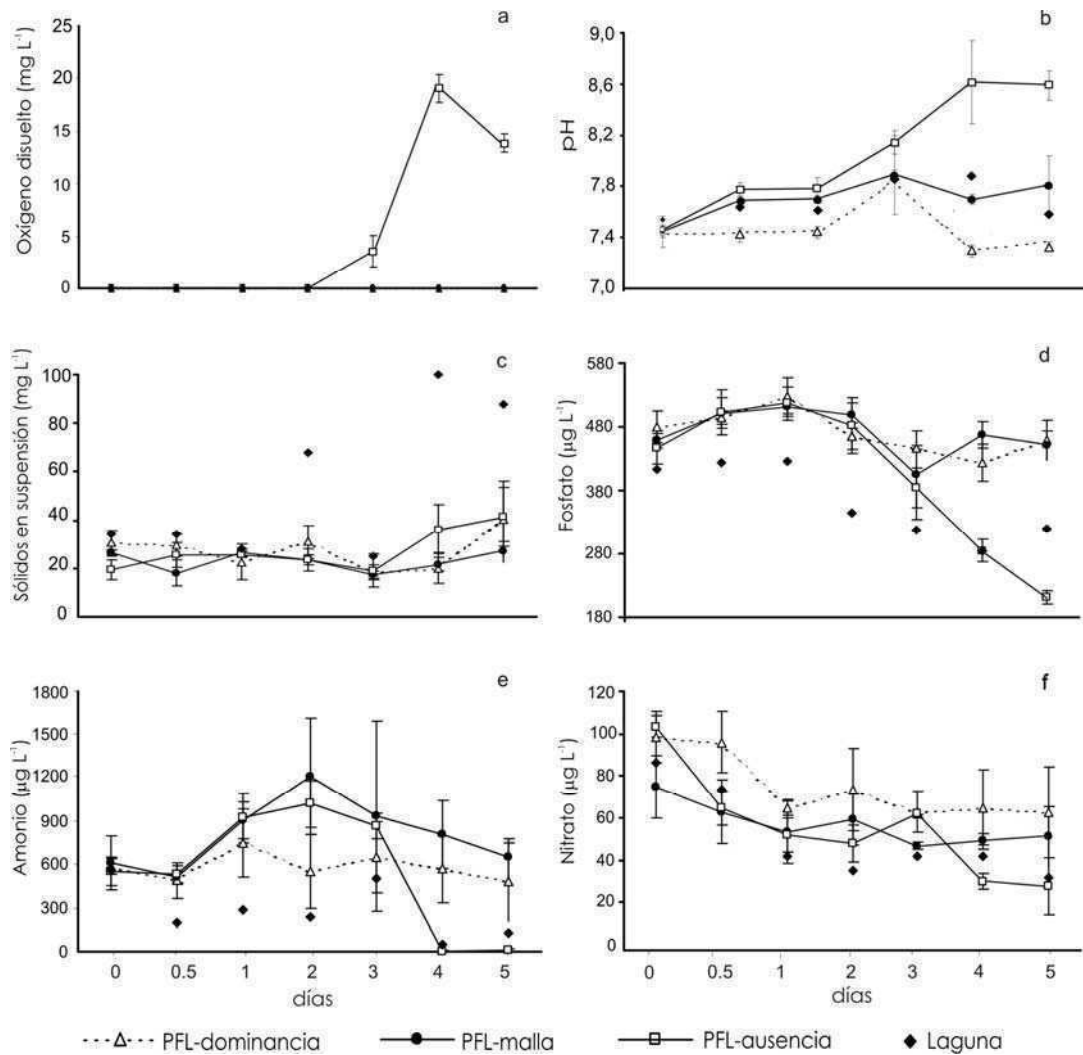


Fig. 2-I. Variación temporal de (a) oxígeno disuelto, (b) pH, (c) sólidos en suspensión, (d) fosfato, (e) amonio y (f) nitrato, a lo largo del experimento en los tres tratamientos y en la Laguna. Las barras de error indican la desviación estándar (n=3).

Tabla 1-I. Resultados de las comparaciones post hoc (Neuman-Keuls) de las variables fisicoquímicas y biológicas luego de las medidas repetidas de dos factores (RM-ANOVA) entre tratamientos para muestreos en fechas consecutivas. D=PFL-dominancia, M=PFL-malla, A=PFL-ausencia. NS= no significativo, nc=no comparado. Se indica el p en la tabla cuando $p < 0,05$.

	días<1			día 2			día 3			día 4			día 5		
	D/A	D/M	M/A	D/A	D/M	M/A	D/A	D/M	M/A	D/A	D/M	M/A	D/A	D/M	M/A
pH	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.004	NS	0.012	0.004	NS	0.011
Oxígeno	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.0002	NS	0.0001	0.0002	NS	0.0002	0.0002	NS	0.0002
Amonio	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.019	NS	0.017	0.005	NS	0.029
Nitrato	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Fosfato	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.038	NS	0.043	0.008	NS	0.008
Densidad	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Clorofila <i>a</i>	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.037	NS	0.015	0.017	NS	0.02

circumneutrales (Fig. 2b-I). Los sólidos en suspensión oscilaron entre 18 y 40 mg L⁻¹ y los valores fueron similares en todos los tratamientos (Fig. 2c-I); las concentraciones en la Laguna fueron más irregulares. Las concentraciones iniciales de fosfato, amonio y nitrato se encontraron dentro del rango de valores usualmente encontrados en ecosistemas eutróficos (Fig. 2d-f-I). En PFL-dominancia y PFL-malla las concentraciones de nutrientes permanecieron elevadas y similares durante todo el experimento (Tabla 1-I), mientras que en PFL-ausencia, se observaron disminuciones significativas de amonio y fosfato luego del día 3 (Fig. 2d-e-I y Tabla 1-I). En las fracciones del nitrógeno inorgánico, el amonio alcanzó valores inferiores a los potencialmente limitantes del crecimiento fitoplanctónico (100 µg L⁻¹, Reynolds, 2006), aunque la concentración de nitrato se mantuvo relativamente constante en todos los tratamientos (Tabla 1-I).

Variables biológicas

La abundancia fitoplanctónica en PFL-dominancia, PFL-malla y en la Laguna nunca superaron los 5,9 X 10⁵ individuos mL⁻¹, con una media de 1,2 X 10⁵ individuos mL⁻¹. En PFL-ausencia, los valores oscilaron entre 7 X 10⁴ y 7 X 10⁵ individuos mL⁻¹ hasta el día 2, con una media de 2 X 10⁵ individuos mL⁻¹; luego del día 3 las abundancias se incrementaron 13 veces alcanzando medias de 1,9 X 10⁶ individuos mL⁻¹ (Fig. 3a-I). El incremento en PFL-ausencia no fue significativamente diferente a los demás tratamientos debido a la gran variabilidad entre sus réplicas (Tabla 1-I). El biovolumen fitoplanctónico (Fig. 3b-I) en las situaciones de baja intensidad lumínica permaneció bajo y similar a lo largo del experimento, mientras que en PFL-ausencia, el biovolumen final fue ocho veces mayor que los valores iniciales. La clorofila *a* fitoplanctónica en PFL-dominancia y PFL-malla permaneció similar durante todo el experimento (rangos de 15-59 y 25-83 µg L⁻¹

¹, respectivamente) (Fig. 3c-I). En PFL-ausencia, la clorofila alcanzó valores máximos de 425 µg L⁻¹; durante los dos últimos días del experimento los valores promedios de clorofila (260 µg L⁻¹) fueron al menos tres veces superiores (P<0,05) (Tabla 1-I) que los registrados en los tratamientos con cobertura (Fig. 3a-I).

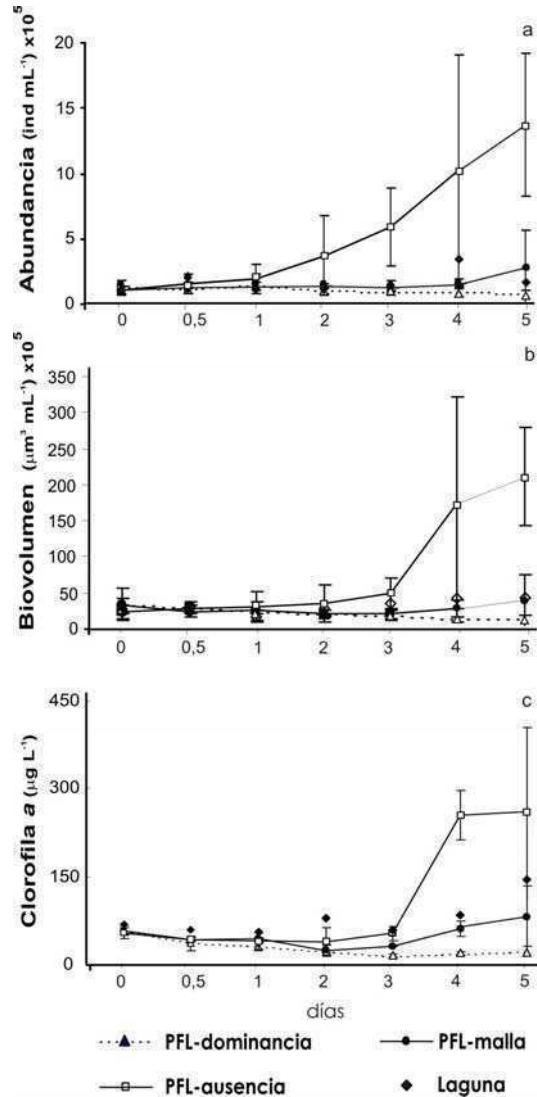


Fig. 3-I. Variación temporal de la (a) abundancia, (b) biomasa y (c) clorofila *a* fitoplanctónica a lo largo del experimento en los tres tratamientos y en la Laguna. Las barras de error indican la desviación estándar (n=3).

Grupos funcionales fitoplanctónicos (GFx)

El análisis del fitoplancton reveló un total de 250 taxa específicos e intra-específicos. Las especies más abundantes correspondieron a los GFx S_1 (*Planktothrix agardhii*), S_2 (*Planktolyngbya limnetica*), S_N (*Raphidiopsis mediterranea*), L_0 (*Merismopedia minima* y *M. tenuissima*), X_1 (*Chlorella* spp., *Monoraphidium circinale* y *M. komarkovae*), X_2 (*Chlamydomonas* spp.), X_3 (células picoplanctónicas tipo *Chlorella*) y Z (células picoplanctónicas tipo *Synechococcus*). Los GFx con abundancia total menor al 3% fueron agrupados dentro de la clase "Otros" incluyendo los codones: C, D, E, F, G, H_1 , J, K, L_M , M, N, P, T, W_1 , W_2 e Y. En el Anexo 2 se describen las características de los distintos GFx.

Al inicio del experimento, la estructura del ensamble fitoplanctónico estuvo conformada por cianobacterias filamentosas (S_2 , S_1 y S_N), por cianobacterias coloniales (L_0) y por bajas proporciones de Chlorophyceae no flageladas (X_1). El GFx dominante fue S_2 seguido en importancia decreciente por S_N y S_1 (Fig. 4-I).

Esta estructura inicial persistió a lo largo de todo el experimento en PFL-dominancia y en la Laguna, pero en PFL-ausencia en el día 4, el ensamble "S" fue reemplazado por el ensamble "X" caracterizado por algas verdes de pequeña talla y alta tasa de crecimiento: X_1 y X_2 (*Chlamydomonas* spp.). En el caso particular de PFL-malla, el ensamble "S" continuó siendo dominante a lo largo del experimento, sin embargo se registró un aumento del ensamble "X" a partir del día 3. Tanto en PFL-malla como en PFL-ausencia, los grupos S_1 y S_N desaparecieron con el tiempo (Fig. 4-I). Las abundancias del grupo S_N también decrecieron en PFL-dominancia, mientras que en la Laguna aumentaron levemente, sugiriendo un efecto negativo de la clausura sobre este grupo. El grupo L_0 aumentó en PFL-dominancia luego del día 2, mientras que en PFL-malla, PFL-ausencia y en la Laguna se mantuvo constante durante el experimento.

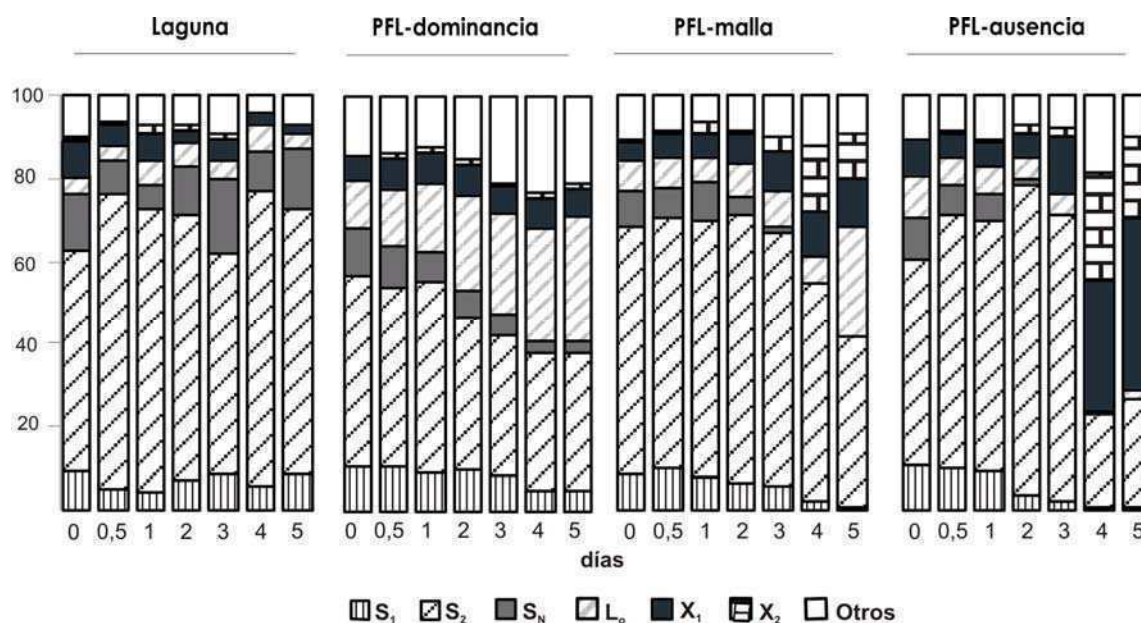


Fig. 4-I. Dinámica de la abundancia relativa de los grupos funcionales fitoplanctónicos en la Laguna y en los tres tratamientos a lo largo del experimento: S_1 (*Planktothrix agardhii*), S_2 (*Planktolyngbya limnetica*), S_N (*Raphidiopsis mediterranea*), L_0 (*Merismopedia minima* y *M. tenuissima*), X_1 (*Chlorella* spp., *Monoraphidium circinale* y *M. komarkovae*), X_2 (*Chlamydomonas* spp.) y Otros (C, D, E, F, G, H_1 , J, K, L_M , M, N, P, T, W_1 , W_2 e Y).

Tabla 2-I. a) Resultados del índice de similitud de Stander ($0 \leq \text{SIMI} \leq 1$) para el fitoplancton entre muestreos consecutivos dentro de cada tratamiento y b) entre tratamientos para cada fecha de muestreo. Dom=PFL-dominancia, Malla=PFL-malla, Aus=PFL-ausencia y Lag=Laguna.

a) días	0-0,5	0,5-1	1-2	2-3	3-4	4-5	3-5
PFL-dominancia	1.00	1.00	0.97	1.00	1.00	0.99	
PFL-malla	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.97	
PFL-ausencia	0.99	1.00	0.99	0.99	0.63	0.99	0.645
Laguna	0.98	1.00	0.99	0.99	0.98	0.99	

b) días	0	0,5	1	2	3	4	5
Dom/Malla	0.99	0.98	0.96	0.90	0.88	0.84	0.76
Dom/Aus	1.00	0.97	0.96	0.87	0.84	0.51	0.49
Dom/Lag	0.99	0.95	0.94	0.88	0.85	0.84	0.74
Malla/Aus	0.99	1.00	1.00	1.00	0.99	0.66	0.83
Malla/Lag	0.99	0.99	0.99	0.99	0.95	0.94	0.82
Aus/Lag	0.99	0.99	0.99	0.98	0.94	0.50	0.50

En los escenarios con baja luz (PFL-dominancia, PFL-malla y Laguna) la comparación de a pares entre muestreos consecutivos dentro de cada tratamiento revelaron que la estructura de GFx fue similar a lo largo del experimento ($\text{SIMI} \geq 0,97$) (Tabla 2a-I). En PFL-ausencia el índice permaneció elevado hasta el día 3 ($\text{SIMI} \geq 0,99$), pero disminuyó en el día 4 ($\text{SIMI} = 0,63$) reflejando el cambio en la estructura fitoplanctónica observada para este tratamiento. De manera similar, el índice SIMI entre tratamientos indicó que las estructuras fitoplanctónicas fueron similares entre las duplas PFL-dominancia/PFL-malla, PFL-dominancia/Laguna y PFL-malla/Laguna ($\text{SIMI} \geq 0,74$) (Tabla 2b-I), mientras que en PFL-ausencia fue similar a estos tratamientos solamente hasta el día 3 ($\text{SIMI} \geq 0,84$). Sin embargo, a partir del día 4 la estructura de los GFx fue diferente a las encontradas en PFL-dominancia y en la Laguna ($\text{SIMI} \leq 0,66$); a tiempo final la estructura entre la dupla PFL-malla/PFL-ausencia fue bastante similar ($\text{SIMI} = 0,83$) (Tabla 2b-I).

Variación Morfológica

En *Planktolyngbya limnetica* (S_2) las variables morfológicas no evidenciaron variabilidad morfológica a lo largo del experimento, sin embargo *Planktothrix agardhii* (S_1) y *Raphidiopsis mediterranea* (S_N) mostraron una respuesta morfológica plástica hacia el final del experimento. En el tratamiento con alta luz (PFL-ausencia) los filamentos de ambas especies fueron levemente más largos que en los tratamientos de baja intensidad lumínica (PFL-dominancia y PFL-malla) (Fig. 5a-I). Se observó un patrón similar para la relación diámetro:MDL y el patrón inverso para la relación S:V. Asimismo, en los escenarios de baja luz el 80% de los filamentos de éstas especies presentaron vesículas de gas durante todo el experimento (Fig. 5b-I), mientras que en altas irradiancias, luego del día 3 solamente el 40% de los filamentos de *P. agardhii* y a tiempo final solamente el 20% de los filamentos de *R. mediterranea* presentaron vesículas de gas. En *R. mediterranea* se registraron acinetas (estados de resistencia), pero en baja frecuencia; la presencia de acinetas no estuvo relacionada a ningún tratamiento en particular. En PFL-dominante, luego del día

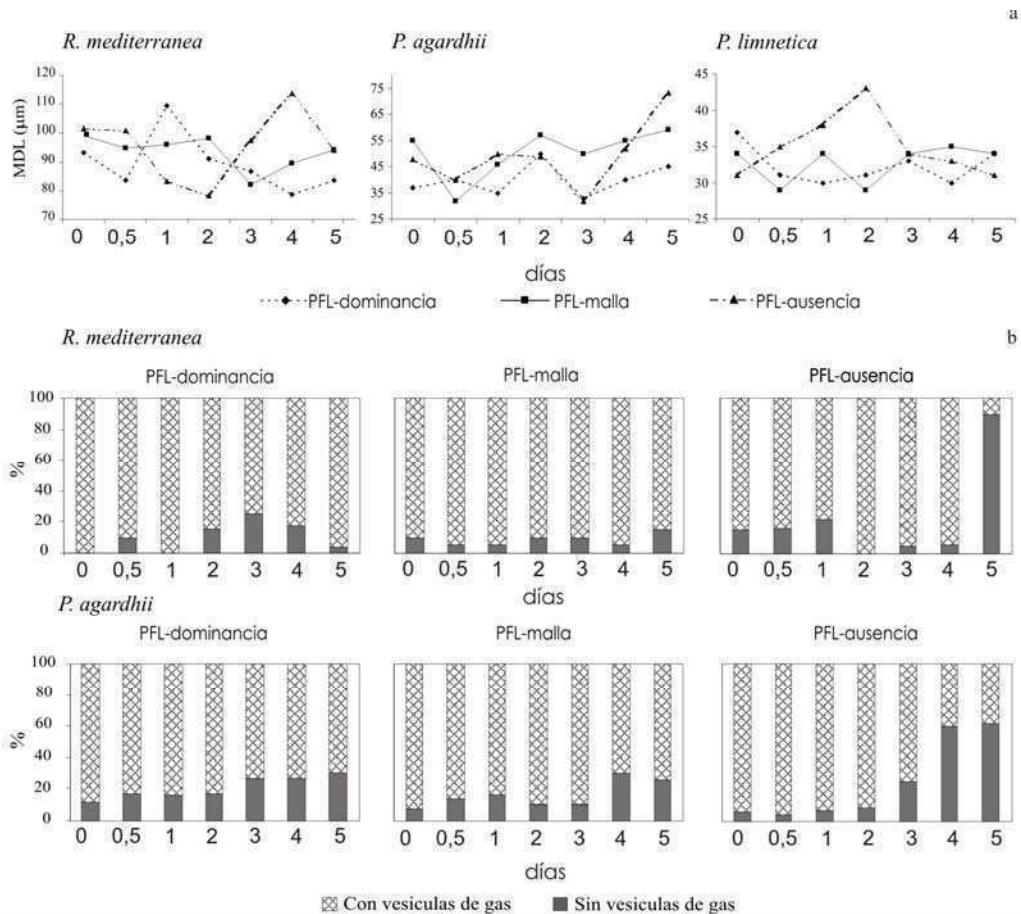


Fig. 5-I. Variación temporal de la a) mediana de la máxima dimensión lineal (MDL) y b) de la presencia relativa de vesículas de gas para las especies dominantes en los tres tratamientos.

4, el 55% de los filamentos de *R. mediterranea* presentaron un extremo redondeado y un extremo aguzado, evidenciando fragmentación de los filamentos. Tanto en PFL-malla como en PFL-ausencia, los filamentos preponderantemente presentaron dos extremos aguzados, sugiriendo que los filamentos no estaban sufriendo fragmentación. Hacia el final del experimento los individuos de *R. mediterranea* mostraron signos de deterioro en situaciones de baja luz.

Picoplancton

Los análisis de epifluorescencia mostraron que las abundancias del PPA al comienzo del experimento oscilaron entre $2,1 \times 10^5$ y $3,3 \times 10^5$ células mL^{-1} . En PFL-dominancia

y en la Laguna las abundancias permanecieron similares, mientras que en PFL-malla y PFL-ausencia fueron 1,3 y 3 veces mayores, respectivamente ($5,5 \times 10^5$ y $7,8 \times 10^5$ células mL^{-1}). La fracción del PPA estuvo representada por los GFx **Z** (células tipo *Synechococcus*) y **X₃** (células tipo *Chlorella*). Inicialmente el grupo **Z** fue dominante sobre el **X₃** en todos los tratamientos y permaneció así en PFL-dominancia, PFL-malla y la Laguna, pero en PFL-ausencia las abundancias finales de **X₃** aumentaron significativamente ($p < 0,0001$) (Fig. 5-I). El biovolumen del PPA nunca excedió el 2% del biovolumen total del fitoplancton (nano, micro y pico fitoplancton).

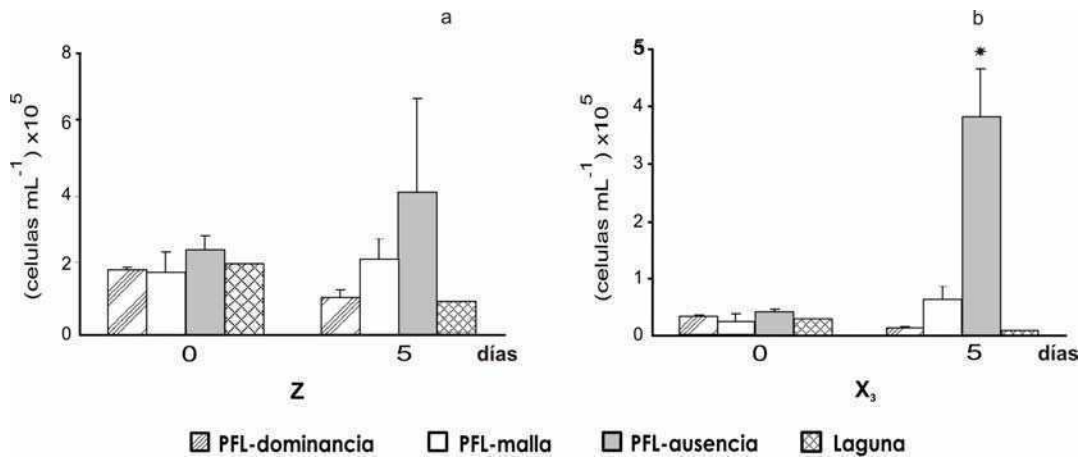


Fig. 6-I. Abundancia de los grupos funcionales picoplanctónicos al inicio y al final del experimento en los tres tratamientos y en la Laguna; (a) PPA procarionte del grupo Z (células tipo *Synechococcus*) y (b) PPA eucarionte del grupo X₃ (células tipo *Chlorella*). Las barras de error indican la desviación estándar (n=3); * denota diferencias significativas. Tomado y modificado (de Tezanos Pinto *et al.*, 2007).

Discusión

Variables fisicoquímicas y biológicas

Las condiciones iniciales del experimento reflejaron características ambientales recurrentemente encontradas en humedales donde las PFL muestran un profuso crecimiento: una disminución en la penetración de la luz y anoxia producida por una gran demanda de oxígeno debido a la elevada cantidad de materia orgánica y a una baja difusión de oxígeno desde la superficie (Junk, 1997; Scheffer *et al.*, 2003). Debajo de la cobertura (natural y artificial) el clima lumínico sub-superficial fue pobre debido al sombreado generado por las coberturas y también al alto coeficiente de atenuación de las aguas coloreadas del humedal (Rodríguez y Pizarro, 2007). La concentración de nutrientes se mantuvo elevada y relativamente estable, debido probablemente a la alta concentración de nutrientes prevalente, y la baja captación por parte del fitoplancton que se hallaba limitado por luz. Asimismo, el mantenimiento de altas concentraciones de nutrientes tanto bajo la cobertura natural como artificial, sugiere que la captación de nutrientes por parte de las PFL de pequeña talla no alteró significativamente la

disponibilidad de nutrientes, y que no hubo competencia por nutrientes entre PFL y el fitoplancton. Estas observaciones concuerdan con las de Meerhoff *et al.* (2003) quienes sugirieron que el impacto de las PFL sobre los mecanismos de “bottom-up” dependen principalmente de la biomasa de PFL. En estos escenarios de baja intensidad de luz, donde la radiación fotosintéticamente activa permaneció debajo de los valores que potencialmente regulan la fotosíntesis ($100-200 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Reynolds, 2006), la biomasa fitoplanctónica permaneció baja y relativamente constante durante todo el experimento. Los resultados sugieren que el mayor efecto que ejercen las PFL sobre la estructuración del fitoplancton es el de sombreado, mientras que los efectos de competencia por nutrientes jugaría un rol estructurador menor.

La remoción de las PFL alivió la restricción lumínica e implicó una inmediata mejora en la condición de luz, sin embargo las respuestas a nivel de las variables bióticas y abióticas fueron observadas solamente luego de tres días. Hacia el final del experimento, la anoxia se revirtió a condiciones de sobresaturación de oxígeno y el pH aumentó significativamente. Estos cambios coincidieron con el aumento de trece veces

en la abundancia y de ocho veces en el biovolumen. Esto a su vez, provocó que las concentraciones de fosfato y el amonio disminuyeran significativamente. Las concentraciones finales de fosfato todavía permanecieron encima de los valores potencialmente limitantes para el crecimiento algal, pero los valores de nitrógeno fueron cercanos a valores potencialmente limitantes ($5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ P}$ y $100 \mu\text{g L}^{-1} \text{ N}$, Reynolds, 2006). De manera similar, los estudios de Unrein (2001) en este humedal sugieren que el nitrógeno disuelto y no el fosfato puede tornarse limitante para el desarrollo fitoplanctónico.

Dinámica de los grupos funcionales fitoplanctónicos

El efecto de sombreado sobre los GFx fitoplanctónicos fue marcado; las situaciones de baja intensidad lumínica determinaron la dominancia de varios GFx de cianobacterias adaptadas a tolerar exitosamente las condiciones de baja intensidad lumínica y la anoxia. Los taxa pertenecientes al grupo "S" (S_1 , S_2 y S_N) se caracterizan por sus filamentos solitarios y delgados, de diámetro entre 1,5 y 4 μm , con una relación superficie:volumen elevada, y son tolerantes a bajas intensidades lumínicas (Reynolds *et al.*, 2002). Kirk (1994) sugiere que el arreglo más eficiente para la captación de la luz corresponde a filamentos cilíndricos, largos y delgados y Reynolds (1997) aseguró que bajo condiciones sub-óptimas de luz, las especies que mejor mantienen el crecimiento tienen morfologías atenuadas. Además, estos grupos pueden desarrollarse exitosamente en condiciones de baja radiación fotosintética debido a que poseen ficobiliproteínas, que son pigmentos accesorios que absorben luz en longitudes de onda complementarias a la clorofila *a*. Asimismo, la presencia de vesículas de gas permite regular la flotabilidad de estos organismos en la columna de agua en función de la disponibilidad lumínica. En condiciones de baja luz, la totalidad de las poblaciones de S_1 (*P. agardhii*) y S_N (*R. mediterranea*) presentaron vacuolas de gas, permitiéndoles

explotar los niveles más superficiales de la columna de agua donde las limitaciones de luz serían menores (Komárek *et al.*, 2003). En el grupo S_N se observó un efecto de clausura, ya que las poblaciones disminuyeron hacia el final del experimento en todos los tratamientos, mientras que las abundancias en las aguas circundantes aumentaron. Esto posiblemente indique una sensibilidad del grupo S_N a la falta de movilidad de la columna de agua debido al encerramiento.

En el tratamiento con cobertura artificial se observó un incremento del grupo "X" hacia el final del experimento, probablemente debido al leve aumento en la intensidad lumínica. Asimismo, en el escenario donde se removieron las PFL, el mejoramiento en la condición lumínica se reflejó en la estructura de GFx solamente luego de varios días del cambio ambiental. Las cianobacterias (S_1 , S_2 , S_N y L_0) fueron reemplazadas por Chlorophyceae (X_1 : *Chlorella* spp., *M. circinale* y *M. komarkovae* y X_2 : *Chlamydomonas* spp.) que tienen una alta tasa de crecimiento a elevadas irradiancias. Además, las *Chlamydomonas* poseen un orgánulo foto receptor denominado estigma que les permite detectar la dirección e intensidad de la luz pudiendo dirigiéndose hacia o fuera de ella y permitiéndoles buscar la cantidad de luz óptima para la fotosíntesis.

La nueva situación ambiental benefició aquellos taxa unicelulares, de pequeña talla y gran tasa de crecimiento. Por el contrario, las situaciones de bajas condiciones lumínicas favorecieron el desarrollo de taxa multicelulares, con formas atenuadas (filamentos delgados y colonias tabulares) y baja tasa de crecimiento. Así, los cambios ambientales deliberadamente generados revelaron un comportamiento reproducible de los principales GFx, tal como lo propusieran Reynolds *et al.*, (2002). Esto concordó bien con las condiciones ambientales prevalentes encontradas durante el experimento.

En el escenario sin PFL, el contenido de las vesículas de gas disminuyó marcadamente,

probablemente debido a una mayor presión de turgencia a consecuencia de una mayor fotosíntesis, generando el hundimiento en la columna de agua hacia zonas menos iluminadas. Asimismo, también se registró un leve incremento en la longitud de los filamentos de S_1 (*P. agardhii*) y S_N (*R. mediterranea*). Las respuestas morfológicas plásticas permitieron a estas especies amortiguar el cambio ambiental, pero sin mejorar su desempeño ecológico en alta luz, ya que fueron prácticamente desplazadas por el ensamble “X” que es característico en ambientes bien iluminados y con alta disponibilidad de nutrientes.

Las PFL también ejercieron un rol crucial en la estructuración del picofitoplancton (PPA). En situaciones de alta iluminación, prevaleció el picoplancton eucarionte (grupo X_3) sobre el procarionte (grupo Z), y ocurrió lo contrario a bajas irradiancias. Además, Izaguirre *et al.*, (ms) analizaron, en citometría de flujo, el PPA de este experimento, revelando que el grupo Z estuvo caracterizado por picocianobacterias ricas en ficocianina. Esto se debe probablemente a que, en las aguas coloreadas de la Laguna Grande, prevalecen las longitudes de onda rojas debido a la absorción de las radiaciones de ondas cortas por el carbono orgánico disuelto (Rodríguez y Pizarro, (2007). Izaguirre *et al.* (ms) observaron la presencia de bacterias fotosintéticas anoxigénicas en las situaciones de anoxia (PFL-dominancia, y PFL-malla), y su ausencia en condiciones óxicas.

En este ecosistema donde predominaba la cobertura de PFL los cambios en el régimen lumínico tuvieron un efecto mayor sobre el fitoplancton. Sin embargo, el efecto de la predación por el zooplancton, uno de los principales factores modeladores de la estructura del fitoplancton, no fue evaluado en este estudio y requiere futuros análisis. Probablemente, el pastoreo por copépodos y rotíferos no fuera significativo debido a la anoxia prevalente (O’Farrell *et al.*, 2003). Sin embargo, se observaron ciliados y flagelados heterotróficos; la presión de

pastoreo generada por estos microheterótrofos sobre la estructura y la dinámica del PPA ha sido demostrada por Sinistro *et al.* (2006) en el humedal de Otamendi. Se observó que la cobertura de PFL generaba un incremento de los componentes heterótrofos y mixotróficos, lo que aumenta la presión de pastoreo sobre el PPA (Sinistro *et al.*, *op. cit.*).

Scheffer *et al.* (2003) demostraron que la dominancia de PFL puede conformar un estado auto-estabilizado en el ecosistema, y recalcaron la necesidad de desarrollar un marco teórico para predecir cuáles son las condiciones que determinan la dominancia de plantas sumergidas, PFL o fitoplancton. Los resultados de este experimento sugieren que en humedales de climas templado-cálidos y ricos en nutrientes, el estado de dominancia por PFL resulta en una baja biomasa fitoplanctónica debido a la persistencia de condiciones de cuasi oscuridad que enmascaran el nivel nutricional y generan un ambiente anóxico. Por el contrario, cuando la cobertura de PFL es permanentemente removida, produciendo un mejoramiento en el clima lumínico sub-superficial, se establece una dominancia por fitoplancton y se interrumpe la anoxia.

La comunidad de PFL aquí estudiada está caracterizada por especies de pequeña talla que pueden ser fácilmente removidas por efecto del viento. Se propone que si las fluctuaciones en la cobertura ocurren con una frecuencia corta (iguales o menores a 3-4 días), ni la estructura del fitoplancton ni el ambiente fisicoquímico sufrirían alteraciones significativas.

*Los resultados aquí presentados fueron publicados en:

de Tezanos Pinto, P., Allende L., y O’Farrell I. 2007. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. *Journal of Plankton Research*. 29: 47-56

O'Farrell I., de Tezanos Pinto P. y Izaguirre I., 2007. A pattern of morphological variability in phytoplankton in response to different light conditions. *Hydrobiologia*, 578, 65–7

II. Efecto dinámico del sombreado generado por las plantas flotantes libres sobre la composición y diversidad fitoplanctónica*

Resumen

Se estudió el efecto dinámico del sombreado generado por las plantas flotantes libres (PFL) sobre la ecología del fitoplancton; se realizó un experimento a mediano plazo con mesocosmos en la zona litoral de la laguna Grande. Se simularon tres escenarios comúnmente encontrados en lagunas someras cálidas-templadas: PFL-dominancia (30 días con permanente baja disponibilidad de luz), PFL-fluctuante (periódica fluctuación en la cobertura de PFL y consecuentemente en la luz), y PFL-ausencia (30 días con permanencia de una mejor condición lumínica). Se analizaron los efectos de la dinámica de las PFL sobre la composición y diversidad del fitoplancton, y sobre las variables físicas y químicas. La intercepción de la luz debido a la persistente cobertura de PFL generó una respuesta fitoplanctónica compleja: el producto de la fotosíntesis no fue capaz de superar la anoxia, se registró una marcada pérdida de especies y de biomasa algal, pero sin embargo la diversidad se mantuvo elevada. La respuesta opuesta caracterizó al fitoplancton en el escenario sin PFL, donde la luz fue suficiente y el nitrógeno disuelto fue limitante. La fluctuación periódica en la cobertura de PFL generó una alternancia en la jerarquía de los recursos limitantes para el crecimiento algal (luz en las fases cubiertas y nitrógeno en las fases descubiertas), lo que probablemente explique el mantenimiento de una alta riqueza y diversidad.

Introducción

La documentación existente acerca del efecto de los disturbios sobre el fitoplancton esta principalmente referida al lavado, la mezcla de la columna de agua y/o el pulso

de nutrientes (Sommer *et al.*, 1993; Sommer, 1995). Los desplazamientos a corto plazo de densas matas de PFL, generados por el viento, también pueden ser considerados como un disturbio ya que afectan la disponibilidad lumínica para las algas. En el capítulo anterior, la evidencia experimental a campo indicó que la limitación persistente de la luz generada por las PFL es una importante fuerza conductora en el modelado de la composición y la abundancia fitoplanctónica. Por el contrario en aguas sin PFL, la permanencia de una buena irradiancia puede generar limitación en la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento algal, particularmente de nitrógeno disuelto.

La influencia de un régimen fluctuante de luz sobre la estructura del fitoplancton ha sido escasamente abordada. Los experimentos de laboratorio de Litchman (1998), revelaron cambios en el fitoplancton a nivel poblacional y de comunidad, al exponer un ensamble de especies algales a períodos cortos e intermitentes de luz (menos de 8 horas). Posteriormente, análisis teóricos basados en modelos simples de competencia entre dos fitopláncteres de estrategias ecológicas opuestas, sugirieron que períodos de fluctuación mayores a 100 horas conducen a coexistencias a largo plazo (Litchman y Klausmeier, 2001). Estas predicciones fueron confirmadas experimentalmente por Flöder *et al.* (2002) y Flöder y Burns (2005) utilizando cultivos semi continuos de fitoplancton natural tanto con nutrientes suficientes como con limitación de fósforo. Los resultados mostraron un incremento en la diversidad debido a cambios periódicos en la intensidad lumínica en escalas de 1 a 12 días.

En este estudio se revisa el conocimiento que relaciona la fluctuación de la luz y la ecología del fitoplancton, en términos de las características de lagos someros dominados por PFL, donde el gran contacto con la interfase de los sedimentos implica una compleja dinámica nutricional. Para ello se expuso a la comunidad natural de fitoplancton a diferentes regímenes lumínicos, resultantes de la dinámica de las PFL, utilizando encerramientos enclavados en los sedimentos de la laguna. Se cuantificó el efecto del disturbio (fluctuación de la cobertura de PFL) sobre el fitoplancton en términos de composición, riqueza y diversidad, tanto de especies como de grupos funcionales. Las respuestas del fitoplancton y del ecosistema se analizaron en el marco de la hipótesis del disturbio intermedio (Connell, 1978) y la teoría de los equilibrios alternativos estables para sistemas someros (Scheffer *et al.*, 1993, Ver Introducción), respectivamente. La teoría de los disturbios intermedios (Connell *op. cit.*) propone que los ambientes no perturbados mantienen comunidades menos diversas, mientras que la introducción de disturbios de frecuencias intermedias genera un aumento en la diversidad.

Metodología

Diseño experimental

El presente experimento fue realizado para evaluar el efecto de la cobertura dinámica de PFL sobre el fitoplancton: se llevó a cabo a finales de verano del 2006, del 8 de marzo al 6 de abril, en la zona litoral de la laguna Grande que se encontraba libre de PFL. Se utilizaron 9 encerramientos de policarbonato negro de 90 centímetros de diámetro (mesocosmos) que fueron enclavados en los sedimentos en un área sin PFL ni plantas sumergidas. Al posicionar los mesocosmos se colocó una malla en la base para evitar el ingreso de peces; ésta fue removida horizontalmente antes de establecer los mesocosmos en los sedimentos. Luego, se agregaron 8 ind m⁻² de *Jenynsia*

multidentata Jenyns (10 peces por mesocosmos) de talla similar. Esta especie es un ciprínido omnívoro-bentívoro-planctívoro abundante en este ecosistema en ciertos períodos del año. Se utilizaron densidades de peces similares a las encontradas por Meerhoff *et al.* (2003) bajo cubiertas naturales de PFL ya que no se disponían de datos de su abundancia para esta laguna. Los mesocosmos contenían 180 litros de agua de la laguna, con una superficie de 1.8 m² y una profundidad de 50 cm; se colocaron 48 horas previas al comienzo del experimento para permitir la estabilidad de la columna de agua y la decantación de los sedimentos removidos durante la colocación.

Se simularon tres escenarios característicos en este ecosistema, por triplicado: PFL-dominancia (30 días con permanente baja disponibilidad de luz), PFL-fluctuante (periódica fluctuación en la cobertura de PFL y consecuentemente en la luz), y PFL-ausencia (30 días con permanencia de una mejor condición lumínica). Para simular el efecto del sombreado de las PFL se colocó una malla oscura sobre la superficie del agua al comienzo del experimento, tanto en PFL-dominancia como en PFL-fluctuante. La malla oscura disminuyó aproximadamente el 98% de la luz incidente, imitando el efecto de sombreado natural de las PFL (disminución aproximada del 99%, Capítulo I). En PFL-dominancia la malla cubrió la superficie del agua durante todo el experimento, mientras que en PFL-fluctuante se generó un disturbio al colocar/retirar la malla cada cinco días. El tratamiento PFL-fluctuante estuvo expuesto a tres ciclos de cobertura de malla (del día 0 al 5, 10 al 15 y 20 al 25) y de remoción de la malla (del día 5 al 10, 15 al 20 y 25 al 30).

La utilización de mallas en vez de plantas permitió alcanzar idénticas condiciones iniciales en términos del efecto de las PFL (cantidad y calidad). Todos los mesocosmos fueron muestreados cada cinco días: 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30. Se eligió esta frecuencia de muestreo en base a los estudios del Capítulo

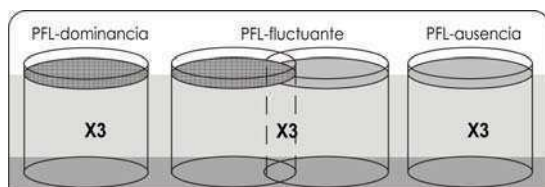


Fig. 1-II. Esquema del diseño experimental. Tratamientos: PFL-dominancia: malla oscura por 30 días, PFL-fluctuante: 5 días con malla y 5 días sin malla, por 30 días, y PFL-ausencia: 30 días sin malla. Cada tratamiento fue realizado por triplicado.

I que demostraron que los cambios en la estructura del fitoplancton y en las variables fisicoquímicas ocurrieron luego de cuatro días de la remoción de PFL. Asimismo, esta frecuencia es adecuada para observar cambios en la diversidad del fitoplancton dentro del marco de la hipótesis del disturbio intermedio (Sommer *et al.*, 1993).

La radiación fotosintéticamente activa, pH, oxígeno y conductividad fueron medidas *in situ* a intervalos de 5 cm desde una zona sub-superficial hasta la interfase con los sedimentos. Se calculó la irradiancia media (I_{media}) siguiendo a Helbling *et al.* (1994). Los análisis para nutrientes, clorofila *a*, y cuantificación de fitoplancton y zooplancton se realizaron a partir de muestreos integrados de la columna de agua según la Metodología General (incisos *a-c*). Se calculó la diversidad fitoplanctónica utilizando el índice de Shannon-Wiener (1949) y la equitatividad, tanto en términos de abundancia y de biovolumen, para especies y para grupos funcionales (GFx). Asimismo, la riqueza se estimó para especies y para los GFx. El análisis del zooplancton fue realizado por la Lic. Chaparro; la metodología se detalla en Chaparro (2007). Se utilizó la variable densidad total para describir el comportamiento del zooplancton.

Análisis estadístico

Los efectos tratamiento (condición de cobertura) sobre la concentración de oxígeno, fosfato, nitrógeno inorgánico disuelto (NID=nitrato + amonio), densidad, biovolumen y clorofila *a* fitoplanctónica, e I_{media} fueron analizados utilizando ANOVA de medidas repetidas (MR-ANOVA), con el tratamiento como el factor principal y el tiempo como la medida repetida. Para estudiar las diferencias significativas entre tratamientos, en el tiempo y para las condiciones iniciales, se realizaron comparaciones *post hoc* utilizando la prueba de Student Newman-Keuls (Underwood, 1997). Para las comparaciones de a pares de medias en los diferentes niveles entre y dentro de los factores (MR), se utilizaron los cuadrados medios agrupados para el efecto del error dentro y la porción entre del corriente efecto en cuestión; en tales casos el valor de significancia (*p*) está indicado. Cuando los datos no cumplieron con el supuesto de esfericidad, se realizaron transformaciones de log 10 (para el oxígeno, I_{media} y la densidad) y transformaciones de raíz cuadrada para el NID. La esfericidad fue chequeada con la prueba de Mauchly. Al final del experimento (día 30) se realizaron comparaciones múltiples para los niveles de diversidad, riqueza y equitatividad entre tratamientos.

Resultados

Variables físicas y químicas

La irradiancia media (I_{media}) fue de $6,6 \pm 4,3$ $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-dominancia, $4,3 \pm 2,8$ y 352 ± 195 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-fluctuante para los períodos oscuros e iluminados, respectivamente y 204 ± 105 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en PFL-ausencia (Fig. 2a-II); se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) y en el tiempo ($p < 0,05$). La temperatura, conductividad y el pH respondieron de forma similar en todos los regímenes lumínicos.

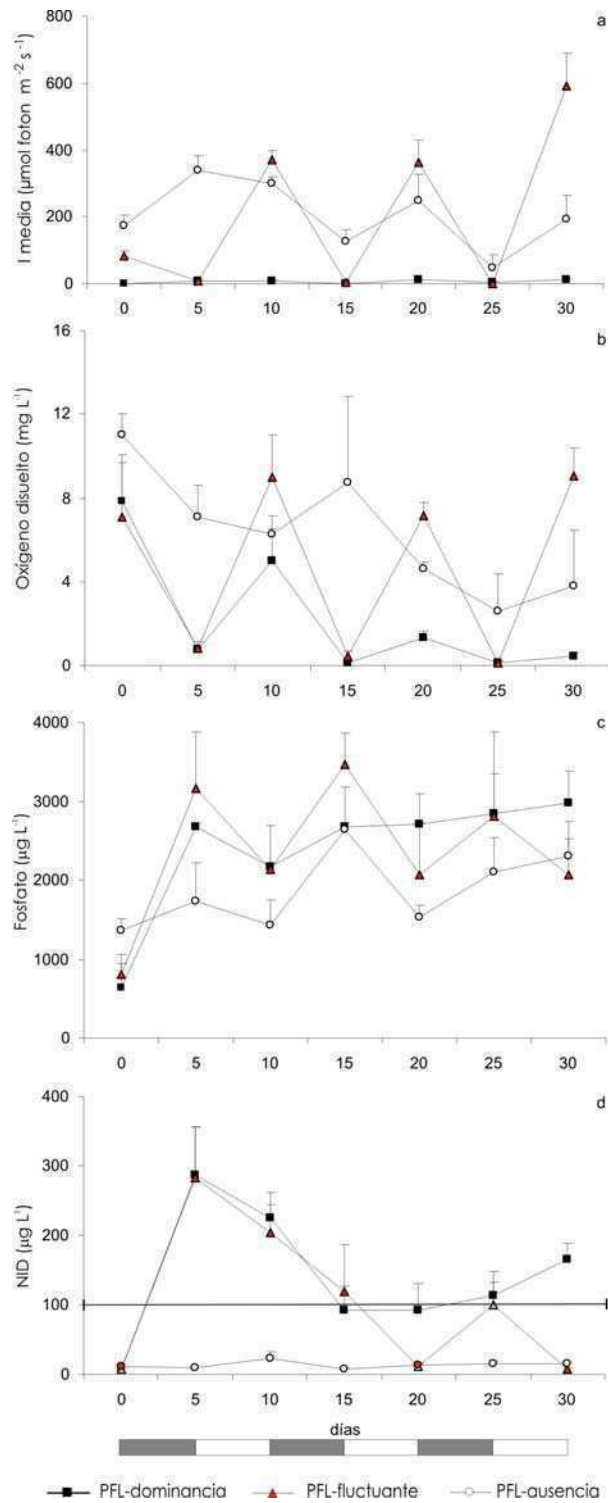


Fig. 2-II. Variaciones temporales de: a) irradiancia media (I_{media}), b) oxígeno sub-superficial, c) fosfato y d) nitrógeno inorgánico disuelto (NID), en los tres tratamientos. La línea horizontal en el NID muestra el valor umbral de potencial limitación de N. Las barras de error indican la desviación estándar (n=3).

La temperatura osciló entre 16,7 y 29,7 °C y fue generalmente homogénea en el perfil y similar a las temperaturas de la laguna. La conductividad varió entre 1070 y 1540 $\mu\text{S cm}^{-1}$ en todos los mesocosmos. Entre los días 5 y 10 se registró una fuerte lluvia. En PFL-dominancia, el pH se mantuvo similar y cercano al valor neutro, en PFL-fluctuante el pH fue levemente mayor (8,8) durante las fases descubiertas, y similar a PFL-ausencia, e inferior en las fases cubiertas (7). La concentración de oxígeno sub-superficial (Fig. 2b-II) difirió significativamente entre tratamientos ($p < 0,05$).

El oxígeno en PFL-dominancia disminuyó hacia la anoxia ($p < 0,05$), en PFL-fluctuante hubo una alternancia de concentraciones elevadas en los períodos descubiertos y bajas/anoxia en los períodos cubiertos, y en PFL-ausencia fue elevada aunque evolucionó hacia concentraciones más bajas (Fig. 2b-II). Los patrones de oxígeno en PFL-ausencia y la laguna fueron muy similares, sugiriendo que los mesocosmos imitaban bien la dinámica de oxígeno de la laguna. El agua cercana a los sedimentos (profundidad=35 cm) en PFL-dominancia fue siempre anóxica, en PFL-fluctuante la mayoría del tiempo fue anóxica y en PFL-ausencia fue óxica pero con valores inferiores a la saturación.

La concentración de fosfato siempre excedió el valor considerado potencialmente limitante para el fitoplancton ($3 \mu\text{g L}^{-1}$, Reynolds, 2006) y estuvo dentro del rango de ecosistemas hipereutróficos (promedio de $2300 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fig. 2c-II). Las concentraciones de fosfato en PFL-dominancia y PFL-fluctuante aumentaron luego de 5 días de anoxia ($p < 0,05$), probablemente debido a su liberación desde los sedimentos; se estima que aproximadamente $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ P fueron liberados. Luego del marcado incremento inicial, las concentraciones de fosfato no difirieron significativamente entre los tratamientos, incluso a pesar que en PFL-fluctuante existió un reabastecimiento

periódico de fosfato durante las fases oscuras ($p > 0,05$). Las concentraciones de NID (nitrato + amonio) (Fig. 2d-II) difirieron significativamente en los tres tratamientos ($p < 0,05$). Al inicio del experimento el NID se encontró por debajo de las concentraciones consideradas potencialmente limitantes para el crecimiento fitoplanctónico ($100 \mu\text{g L}^{-1}$, Reynolds, 2006) en todos los tratamientos. En PFL-ausencia el NID permaneció siempre bajo ($< 33.2 \mu\text{g L}^{-1}$), mientras que en PFL-dominancia aumentó marcadamente y en PFL-fluctuante aumentó desde el día 0 al 5 ($p < 0,05$) (Fig. 2d-II); se estima que aproximadamente $300 \mu\text{g L}^{-1}$ fueron liberados. En PFL-dominancia, las concentraciones de NID permanecieron suficientes desde el día 5 al 15 ($> 250 \mu\text{g L}^{-1}$) y luego disminuyeron hasta aproximadamente $100 \mu\text{g L}^{-1}$. En PFL-fluctuante, las concentraciones aumentaron durante las fases cubiertas y disminuyeron significativamente durante los períodos descubiertos ($p < 0,05$), excepto luego de las fuertes lluvias registradas entre los días 5 y 10. Las concentraciones de nitrato siempre fueron bajas ($< 20 \mu\text{g L}^{-1}$); en promedio el nitrato en PFL-dominancia representó el 20% del NID, en PFL-fluctuante el 51% en las fases de luz y el 7% del NID en las fases oscuras, y en PFL-ausencia el 91% del NID. La concentración de amonio osciló entre 0 y $359 \mu\text{g L}^{-1}$ y su contribución al NID fue inversa al nitrato; los valores máximos se registraron en los escenarios oscuros debido principalmente a su liberación desde los sedimentos anóxicos y la reducción del nitrato.

Fitoplancton

En PFL-dominancia la persistente luz baja tuvo un efecto negativo y significativo sobre la densidad fitoplanctónica, la clorofila *a* y el biovolumen fitoplanctónico. Por el contrario, los regímenes de luz en PFL-fluctuante y de PFL-ausencia generaron

respuestas fitoplanctónicas similares, con densidades fitoplanctónicas elevadas, incluso a pesar de las restricciones de luz periódicas en PFL-fluctuante (Fig. 3a-II). Las densidades finales promedio en estos tratamientos ($2,8 \times 10^5$ ind mL^{-1}) fueron aproximadamente treinta veces mayores que en PFL-dominancia (1×10^4 ind mL^{-1})

($p < 0,05$) (Fig. 3a-II). El patrón del biovolumen fitoplanctónico fue similar a la abundancia (Fig. 3b-II). La concentración inicial de clorofila *a* fue elevada (media=

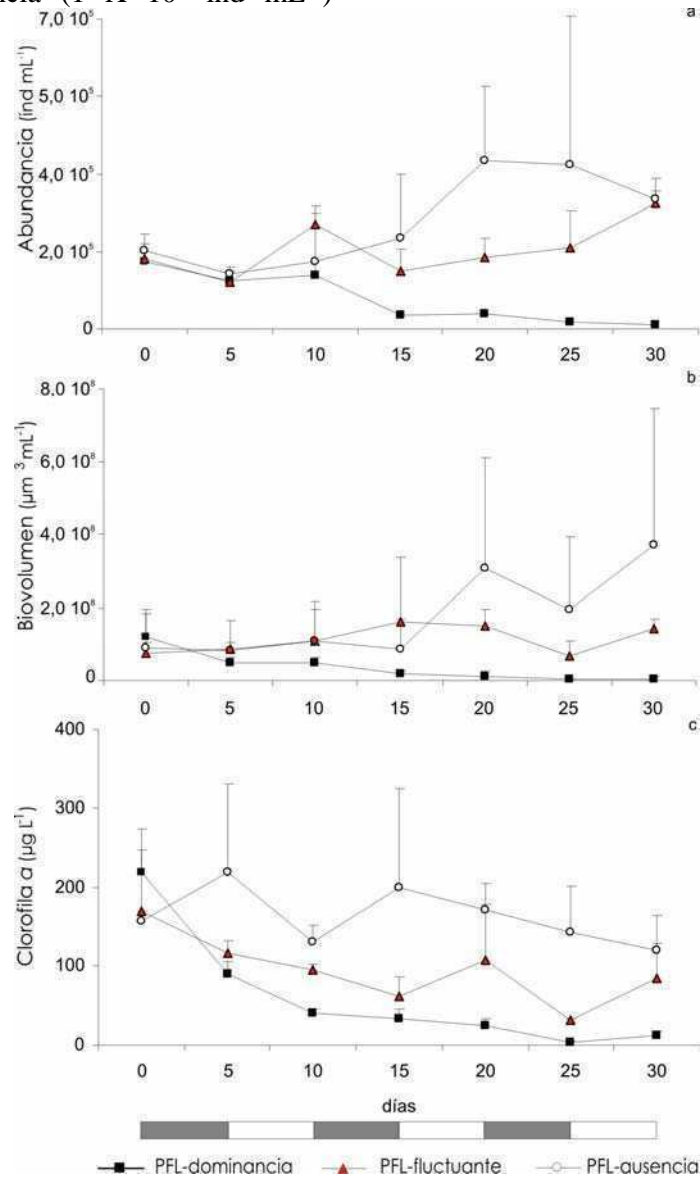


Fig. 3-II. Variaciones temporales de la a) abundancia, b) biovolumen y c) clorofila *a* fitoplanctónica, en los tres tratamientos. Las barras de error indican desviación estándar ($n=3$).

182 $\mu\text{g L}^{-1}$) y permaneció similar en PFL-ausencia. Sin embargo, en PFL-dominancia

se registró una fuerte y consistente disminución hasta 11 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($p < 0,05$). En

Tabla 1-II. Especies representativas de los grupos funcionales (GFx), *sensu* Reynolds *et al.* (2002), registrados durante el experimento denotando su tolerancia (+), sensibilidad (-) y tolerancia no probada (?) a la: irradiancia media diaria ($I < 17.4 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentración de fósforo reactivo ($P < 3.5 \mu\text{g L}^{-1}$) y de nitrógeno ($N < 14 \mu\text{g L}^{-1}$).

Especies representativas	GF x	I	P	N	Observaciones
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	C	+	-	-	unicelular
<i>Nitzschia acicularis</i>	C				
<i>Nitzschia linearis</i>	C				
<i>Nitzschia palea</i>	C				
<i>Nitzschia reversa</i>	C				
<i>Mallomonas</i> sp.	E	+	+	-	unicelular, flagelado
<i>Dichotomococcus curvatus</i>	F	-	+	-	cenobial
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	F				
<i>Pandorina morum</i>	G	-	-	-	colonial, flagelado
<i>Anabaena</i> spp.	H	-	-	+	filamento
<i>Aphanizomenon gracile</i>	H				
<i>Actinastrum hantzschii</i>	J	?	-	-	cenobial
<i>Didymocystis fina</i>	J				
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	J				
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	J				
<i>Aphanocapsa delicatissima</i>	K	?	-	-	colonial
<i>Aphanothece smithii</i>	K				
<i>Eucapsis alpina</i>	K				
<i>Eucapsis starmachii</i>	K				
<i>Chroococcus minimus</i>	L _o	-	+	-	colonial
<i>Merismopedia minima</i>	L _o				
<i>Merismopedia punctata</i>	L _o				
<i>Merismopedia tenuissima</i>	L _o				
<i>Coelomoron minimum</i>	M	-	-	-	colonial
<i>Microcystis aeruginosa</i>	M				
<i>Microcystis firma</i>	M				
<i>Aulacoseira granulata</i>	P				filamento
<i>Planktothrix aghardii</i>	S ₁	+	-	-	filamento
<i>Pseudoanabaena catenata</i>	S ₁				
<i>Arthrospira</i> cf. <i>khannae</i>	S ₂	+	-	-	filamento
<i>Planktolingbya limnetica</i>	S ₂				
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	S _x	+	-	+	filamento
<i>Centritractus belenophorus</i>	T	?	+/-	-	unicelular
<i>Euglena</i> cf. <i>gasterosteus</i>	W ₁	+	-	-	unicelular, flagelado
<i>Euglena variabilis</i>	W ₁				
<i>Phacus aenigmaticus</i>	W ₁				
<i>Phacus viguieri</i>	W ₁				
<i>Closteriopsis acicularis</i>	X ₁	-	-	-	unicelular
<i>Goniochloris pulchra</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium arcuatum</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium circinale</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium contortum</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium griffithii</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium komarkovae</i>	X ₁				
<i>Monoraphidium minutum</i>	X ₁				
<i>Tetraedron triangulare</i>	X ₁				
<i>Chlamydomonas</i> spp.	X ₂	-	?	-	unicelular, flagelado
<i>Chlorogonium fusiforme</i>	X ₂				
Chrysophyceae ni	X ₂				
<i>Plagioselmis nannoplantica</i>	X ₂				
<i>Spermatozopsis exultans</i>	X ₂				
<i>Cryptomonas erosa</i>	Y	+	-	-	unicelular, flagelado
<i>Cryptomonas marssonii</i>	Y				mixotrofia
<i>Peridinium</i> sp.	Y				

PFL-fluctuante los valores fueron intermedios (Fig. 3c-II).

El análisis del fitoplancton incluyó 194 taxa distribuidos en 18 grupos funcionales (GFx) típicamente encontrados en el plancton de lagos someros. La Tabla 1-II resume la información sobre las tolerancias a los recursos de luz y nutrientes, y las formas de vida de los GFx registrados. Los grupos **X₁** (algas pequeñas y unicelulares, no flageladas), **X₂** (algas pequeñas y unicelulares, flageladas), **L₀** (pequeñas cianobacterias coloniales) y **S₂** (cianobacterias filamentosas no fijadoras de nitrógeno) se encontraron consistentemente en todos los ensambles fitoplanctónicos del experimento; la dominancia esporádica de los grupos **Y** (mixótrofos) o **K** (cianobacterias coloniales) también fue registrada. Los grupos, **J**, **F**, **X₁** y **W₁** fueron muy diversos e incluyeron entre 12 y 41 especies algales cada uno, mientras que la mayoría de los demás GFx estuvieron representados por menos de seis especies. La riqueza final (día 30) de especies y de GFx en PFL-dominancia fue significativamente menor que los demás escenarios (Tabla 2-II). En este tratamiento, más de 30 especies y aproximadamente 5 GFx fueron excluidos durante los primeros 15 días de permanente oscuridad (Fig. 4a-II). En los días siguientes, la riqueza permaneció similar, reflejando la persistencia de fitoplancton mejor adaptado o tolerante a las bajas condiciones de luz (Fig. 4a-II). La composición final de la comunidad estuvo dominada por el grupo **X₁** (pequeñas Chlorophyceae, sin motilidad) acompañado por una menor contribución de los grupos **S₂**, **M** y **L₀** (cianobacterias filamentosas y coloniales). En PFL-fluctuante y PFL-ausencia las respuesta de riqueza específica y de GFx fueron similares (Fig. 4a-b-II, Tabla 2-II). A tiempo final, en PFL-fluctuante prevalecieron los grupos **S₂** (cianobacterias filamentosas) y **X₂** (pequeñas Chlorophyceae, Cryptophyceae y Chrysophyceae, todas flageladas), junto con **X₁**, **L₀** y **C** (diatomeas planctónicas) pero

con abundancias menores. El efecto causado por la fluctuación de la luz influenció a la mayoría de los GFx. En particular las densidades en **X₁**, **X₂**, **J** (Chlorophyceae cenobiales), **F** (Chlorophyceae coloniales), **T** (organismos unicelulares alargados) e **Y** (Cryptophyceae, flagelados mixotróficos) aumentaron en altas y disminuyeron en bajas irradiancias (Fig. 5a-II), mientras que lo opuesto ocurrió en el grupo **M** (Fig. 5b-II). En particular, el grupo **C** estuvo bien representado y sus poblaciones no se vieron afectadas por el régimen lumínico. En PFL-ausencia las réplicas evolucionaron hacia la dominancia de distintos GFx, especialmente luego del día 20: hacia la dominancia de **X₂** (Réplica 1), a la dominancia de **S₂** (Réplica 2) o a una co-dominancia de **S₂-X₁** y **K** (Réplica 3); en términos de biovolúmenes los grupos **K** o **W₁** fueron dominantes. La diversidad y equitatividad final de GFx (en biovolumen) fue significativamente menor en PFL-ausencia debido a la dominancia (55 a 90%) de un único GFx (**K** o **W₁**) en cada réplica (Tabla 2-II, Fig. 4c-II). De manera similar, la equitatividad final de especies (en densidad y en biovolumen) fue significativamente menor en PFL-ausencia, aunque la diversidad final (en densidad y en biovolumen) fue similar en todos los tratamientos (Tabla 2-II).

Zooplankton

Las densidades iniciales del zooplankton fueron similares en todos los tratamientos ($p > 0,05$) ($1,3-2,6 \times 10^3$ ind L^{-1}) y decrecieron por lo menos a un tercio en todos los escenarios hacia el final del experimento (día 30) ($p > 0,05$). La composición inicial de la comunidad zooplanctónica estuvo dominada por rotíferos en todos los tratamientos. Al día 30, en PFL-dominancia prevalecieron las larvas nauplii, mientras que en PFL-fluctuante y PFL-ausencia existieron proporciones equitativas de larvas nauplii, copépodos y rotíferos. Los efectos sobre el zooplankton fueron no significativos en todos los tratamientos ($p > 0,05$).

Tabla 2-II. Valores medios finales (día 30) de: riqueza, diversidad de Shannon y equitatividad, tanto de especies como de GFX fitoplanctónicos, en los tres tratamientos. Las diferentes letras denotan diferencias significativas al 5% entre tratamientos (prueba de LSD); * denota diferencias al 10%.

	PFL-dom	PFL-fluct	PFL-aus
Riqueza Especifica	24 ^a	72 ^b	60 ^b
Riqueza Grupos Funcionales	11 ^a	16 ^b	14 ^{b*}
Diversidad Especifica (abundancia)	2.93 ^a	3.12 ^a	2.69 ^a
Diversidad Especifica (biovolumen)	2.80 ^a	3.16 ^a	1.96 ^a
Diversidad de Grupos Funcionales (abundancia)	2.17 ^a	2.46 ^a	2.16 ^a
Diversidad de Grupos Funcionales (biovolumen)	2.32 ^a	2.54 ^a	1.34 ^{b*}
Equitatividad de Especies (abundancia)	0.64 ^a	0.51 ^a	0.45 ^{b*}
Equitatividad de Especies (biovolumen)	0.61 ^a	0.51 ^a	0.33 ^{b*}
Equitatividad de Grupos Funcionales (abundancia)	0.63 ^a	0.62 ^a	0.55 ^a
Equitatividad de Grupos Funcionales (biovolumen)	0.77 ^a	0.83 ^a	0.25 ^{b*}

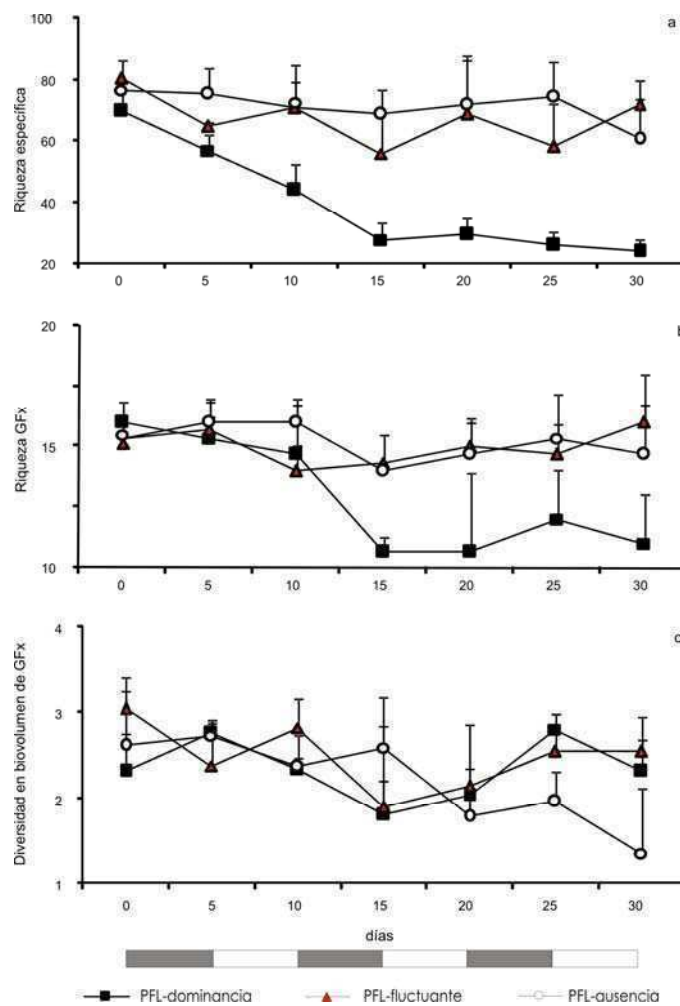


Fig. 4-II. Variaciones temporales de la: a) riqueza específica, b) riqueza de GFX y c) diversidad de GFX basada en biovolumen fitoplanctónica, en los tres tratamientos. Las barras de error indican desviación estándar (n=3).

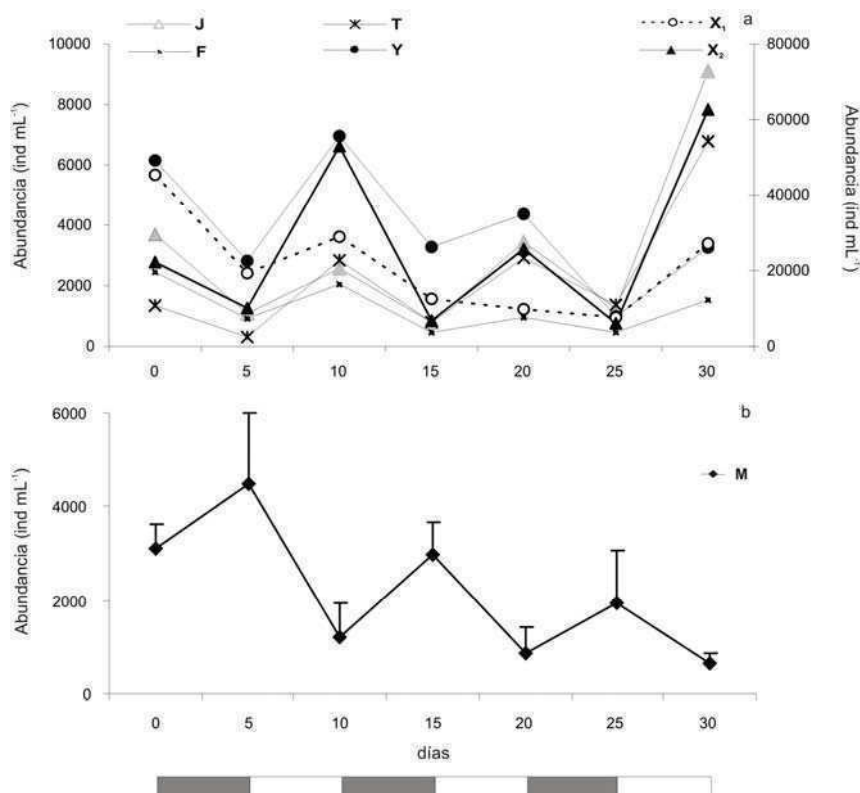


Fig. 5-II. Variaciones temporales de la abundancia de los GFx afectados por las fluctuaciones de luz en el tratamiento PFL-fluctuante: a) GFx que aumentaron en altas irradiancias y disminuyeron en bajas irradiancias. Notar que los grupos X_1 y X_2 corresponden al eje secundario, b) GFx M que aumentó en bajas irradiancias y disminuyó durante los períodos de limitación de luz.

Discusión

El desarrollo de un marco conceptual generalizado para la predicción de las condiciones y procesos que llevan a la dominancia de PFL o fitoplancton necesita una mayor comprensión (Scheffer *et al.*, 2003). Los resultados de este experimento proveen evidencia de varios mecanismos involucrados en el cambio entre ambos escenarios y del efecto de la cobertura de PFL sobre el fitoplancton. La persistencia de una cobertura de PFL estableció un ambiente estresante para el fitoplancton; las bajas intensidades de luz afectaron la fotosíntesis y el crecimiento algal, generando un desbalance entre la producción y la respiración. Asimismo, los sedimentos ricos en materia en

descomposición pueden haber contribuido aun más al consumo de oxígeno. La anoxia resultante promovió, a su vez, la liberación de fosfato y de amonio desde los sedimentos que, sumados a una demanda biológica disminuida por parte del fitoplancton (como consecuencia de la limitación de luz), determinaron el incremento de disponibilidad de nutrientes. Por el contrario, en ausencia de cobertura, la transmisión de la luz fue suficiente y la fotosíntesis compensó el consumo de oxígeno por respiración, generando situaciones óxicas en la columna de agua. La mayor disponibilidad de luz permitió un mayor crecimiento fitoplanctónico y toma de nutrientes; las concentraciones de fosfato permanecieron elevadas, sin embargo el crecimiento algal estuvo limitado por el

nitrógeno inorgánico. En el tratamiento con cobertura fluctuante, se observó una alteración entre estos patrones contrastantes de ausencia o presencia de PFL: las fases cubiertas/oscuras se tornaron rápidamente anóxicas, las concentraciones de fosfato y NID aumentaron y la biomasa algal disminuyó, mientras que en los períodos de aguas libres de cobertura/iluminadas el oxígeno aumentó y los nutrientes disminuyeron, mayoritariamente debido al incremento en la biomasa algal. Por lo tanto, la presencia o la ausencia de PFL establecen escenarios contrastantes de luz y nutrientes que determinan variaciones en las abundancias fitoplanctónicas en el eje horizontal de los ecosistemas someros.

Los diferentes escenarios generados por las PFL también moldearon la composición y la diversidad fitoplanctónica. La prolongada limitación de luz resultó en ensamblajes fitoplanctónicos con baja riqueza específica y de grupos funcionales debido a la exclusión de los taxa incapaces de tolerar las condiciones de cuasi oscuridad y bajo nitrógeno disuelto. Las pocas poblaciones capaces de tolerar estas condiciones estuvieron representadas en bajas densidades, similares a los valores encontrados por Izaguirre *et al.* (2004) cuando el humedal estaba densamente cubierto por PFL. La mayoría de estas especies pertenecieron a los grupos **X₁** (principalmente algas verdes unicelulares y pequeñas, sin motilidad) y a los grupos **S₂**, **M** o **Lo** (cianobacterias filamentosas o coloniales), ya sea en virtud de su alta relación S:V, y en las cianobacterias, la posesión de pigmentos accesorios o vesículas de gas (Reynolds *et al.*, 2002). Sin embargo, en ausencia de PFL, cuando la luz fue suficiente pero el nitrógeno limitante, las especies y GFx inicialmente encontrados en el ensamble coexistieron hasta el final del experimento, pero con baja equitatividad, evolucionando hacia la dominancia, en términos de biovolumen, del grupo **Y** (mixotróficos) o **K** (cianobacterias coloniales).

La interrupción cíclica en la disponibilidad de la luz, simulando una remoción periódica de PFL por acción del viento, fue suficiente para mantener la existencia de las especies encontradas en la laguna, sustentando abundancias bastante elevadas y equitativas. Las fluctuaciones en la cobertura de PFL produjeron oscilaciones concomitantes en la abundancia de varios GFx; su persistencia bajo condiciones oligofóticas proveyó un inóculo para su recuperación tan pronto como las condiciones lumínicas se tornaron favorables. En particular, esto fue evidente para el grupo más abundante, **X₂** (pequeños flagelados unicelulares), que exhibieron un mayor crecimiento durante las fases descubiertas, probablemente debido a su motilidad, baja máxima dimensión lineal y elevado S:V, permitiendo un mejor acceso a los recursos. Las condiciones fluctuantes también beneficiaron al grupo **C** que no fluctuó con el régimen lumínico oscilante y que estuvo representado principalmente por *Nitzschia* spp. que combinan bajas constantes de saturación media en curvas de crecimiento irradiancia (Richardson *et al.*, 1983) y presentan una eficiente utilización de nitrógeno en la oscuridad, comparada con los flagelados (Clark *et al.*, 2002). Estos resultados, a escala de mesocosmos, proveen apoyo a la teoría matemática de Litchman y Klausmeier (2001) de coexistencia estable entre especies fitoplanctónicas sometidas a fluctuaciones lentas de luz (>100 horas). La teoría de los disturbios intermedios (Connell, 1978) propone que los ambientes no perturbados mantienen comunidades menos diversas, mientras que la introducción de disturbios de frecuencias intermedias genera un aumento en la diversidad. Los resultados de este experimento muestran la mantención de una elevada diversidad funcional generada por la fluctuación en la cobertura de PFL. También concuerdan con observaciones a escala de laboratorio, donde la inducción de la fluctuación de la luz en escalas de pocos días produjo un incremento en la diversidad de un ensamble fitoplanctónico natural

(Flöder *et al.*, 2002; Flöder y Burns, 2005). Asimismo, tal como lo predice la teoría de Connell (1978), los resultados muestran una disminución en la diversidad en el escenario no disturbado por ausencia constante de PFL. Sin embargo, en el escenario permanentemente cubierto por PFL la diversidad fitoplanctónica fue elevada, incluso a pesar de la falta de disturbio y la marcada pérdida de especies (debido a una elevada equitatividad). Las respuestas contrastantes en estas situaciones no disturbadas probablemente radiquen en la naturaleza del recurso limitante: luz en el escenario dominado por PFL o nitrógeno en el escenario libre de PFL. La periódica oscuridad no afectó la dominancia fitoplanctónica.

Los resultados indican que en lagos someros con presencia de PFL, las fluctuaciones en la cobertura generan fuertes cambios ambientales, que afectan la ecología del fitoplancton y el funcionamiento del ecosistema. El comienzo de las condiciones de sombreado dispara una rápida respuesta en el ambiente químico (días), pero una respuesta biológica más lenta que solamente se evidencia luego de la persistencia (dos semanas) en las condiciones de restricción de luz, resultando en la reorganización de la comunidad y pérdida de especies y de biomasa. Por el contrario, la ausencia de PFL conlleva a una gran biomasa fitoplanctónica que causa limitación de nitrógeno inorgánico, produciendo ensamblajes fitoplanctónicos con composición contrastantes y menos diversos, aunque manteniendo una alta riqueza. El movimiento periódico de la carpeta de PFL establece un régimen lumínico fluctuante que rápidamente reajusta el ambiente fisicoquímico generando una variación en la jerarquía de los recursos limitantes para el fitoplancton. Sin embargo, la respuesta del

fitoplancton al régimen de fluctuación fue similar a la de los escenarios permanentemente libres de PFL, evidenciando una elevada abundancia y riqueza, e incluso mayores diversidades.

La información sobre los estados alternativos para lagunas someras (PFL *versus* plantas sumergidas y PFL *versus* fitoplancton) es escasa y los patrones observados no son siempre consistentes. Por ejemplo, Scheffer *et al.* (2003) aseguraron que, en un sistema dominado por PFL, una única cosecha de plantas puede conllevar a un cambio permanente hacia la dominancia de plantas sumergidas. Sin embargo, Bicudo *et al.* (2007) observaron que la cosecha de PFL llevó a una dominancia de fitoplancton. Los resultados de este estudio, sugieren que los desplazamientos frecuentes de las matas (por viento) puede generar una recurrente alternancia entre la dominancia por PFL o por fitoplancton. El resultado final, ya sea la dominancia de PFL o la dominancia fitoplanctónica dependerá de la frecuencia y duración de estos disturbios, que son críticos en la determinación de la biomasa y la diversidad fitoplanctónica.

Los resultados aquí presentados fueron publicados en:

O'Farrell I, de Tezanos Pinto, P., Rodríguez P., Chaparro G. y Pizarro H. 2008. Experimental evidence of the dynamic effect of free-floating plants on phytoplankton ecology, *Freshwater Biology*. Vol 54, 363-375. doi:10.1111/j.1365-2427.2008.02117.x

III. Efectos interactivos de la relación nitrógeno: fósforo (N:P) y la luz sobre la estructura del fitoplancton

Resumen

En condiciones controladas de laboratorio se examinaron los efectos interactivos de la luz y la relación N:P sobre las respuestas de la comunidad fitoplanctónica. El ensamble fitoplanctónico experimental incluyó representantes de varios grupos taxonómicos típicos de sistemas acuáticos someros. Se utilizaron dos niveles de luz (baja: 15 y alta: 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y dos niveles de la relación N:P, en moles (bajo: 4N:P y alto: 32N:P) en un diseño factorial y por duplicado. La interacción entre la luz y la relación N:P jugó un rol fundamental en la estructuración del fitoplancton, en la determinación de los patrones de dominancia fitoplanctónicas y en la dinámica de nutrientes, tanto disueltos como totales. En alta luz, las distintas relaciones de N:P resultaron en ensamblajes fitoplanctónicos contrastantes: en alta relación N:P dominaron las Chlorophyceae (*Chlamydomonas*, *Oocystis* y *Scenedesmus*), mientras que en baja relación N:P dominó *Anabaena* (cianobacteria fijadora de nitrógeno).

En baja luz, la fuerte restricción lumínica enmascaró el efecto de la relación N:P y ambos ensamblajes evolucionaron hacia la co-dominancia de *Anabaena* y *Monoraphidium* (Chlorophyceae). Asimismo, el comportamiento fijador de *Anabaena* se vio afectado por los efectos combinados de luz y de la relación N:P: fijó nitrógeno siempre que el nitrógeno inorgánico disuelto fue inferior a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. La fijación generó aumentos significativos en la relación nitrógeno total: fósforo total (NT:PT) solamente en los tratamientos de bajo suministro de la relación N:P. El incremento en NT:PT en alta luz fue dos veces mayor en alta que en baja luz.

Introducción

En lagunas vegetadas, la presencia de PFL y la periodicidad en su cobertura establecen escenarios contrastantes de luz y nutrientes en el eje horizontal del cuerpo de agua. En los capítulos anteriores se observó que la dominancia de PFL genera un ambiente de oscuridad casi completa, pero generalmente de elevadas concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y de fosfato. Por el contrario, la ausencia de PFL determina una buena iluminación en la columna de agua y generalmente una fuerte limitación por NID. Entre ambos escenarios existe un amplio gradiente en la disponibilidad de estos recursos.

Tilman (1982) mostró que tanto los valores absolutos de nitrógeno y fósforo, como su relación impactan sobre la biomasa y la composición del fitoplancton. La relación nitrógeno a fósforo (N:P, de aquí en adelante) es generalmente considerada un factor crucial en la determinación de las jerarquías competitivas por estos nutrientes, y consecuentemente, en la composición específica de los ensamblajes fitoplanctónicos (Tilman, 1982, Miller *et al.*, 2005). Sin embargo, ¿cuán universal es el rol de la relación N:P en la reorganización de las comunidades fitoplanctónicas? Schindler (1977) y Smith (1992) observaron que bajas relaciones de N:P favorecen el establecimiento de comunidades con dominancia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Sin embargo, otros estudios (Reynolds 1999, Downing *et al.* 2001) reportan una falta de influencia o una influencia escasa de las relaciones N:P en la abundancia de cianobacterias. Además de los relevamientos a campo, los estudios experimentales en ambientes controlados donde se haya investigado el efecto de la relación N:P sobre la estructura del

fitoplancton son escasos. Levine y Schindler (1999) manipularon la relación de nitrógeno total: fósforo total (NT:PT) utilizando mesocosmos, y encontraron que las cianobacterias fijadoras de nitrógeno se veían favorecidas en bajas relaciones de NT:PT, mientras que las cianobacterias no fijadoras de nitrógeno eran más abundantes en altas relaciones NT:PT. Actualmente, existe una gran necesidad de comprender la conexión entre bajas relaciones N:P y los crecimientos masivos de cianobacterias, ya que las relaciones N:P están declinando en muchos ecosistemas de agua dulce del mundo (Weyhenmeyer *et al.*, 2007, Noges *et al.*, 2008).

Los distintos niveles de luz pueden mediar los efectos de la relación N:P sobre los organismos y así afectar su éxito ecológico. Smith (1986) en un estudio de 22 lagos, observó que a un determinado nivel de luz, la disminución de la relación NT:PT favoreció la abundancia de cianobacterias, mientras que a un nivel fijo de NT:PT, la disminución de luz incrementó la abundancia relativa de cianobacterias.

Los mecanismos exactos por los cuales la luz y la relación N:P estructuran las comunidades fitoplanctónicas aun no están completamente comprendidos y se especula que el zooplancton también podría mediar éstos efectos (Smith 1986) haciendo aun más compleja la interpretación de las observaciones en la naturaleza. La manipulación experimental simultánea de los niveles de luz y la relación N:P en ausencia de posibles factores de confusión permitiría abordar con más exactitud los mecanismos por los cuales estos recursos estructuran al fitoplancton.

En este trabajo se examinó experimentalmente la interacción entre diferentes niveles de la relación N:P y los niveles de luz en la determinación de la composición de la comunidad fitoplanctónica sobre un ensamble fitoplanctónico experimental que incluyó representantes de varios grupos taxonómicos de fitoplancton de agua dulce.

Metodología

Se eligieron once especies de distintos grupos taxonómicos comunes en los lagos someros del mundo obtenidos de colecciones (*Planktothrix rubescens* UTCC 507, *Cryptomonas erosa* UTCC 446, *Plagioselmis nannoplanctica* UTCC 344, *Asterionella Formosa* UTCC 605, *Fragilaria crotonensis* UTEX LB FD 496, *Chlamydomonas reinhardtii* 2935) o aisladas del lago Michigan, USA (*Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Monoraphidium komarkovae*, *Oocystis* spp., y *Scenedesmus quadricauda*). Los ensambles iniciales se obtuvieron inoculando biovolumenes iguales de cada especie: $120.000 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$.

El diseño del experimento fue factorial, con dos niveles de luz (bajo: 15 y alto: 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y dos niveles de la relación N:P (baja relación N:P: 4 y alta relación N:P: 32, en moles), por duplicado. Las relaciones de N:P se obtuvieron cambiando el nivel de N (112 y 896 μgL^{-1} N) y manteniendo el fosfato constante (70 μgL^{-1} P); los demás elementos fueron los del medio nutritivo Guillard (1975). Para prevenir la limitación de carbono o hierro en los cultivos (debido a las altas demandas de hierro para la fijación del N), se agregaron de manera estéril HCO_3^- extra (2 veces la concentración estándar) y metales traza extra (1,5 veces la concentración estándar) luego de auto clavar el medio nutritivo. Para obtener el nivel de luz baja se utilizaron mallas oscuras neutras mientras que en tratamiento de alta luz no se colocaron mallas.

Se utilizaron microcosmos de 125 ml, con 100 ml de medio nutritivo en un régimen semi-continuo. Diariamente se removieron 18 ml (dilución de 0,2 d^{-1}). Los microcosmos fueron colocados al azar en una cámara de cultivo a 20°C con un fotoperíodo 16:8 luz: oscuridad, y diariamente se homogenizaron y redistribuyeron al azar. El experimento comenzó el 26 de Agosto de 2006, con una

duración de 50 días. Esta duración permite suficiente tiempo para la ocurrencia de las interacciones competitivas (Flöder y Burns 2005).

Las muestras para la determinación de los nutrientes disueltos fueron tomadas una vez por semana, y para la cuantificación algal dos veces por semana. Las concentraciones de nutrientes totales (NT y PT) se midieron al final del experimento. El fosfato y el PT fueron medidos utilizando el método estándar de molibdato en un analizador de nutrientes Lachat (Hach Instruments, USA). El nitrato se midió siguiendo a Crumpton *et al.* (1992) y el NT según Bachmann y Canfield (1996). Se estimó la cantidad de N fijado en cada tratamiento sustrayendo el N aportado en el medio (de acuerdo con cada tratamiento) al NT ($NT - N_{\text{medio}} = N \text{ fijado}$) ya que en todo cultivo semi continuo en equilibrio la fracción total de los nutrientes (NT y PT) debe ser igual a la fracción disuelta provista. Este es un estimador conservativo, ya que es posible que una parte del N fijado fuese lavado de los microcosmos con las diluciones diarias. La luz fue medida utilizando un sensor Biosphaerical quantum en agua destilada previo al inicio del experimento y en los cultivos al final del experimento.

Las muestras fitoplanctónicas fueron fijadas con solución de Lugol y contadas microscópicamente utilizando una cámara de recuento Palmer-Maloney en un microscopio óptico Nikon Eclipse 80i (magnificación 400X y 250X, dependiendo de los taxa). La unidad de recuento fue el individuo (célula, colonia, cenobio o filamento); se contaron por lo menos 80 campos para las especies dominantes y la totalidad de la cámara para las especies raras. Las especies coloniales (*Microcystis* sp. y *Asterionella* sp.) y cenobiales (*Scenedesmus* sp.) se encontraron principalmente como células individuales (>80%), mientras que *Anabaena* sp. y *Planktothrix* sp. permanecieron como filamentos. Se cuantificó la respuesta del ensamble fitoplanctónico al efecto

combinado de luz y relación de N:P en términos de biovolumen, composición específica, riqueza y diversidad. Se calculó el biovolumen según la Metodología General (inciso c). La riqueza se calculó como número de especies, y la diversidad según Shannon y Weaver (1949). Los ensambles no fueron axénicos, sin embargo las observaciones microscópicas regulares revelaron que las bacterias heterotróficas permanecieron por debajo del 1% de la biomasa total.

Los efectos del nivel de luz, de la relación N:P y su interacción sobre las variables de biovolumen total, abundancias relativas de los distintos grupos taxonómicos y de diversidad se analizaron utilizando un ANOVA de dos factores, a tiempo final. Se aplicó una transformación logarítmica para la diversidad, y las abundancias relativas fueron transformadas usando el logaritmo natural ($x + 0.000001$). Se realizaron comparaciones post hoc Tukey para evaluar la significancia de las diferencias entre tratamientos.

Resultados

Fisicoquímicos

La luz y los nutrientes disminuyeron a lo largo del experimento. Los valores medios de irradiancia, al final del experimento, en el tratamiento con baja irradiancia disminuyeron desde $15 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ a $9,5 \pm 0,7$ en baja relación N:P y a $8,6 \pm 0,1 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en alta relación N:P. Asimismo, en alta luz, los valores iniciales de $100 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ disminuyeron a $78,5 \pm 1,3$ en baja relación N:P y a $74 \pm 1,0 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en alta relación N:P.

Los valores iniciales de fosfato reflejaron las concentraciones suministradas en el medio nutritivo (Fig. 1-III), mientras que los valores iniciales de nitrato fueron sustancialmente mayores (Fig. 1-III), lo que generó relaciones N:P iniciales mayores que las ensayadas. Esto se debió a que los monocultivos utilizados en la inoculación se encontraban limitados por fosfato, pero eran

ricos en nitrato. Esta divergencia se corrigió al cabo de cinco días del régimen semi-continuo (remoción diaria de 18 ml en 100 ml de medio de cultivo). Dentro de la primera semana, los nutrientes disminuyeron marcadamente, aunque de manera diferente

dependiendo del nivel lumínico (Fig. 1a-b-III). En alta luz, el nitrato y el fosfato disminuyeron alcanzando valores considerados limitantes para el crecimiento

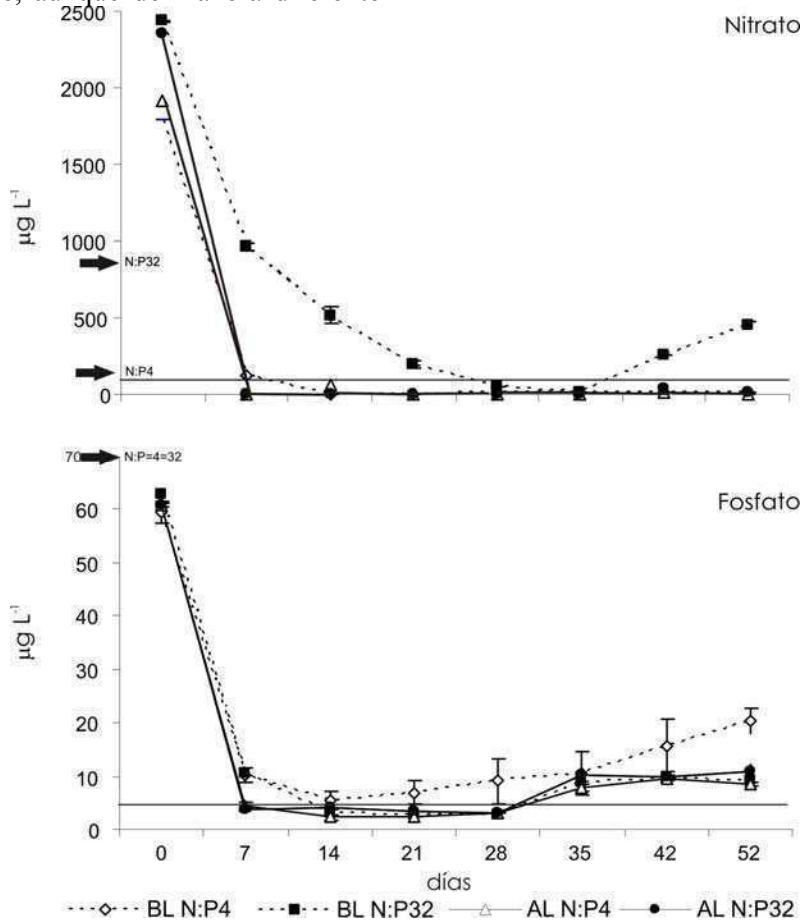


Fig. 1-III Evolución temporal del nitrato y fosfato en los tratamientos. Las flechas indican las concentraciones de N y de P suministradas en los tratamientos. Notar que hay dos niveles de N y un sólo nivel de fosfato. La línea horizontal muestra los niveles umbrales de limitación de N y de P, respectivamente. Tratamientos: BL N:P 4=Baja luz y baja relación N:P; BL N:P32=Baja luz y alta relación N:P, AL N:P4=Alta luz y baja relación N:P y AL N:P32=Alta luz y alta relación N:P. Las barras de error indican desvío estándar (n=2).

fitoplanctónico ($100 \mu\text{g L}^{-1} \text{ N}$ y $3,5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ P}$, Reynolds, 2006). Por el contrario, en baja luz el consumo de nitrógeno fue despreciable ya que las concentraciones registradas fueron prácticamente las aportadas en cada tratamiento (Fig. 1-III). Si bien el fosfato fue consumido, éste no alcanzó concentraciones potencialmente limitantes para el crecimiento algal (Fig. 1-

III). Luego de la primera semana, el nitrato se correspondió con valores considerados limitantes para el crecimiento fitoplanctónico en los tratamientos con alta luz y en el tratamiento baja luz y baja relación de N:P. En el tratamiento de baja luz y alta relación N:P, los niveles de nitrato estuvieron casi siempre por encima de los valores considerados limitantes para el

crecimiento algal; los valores finales ($448 \mu\text{g L}^{-1}$) fueron significativamente mayores que en los demás tratamientos ($p < 0,05$) (Fig. 1-III). La concentración del fosfato, a partir del día 7 y hasta el día 28, fue inferior a los valores considerados limitantes para el crecimiento algal en casi todos los tratamientos (rango: $2,2$ y $4 \mu\text{g L}^{-1}$), salvo en baja luz y baja relación N:P (rango: $5,5$ y $9 \mu\text{g L}^{-1}$); a partir del día 28 en adelante se tornó suficiente en todos los tratamientos. En baja luz-baja relación N:P, las concentraciones finales ($20,3 \mu\text{g L}^{-1}$) fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) que en los demás tratamientos (rango: $8,5$ y $10,8 \mu\text{g L}^{-1}$). En base a la dinámica de los nutrientes, se observa que hacia el final del experimento, ambos ensambles en alta luz, y el ensamble en baja luz y baja relación N:P se encontraban limitados por nitrógeno, pero no por fósforo. En el ensamble cultivado en baja luz-alta N:P, los nutrientes no limitaban el crecimiento algal. Al final del experimento, la fracción total del fósforo

(PT) fue similar a la fracción disuelta suministrada (aproximadamente $70 \mu\text{g L}^{-1}$). Sin embargo, la fracción total del nitrógeno (NT) se incrementó en los tratamientos donde el nitrato fue potencialmente limitante: 3 veces en baja luz-bajo N:P, 1,4 veces en alta luz-alto N:P y 6 veces en alta luz-bajo N:P. El incremento fue más elevado a menor relación N:P y mayor luz (Fig. 2a-III). El aumento en NT implicó un cambio significativo en la relación NT:PT en los tratamientos con bajo N:P. El incremento en NT:PT en alta luz (de 4 N:P a $20,9 \pm 1,1 \text{ N:P}$) fue más del doble que en baja luz (de 4 N:P a $8,8 \pm 0,8 \text{ N:P}$). El incremento en la abundancia de heterocistes al final del experimento concordó bien con la cantidad de nitrógeno fijado (Fig. 2b-III) y sugiere que la clave disparadora del desarrollo de heterocistes es la baja disponibilidad de nitrógeno inorgánico (Fig. 1a-III).

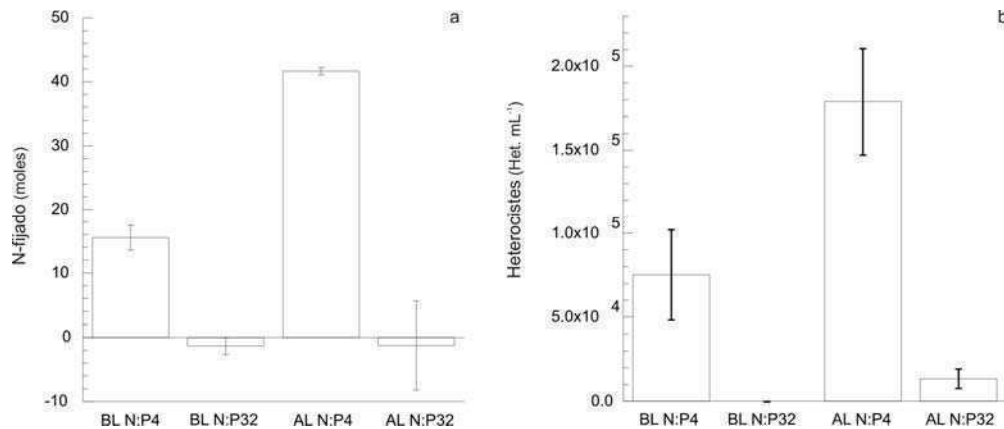


Fig. 2-III. a) Nitrógeno fijado y b) heterocistes por mililitro, por tratamiento, a tiempo final (día=50). Tratamientos: BL N:P4=Baja luz y baja relación N:P; BL N:P32=Baja luz y alta relación N:P, AL N:P4=Alta luz y baja relación N:P y AL N:P32=Alta luz y alta relación N:P. Las barras de error indican desvió estándar ($n=2$).

Fitoplancton

Los distintos niveles de la relación N:P y de luz afectaron la respuesta fitoplanctónica en términos de abundancia, biovolumen,

composición, las abundancias relativas de las especies, diversidad y el comportamiento fisiológico de la fijación de nitrógeno (Tabla 1-III).

El biovolumen total (Fig. 3b-III) a tiempo final aumentó significativamente con el aumento de la relación N:P y los niveles de

luz sin embargo, el efecto de la interacción de la luz y N:P sobre la biomasa no fue significativo (Tabla 1-III, Fig. 3-III)

	P-valor Modelo	R ² -valor Modelo	Nivel N:P	Nivel luz	N:P*luz
Biovolumen Total	0.01	0.93	0.01	0.005	0.33
Diversidad	0.0062	0.94	0.055	0.02	0.0028
N fijado	0.0032	0.96	0.0012	0.0023	0.024
Biomasa absoluta de CB-fij-N	0.01	0.92	0.047	0.13	0.005
Biomasa Chlorophyceae	0.001	0.97	0.001	0.003	0.004
Biomasa de cianobacterias no-fij- N	0.0004	0.99	0.0007	0.0005	0.0009
Abundancia relativa de cianobacterias	0.0014	0.97	0.0024	0.0029	0.002
Abundancia relativa de CB-fij-N	0.0023	0.96	0.0039	0.0047	0.003
Abundancia relativa de cianobacterias no- fij- N	0.0036	0.96	0.0069	0.0053	0.005
Abundancia relativa de Chlorophyceae	0.0049	0.95	0.012	0.2	0.002
Abundancia relativa de Bacillariophyceae	0.61	0.34	0.87	0.87	0.23
Abundancia relativa de Cryptophyceae	0.79	0.20	0.69	0.51	0.60

Tabla 1-III. Resultados del ANOVA de dos factores a tiempo final (día=50) para los efectos luz, relación N:P y su interacción sobre las variables de la comunidad. Se dan los valores de P y de R²; los valores significativos están en negritas.

La composición y las proporciones relativas de los ensamblajes fitoplanctónicos evolucionaron de forma diferente dependiendo de los niveles de luz y de la relación N:P. Condiciones de alta luz y baja relación de N:P resultaron en la dominancia de *Anabaena* (cianobacteria fijadora de N), que alcanzó densidades de $1,3 \times 10^4 \pm 3,1 \times 10^3$ individuos mL⁻¹, representando el 93% de la biomasa total (Fig. 3-III). *Anabaena* se tornó dominante luego de 25 días, al desplazar a las Chlorophyceae que previamente dominaban el ensamble (Fig.

4a-III). En alta luz y altas relaciones N:P el ensamble rápidamente evolucionó hacia la dominancia de *Chlamydomonas*, *Oocystis* y *Scenedesmus* (Fig. 4b-III), representando el 98 % de la biomasa total (Fig. 3-III), mientras que *Anabaena* fue casi excluida (1,4% de la biomasa total) (Fig. 4a-b-III). En los demás escenarios, las especies *Chlamydomonas*, *Oocystis* y *Scenedesmus* tuvieron un desempeño pobre (5-12% de la biomasa total) (Fig. 4a-b-III). En baja luz los ensamblajes evolucionaron hacia la dominancia de *Anabaena* y sub-

dominancia de *Monoraphidium* (Fig. 4c-d-III). *Anabaena* incrementó sus abundancias relativas luego de la 25 días en alta relación

N:P y de 32 días en baja relación N:P (Fig. 4c-d-III), alcanzando una biomasa final del 73 y el 84%, respectivamente.

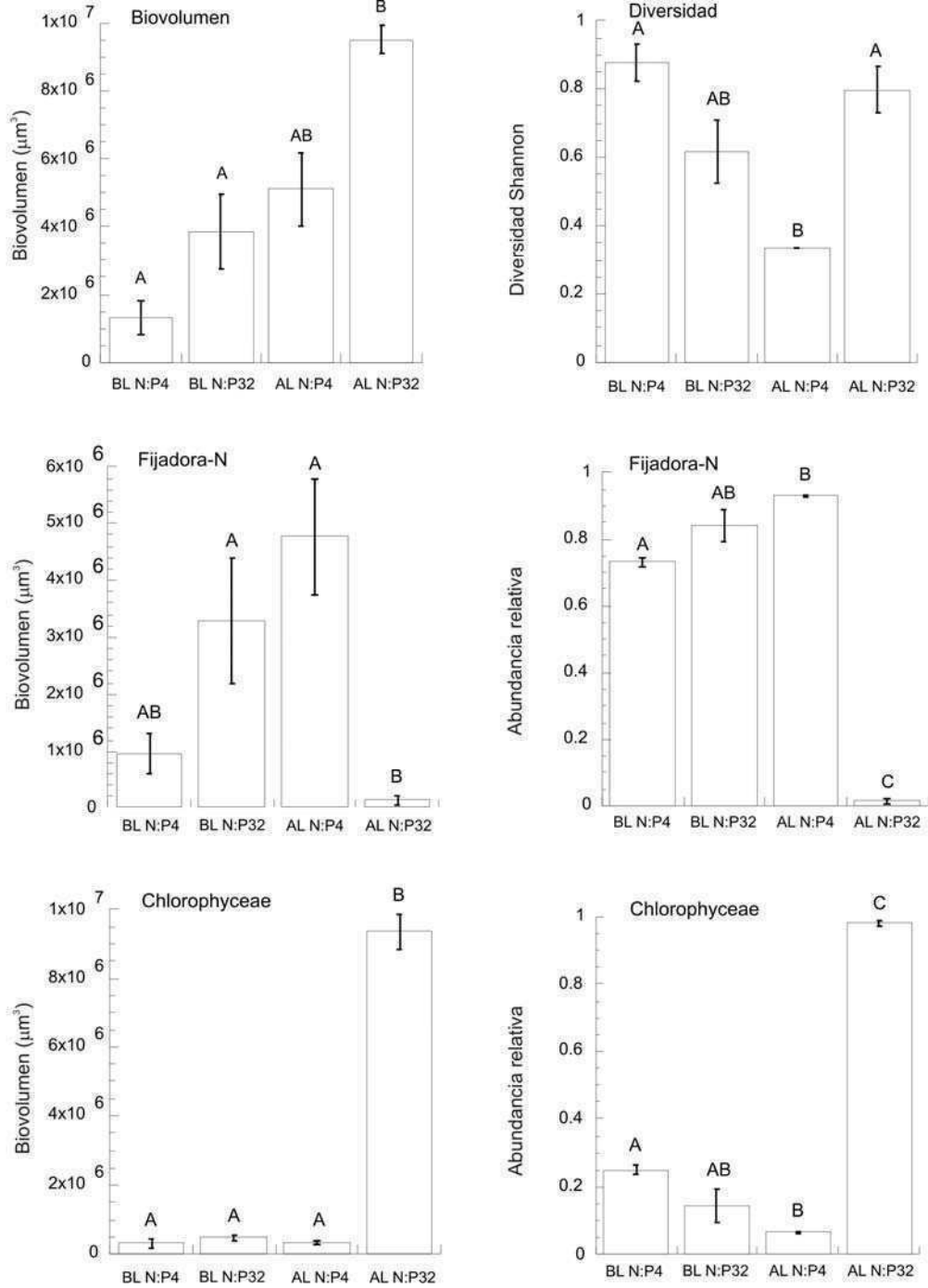


Fig. 3-III. Comparaciones Tukey post hoc para biovolumen, diversidad, biovolumen y abundancia relativa de la fijadora de nitrógeno, y biovolumen y abundancia relativa de Chlorophyceae. BL N:P4=Baja luz y baja relación N:P; BL N:P32=Baja luz y alta relación N:P, AL N:P4=Alta luz y baja relación N:P y AL N:P32=Alta luz y alta relación N:P. Las barras de error indican desvió estándar (n=2)

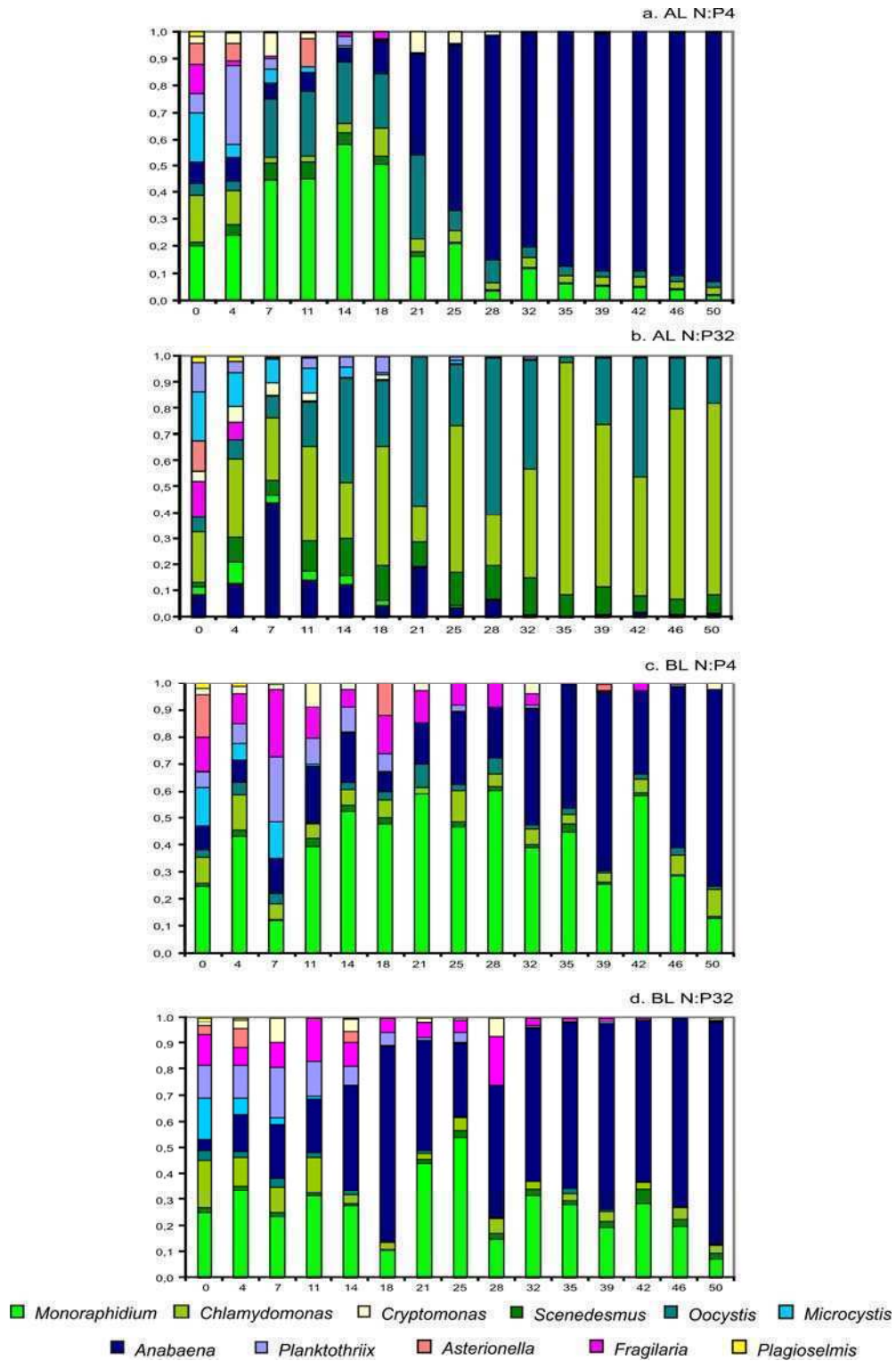


Fig. 4-III. Evolución temporal del biovolumen relativo de los ensamblajes fitoplanctónicos en: a) AL N:P 4: alta luz-baja relación N:P, b) AL N:P32: alta luz-alta relación N:P, c) BL N:P4: baja luz-baja relación N:P y d) BL N:P32: baja luz-alta relación N:P.

Monoraphidium tuvo un buen desempeño en ambos tratamientos de baja luz, y en alta luz y baja relación N:P, pero un pobre desempeño en alta luz y alto N:P (Fig. 4a-d-III). *Fragilaria* fue completamente excluida de los ensambles en alta luz luego de 21 días, mientras que en bajas irradiancias permaneció en los ensambles por más de 42 días (Fig. 4a-d-III). *Plagioselmis* y *Asterionella* fueron excluidas rápidamente de todos los ensambles mientras que *Cryptomonas*, *Microcystis* y *Planktothrix* persistieron en casi todos los tratamientos, pero en valores muy bajos (Fig. 4a-d-III). La riqueza específica disminuyó de 11 a 5 taxones en todos los tratamientos. La mayor pérdida ocurrió en la primera mitad del experimento debido a la exclusión de los competidores débiles. Al final del experimento, la diversidad no se vio afectada por la relación N:P, pero sí por la luz y por la interacción (Tabla 1-III, Fig. 3-III), siendo menor en alta luz y baja relación N:P.

Respuestas fisiológicas de Anabaena

Los diferentes niveles de luz y de la relación N:P afectaron el comportamiento fijador de *Anabaena*. En baja luz y altos suministros de la relación N:P, *Anabaena* no desarrolló heterocistes ya que las concentraciones de nitrato fueron siempre mayores a $> 100 \mu\text{g L}^{-1}$ y no hubo incremento en NT. En ambos escenarios de alta luz y en el tratamiento baja luz-bajo N:P, donde las concentraciones de nitrato fueron inferiores a $100 \mu\text{g L}^{-1}$, *Anabaena* desarrolló heterocistes, comportándose como fijadora. Sin embargo, como se mencionara previamente, su efecto sobre el NT solamente fue significativo en los tratamientos suministrados con medio de cultivo con baja relación N:P. La densidad de heterocistes reflejó bien los distintos comportamientos de *Anabaena* (Fig. 2b-III).

Discusión

Luz y nutrientes

La luz y la relación N:P jugaron un papel preponderante en la dinámica de los

nutrientes. En escenarios con alta luz, los nutrientes fueron consumidos en su totalidad, debido a un activo consumo biológico y una alta biomasa fitoplanctónica. Por el contrario, en los escenarios con baja luz existió un retardo inicial en la toma de nutrientes, probablemente debido a los costos de mantener el consumo de nutrientes en la oscuridad. Litchman *et al.* (2004) postularon que cuando los costos de consumo son elevados y las algas experimentan periodos cortos en la oscuridad, la estrategia óptima sería la de no consumir nutrientes. Sin embargo, cuando la oscuridad es prolongada la estrategia óptima sería mantener la toma de nutrientes a pesar de los costos (Litchman *op. cit.*). En este experimento, la toma de nutrientes en oscuridad se evidenció luego de la primera semana en oscuridad. Sin embargo, debido a la fuerte limitación por luz, el consumo de nutrientes fue incompleto y las disponibilidades de nutrientes fueron mayores que las encontradas en alta disponibilidad de luz. En el ensamble con escasa luz, pero elevada relación N:P las concentraciones finales de los nutrientes fueron suficientes para el crecimiento fitoplanctónico, indicando que recurso regulador de las biomásas fitoplanctónicas máximas fue la luz. Estos resultados coinciden con lo observado en el experimento a escala de mesocosmos en el Capítulo I en situaciones de cobertura (PFL-dominancia, PFL-malla y Laguna). Sin embargo, en los ensambles crecidos en baja luz y baja relación N:P, las concentraciones de nitrógeno disuelto fueron limitantes, sugiriendo limitación tanto por luz como por nitrógeno. Esto se observó en el Capítulo II, en el escenario de PFL-dominancia, donde la oscuridad fue persistente (30 días) y los niveles de NID hacia el final del experimento estuvieron cercanos a los valores reconocidos como limitantes para el crecimiento algal. Los ensambles fitoplanctónicos sometidos a una irradiancia elevada al final del experimento registraron concentraciones de fosfato suficientes para

el crecimiento fitoplanctónico evidenciando que el nitrógeno era el recurso limitante, tal como recurrentemente ocurre en aguas sin PFL en el humedal (Unrein, 2001) y a escala de mesocosmos (Capítulo I y II en los escenarios de en PFL-ausencia).

Fitoplancton

Los diferentes combinaciones de luz y de N:P establecieron diferencias en las jerarquías de las fuerzas modeladoras de la estructura y composición de la comunidad fitoplanctónica. La respuesta del fitoplancton sujeta a un nivel alto de luz estuvo netamente regulada por el suministro de la relación N:P, mientras que en baja luz el estrés generado por la escasa irradiancia enmascaró el efecto de la relación N:P. Por otro lado, dentro de un alto suministro de N:P, la luz tuvo un gran efecto modelador mientras que una baja relación N:P el efecto de la luz fue menor.

En altas irradiancias y elevada relación N:P el ensamble evolucionó rápidamente hacia una dominancia equitativa de varias Chlorophyceae (*Chlamydomonas*, *Oocystis* y *Scenedesmus*) que alcanzaron biomásas muy altas; su desempeño en las demás situaciones fue pobre. Esto concuerda con las preferencias eco-fisiológicas de las Chlorophyceae (Rhee y Gotham 1980, Richardson *et al.*, 1983, Litchman y Klausmeier, 2008) que tienden a tener mayores requerimientos de luz y de nitrógeno. También coincide con los patrones de dominancia observados en experimentos ecosistémicos en lagos fertilizados con altas relaciones N:P (Schindler, 1977).

En el escenario de alta luz y baja relación N:P el ensamble evolucionó hacia la dominancia de *Anabaena* que alcanzó densidades comparables a floraciones de cianobacterias fijadoras de nitrógeno en sistemas someros (Reynolds, 1984). La reorganización de la comunidad, desde dominancia de Chlorophyceae hasta dominancia de *Anabaena* sólo se evidenció luego de varias semanas de persistente

suministro de agua con baja relación N:P, y coincidió con el aumento de la disponibilidad de fosfato. Esto concuerda con las observaciones de Sunda *et al.* (2006) acerca del establecimiento y la persistencia de floraciones algales disruptivas del ecosistema.

En situaciones de escasa luz, los ensambles en alta y baja relación N:P, fueron poco abundantes y evolucionaron hacia la dominancia de *Anabaena* y co-dominancia de *Monoraphidium*. Sin embargo, los distintos niveles de la relación N:P dispararon comportamientos distintos de fijación del nitrógeno en *Anabaena* (ver sección *Anabaena*). El mejor desempeño de *Monoraphidium* en estos tratamientos, en comparación al éxito de las otras Chlorophyceae en alta luz, sugiere que esta especie tiene menores requerimientos lumínicos y de nitrógeno, aunque mayores requerimientos fósforo. De manera similar, Passarge *et al.* (2006) observaron que ante altas irradiancias y limitación de fosfato *Monoraphidium* era excluida competitivamente, mientras que en bajas irradiancias y suficiencia de fosfato alcanzaba altas biomásas y experimentaba menores tasas de exclusión. Además, y tal como se evidenció en el Capítulo I, la morfología atenuada constituye una buena antena de luz, optimizando los bajos niveles de irradiancia disponibles. Asimismo, en el Capítulo II, el grupo funcional prevalente en el escenario de persistente baja luz y niveles de nitrógeno cercanos a la limitación, fue el **X₁**, del que *Monoraphidium* fue el género prevalente.

Los resultados obtenidos en alta luz en este experimento son similares a los obtenidos por Schindler (1977) quien observó que al fertilizar completamente un lago con altas relaciones N:P, la comunidad fitoplanctónica se tornaba dominada por Chlorophyceae, mientras que si enriquecía con bajas relaciones de N:P observaba crecimientos masivos de cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Asimismo, las evidencias experimentales a campo

utilizando mesocosmos del Capítulo I apoyan los resultados obtenidos para un alto nivel fijo de N:P y distintos niveles de luz. En el experimento a campo, la densa cobertura de PFL estableció un ambiente fuertemente limitado por luz, pero rico en nutrientes y con dominancia de cianobacterias filamentosas no fijadoras de nitrógeno. Esto es similar a lo registrado en el tratamiento de baja luz y alta relación N:P donde *Anabaena* desempeñó un rol ecológico análogo al ensamble S₁-S, conformado por cianobacterias filamentosas no fijadoras de nitrógeno. Al remover la cobertura de PFL, mejorando así la condición de luz y manteniendo el mismo nivel N:P, el ensamble evolucionó rápidamente hacia la dominancia de pequeñas Chlorophyceae que previamente se encontraban en bajas biomásas; los nutrientes disueltos también disminuyeron marcadamente, de manera similar a lo registrado en el tratamiento de alta luz y alta relación N:P.

Respuestas eco-fisiológicas de Anabaena flos-aquae

La identidad de la especie dominante está asociada a las condiciones ambientales prevalentes y a sus rasgos ecológicos, y éstos a su vez pueden afectar al funcionamiento del ecosistema. Tal es el caso de *Anabaena* y su fijación facultativa del nitrógeno. *Anabaena* fijó nitrógeno en respuesta a la baja disponibilidad de nitrógeno inorgánico disuelto. En particular, cuando los cultivos fueron suministrados con una relación N:P baja, la fijación del nitrógeno atmosférico compensó los déficits de nitrógeno, consecuentemente ocasionando incrementos significativos en los valores de NT:PT suministrados en el medio nutritivo. Esto muestra que la habilidad de fijar N atmosférico confiere una ventaja adaptativa significativa en situaciones de alta luz. Además, en alta irradiancia, el valor de NT:PT alcanzado fue mucho mayor que en baja luz, probablemente debido a que las tasas de

fijación del nitrógeno disminuyen al disminuir los niveles de luz (Agawin *et al.*, 2007). En la naturaleza, la fijación del nitrógeno también puede verse comprometida por las temperaturas, la disponibilidad de macro (fosfato) y micronutrientes (hierro, molibdeno) y por la estructura física de la columna de agua (Howarth *et al.*, 1988, Vitousek *et al.*, 2002). Todos estos factores pueden generar nuevos valores críticos de N:P para la dominancia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno, tal como lo observado en este experimento en ambientes lumínicos contrastantes para una misma relación de N:P.

El elevado valor de NT:PT (21) obtenido en alta luz y baja relación N:P probablemente esté próximo al balance de nutrientes de la fijadora de nitrógeno, ya que las condiciones para la fijación fueron favorables. Smith (1983) demostró que las cianobacterias dominan en cuerpos de agua naturales cuando la relación N:P no excedía 29 en peso. Los resultados del experimento apoyan las observaciones de Smith (1983) en alta luz. Además, en alta luz-alta relación N:P (32), *Anabaena* quedó cuasi excluida del ensamble, incluso a pesar de registrarse fijación de nitrógeno como respuesta al bajo NID. Esto muestra que, en altas irradiancias, la relación entre las fracciones totales NT:PT, y no las concentraciones absolutas, juega un rol mayor en la estructuración de la comunidad fitoplanctónica. Es posible que cuando se supera el balance nutritivo, al incrementarse el NT, las especies no fijadoras de nitrógeno adquieran mayor competitividad y representatividad en los ensambles. El efecto de las cianobacterias fijadoras de nitrógeno en el funcionamiento del ecosistema (balance de nitrógeno, floraciones) sólo sería relevante cuando las biomásas de las fijadoras de nitrógeno fueran elevadas y/o cuando la relación N:P se encontrase por debajo o cercano al balance nutritivo de este grupo.

En baja luz *Anabaena* fue abundante tanto en altos como en bajos niveles de la relación

N:P, incluso aunque fijó nitrógeno en el escenario con bajos niveles de la relación N:P. En estos escenarios de bajas irradiancias, es posible que otras ventajas adaptativas tales como los bajos requerimientos lumínicos y su control facultativo de la flotabilidad (Reynolds, 2006) jueguen un rol más relevante que la fijación del nitrógeno.

Los resultados de este experimento evidencian la importancia que tiene incorporar los niveles de luz para predecir el

efecto de la relación N:P sobre la abundancia de cianobacterias y la fijación de nitrógeno (Smith, 1986). La dependencia de los efectos de la relación N:P con la luz pueden aumentar la dispersión observacional de abundancia de cianobacterias y la relación N:P (Downing *et al.*, 2001). Consecuentemente, los futuros análisis de los efectos de N:P sobre la estructura y composición del fitoplancton deben incluir explícitamente el efecto de la luz.

Capítulo IV. Respuestas eco-fisiológicas de *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena minderi*, *Anabaena torques-reginae* y *Monoraphidium komarkovae* a diferentes ambientes lumínicos

Resumen

Se analizaron las respuestas eco-fisiológicas de tres especies de cianobacterias fijadoras de nitrógeno (CB-fij-N: *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena minderi* y *Anabaena torques-reginae*) y de una Chlorophyceae (*Monoraphidium komarkovae*) a distintos ambientes lumínicos, a saturación de nutrientes. Las CB-fij-N fueron aisladas de una floración en la zona litoral de la laguna Grande del humedal de Otamendi y se prepararon monocultivos. Se estudiaron las condiciones lumínicas óptimas de crecimiento; se intentó relacionar sus rasgos lumínicos con su desempeño en el ecosistema. Se realizaron curvas de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$) obteniéndose los parámetros μ_{\max} , α e I_k que caracterizan la utilización de la luz. La especie con mayor tasa de crecimiento máxima (μ_{\max}) fue *M. komarkovae* ($4,7 \text{ d}^{-1}$), seguida por *Aph. gracile* ($1,00 \text{ d}^{-1}$), *Ana. minderi* ($0,71 \text{ d}^{-1}$) y *Ana. torques-reginae* ($0,32 \text{ d}^{-1}$), sugiriendo que en condiciones de luz y nutrientes elevados, *Monoraphidium* debería desplazar a las cianobacterias, tal como frecuentemente ocurre en el humedal de Otamendi. El umbral de saturación del crecimiento (I_k) fue menor en las CB-fij-N que en *Monoraphidium* y lo inverso ocurrió generalmente para α (la pendiente inicial de la curva de crecimiento-irradiancia), indicando una mejor competitividad de las CB-fij-N en irradiancias bajas y nutrientes suficientes. Asimismo, el espectro de absorción de los pigmentos reveló que las CB-fij-N tienen un mayor coeficiente de atenuación que *Monoraphidium*. Sin embargo, la persistente cuasi oscuridad generó espectros de absorción anómalos en todas las especies, sugiriendo que estos escenarios generan la degradación de la

clorofila *a* y de los pigmentos accesorios. Lo mismo ocurrió con las acinetas de las CB-fij-N. En *Ana. minderi* las acinetas fueron raramente observadas, posiblemente indicando un pool de reclutamiento limitado en el ecosistema. Las CB-fij-N evidenciaron picos de ficocianina (PC); observándose plasticidad en la absorbancia del pigmento en *Ana. minderi* y *Ana. torques-reginae* dependiendo de las irradiancias en las que fueron cultivados.

Introducción

Los niveles de luz que recibe el fitoplancton pueden oscilar entre la completa oscuridad en la zona afótica o debajo de las plantas flotantes libres (PFL), hasta irradiancias superiores a $1500 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en la superficie o en aguas libres de PFL. Además de la cantidad de luz, la calidad de la luz disponible en el medio también afecta las respuestas eco-fisiológicas del fitoplancton. Las longitudes de onda en la biosfera utilizadas para la fotosíntesis se encuentran en la banda de 200 a 1200 nm. Sin embargo, la mayoría de los pigmentos utilizados por las algas tienen máximas absorbancias en el rango de la radiación fotosintéticamente activa, de 400 a 700 nm. El pigmento fotosintético principal es la clorofila *a*, que presenta dos picos de absorción en las bandas de 420 y 663 nm. Los pigmentos accesorios incluyen las distintas configuraciones de la clorofila (*b*, *c* y *d*), las ficobilinas y los carotenoides. Los pigmentos accesorios absorben energía en longitudes de onda complementarias a la clorofila, y transfieren eficientemente la energía cosechada a la clorofila en el fotosistema II (Cohen-Bazire y Bryant, 1982), aumentando así el rango de su

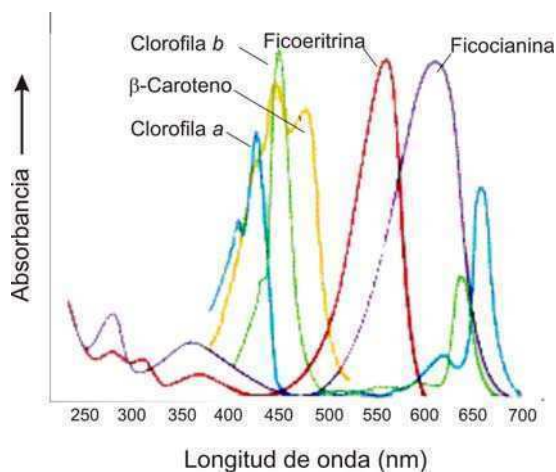


Fig. 1-IV. Espectro de absorción de la clorofila (*a* y *b*), ficobiliproteínas (ficocianina y ficoeritrina) y β caroteno.

espectro de absorción (Falkowski y Raven, 2007, Kirk, 1994) (Fig. 1-IV). Un rasgo importante que caracteriza la utilización de la luz por parte del fitoplancton es el coeficiente específico de atenuación de la luz, que determina cuánta luz se atenúa por unidad de biomasa (Huisman y Weissing, 1994, Kirk, 1994). La posesión de pigmentos accesorios, además de proveer una ventaja adaptativa en el aprovechamiento de las diversas longitudes de onda, también aumenta el coeficiente de absorción por unidad de biomasa. Un alto coeficiente específico de atenuación de la luz permite consumir una fracción mayor de la luz, aunque esto implica costos en inversión de pigmentos (Litchman y Klausmeier, 2008). Las especies y grupos fitoplanctónicos varían no solamente en los valores absolutos del coeficiente de absorción, sino también en el grado de plasticidad (Agawin *et al.*, 2007). Así, según la disponibilidad de diferentes longitudes de onda, algunas especies fitoplanctónicas pueden regular qué porción del espectro de luz utilizan, a través de ajustes en la composición de sus pigmentos accesorios (Stomp *et al.*, 2004, Ting *et al.*, 2002). Por ejemplo, algunas cianobacterias son capaces de realizar adaptación cromática: cuando son expuestas a luz roja aumentan la síntesis

de ficocianina (pigmento azulado), mientras que cuando son expuestas a luz verde incrementan la síntesis de ficoeritrina (pigmento rojizo) (Diakoff y Scehbe, 1973). La capacidad de realizar los cambios en la pigmentación, favorece el establecimiento de especies fitoplanctónicas con bajo valor crítico de luz (Flöder *et al.*, 2002). La especie capaz de crecer a menores intensidades de luz desplazará competitivamente a las especies con mayor requerimiento lumínico (Huisman y Weissing, 1994).

Especies muy relacionadas pueden diferir no solamente en sus requerimientos de intensidad de luz (Rocap *et al.*, 2003, Ting *et al.*, 2002) sino también en su composición de pigmentos y consecuentemente, en su habilidad de utilizar distintas partes del espectro visible (Stomp *et al.*, 2004, Ting *et al.*, 2002), afectando sus relaciones entre la irradiancia y la fotosíntesis y entre la irradiancia y el crecimiento. Las curvas de fotosíntesis irradiancia ($P-I$) pueden considerarse análogas a las curvas de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$) cuando se asume una relación constante de carbono por célula, aunque otros modelos más complejos incluyen una tasa variable de carbono por célula (Zonneveld, 1997). En las curvas $P-I$ la fotosíntesis se incrementa linealmente con la irradiancia con una pendiente (α) hasta alcanzar la irradiancia óptima (I_{opt}) donde ocurre la saturación en la máxima tasa de fotosíntesis (P_{max}) (Falkowski y Raven, 2007, Kirk, 1994) en altas irradiancias, pudiendo o no haber fotoinhibición. Los parámetros α , I_{opt} y P_{max} son considerados rasgos ecológicos para la adquisición de luz. Las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (CB-fij-N) poseen varios rasgos ecológicos que favorecen su persistencia en los ecosistemas acuáticos. Éstos incluyen la presencia de pigmentos accesorios, la fijación facultativa de nitrógeno, el desarrollo de estructuras de resistencia (acinetas), la regulación de la flotabilidad y la escasa palatabilidad. Los crecimientos masivos y persistentes de CB-fij-N son responsables de importantes pérdidas de

diversidad y de trastornos ecosistémicos en diversos sistemas acuáticos (Sunda *et al.*, 2006). En la Reserva Natural de Otamendi, en aguas libres de PFL, donde comúnmente se desarrollan numerosas especies de la clase Chlorophyceae en períodos cálidos, recientemente se han observado floraciones efímeras de CB-fij-N. Nunca se han observado tales crecimientos masivos debajo de las PFL (Izaguirre *et al.*, 2001 y 2004, O'Farrell *et al.*, 2003). Se desconoce la razón última de estos diferentes patrones de dominancia, sin embargo la disponibilidad de luz puede ser un factor modelador importante. Con el fin de evaluar la influencia de la disponibilidad de luz sobre el desempeño ecológico de las CB-fij-N se procedió a realizar curvas de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$) en el laboratorio. Asimismo, para comparar el éxito ecológico de las CB-fij-N con las Chlorophyceae, también se realizó una curva de $\mu-I$ para *Monoraphidium komarkovae* (Chlorophyceae). Se vinculan las respuestas de ambos grupos a distintas irradiancias con su éxito en el ecosistema. Las respuestas a las diferentes irradiancias se cuantificaron a través de las tasas de crecimiento, abundancias y sus espectros de absorción en distintas situaciones lumínicas. Se evalúan las posibles plasticidades pigmentarias y se estima cualitativamente los coeficientes de atenuación de estas especies.

Metodología

Obtención de monocultivos

En otoño de 2006, en el humedal de Otamendi, se registró una floración conformada por tres especies de CB-fij-N. Se procedió a aislar estas especies en monocultivos a partir de filamentos individuales lavados varias veces con medio WC (Guillard, 1975) estéril y se utilizó cicloheximida (concentración final de 75 mg L⁻¹) para evitar el crecimiento de algas eucariontes. La identificación taxonómica de las especies se basó en los caracteres morfológicos, en el patrón de distribución de heterocistes y acinetas, y en la posición

relativa de las acinetas respecto de los heterocistes, siguiendo a Komárek y Zapomělová (2007 y 2008). Las cianobacterias fueron identificadas como *Aphanizomenon gracile* (Lemmermann) Elenkin, *Anabaena minderi* Huber-Pestalozzi y *Anabaena torques-reginae* Komárek.

Diseño del experimento

Se realizaron curvas de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$) para las tres especies de CB-fij-N aisladas de la floración natural (*Aph. gracile*, *Ana. minderi* y *Ana. torques-reginae*) y de un cultivo stock de *Monoraphidium komarkovae* Nygaard (*Monoraphidium*, de aquí en adelante). Se utilizaron microcosmos de 250 ml, con 200 ml de medio nutritivo WC (Guillard, 1975), asegurando sobresaturación de los elementos esenciales (N=14 mg L⁻¹, P=1,7 mg L⁻¹) sin renovación de medio. Se expusieron doce microcosmos para cada especie, en luz blanca, incluyendo oscuridad e irradiancias sub-saturantes y sobre-saturantes: 0, 3, 5, 10, 15, 25, 40, 60, 100, 200, 250 y 350 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para lograr las irradiancias de 0 a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ se utilizaron mallas oscuras neutras (de 1 a 5) y distintas posiciones dentro de la cámara de cultivo respecto de la fuente de luz (Lámina 1-IV). En cultivos expuestos a irradiancias mayores de 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no se utilizaron mallas y los microcosmos se posicionaron cercanos a la fuente de luz. La luz fue medida utilizando un sensor Biospherical quantum en agua destilada previo al inicio del experimento y en los cultivos al final del experimento; el valor promedio final fue utilizado para graficar las curvas de crecimiento-irradiancia. Los microcosmos fueron expuestos a una temperatura constante de 20°C y a un foto-período de 16:8 horas de luz y oscuridad. Cada monocultivo fue homogenizado diariamente. Previo al comienzo del experimento de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$), los monocultivos fueron pre-acondicionados por cinco días a cada irradiancia para lograr la aclimatación (del 13 al 19 de Agosto 2006).

La fase de pre-acondicionamiento comenzó con la inoculación de 200 individuos mL⁻¹ de *Aph. gracile*, *Ana. minderi* y *Monoraphidium*, y de 100 individuos mL⁻¹ de *Ana. torques-reginae* ya que las densidades en este monocultivo fueron muy bajas. Al finalizar el período de aclimatación se cuantificaron las algas y se realizaron diluciones cuando fue necesario, para evitar posibles efectos de auto sombreado y de limitación por nutrientes debido a altas biomásas. Las diluciones fueron realizadas utilizando medio WC para: *Aph. gracile* y *Ana. torques-reginae* en las irradiancias 200, 250 y 350 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y para *Monoraphidium* y *Ana. minderi* en las irradiancias 100, 200, 250 y 350 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El experimento de $\mu\text{-I}$ comenzó el 20 de agosto y duró cuatro días (del 20 al 24 de Agosto 2006). Al final del experimento, cada cultivo estuvo expuesto, en total, 10 días a una determinada irradiancia



Lámina 1-IV. Diseño experimental. Para lograr las distintas irradiancias se utilizaron mallas oscuras neutras (de 0 a 5) y distintas posiciones dentro de la cámara de cultivo respecto de la fuente de luz.

(incluyendo el período de aclimatación y el período del experimento).

Diariamente se removieron 20 ml de medio que fueron fijados con lugol 2 % para la cuantificación fitoplanctónica. Cuando las densidades algales fueron bajas, los cultivos se sedimentaron en cilindros graduados de 25 mL por 48 horas. Los recuentos se realizaron en una cámara de recuento Palmer-Maloney en un microscopio óptico Nikon Eclipse 80i (magnificación 400X para *Monoraphidium* y 250X para las CB-fij-N). La unidad de recuento fue el individuo (célula o filamento); se contaron por lo menos tres transectas para las muestras densas y toda la cámara para las muestras diluidas. Para las CB-fij-N se cuantificó la densidad de acinetas y heterocistes. Los cultivos no fueron axénicos, sin embargo, las observaciones microscópicas regulares revelaron que las bacterias heterotróficas permanecieron por debajo del 1% de la biomasa total.

A tiempo final se midió el espectro de absorción de los pigmentos para cada microcosmos y cada irradiancia. Para ello, se filtró un volumen conocido de cada monocultivo a través de filtros Whatman GF/B (poro 1 μm) de manera de lograr una mono-capa sobre el filtro (70 mL para muestras en irradiancias inferiores a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 10 mL para muestras de irradiancias superiores a 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Los filtros fueron colocados en posición vertical sobre un plexiglass transparente neutro en un espectrofotómetro y se corrió el espectro de la radiación fotosintéticamente activa (RFA: 400-700 nm). Luego, los filtros se sumergieron en metanol 90 % en oscuridad y heladera por 24 hs, para descomponer los pigmentos y cualquier sustancia que pudiera modificar el espectro de absorción, y se corrió nuevamente la RFA. El espectro de absorción se obtuvo sustrayendo el espectro inicial al espectro con metanol.

Construcción y ajuste de las curvas de crecimiento-irradiancia

Las tasas de crecimiento para cada irradiancia se calcularon utilizando la pendiente del logaritmo natural de la densidad graficada *versus* tiempo en muestreos consecutivos, ajustando regresiones lineales. Se utilizó la parte lineal de la curva, correspondiente al crecimiento exponencial, de manera que los efectos de sombreado o de disminución de nutrientes fuesen mínimos; cada punto correspondiente a una tasa de crecimiento se ajustó por lo menos a 3-4 puntos de datos.

Para obtener los parámetros de crecimiento-irradiancia ($\mu-I$), las tasas de crecimiento en función de la irradiancia se ajustaron a una función Monod (Método de Marquardt-Levengurg minimización de cuadrado mínimo) sin fotoinhibición (Schwaderer *et al.*, ms), utilizando el programa Origin 7.5 ($p < 0,05$).

$$\mu(I) = \frac{\mu_{\max} I}{I + \frac{\mu_{\max}}{\alpha}} - r$$

Donde μ es la tasa de crecimiento (días^{-1}), μ_{\max} es la tasa de crecimiento máxima (días^{-1}), I es la irradiancia ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$), α es la pendiente inicial de la curva de crecimiento-irradiancia ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{d}$) y r es la tasa de pérdida por respiración (días^{-1}). Para *Monoraphidium* se ensayó un modelo con fotoinhibición ya que pareció evidenciar crecimiento deprimido en la máxima irradiancia, sin embargo el término de la inhibición se aproximaba a infinito y contribuía pobremente a la variancia total, por lo que se descarta un efecto de fotoinhibición. Asimismo, el modelo se corrió sin tasa de pérdida por respiración ya que los valores contribuían poco a la variancia total. La irradiancia donde comienza la saturación del crecimiento (I_k , $\mu\text{mol fotón}^{-1} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$) fue calculada a partir de $I_k = \mu_{\max} / \alpha$.

Resultados

Las especies identificadas como *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena minderi* y *Anabaena torques-reginae* (Nostocaceae) son especies filamentosas isopolares, planctónicas, solitarias, con vesículas de gas y capaces de fijar nitrógeno (Lámina 2-IV).

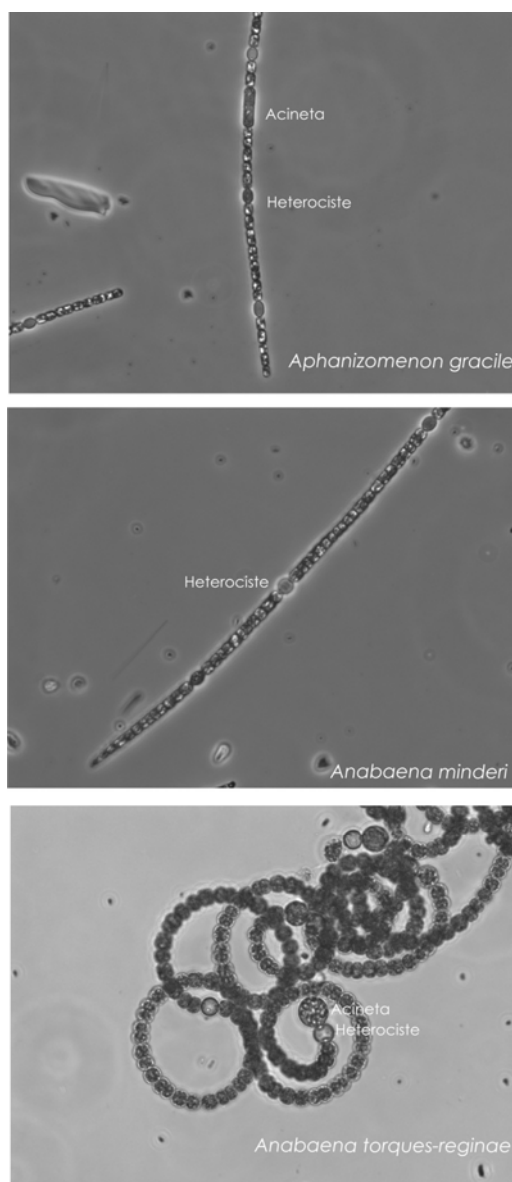


Lámina 2-IV. Especies de cianobacterias fijadoras de nitrógeno aisladas. Se muestra la posición de los heterocistes y acinetas. *Ana. minderi* raramente expresó acinetas.

Los filamentos en *Ana. minderi* y *Aph. gracile* son rectos, mientras que en *Ana. torques-reginae* son curvados y circinados; la morfología no varió con la disponibilidad de luz. El patrón de heterocistes y acinetas en *Aph. gracile* fue sub-simétrico mientras que en ambas especies de *Anabaena* es metamérico (regular). Las acinetas en *Aph. gracile* son cilíndricas y distantes de los heterocistes, en *Ana. minderi* son ovoides y localizadas al lado del heterociste y en *Ana. torques-reginae* esféricas y también localizadas al lado del heterociste.

Las irradiancias finales del experimento fueron inferiores a las iniciales (0-38%). La atenuación fue mayor en altas irradiancias debido al aumento de la biomasa algal que absorbe y dispersa la luz atenuando la irradiancia en la columna de agua (Tabla 1-V). *Monoraphidium* mostró la mayor μ_{\max} seguida por *Aph. gracile*, *Ana. minderi* y *Ana. torques-reginae*, respectivamente (Tabla 2-IV); ninguna especie evidenció inhibición del crecimiento a irradiancias elevadas (Fig. 2a-d-IV). Las tres especies de

CB-fij-N saturaron sus crecimientos en las máximas irradiancias ya que la tasa de crecimiento máxima (μ_{\max}) coincidió con los máximos valores de tasa de crecimiento empíricos (μ) (Fig. 2a-c-IV). Por el contrario, *Monoraphidium* no alcanzó su máximo crecimiento con las irradiancias ensayadas en el experimento ya que su μ_{\max} ($4,7 \text{ d}^{-1}$) fue mucho mayor que el crecimiento alcanzado en las irradiancias ensayadas ($\mu = 3 \text{ d}^{-1}$) (Fig. 2d-IV). La tasa de crecimiento de *Monoraphidium* estuvo muy afectada por las distintas irradiancias: su crecimiento en irradiancias mayores a $150 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fue seis veces mayor que en irradiancias inferiores a $25 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ($3 \text{ versus } 0,5 \text{ d}^{-1}$, respectivamente). Sin embargo, las tasas de crecimiento en las CB-fij-N, en alta y baja luz difirieron solamente entre dos y tres veces ($0,99 \text{ versus } 0,55 \text{ d}^{-1}$ en *Aph. gracile*; $0,69 \text{ versus } 0,45 \text{ d}^{-1}$ en *Ana. minderi*; $0,28 \text{ versus } 0,09 \text{ d}^{-1}$ en *Ana. torques-reginae*).

Tabla 1-IV. Irradiancias iniciales y finales promedio ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

Inicial	0	3	5	10	15	25	40	60	100	200	250	350
Final	0	3	4,4	7,8	13,4	16,9	30,7	42	80,1	137	199	218

Tabla 2-IV. Parámetros obtenidos del ajuste de las curvas: μ_{\max} : máxima tasa de crecimiento (d^{-1}), α : pendiente inicial de la curva de crecimiento-irradiancia ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ d}$) e I_k : irradiancia donde comienza la saturación ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Se indican los valores de R^2 y Chi^2 del ajuste de las curvas al modelo. Las duplicaciones (Dupl.= d^{-1}) se calculan a partir del $\ln(2)$ de manera que $0,69 \text{ d}^{-1}$ corresponde a una duplicación. Los valores en paréntesis representan los desvíos estándares.

	μ_{\max}	α	I_k	R^2	Chi^2	Dupl.
<i>Monoraphidium</i>	4,71 (0,79)	0,04 (0,01)	117,75	0,95	0,07	6,83
<i>Aph. gracile</i>	1,00 (0,10)	0,11 (0)	9,09	0,78	0,04	1,45
<i>Ana. minderi</i>	0,71 (0,06)	0,09 (0,04)	7,88	0,88	0,009	1,03
<i>Ana. torques-reginae</i>	0,32 (0,06)	0,009 (0,004)	35,55	0,78	0,003	0,46

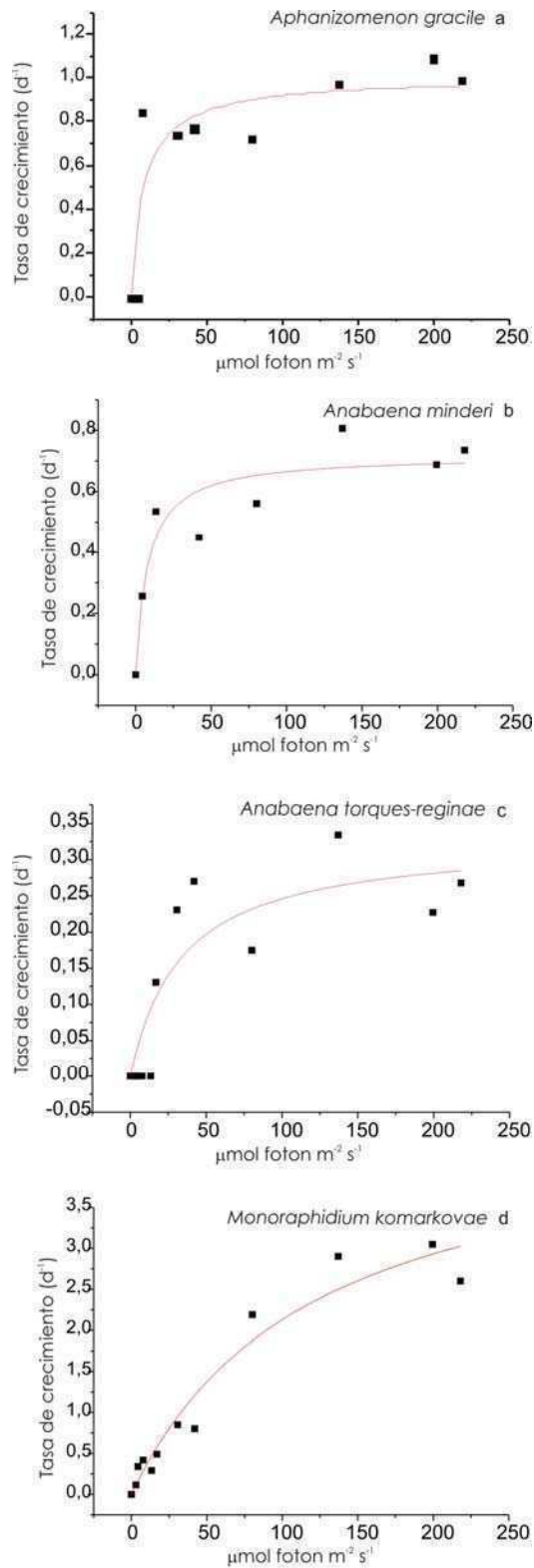


Fig. 2-IV. Curvas de crecimiento-irradiancia de las especies ensayadas. Los puntos representan las tasas de crecimiento observadas y la línea sólida representa el ajuste al modelo Monod. Para graficar las curvas $\mu-I$ se utilizaron las irradiancias finales (Tabla 2-IV).

La pendiente inicial de la curva de crecimiento-irradiancia (α) fue mayor en *Aph. gracile*, intermedia en *Ana. minderi* y *Monoraphidium*, y mucho menor en *Ana. torques-reginae* (Tabla 2-IV). La irradiancia en la que comienza la saturación del crecimiento (I_k) en las CB-fij-N fue inferior a $36 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mientras que en *Monoraphidium* fue de $117 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabla 2-IV), mostrando que estas CB-fij-N están mejor adaptadas que *Monoraphidium* a ambientes con baja irradiancia. El I_k fue bajo en *Ana. minderi* y *Aph. gracile*, y más elevado en *Ana. torques-reginae* (7,88; 9,09 y $35,55 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente) (Tabla 2-IV). La densidad final de todas las especies, fue baja en irradiancias inferiores a $17 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y más elevada en irradiancias superiores a $30 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, donde las densidades aumentaron con la irradiancia (Fig. 3-IV). Las densidades finales de las CB-fij-N no alcanzaron valores de saturación (Fig. 3-IV), aunque sus tasas de crecimiento alcanzaron la saturación (Fig. 2a-c-IV), mientras que *Monoraphidium* alcanzó valores relativamente constantes en irradiancias superiores a $200 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, incluso aunque sus tasas de crecimiento no alcanzaran la saturación a la irradiancia ensayada. Las densidades en *Aph. gracile* y *Ana. minderi* en irradiancias $\geq 40 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\geq 1 \times 10^4 \text{ ind mL}^{-1}$) fueron similares con las densidades en floraciones naturales. En la irradiancia máxima ($218 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) *Aph. gracile* fue la especie más abundante, seguida por *Ana. minderi* y *Ana. torques-reginae* ($5,9 \times 10^4$; $3,8 \times 10^4$ y $2,5 \times 10^3 \text{ ind mL}^{-1}$, respectivamente) (Fig. 3-IV). Sin embargo, a irradiancias entre 30 y $80 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ *Ana. minderi* fue la especie preponderante. (Fig. 3-IV). Las densidades de acinetas (estructuras de resistencia) en *Ana. minderi* fueron extremadamente bajas. En *Aph. gracile* y *Ana. torques-reginae* las densidades de acinetas fueron elevadas en irradiancias $\geq 5 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y no se evidenció ningún patrón definido, sin

embargo en irradiancias cercanas a la oscuridad (0 y $3 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) disminuyeron a lo largo del experimento (Fig. 4-IV).

La integridad de algunas acinetas se encontró interrumpida luego de 10 días en persistente oscuridad (Lámina 3). Esto sugiere que una prolongada oscuridad puede afectar la viabilidad de las acinetas. La dinámica de heterocistes de las tres especies de CB-fij-N no mostró ningún patrón asociado a la luz.

Los espectros de absorción de las tres CB-fij-N evidenciaron picos correspondientes a ficocianina (PC, $\lambda = 620 \text{ nm}$) y β caroteno ($\lambda = 436 \text{ nm}$), pero no se observaron picos correspondientes a ficoeritrina ($\lambda = 560 \text{ nm}$) (Fig. 5a-c-IV). En *Aph. gracile* (Fig. 5-IV) los pigmentos absorbieron más luz en irradiancias superiores a $200 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No se registró una respuesta plástica del PC respecto de la luz: el pico de PC fue siempre menor que el pico de clorofila. En irradiancias $\leq 10 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el patrón de absorbancia fue errático. En *Ana. minderi* (Fig. 5-IV) los pigmentos evidenciaron una mayor absorción de la luz a partir de $40 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y la máxima absorción ocurrió a $250 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Además, se observó plasticidad en la absorbancia del pigmento PC: en irradiancias de 5 a $100 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la absorbancia de la PC fue mayor que la clorofila, pero en irradiancias $\geq 200 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el pico de PC fue menor que el de clorofila (Fig. 5-IV). Además, en 0 y $3 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, los pigmentos evidenciaron un espectro de absorción errático, indicando degradación de pigmentos. En *Ana. torques-reginae* (Fig. 5-IV) los pigmentos evidenciaron una mayor absorción en 60 y $100 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$; los datos de 200 , 250 y $350 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no se pudieron obtener por problemas experimentales. Se observó una respuesta plástica de la PC: en irradiancias entre 10 y $25 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el pico de absorción de PC y clorofila fueron iguales, mientras que en irradiancias $\geq 40 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$

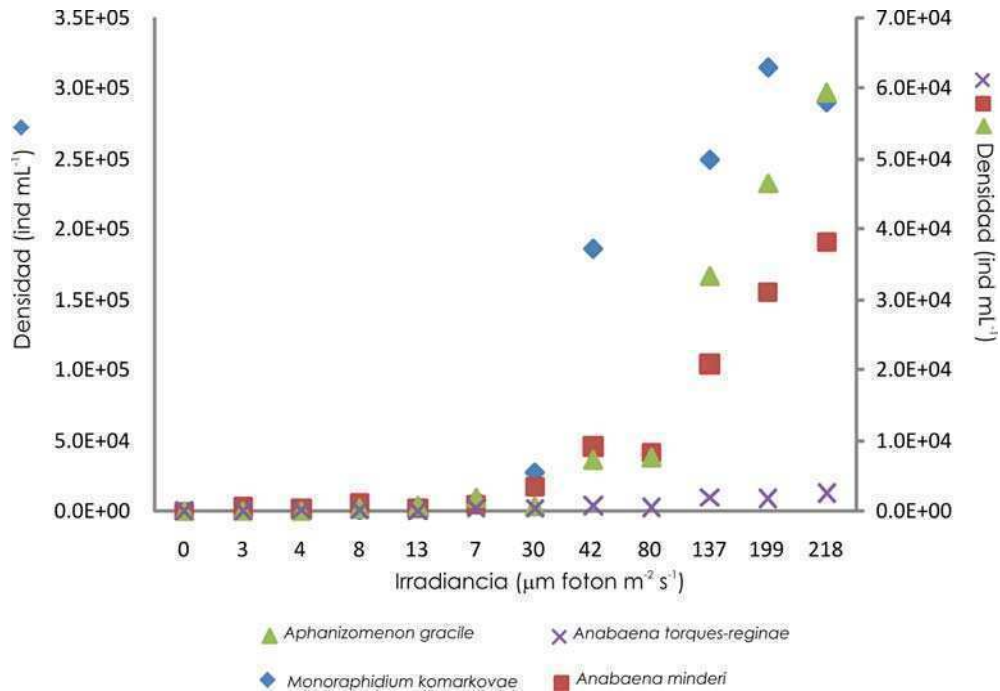


Fig. 3-IV. Densidades a tiempo final para cada irradiancia (ind mL^{-1}) y cada especie. Notar distintos ejes.

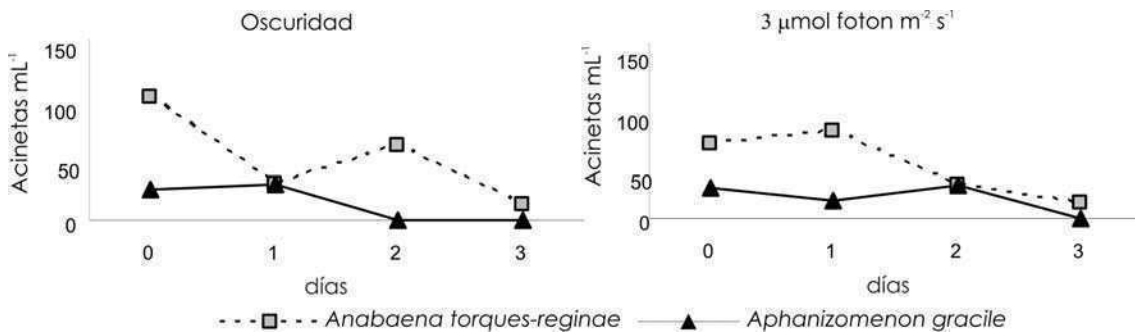


Fig. 4-IV. Densidad de acinetas en irradiancias de 0 y $3 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para *Ana. torques-reginae* y *Aph. gracile*. Nótese que al final del día 3, los organismos estuvieron en total diez días expuestos a cada irradiancia (período de aclimatación más período del experimento).



Lámina 3-IV. Acineta interrumpida de *Aphanizomenon gracile* en el tratamiento de oscuridad.

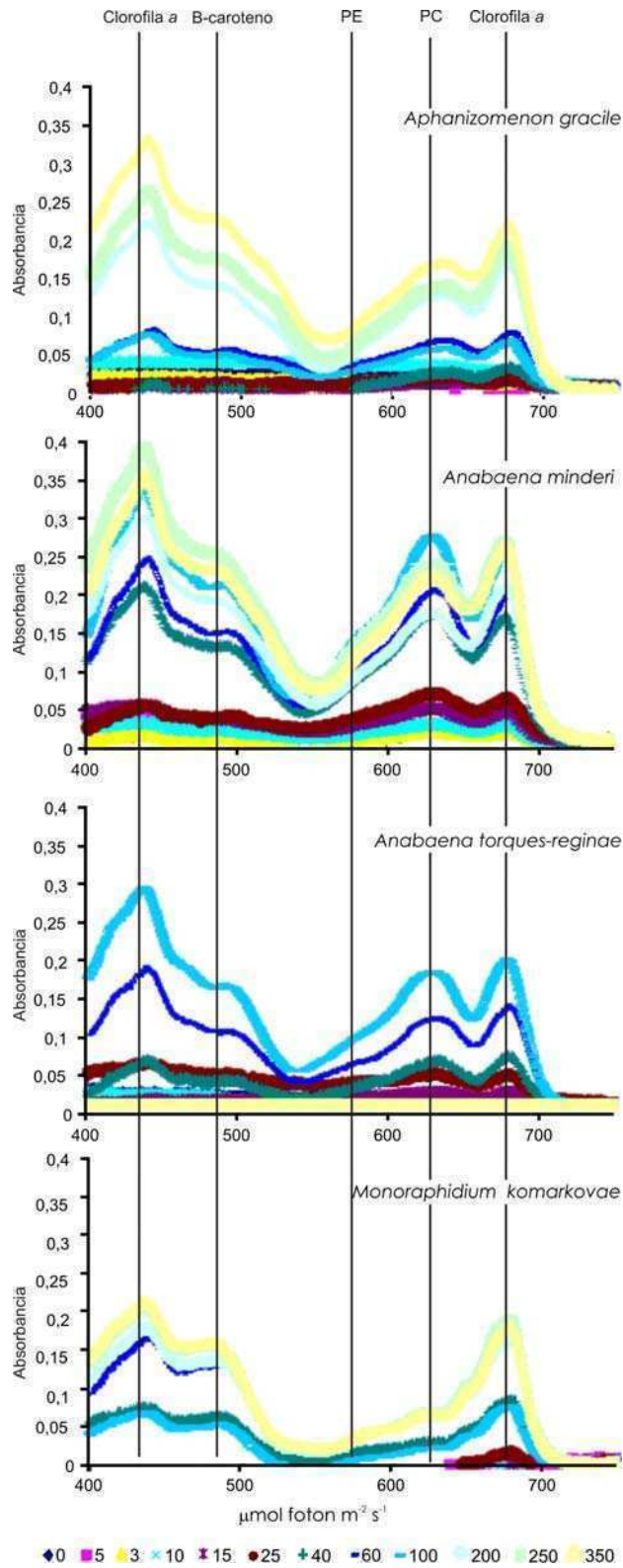


Fig. 5-IV. Espectros de absorción de las especies estudiadas luego de diez días* de exposición a las distintas irradiancias. *incluyendo el período de aclimatación y el período del experimento. Las líneas verticales indican los picos de absorción de la clorofila *a*, ficobiliproteínas (PC:ficoeritrina y PE: ficocianina) y β caroteno.

el pico de PC fue menor al de clorofila. En irradiancias $\leq 5 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ el pigmento evidenció un patrón errático (Fig. 5-IV).

El espectro de absorción de *Monoraphidium* evidenció picos asociados a clorofila *a* y *b*, y β carotenos (Fig. 5-IV). En *Monoraphidium*, los pigmentos parecieron degradados en irradiancias $\leq 40 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Fig. 5d-IV). Los mayores picos de absorción de clorofila en *Monoraphidium* fueron entre 2 y 8 veces menores que los observados en las CB-fij-N (Fig. 5-IV).

Discusión

CB-fij-N versus Monoraphidium

Los distintos rasgos ecológicos relacionados con la obtención de luz (μ_{max} , α , I_k) de las especies analizadas ponen de manifiesto la mayor aptitud competitiva de las CB-fij-N ante *Monoraphidium* en situaciones de baja irradiancia y nutrientes suficientes. Las CB-fij-N presentaron bajos valores de I_k (irradiancia a la que comienza la saturación del crecimiento) y α generalmente elevado evidenciando su adaptación a bajas irradiancias. Las cianobacterias, las diatomeas y los dinoflagelados tienen valores de α superiores a otros grupos fitoplanctónicos, permitiéndoles una utilización más eficiente de la luz en irradiancias bajas (Richardson *et al.*, 1983; Schwaderer, *et al.*, ms). Si bien las CB-fij-N tuvieron μ_{max} relativamente bajas, el efecto de la luz sobre las tasas de crecimiento de las CB-fij-N fue menor, indicando que tienen tasas de crecimiento relativas altas en bajas irradiancias. Por el contrario, *Monoraphidium* evidenció rasgos bien adaptados a altas irradiancias, reflejado por el alto I_k y la mayor tasa de crecimiento máxima (μ_{max}). Richardson *et al.* (1983) recalcaron que las Chlorophyceae, saturan su crecimiento a altas irradiancias, y tienden a ser menos susceptibles a la fotoinhibición. Si bien la tasa de crecimiento de *Monoraphidium* fue máxima en altas irradiancias, ésta se vio muy afectada en baja luz.

El comportamiento contrastante entre los rasgos lumínicos de las Chlorophyceae y las CB-fij-N ensayadas probablemente esté asociado a los pigmentos característicos de cada grupo. Así, la presencia de ficocianina en las CB-fij-N permite una mayor absorción de luz por unidad de biomasa y un eficiente transporte de energía hacia la clorofila, tornándolas más competitivas en bajas irradiancias. En condiciones de luz bajas, debidas a altos coeficientes de atenuación provocados por una alta biomasa fitoplanctónica, las cianobacterias suelen dominar los ensamblajes fitoplanctónicos (Reynolds, 1984). Ambos grupos de algas están frecuentemente asociados con ambientes lumínicos contrastantes. Este patrón divergente fue observado en el humedal de Otamendi por O'Farrell *et al.* (2003) e Izaguirre *et al.* (2001 y 2004) donde las cianobacterias y las diatomeas dominaron debajo de las PFL (ambientes cuasi oscuros), mientras que las Chlorophyceae prevalecieron en aguas sin PFL (ambientes bien iluminados). Los resultados de este experimento sugieren que en condiciones de irradiancia y nutrientes suficientes *Monoraphidium* desplazaría a las CB-fij-N ya que su tasa de crecimiento es por lo menos tres veces superior; esto explica el patrón recurrente de dominancia de Chlorophyceae en aguas sin PFL. En altas irradiancias, las CB-fij-N solamente tomarían preponderancia en situaciones de limitación de nitrógeno, tal como se observó en el experimento descrito en el Capítulo III.

En irradiancias bajas y nutrientes a saturación, tal como ocurre debajo de la cobertura de PFL, es posible que *Monoraphidium* y las CB-fij-N pudieran coexistir ya que sus tasas de crecimiento son bajas y similares. Además, la fuerte limitación por luz afecta negativamente la biomasa de ambos grupos, aliviando la competencia por nutrientes. Sin embargo, la presencia de pigmentos accesorios en CB-fij-N aumenta la absorción por unidad de biomasa (mayor coeficiente de absorción) otorgándoles una ventaja adaptativa frente a

las Chlorophyceae. Asimismo, las CB-fij-N pueden controlar su flotabilidad gracias a las vesículas de gas, pudiendo posicionarse en las zonas más superficiales de la columna de agua donde las limitaciones por luz se verían minimizadas.

Finalmente es de destacar que en todas las especies estudiadas en las irradiancias cercanas a la oscuridad (0 y 3 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) el espectro de absorción de los pigmentos se encontraba alterado, sugiriendo degradación de pigmentos.

Estrategias ecológicas y persistencia de las CB-fij-N

Las densidades de *Aph. gracile* y *Ana. minderi* en irradiancias entre 40 y 200 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fueron similares a las floraciones en la naturaleza. Sin embargo, distintas disponibilidades de luz pueden disparar cambios en la jerarquía de la especie dominante dentro de una floración de CB-fij-N: en altas irradiancias *Aph. gracile* y en irradiancias más bajas *Ana. minderi*. Esto también se ve observado en el patrón de absorción, ya que en irradiancias intermedias (20-40-60) *Ana. minderi* tiene una mayor absorción que *Aph. gracile*.

Las acinetas, estructuras de resistencia que se diferencian a partir de células vegetativas bajo condiciones adversas, se escinden fácilmente del filamento por fraccionamiento y precipitan a los sedimentos, permaneciendo en estado de latencia. La facilidad con la que se generan podría estar relacionada con la sensibilidad de las especies frente a las variables ambientales prevalentes y con su persistencia en el ecosistema. La baja frecuencia de acinetas en *Ana. minderi* sugiere una baja persistencia en el ecosistema, o bien que las condiciones del experimento no fueron favorables para la formación de estas estructuras. En las demás especies, las acinetas se observaron en casi todas las irradiancias. En esta experiencia, la

viabilidad de las acinetas se vio afectada por la prolongada oscuridad (0-3 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) sugiriendo que en ecosistemas con sedimentos permanentemente poco iluminados, tales como ocurre cuando las PFL son dominantes, la permanencia de las Nostocales no se vería favorecida.

El pigmento accesorio prevalente en las tres especies de CB-fij-N fue la ficocianina (PC), probablemente debido a que en el humedal de Otamendi las longitudes de onda prevalentes son las radiaciones rojas, debido al alto contenido húmico de las aguas (Rodríguez y Pizarro, 2007). No se observó adaptación cromática durante el experimento, ya que se utilizó una misma calidad de luz (luz blanca), sin embargo, se observó una respuesta plástica en el patrón de absorción de la ficocianina (PC) en *Ana. minderi* y *Ana. torques-reginae*. En estas especies los picos de absorbancia de PC en bajas irradiancias fueron mayores que el pico de clorofila *a*, mientras que lo opuesto ocurrió en altas irradiancias. Esta plasticidad puede favorecer la absorción de fotones en bajas irradiancias, confiriéndoles una ventaja adaptativa en ambientes poco iluminados.

Finalmente, los parámetros obtenidos en el modelo de crecimiento-irradiancia pueden ser utilizados para predecir el crecimiento de estas especies en el humedal de Otamendi en función de irradiancias constantes y en situaciones de suficiencia de nutrientes. También se podrían utilizar como línea de base para predecir el efecto de la fluctuación de la luz, generado por un desplazamiento dinámico de las PFL, sobre las tasas de crecimiento, de una manera similar a la realizada por Litchman (2000), quien estimó las tasas de crecimiento en ambientes fluctuantes a partir de las curvas de crecimiento en luces constantes y las constató empíricamente con experimentos en luz fluctuante.

Capítulo V. Composición y Diversidad funcional fitoplanctónica en el humedal de Otamendi (llanura de inundación del Río Paraná) en relación a las principales variables ambientales modeladoras

Resumen

Se estudió la composición funcional y las diversidades alfa (α), beta (β) y gamma (γ) del fitoplancton del humedal de Otamendi en función de las principales variables ambientales modeladoras (nivel hídrico, luz, oxígeno disuelto, nitrógeno). Se utilizaron datos de dos relevamientos a campo de dos períodos: 1) 2004-2006 caracterizado con una presencia esporádica de plantas flotantes libres (PFL); se estudiaron 12 sitios del humedal en cuatro ocasiones, contemplando la estacionalidad climática y la variabilidad hídrica, 2) 1998-2000 caracterizado por dominancia de PFL; se analizaron y compararon los sitios y las estaciones climáticas coincidentes con el período de escasez de PFL.

En el período de escasez de PFL, la diversidad fitoplanctónica γ fue elevada: 289 especies y 20 grupos funcionales (GFx). Durante el nivel hídrico más alto se registró la menor diversidad β (2,05), evidenciando homogeneidad en la composición de especies del humedal. La diversidad α se calculó en términos de GFx tanto en densidad como en biovolumen; los valores de Shannon oscilaron entre 0,9 y 3,2, y de Simpson entre 1,3 y 6,8. La diversidad α y los rasgos ecológicos no se encontraron correlacionados con las principales variables modeladoras: nivel hídrico, luz sub-superficial, concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y concentración de oxígeno. La ocasional cobertura total de PFL (n=8) no afectó la diversidad fitoplanctónica a pesar de generar disminución del oxígeno disuelto y de la luz transmitida. Las diferencias en las condiciones de luz a lo largo del humedal básicamente se debieron a la concentración de los ácidos húmicos y a la distribución en

parches de las PFL. Frecuentemente, las concentraciones de NID en las lagunas coincidieron con valores potencialmente limitantes para el crecimiento fitoplanctónico, mientras que el fosfato ($400-3700 \mu\text{g L}^{-1}$) y silicato ($3,5-55 \text{ mg L}^{-1}$) fueron altos.

La dominancia de PFL (1998-2000) generó una diversidad γ similar a la situación de PFL-esporádica, pero diversidades α significativamente más bajas. La diversidad β indicó heterogeneidad en la composición de la comunidad en ambientes con y sin PFL. Asimismo, el pasaje de dominancia a ausencia de PFL disparó procesos de hiper-eutroficación, y promovió un estado dominado por fitoplancton.

Introducción

Las llanuras de inundación son ecosistemas muy productivos que poseen una gran diversidad terrestre y acuática (Revenga y Mock, 2000). Los ejes modeladores más importantes en estos ecosistemas son la estacionalidad de las inundaciones y la variabilidad de los niveles de agua (Junk *et al.*, 1989). En regiones tropicales, subtropicales y templado-cálidas las extensas matas de plantas flotantes libres (PFL) también actúan como un importante modelador ecológico, y su crecimiento a su vez se relaciona con las diferencias en el aporte de nutrientes durante el ciclo hidrológico (Junk y Piedale, 1997).

Los mecanismos que regulan la diversidad en la mayoría de los ecosistemas no están completamente comprendidos (Interlandi y Kilham, 2001). El régimen hídrico en el humedal de Otamendi es complejo y no ha sido caracterizado: los sistemas acuáticos están afectados por las lluvias, las

sudestadas, las mareas del Estuario del Río de la Plata y están vinculados subterráneamente con los ríos Lujan y Paraná (Atlas Ambiental de Buenos Aires, 2008). Además, en la última década se han registrado fuertes cambios hídricos vinculados a fenómenos climáticos cíclicos (O'Farrell *et al.*, 2008). Los cuerpos de agua en este humedal pueden fluctuar entre una cobertura total y la ausencia de PFL; las densas matas de PFL generan una disminución en la penetración de la luz y consecuentemente se establecen bajos niveles de oxígeno o anoxia en la columna de agua. Asimismo, el alto contenido húmico de las aguas en este humedal (Rodríguez y Pizarro, 2007) implica una atenuación marcada de la luz en la columna de agua. Por otro lado, en este ecosistema el nitrógeno puede ser un factor limitante para el desarrollo fitoplanctónico (Unrein, 2001). De esta manera, las disponibilidades de luz, oxígeno y nitrógeno en la columna de agua, funcionarían como los principales ejes modeladores ambientales en la estructuración de la composición y diversidad fitoplanctónica en este ecosistema.

La composición del fitoplancton puede analizarse en términos de especies, o en términos de su funcionalidad: tanto en grupos funcionales o en rasgos ecológicos. Los rasgos ecológicos definen los nichos ecológicos de la comunidad y, en el caso del fitoplancton, son fácilmente cuantificables (Weithoff, 2003; Litchman y Klausmeier, 2008). Éstos se clasifican según su función ecológica (reproducción, adquisición de recursos o resistencia al pastoreo) y pueden ser de distinto tipo (morfológico, fisiológico, de comportamiento y de historia de vida) (Litchman y Klausmeier, 2008) (Fig. 1-V). Por ejemplo, el tamaño celular tiene implicancias en todas las funciones ecológicas: las células pequeñas tienen una ventaja competitiva cuando las concentraciones de nutrientes son bajas ya que tienen tasas de consumo altas y sus tasas de crecimiento son elevadas, sin embargo son muy vulnerables a la predación. La

presencia de flagelo permite un desplazamiento en tres dimensiones que permite aproximarse o alejarse a los recursos. Las vesículas de gas permiten el control de la flotabilidad en aguas calmas. Los pigmentos accesorios absorben luz en longitudes de onda complementarias a la absorbancia de la clorofila (Falkowski y Raven, 2007, Kirk 1994) favoreciendo la fotosíntesis en situaciones de baja irradiancia o de diferencias espectrales de la luz. La mixotrofia es favorable bajo condiciones de baja luz o bajos nutrientes. Asimismo, la fijación de nitrógeno permite la utilización de nitrógeno atmosférico en situaciones de baja disponibilidad de nitrógeno; solamente algunas cianobacterias poseen esta habilidad. Las estructuras de resistencia favorecen la persistencia de las poblaciones durante períodos desfavorables. Los rasgos relacionados a las adaptaciones para la evasión de la predación incluyen maximizar la dimensión axial, la colonialidad, la presencia de espinas y de mucilago extracelular y la síntesis de toxinas, entre otros (Reynolds, 2006). El concepto de caracterización del fitoplancton en función de los rasgos ecológicos es muy prometedor para analizar el efecto de las especies dominantes sobre el ambiente fisicoquímico y viceversa.

El análisis de la diversidad permite evaluar la estructura de la comunidad; sus medidas son más informativas y fáciles de interpretar cuando se comparan ambientes similares y cuando se aplican a un grupo taxonómico relativamente limitado y bien definido, tal como el fitoplancton. Las medidas de diversidad alfa (α) se clasifican según su énfasis en las especies raras (ej. riqueza e índice de Shannon) o en la ponderación de las especies más abundantes (ej. índice de Simpson). Por otro lado, la diversidad β es esencialmente una medida de cuán diferentes o similares son un rango de comunidades a lo largo de un gradiente o entre hábitats en términos de las especies. Cuanto menos especies compartan las diferentes comunidades o gradientes, mayor será la diversidad β (Wilson y Mohler,

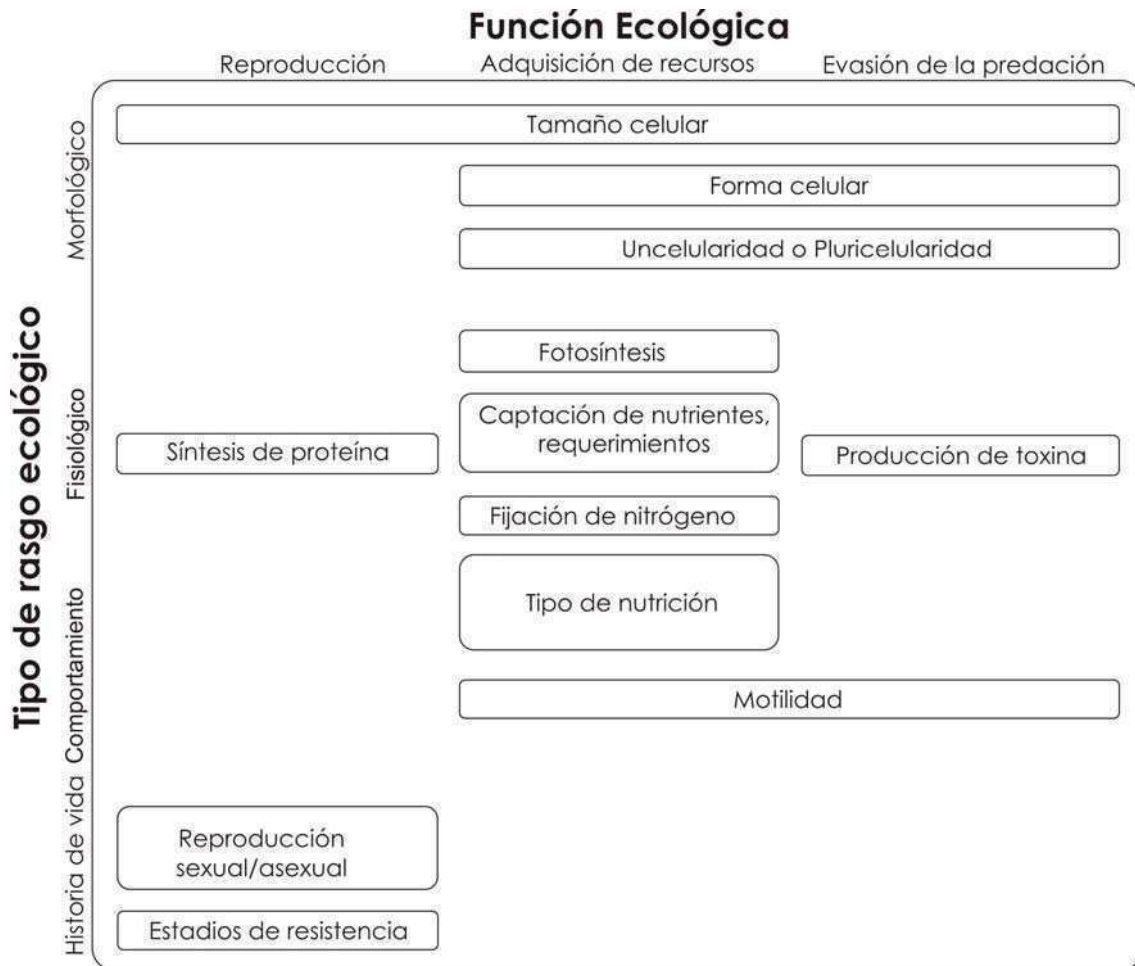


Fig. 1-V. Rasgos Ecológicos fitoplanctónicos, tomado y modificado de Litchman y Klausmeier, 2008.

1983). La diversidad gamma (γ) incluye la totalidad de las especies encontradas en una región. La evaluación de la diversidad fitoplanctónica puede realizarse a partir de nivel específico o también utilizando variables alternativas, tales como los grupos funcionales *sensu* Reynolds *et al.* (2002, ver Anexo 2).

En el presente estudio se utilizaron datos de dos relevamientos a campo realizados en el humedal de llanura de inundación de Otamendi, en dos períodos:

Período 1) 2004-2006 caracterizado con una presencia esporádica de plantas flotantes libres (PFL)

Período 2) 1998-2000 caracterizado por dominancia de PFL.

En el período 2004-2006 se estudió la composición y diversidad (α , β y γ) fitoplanctónica en relación a los principales factores modeladores (nivel hídrico, luz, oxígeno disuelto, nitrógeno). La comunidad fitoplanctónica se estudió en función de los rasgos ecológicos y grupos funcionales, y la diversidad de grupos funcionales en densidad y en biovolumen.

Asimismo, se calculó la diversidad (α , β y γ) del período 1998-2000 para evaluar la influencia de las PFL sobre el fitoplancton y sobre el ecosistema, en comparación con el período de escasez de PFL (2004-2006).

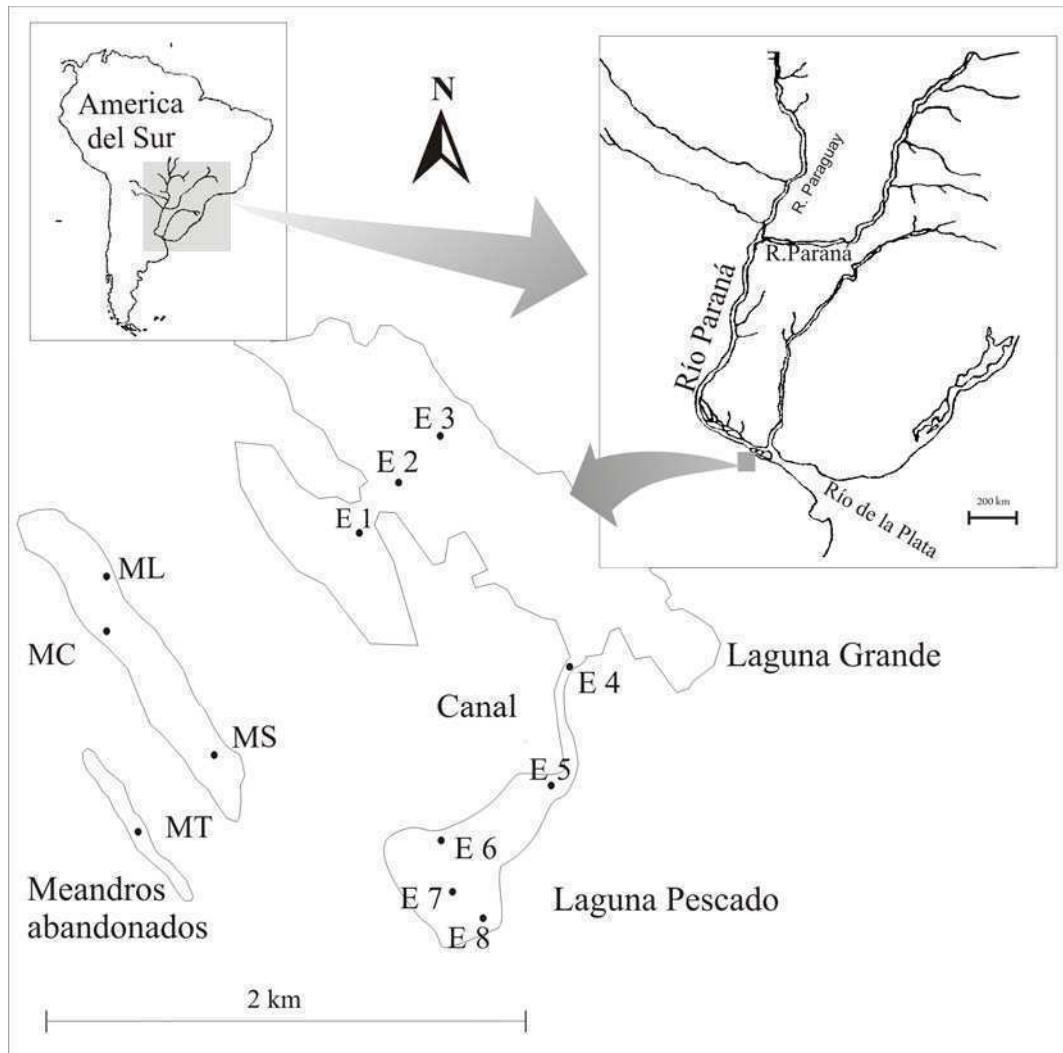


Fig. 2-V. Área de estudio incluyendo los sitios de muestreo

Metodología

Muestreo en el período (2004-2006): PFL-esporádica

Se realizaron cuatro muestreos: 6 Diciembre 2004 (primavera tardía), 14 Marzo 2005 (verano tardío), 13 Julio 2005 (invierno) y 24 Enero 2006 (verano) en 12 sitios del humedal de Otamendi, incluyendo distintos niveles hídricos. Los sitios se establecieron en cinco ambientes acuáticos con distintas características limnológicas y de vegetación (Fig. 2-V) incluyendo un pequeño meandro abandonado del río (meandro I), un meandro de mayor dimensión (meandro II), la laguna

Grande, la laguna Pescado y el canal que une ambas lagunas.

El meandro I, donde se estableció el sitio de muestreo MT, se encontró profusamente vegetado con plantas arraigadas (*Schoenoplectus californicus*). En el meandro II se seleccionaron tres puntos de muestreo con distintas coberturas iniciales de PFL: MC (PFL= 100%), MS (PFL= 50%), y ML (PFL=0%). En la laguna Grande se seleccionaron dos sitios en la zona litoral con escasas plantas arraigadas (E1 y E2) y un sitio pelágico libre de plantas arraigadas (E3). El canal se muestreó en los extremos próximos a la laguna Grande (E4) y a la laguna Pescado (E5), sus zonas

litorales presentaban plantas arraigadas. En la laguna Pescado se seleccionaron dos zonas litorales parcialmente vegetadas con plantas arraigadas (E6, E8) y una zona pelágica libre de plantas arraigadas (E7) (Fig. 2-V).

En cada sitio se determinaron las principales características limnológicas: *in situ* el pH, la conductividad, la temperatura, el oxígeno disuelto y la radiación fotosintéticamente activa, y en el laboratorio amonio, nitrato, fosfato, silicato, ácidos húmicos, sólidos en suspensión, clorofila *a* fitoplanctónica y recuentos fitoplanctónicos en densidad y biovolumen según la Metodología General (incisos *a-c*). El nitrato y el amonio se analizaron como nitrógeno inorgánico disuelto (NID= nitrato + amonio).

Muestreo en el período (1998-2000): PFL-dominancia

Con el fin de analizar la influencia de las PFL sobre la composición y diversidad fitoplanctónica y sobre el ambiente fisicoquímico, se compararon los resultados del período 2004-2006 (PFL-esporádica) con el de 1998-2000 (PFL-dominancia); solamente se utilizaron los sitios y estaciones del año coincidentes en ambos períodos. En PFL-dominancia, el MT, MC siempre estuvieron densamente cubiertos por PFL, el sitio E1 estuvo frecuentemente dominado por PFL, y el sitio E3 estuvo generalmente libre de PFL. La metodología correspondiente al período 1998-2000 se detalla en Izaguirre *et al.* (2004). Los datos fitoplanctónicos fueron re-calculados en términos de GFx para comparar la composición y la diversidad fitoplanctónica entre períodos.

Composición funcional

El fitoplancton fue identificado a nivel específico y clasificado en grupos funcionales *sensu* Reynolds *et al.* (2002), en ambos períodos. En el período PFL-esporádica, el fitoplancton también se clasificó en función de los rasgos ecológicos combinando las aproximaciones de Weithoff (2003) y Litchman y Klausmeier (2008). Se

seleccionaron nueve rasgos ecológicos que se codificaron según Weithoff (2003) y la división de estrategias C-R-S establecida por Reynolds (1984); se realizaron modificaciones para evitar el solapamiento de categorías. En el Anexo 3 se codifican los nueve rasgos para cada una de las 280 especies fitoplanctónicas identificadas:

Los rasgos ecológicos analizados fueron:

- máxima dimensión lineal (MDL < 35 μm , MDL > 35 μm); se considera 35 μm como el límite de la palatabilidad por zooplancton
- relación superficie volumen (S:V > 1, S:V < 1). Su cálculo se detalla en la Metodología General (inciso *c*).
- unicelularidad, multicelularidad. La multicelular incluye colonias, cenobios y filamentos.
- motilidad (no motil, vesículas de gas, flagelados), las vesículas de gas permiten movimiento en dos dimensiones y el flagelo en tres dimensiones.
- estructuras de resistencia (presencia, ausencia), ej. quistes, acinetas
- requerimientos de sílice (con, sin requerimientos de sílice).
- pigmentos accesorios (con, sin ficobiliproteínas) ej. en el humedal de Otamendi las clases con ficobiliproteínas son Cyanophyceae y Cryptophyceae.
- fijación de nitrógeno (fijador, no fijador). Fijador: Cyanophyceae.
- tipo de nutrición (autotrófico, mixotrófico). Ej mixotrófico: Cryptophyceae, Chrysophyceae, Euglenophyceae, Dinophyceae.

Diversidad funcional

En ambos períodos se calculó la diversidad alfa (α) como: riqueza específica y de grupos funcionales (GFx). Los índices de Shannon (I) y de Simpson (II) se calcularon utilizando GFx tanto en densidad como en biovolumen. Se utilizó la forma recíproca del índice de Simpson, de manera que un aumento en el valor indique un incremento en la diversidad y una menor dominancia. La β diversidad se calculó según Whittaker

(β_w) (1960) (III) utilizando la riqueza específica. La diversidad gamma (γ) constituyó el inventario de las especies encontradas durante el período de estudio, tanto específica como de GFx.

I. Shannon:

$H = -\sum p_i \ln p_i$, donde p_i es la abundancia proporcional de la especie $i = (n_i/N)$.

II. Simpson:

$1/D = 1/\{\sum(n_i*(n_i-1))/(N(N-1))\}$, donde n_i es el número de individuos en la especie i y N es el número total de individuos.

III. Beta diversidad:

$\beta_w = (S/\alpha) - 1$, donde S es el número total de especies del sistema y α es la diversidad medida como riqueza de especies.

Análisis Estadístico

En el período PFL-esporádica se calculó el coeficiente de variación de las variables limnológicas. Para comparar los períodos PFL-dominancia y PFL-esporádica se realizó un análisis de t para muestras independientes de los valores promedios de cada una de las variables analizadas en los cuatro sitios de muestreo (MT, MC, E1 y E3) coincidentes. El promedio en cada sitio se obtuvo a partir de los datos obtenidos en cuatro muestreos correspondientes a épocas del año coincidentes en ambos periodos. Se utilizó el programa Statistica 7.

Resultados

Período PFL-esporádica (2004-2006)

Variables fisicoquímicas

Las precipitaciones acumuladas en el mes previo a las fechas de muestreos fueron: 66 mm en primavera tardía, 45 mm en verano tardío, 108 mm en invierno y 255 mm en verano. En verano, el nivel hidrométrico del humedal fue 10 cm más alto que en los demás períodos, salvo en la laguna Pescado.

En promedio, los sitios más someros fueron MT (24 cm), MC, MS y ML (24-30 cm) y la laguna Pescado (28-33 cm), mientras los sitios más profundos fueron la laguna Grande (31-67 cm) y el canal (60-63 cm). Se registraron PFL en 8 de los 48 puntos de muestreo (MC, MS, E1 y E8 en primavera tardía, y MC, E1, E5 y E7 en invierno).

La temperatura del agua superó los 22°C en los muestreos cálidos y fue aproximadamente 10°C menor en invierno (Fig. 3a-V). Las menores temperaturas se registraron siempre en MT debido al efecto de sombreado de la vegetación emergente, mientras que la temperatura en los sitios MC, MS y ML fue entre 2 y 7 °C más elevada que en los demás sitios de muestreo (Fig. 3a-V). El pH osciló entre 7 y 8.5 y fue similar en todos los sitios y fechas de muestreo.

La conductividad fluctuó entre 860 y 7060 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y se correlacionó inversamente con el nivel hídrico ($r = -0,48$; $p = 0,006$); fue máxima en primavera tardía, intermedia en verano tardío y en invierno, y mínima en verano (Fig. 3b-V). Los sitios MC, MS y ML siempre presentaron conductividades mayores y más variables que los demás sitios del humedal. La absorbancia debido a los ácidos húmicos osciló entre 1,07 y 5,17 con el mismo patrón espacio-temporal que la conductividad ($r = 0,85$; $p = 0,000$) (Fig. 3b-V) y también se correlacionaron inversamente con la profundidad ($r = -0,38$; $p = 0,0001$). Los sólidos en suspensión evidenciaron un patrón temporal similar a la conductividad, pero no se registró un patrón espacial definido.

La luz transmitida a la capa sub-superficial (5-10 cm de profundidad) en invierno fue, en promedio, tres veces menor (296 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) que en muestreos cálidos (Fig. 3c-V), debido a una menor luz incidente. Sin embargo, el porcentaje de la luz transmitida en aguas sin PFL fue similar en todos los períodos analizados: entre el 42 y 63% en las lagunas y entre el 31 y 38% en los MC,

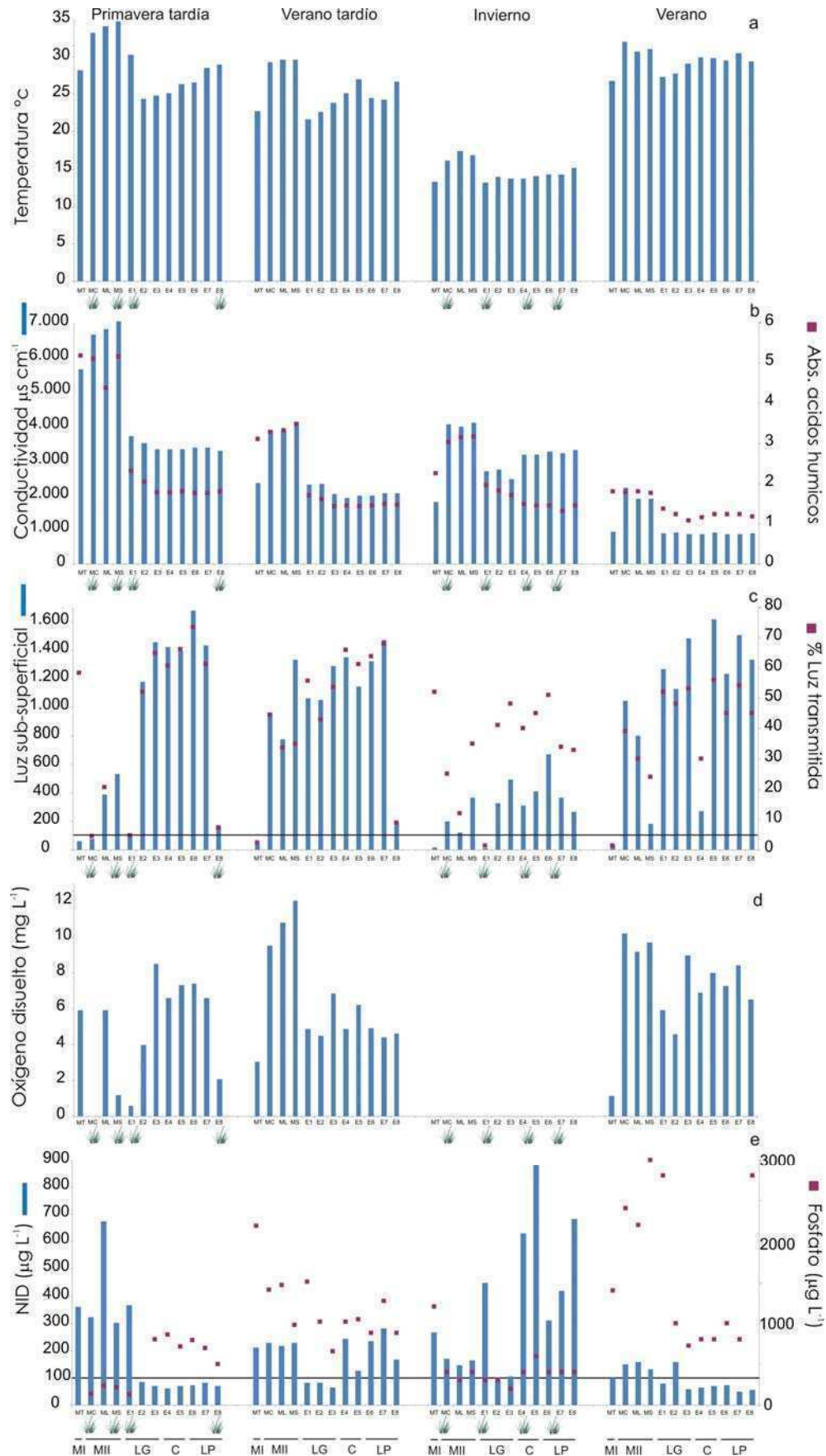


Fig. 3-V. Evolución temporal de la a) temperatura, b) conductividad y ácidos húmicos, c) luz sub-superficial ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y % de luz transmitida, d) oxígeno disuelto, y e) NID y fosfato. Las plantas denotan los sitios con PFL. Las líneas horizontales marcan los valores conocidos como limitantes para el crecimiento fitoplanctónico. Ambientes acuáticos del humedal: MI= meandro chico, MII=meandro grande, LG=laguna Grande, C=canal, y LP=laguna Pescado.

MS y ML. Cuando existieron densas matas de PFL (MC, E1 y E8 en primavera tardía, y E1 en invierno), la luz sub-superficial fue inferior a los valores potencialmente limitantes para el crecimiento fitoplanctónico ($100 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Reynolds, 2006). Cuando la cobertura no fue total, la luz sub-superficial fue similar a los sitios sin PFL (MS en primavera tardía, MC, E5 y E7 en invierno).

En MT la luz sub-superficial fue siempre menor a $59 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$, principalmente debido al efecto de sombreado de las macrófitas emergentes. La luz superficial se correlacionó directamente con la profundidad ($r=0,46$; $p=0,0001$) e inversamente con el NID ($r=-0,45$; $p=0,000$) y los ácidos húmicos ($r=-0,41$; $p=0,004$).

La concentración de oxígeno disuelto fluctuó entre 0 y 12 mg L^{-1} en los meandros, mientras que en las lagunas siempre fue superior a los niveles guía de calidad de agua para la protección de la vida acuática (4 mg L^{-1}) (Cuenca del Plata, 1987) (Fig. 3d-V). En primavera tardía, la presencia de PFL, tanto total (MC y E1) o parcial (MS), generó situaciones de bajos tenores de oxígeno. Debido a problemas logísticos, no hay datos correspondientes al muestreo de invierno (Fig. 3d-V). La concentración de oxígeno disuelto se correlacionó positivamente con la luz sub-superficial ($r=0,64$; $p=0,000$) y negativamente con el NID ($r=-0,42$; $p=0,002$).

El nitrógeno inorgánico disuelto (NID) osciló entre 50 y $879 \mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 3e-V). En primavera tardía, la concentración fue elevada tanto en los meandros como en E1, mientras que en los demás sitios se encontró debajo de los valores potencialmente limitantes para el crecimiento del fitoplancton ($<100 \mu\text{g L}^{-1}$, Reynolds, 2006). En verano tardío e invierno, el NID fue potencialmente limitante en los sitios E2 y

E3 de la laguna Grande, pero suficiente en los demás sitios. En verano, las concentraciones de NID fueron bajas en todo el humedal ($50-157 \mu\text{g L}^{-1}$), pero suficientes en los meandros ($\geq 100 \mu\text{g L}^{-1}$) y potencialmente limitantes en las lagunas. El coeficiente de variación presentó una mayor variabilidad para el NID (rango=41-91%) que el fosfato (rango=34-60%) y el sílice (rango=28-48%), reflejando su heterogeneidad espacial y temporal en el ecosistema. El NID se correlacionó directamente con la conductividad ($r=0,44$; $p=0,002$) e inversamente con la luz sub-superficial ($r=-0,45$; $p=0,000$) y el oxígeno ($r=-0,42$; $p=0,002$). Las concentraciones de fosfato ($124-3720 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fig. 3e-V) y de silicato (5 y 55 mg L^{-1}) siempre fueron superiores a los valores potencialmente limitantes para el crecimiento fitoplanctónico ($3,5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ P}$ y $0,7-7 \text{ mg L}^{-1} \text{ Si}$, Reynolds, 2006).

Abundancia, biovolumen y clorofila a fitoplanctónica

Las densidades totales fitoplanctónicas (Fig. 4a-V) oscilaron entre 4×10^3 y $5,9 \times 10^5 \text{ ind mL}^{-1}$, con máximas en verano tardío en los meandros (promedio $3,5 \times 10^5 \text{ ind mL}^{-1}$). En los demás muestreos, la densidad fue más baja y relativamente similar en todo el humedal (promedio $3,9-7,3 \times 10^4 \text{ ind mL}^{-1}$). En verano las densidades fueron más homogéneas, lo cual se reflejó en el menor CV (52%). En el canal y laguna Pescado la densidad total fue generalmente baja y relativamente constante ($1,1-7,3 \times 10^4 \text{ ind mL}^{-1}$), salvo en verano tardío en E5. Por el contrario, la abundancia fitoplanctónica en los meandros ($4,1 \times 10^3-5,9 \times 10^5 \text{ ind mL}^{-1}$) y la laguna Grande ($1,6 \times 10^4-2,2 \times 10^5 \text{ ind mL}^{-1}$) fluctuó temporalmente.

El biovolumen total fitoplanctónico osciló entre $2,8 \times 10^6$ y $8,6 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{ mL}^{-1}$ (Fig.

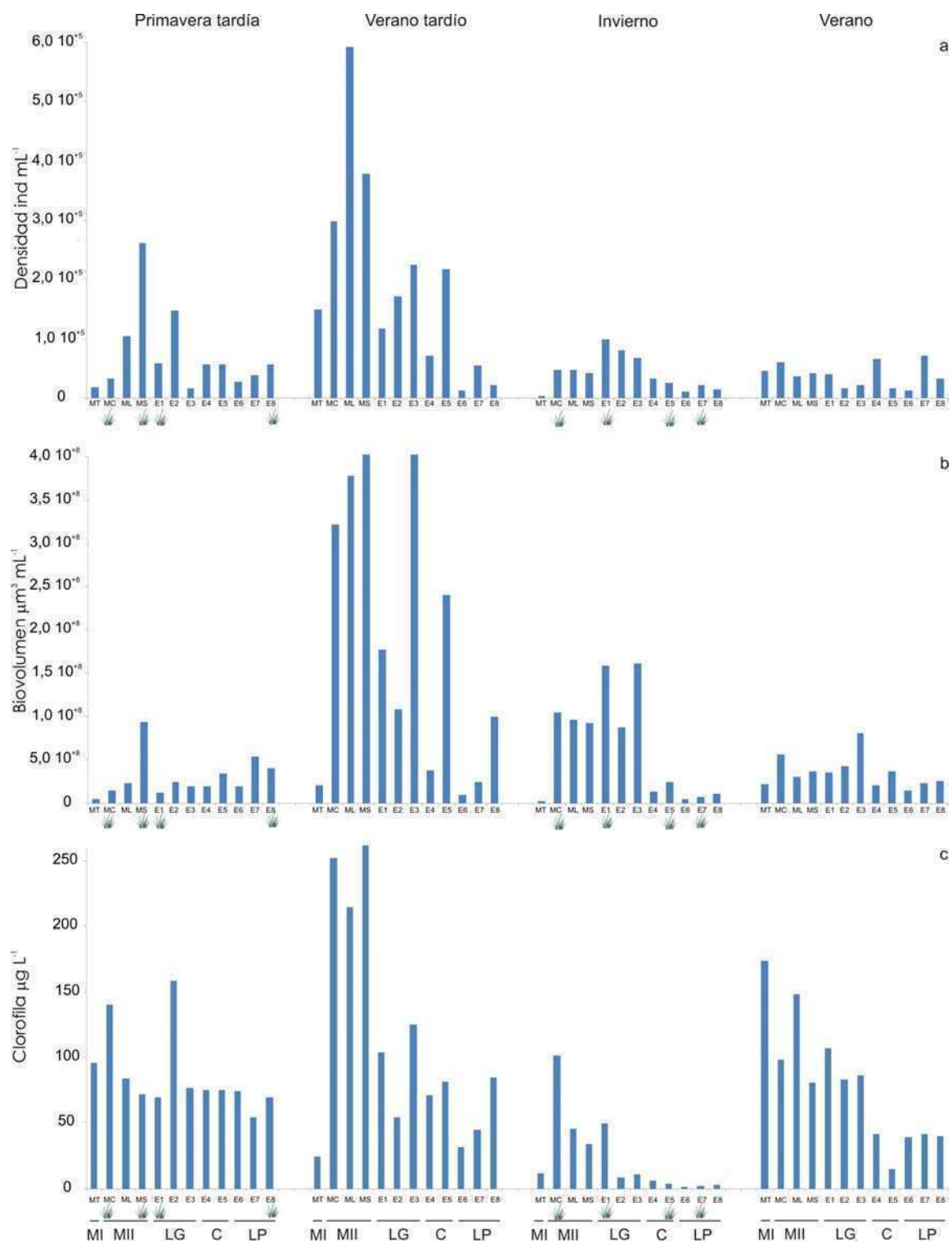


Fig. 4-V. Evolución temporal de a) densidad, b) biovolumen y c) clorofila *a* fitoplanctónica. Las plantas denotan los sitios y períodos con PFL. Ambientes acuáticos del humedal: MI= meandro chico, MII=meandro grande, LG= laguna Grande, C=canal, y LP=laguna Pescado.

4b-V), con un patrón general similar a la densidad ($r=0,71$; $p=0,000$). Los máximos biovolúmenes se registraron en verano tardío ($9,7 \times 10^6$ - $8,6 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$) particularmente en MC, ML MS, E3 y E5. En los demás períodos, el biovolumen fue menor y similar (3 - $6,4 \times 10^7 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$). En primavera tardía y en verano, el biovolumen fue similar tanto espacial como temporalmente. En todos los muestreos, el biovolumen en el canal y en la laguna Pescado fue generalmente bajo y similar en todos los muestreos, salvo en verano tardío en los sitios E5 y E8.

La clorofila *a* fitoplanctónica (Fig. 4c-V) osciló entre 2 y $263 \mu\text{g L}^{-1}$ y se correlacionó positivamente con la densidad y biovolumen fitoplanctónico (clorofila-densidad: $r=0,64$; $p=0,000$ y clorofila-biovolumen: $r=0,59$; $p=0,000$). En primavera tardía la clorofila fue relativamente similar en todo el humedal (54 - $159 \mu\text{g L}^{-1}$, menor $CV=36\%$). En el verano tardío, la clorofila fue máxima en los sitios MC, ML, y MS ($263 \mu\text{g L}^{-1}$), mientras que en las lagunas los valores fueron similares a los demás muestreos cálidos (70 y $160 \mu\text{g L}^{-1}$). En invierno se registraron los valores mínimos, particularmente en las lagunas (promedio $11 \mu\text{g L}^{-1}$), siendo al menos 5 veces inferior a los registrados en los meses cálidos. En verano la clorofila fue elevada en ambos meandros (81 - $175 \mu\text{g L}^{-1}$) y disminuyó paulatinamente hacia el canal y la laguna Pescado (promedio $57 \mu\text{g L}^{-1}$)

Diversidad (α , β y γ)

La diversidad gamma (γ) fue de 289 especies fitoplanctónicas; comprendidas en las clases Chlorophyceae (108), Bacillariophyceae (83), Cyanophyceae (48), Euglenophyceae (42), Xantophyceae (8), Cryptophyceae (5) y Chrysophyceae (4). Estas especies conformaron 20 grupos funcionales, con diferentes riquezas **C** (21), **E** (3), **F** (21), **G** (2), **H** (6), **J** (47), **K** (14), **L_o** (8), **M** (4), **P** (9), **S₁** (14), **S₂** (1), **S_N** (1), (**T** (5), **Ticoplancton** (57), **W₁** (41), **X₁** (27), **X₂** (13) e **Y** (5). En el Anexo 2 se detallan las características de los distintos GFx.

La diversidad β fue de 2,53 en primavera tardía, 2,38 en verano tardío, 2,49 en invierno y 2,05 en verano. Los bajos valores de β en verano indican mayor homogeneidad en la composición específica en los distintos ambientes del humedal, sugiriendo mayor conectividad.

La riqueza específica en cada sitio (diversidad α) fluctuó entre 23 y 73, y la riqueza de GFx entre 11 y 19; ambas aproximaciones evidenciaron patrones similares ($r=0,61$, $p=0,00$) (Fig. 5a-V). La riqueza fue menor en primavera tardía, intermedia en invierno y en el verano tardío, y levemente mayor en verano (Fig. 5a-V). El sitio con menor riqueza fue el MT, excepto en verano. Los rangos de variación de los índices de Shannon (H) y Simpson (D) de GFx, en densidad y biovolumen, en cada sitio (diversidad α) fueron $H=0,9$ - $3,2$ y $D=1,3$ - $6,8$. Ambos índices evidenciaron patrones generalmente similares (Fig. 5b-c-V), siendo levemente menores en el verano tardío e invierno, intermedios en primavera tardía y mayores en verano. Los índices (H y D) en densidad y en biovolumen se correlacionaron positivamente (H GFx densidad-S GFx densidad, $r=0,92$, $p=0,000$; H GFx biovolumen-S GFx biovolumen, $r=0,93$, $p=0,000$). La diversidad α fitoplanctónica (riqueza específica y de GFx, H, D en densidad y biovolumen de GFx) no estuvo correlacionada con ninguno de los potenciales modeladores del ecosistema (luz sub-superficial, nivel hídrico, NID y oxígeno) ($p>0,05$).

Composición y dinámica fitoplanctónica: grupos funcionales

La dinámica espacio-temporal de la densidad de los GFx en los ensamblajes fitoplanctónicos se muestra en la Fig. 6-V. Se utilizó la densidad, y no el biovolumen, ya que los taxa de gran volumen enmascaran la presencia de los de pequeñas dimensiones, pero muy abundantes y representativos en los ensamblajes. Dentro de cada período analizado, la composición de la comunidad fitoplanctónica fue relativamente

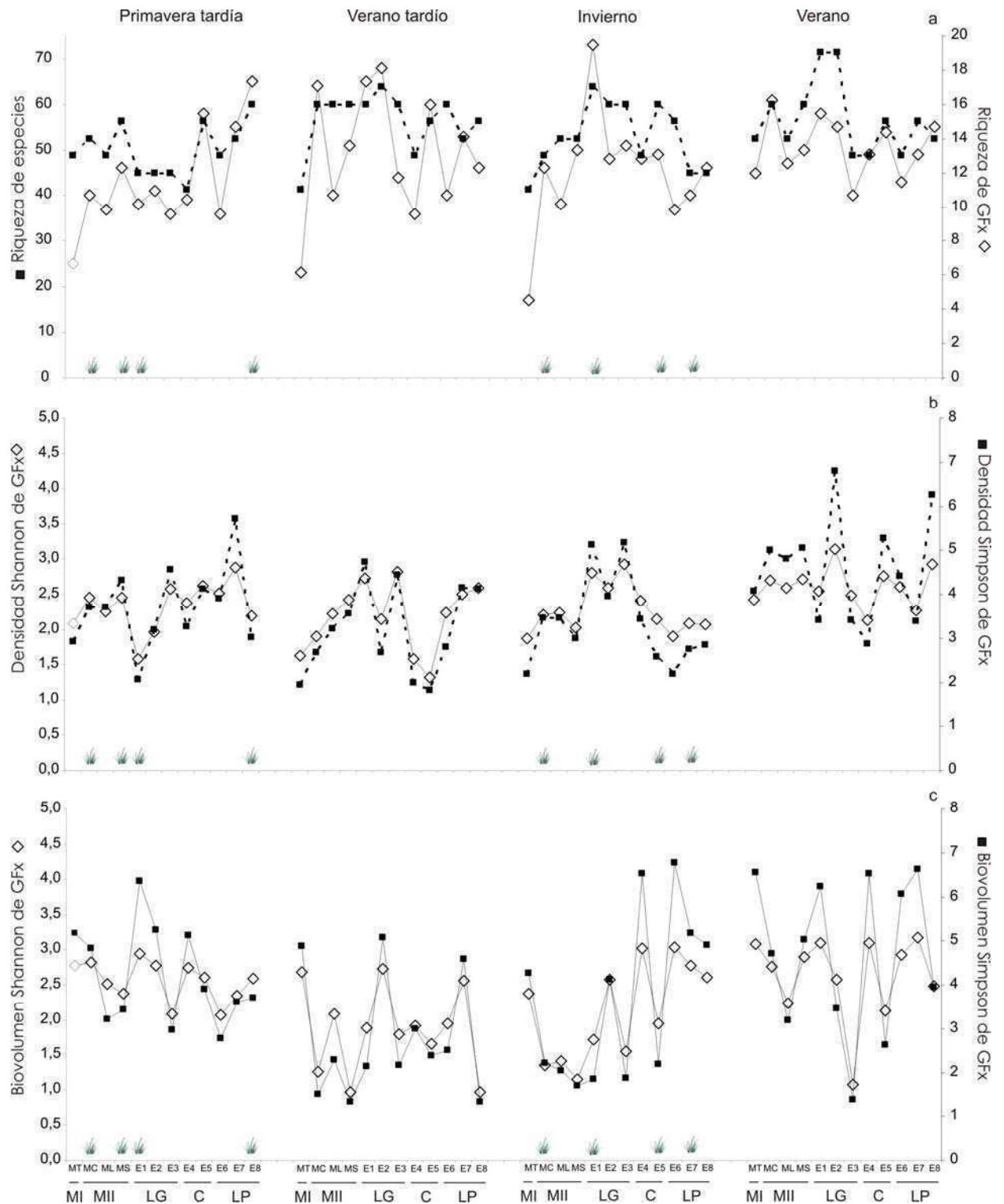


Fig. 5-V. Evolución temporal de la a) riqueza de GfX y específica, b) Shannon densidad GfX y Simpson densidad de GfX y c) Shannon biovolumen GfX y Simpson densidad GfX. Las plantas denotan los sitios y períodos con PFL. Ambientes acuáticos del humedal: MI= meandro chico, MII=meandro grande, LG= laguna Grande, C=canal, y LP=laguna Pescado

similar en los distintos ambientes del humedal, salvo en el verano tardío. En primavera tardía el GFx X_1 (organismos unicelulares, pequeños y no flagelados) fue el de mayor representatividad en todo el humedal. Asimismo, en los meandros sub-dominaron los grupos L_0 (pequeñas cianobacterias coloniales sin vesículas de gas) y T (organismos unicelulares alargados). No se observó un efecto marcado de las PFL sobre la composición fitoplanctónica (Fig. 6V). Desde E3 a E8 los grupos C (diatomeas planctónicas), J (Chlorophyceae cenobiales) y F (Chlorophyceae coloniales) se incrementaron (Fig. 6-V). En verano tardío la composición de los GFx evidenció cinco ensamblajes distintivos (Fig. 6-V): el sitio MT dominado por X_1 , los sitios MC, ML y MS dominados por L_0 , y sub-dominados por X_1 , la laguna Grande dominada por S_1 y S_N (cianobacterias filamentosas de pequeño diámetro) y el canal y la laguna Pescado dominados por X_2 (Chrysophyceae, pequeñas flageladas mixotróficas) y sub-dominados por Y (organismos unicelulares flagelados y mixotróficos) y X_1 . En invierno, el GFx X_2 dominó en todo el humedal con sub-dominancia de Y y X_1 , la presencia de PFL no afectó la composición fitoplanctónica (Fig. 6c-V). En verano, el GFx S_1 adquirió mayor relevancia seguido por una menor contribución de X_1 , X_2 e Y ; hacia la laguna Pescado se incrementó la contribución del GFx C (Fig. 6-V).

Rasgos ecológicos

En primavera tardía (Fig. 7a-V) prevalecieron las especies pequeñas (MDL < 35 μm) (>87%) en todo el humedal. En MT y en ambas lagunas predominaron las formas unicelulares (>90% y entre 65-85%, respectivamente), mientras que en MC, RS, ML taxa multicelulares (filamentos en T y colonias en L_0) (40-66%). Las especies fueron mayoritariamente no motiles (68-98%) o flageladas (5-30%) y raramente con vesículas de gas (4-7%). Las especies con ficobiliproteínas ocurrieron principalmente

en MC, MS y ML (42-82%) (pequeñas cianobacterias coloniales del GFx L_0) y estuvieron poco representadas en los demás sitios (11-39%). Asimismo, si bien la mixotrofia estuvo poco representada en todo el humedal (<15%), ésta fue más frecuente en MT, MC, MS y ML (21-61%). El requerimiento de sílice estuvo ausente en MC, ML y MS (<10%) y fue levemente superior en las lagunas y MT (9,6-31%). En todo el humedal la relación S:V fue >1 (52-93%), las especies con estructuras de resistencia fueron poco abundantes (<12%). no hubo especies fijadoras de nitrógeno y la presencia de PFL (en MC, MS, E1 y E8) no afectó a la dinámica de los rasgos ecológicos analizados.

En verano tardío (Fig. 7b-V) predominaron las especies de MDL < 35 μm (72-98%), aunque en E2 y E3 el MDL fue >35 μm (78 y 69%, respectivamente) debido a la presencia de los grupos S_N y S_1 . En el MT y en la laguna Pescado hubo predominio de especies unicelulares (87 y 69-96%, respectivamente), mientras que en MC, MS y ML y la laguna Grande prevalecieron las especies coloniales y filamentosas, respectivamente (56-89%). En la Laguna Pescado dominaron los flagelados (46-94%), mientras que en el resto del humedal dominaron las especies no motiles (82-92% en MT, MC, MS y ML y 50-74% en laguna Grande) o con vesículas de gas (21-40% en laguna Grande). La presencia de pigmentos accesorios (ficobiliproteínas) fue abundante en MC, MS, ML y laguna Grande debido a la dominancia de los grupos de cianobacterias L_0 , y S_1 - S_N . La mixotrofia prevaleció en el canal y la laguna Pescado (30-75%), mientras que estuvo prácticamente ausente en los demás cuerpos de agua (<10%). Los requerimientos de sílice fueron mayores en la laguna Pescado (22-53%) que en los demás sitios en el humedal (7%). El S:V caracterizó al humedal con especies de S:V >1 (56-92%). Los estados de resistencia estuvieron escasamente representados en: MT, MC, ML y MS (<10%), en E1 y E2 el (<22%) y

en E3-E8 (26-55%.) No hubo especies fijadoras de nitrógeno en todo el humedal. En invierno (Fig. 7c-V) prevalecieron los taxa pequeños (MDL <35 μm) (>75%); siendo la mayoría unicelulares (>62%). Los organismos flagelados fueron dominantes en los MT, MC, MS y ML (>77%), y en el canal y laguna Pescado (60%), mientras que en la Laguna Grande prevalecieron las formas no motiles (49-72%). La mayoría de las especies no contenían ficobiliproteínas (54-89%). La mixotrofia prevaleció en los meandros (80%); en el resto del humedal fue inferior a 50%. El requerimiento de sílice fue del 50%, en MT, MC, MS, ML, de 21%, en la Laguna Grande y en entre 29-58% en la laguna Pescado. La relación S:V fue >1 en todo el humedal. Las especies con estructuras de resistencia dominaron en el MT, MS, ML, MC y en la laguna Pescado entre el 49-65%; en la laguna Grande la mayoría de las especies no poseían estructuras de resistencia (<23%). No se registraron taxa capaces de fijar nitrógeno. En verano (Fig. 7d-V) el 50% las especies fueron menores a MDL 35 μm en todos los sitios, siendo mayoritariamente unicelulares. Entre el 42 y 90% de las especies fueron no motiles, seguidas por especies flageladas (10-57%). Las ficobiliproteínas contribuyeron entre el 43 y el 49% en los MT, MC, MS, ML; entre el 48 y el 73% en la laguna Grande y en entre el 20 y el 54% en la laguna Pescado. La mixotrofia osciló entre el 57 y el 90% en todo el humedal. La contribución de las especies con requerimientos de sílice fue baja (<28%) y los estados de resistencia estuvieron pobremente representados en todo el humedal (6-38%). La relación S:V fue >1 (48-83%) en todo el humedal y no hubo fijación de nitrógeno.

Comparación entre período 1998-2000 (PFL-dominancia) y el período 2004-2006 (PFL-esporádica)

La Tabla 1-V compara las variables fisicoquímicas y biológicas (densidad y diversidad) en ambos períodos. En el período de PFL-dominancia la

concentración de oxígeno no fue significativamente diferente a PFL-esporádica (Tabla 1-V). Sin embargo, el pH, la conductividad y temperatura del agua fueron significativamente más bajos en PFL-dominancia que en PFL-esporádica (Tabla 1-V), incluso aunque el nivel hídrico fue similar en ambos períodos (Tabla 1-V).

El valor medio del fósforo fue cuatro veces más bajo en PFL-dominancia que en PFL-esporádica, pero los valores de NID fueron similares en ambos períodos (Tabla 1-V). En PFL-dominancia el nitrógeno total (NT) fue muy elevado (rango promedio: 1522-2286 $\mu\text{g L}^{-1}$) y el fósforo total (PT) bajo (rango promedio: 271-518 $\mu\text{g L}^{-1}$); la relación molar de NT:PT fue baja (rango promedio: 7,9-14,3). En PFL-esporádica, no se midieron los valores de NT y PT, sin embargo valores correspondientes al año 2007 (Rodríguez y Pizarro, ms) muestran que los valores de NT (400-3400 $\mu\text{g L}^{-1}$) fueron relativamente similares en ambos períodos, pero que hubo un marcado incremento en el PT (350-3200 $\mu\text{g L}^{-1}$) en PFL-esporádica; resultando en una relación NT:PT aun más baja (2,6-2,8).

La abundancia y la clorofila fitoplanctónica fueron significativamente menores en PFL-dominancia que en PFL-esporádica (Tabla 1-V), pero el biovolumen fue similar (Tabla 1-V).

La diversidad gamma fue similar en ambos períodos (188 especies y 18 GFx en PFL-dominancia, y 199 especies y 20 GFx en PFL-esporádica), sin embargo la riqueza específica y de GFx por sitio (diversidad α) fueron significativamente menores en PFL-dominancia que en PFL-esporádica (Tabla 1-V). El índice de Shannon en densidad y biovolumen de GFx (diversidad α) también fue significativamente menor en PFL-dominancia que en PFL-esporádica, pero al 6% (Tabla 1-V).

La β diversidad (Fig. 8-V) muestra una mayor heterogeneidad ambiental en PFL-dominancia que en PFL-esporádica, debido a la distribución heterogénea de PFL a lo largo del ecotono meandro-laguna. Por el contrario, en PFL-esporádica el ecosistema

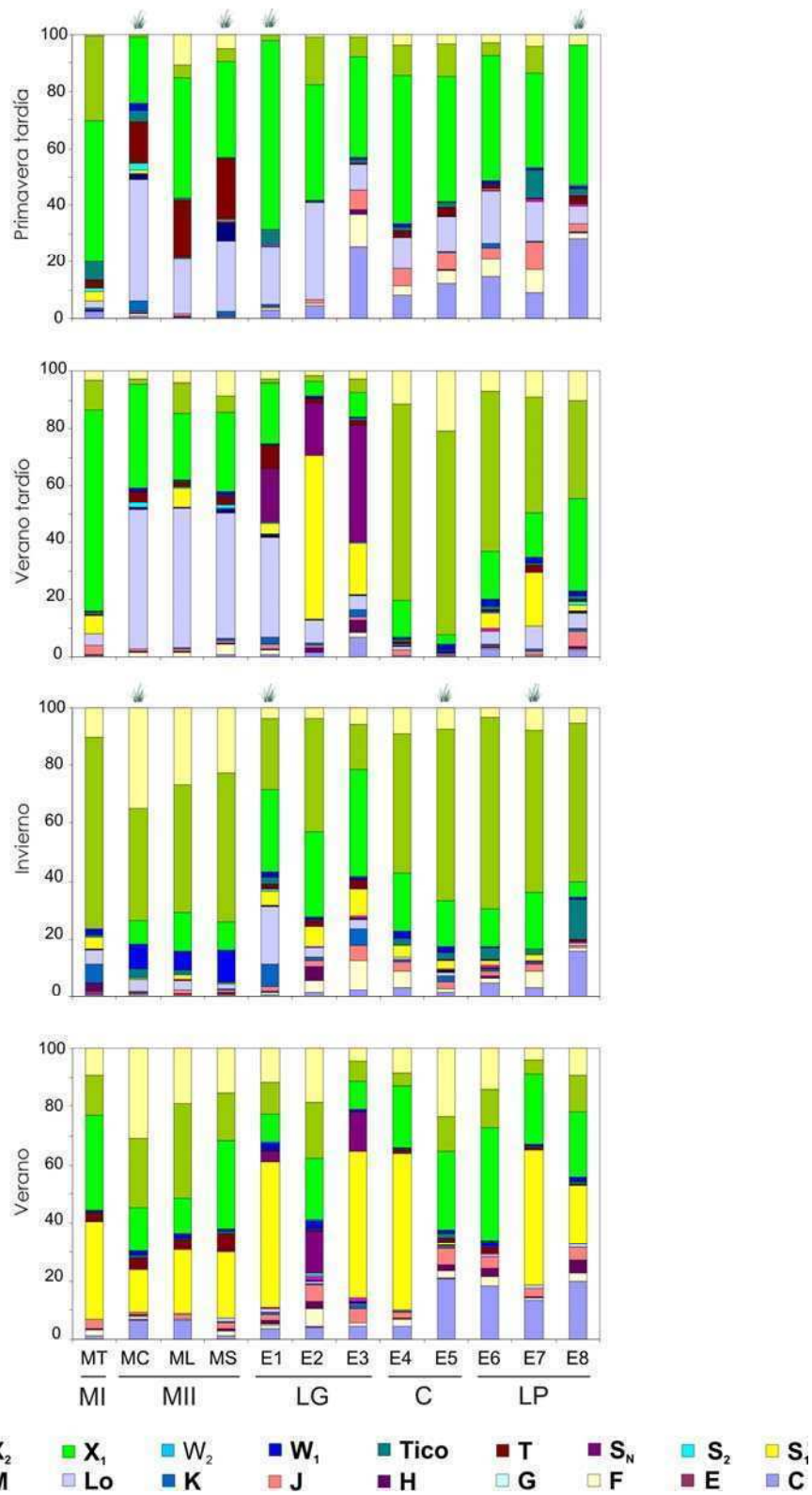


Fig. 6-V. Variación temporal de la densidad relativa de GFx en primavera tardía, verano tardío, invierno y verano. Las plantas denotan los sitios con PFL. Ambientes acuáticos del humedal: MI= meandro chico, MII=meandro grande, LG= laguna Grande, C=canal, y LP=laguna Pescado.

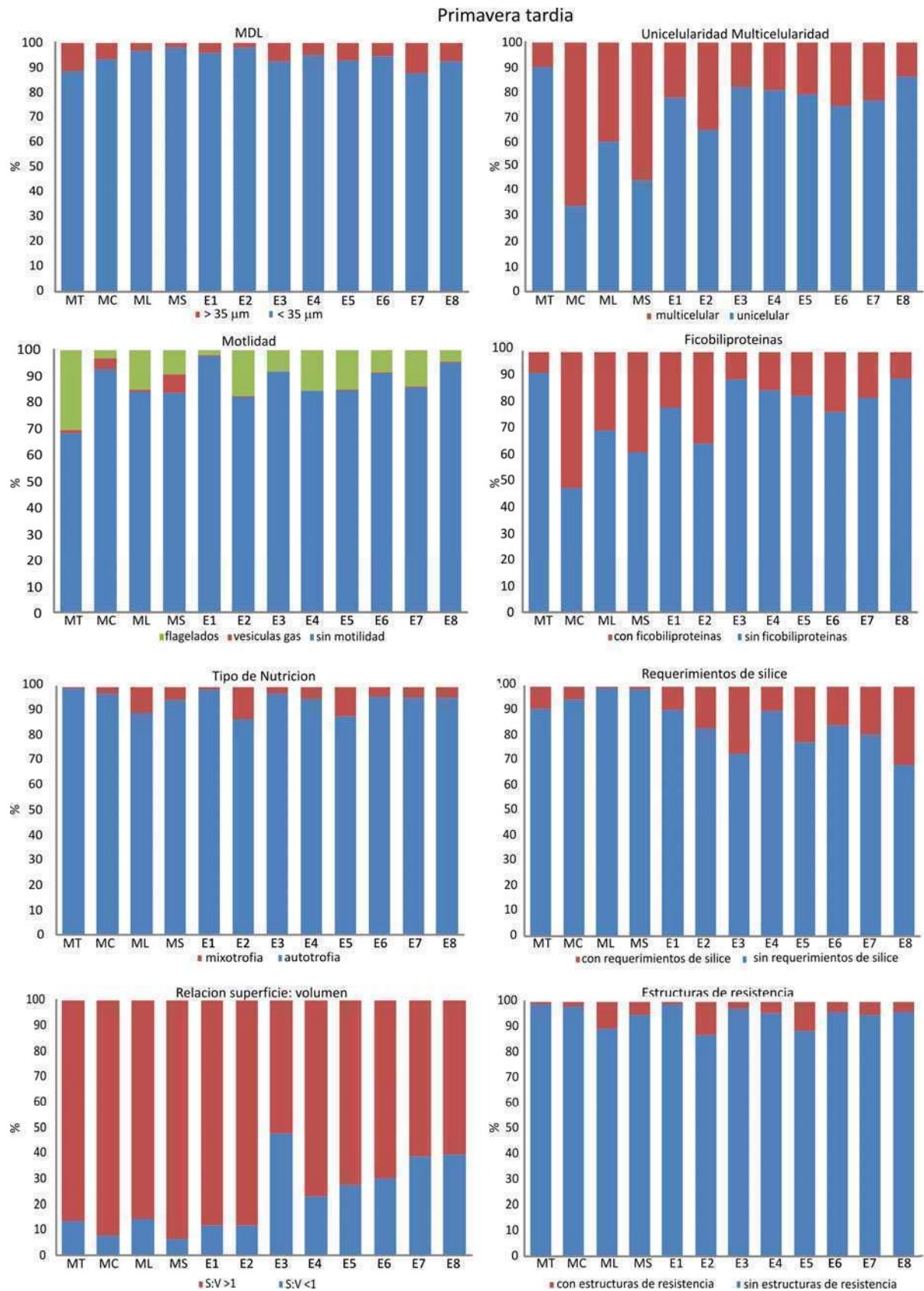


Fig. 7a-V. Rasgos ecológicos en primavera tardía

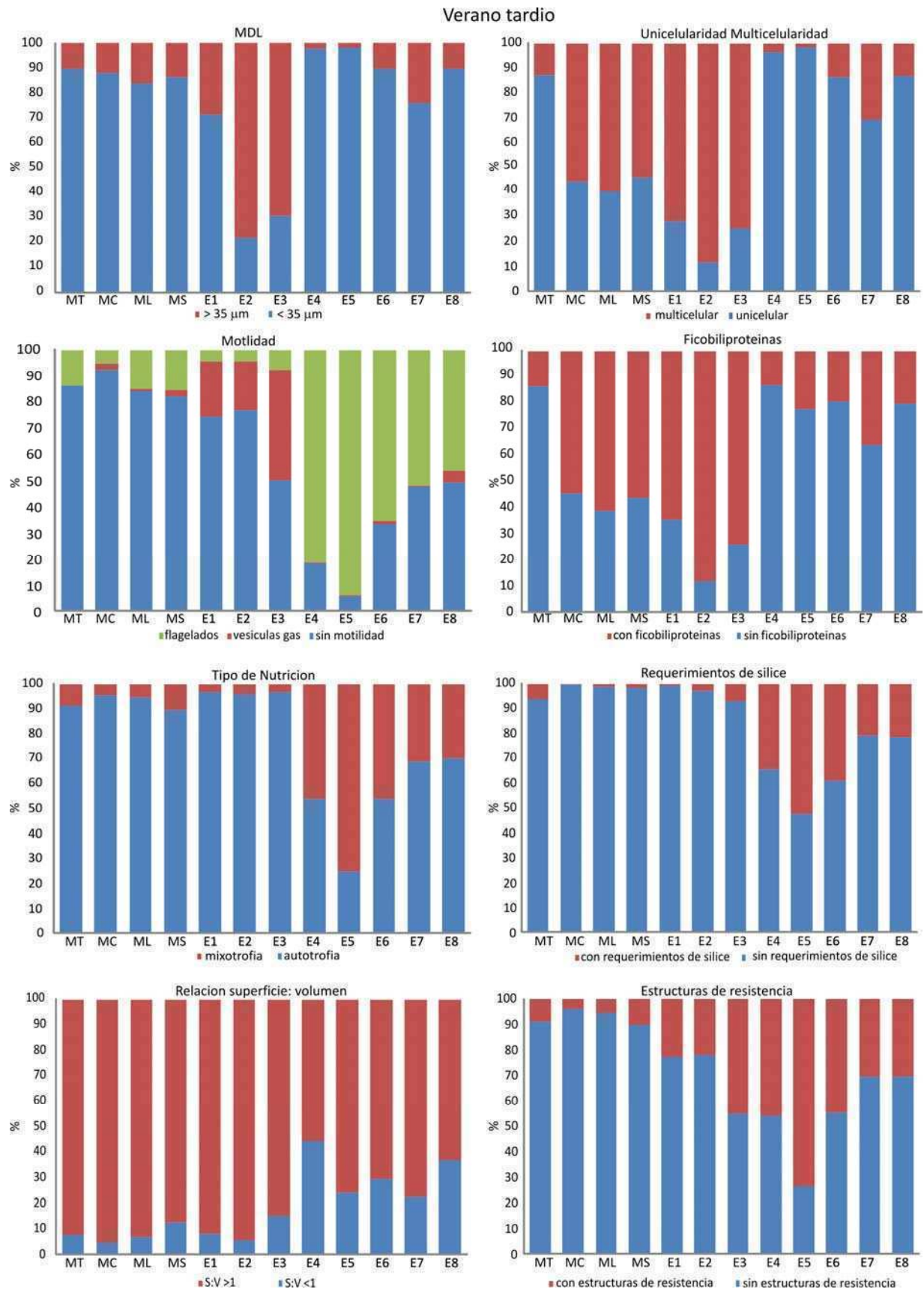


Fig. 7b-V. Rasgos ecológicos en verano tardío

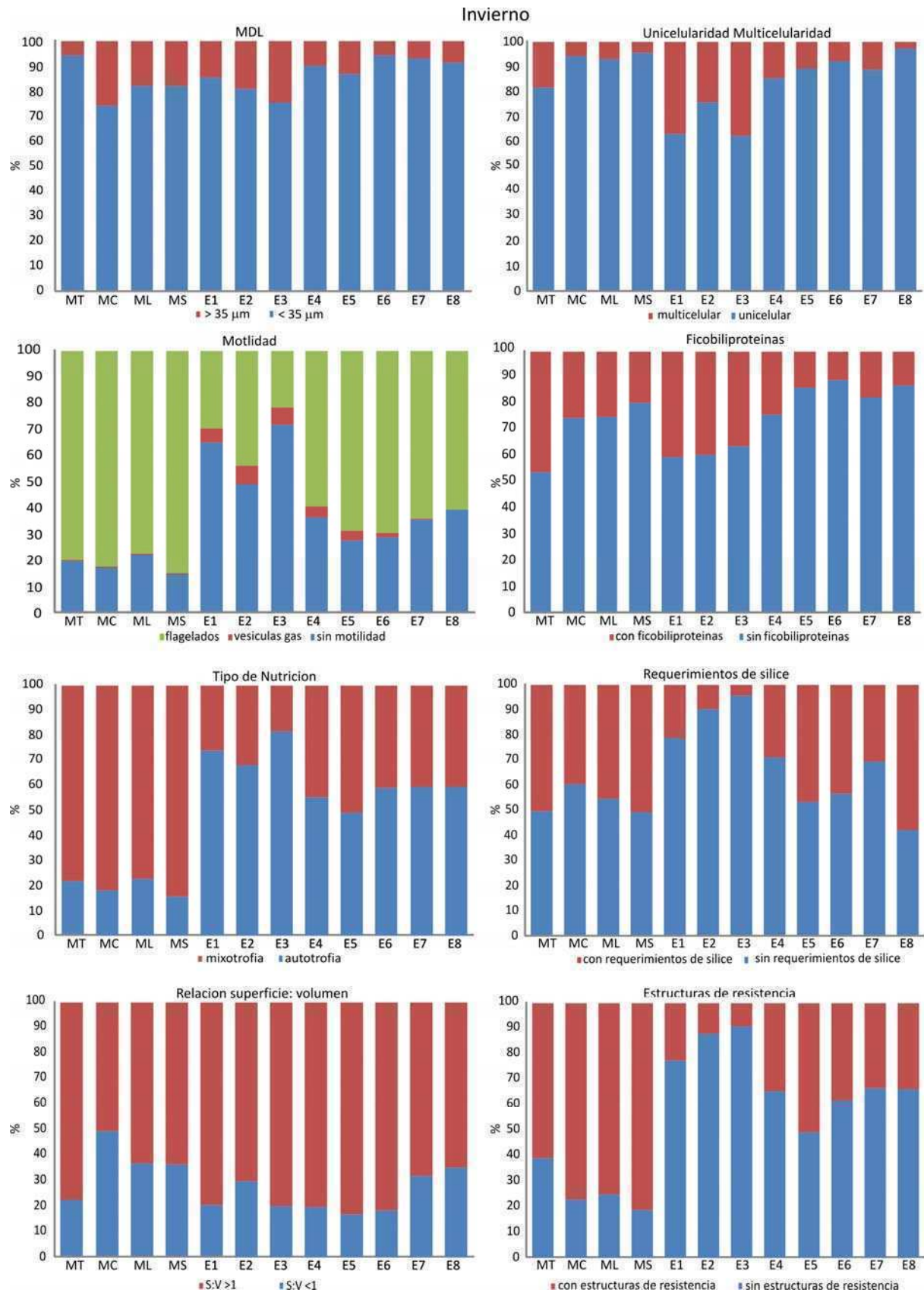


Fig. 7c-V. Rasgos ecológicos en invierno

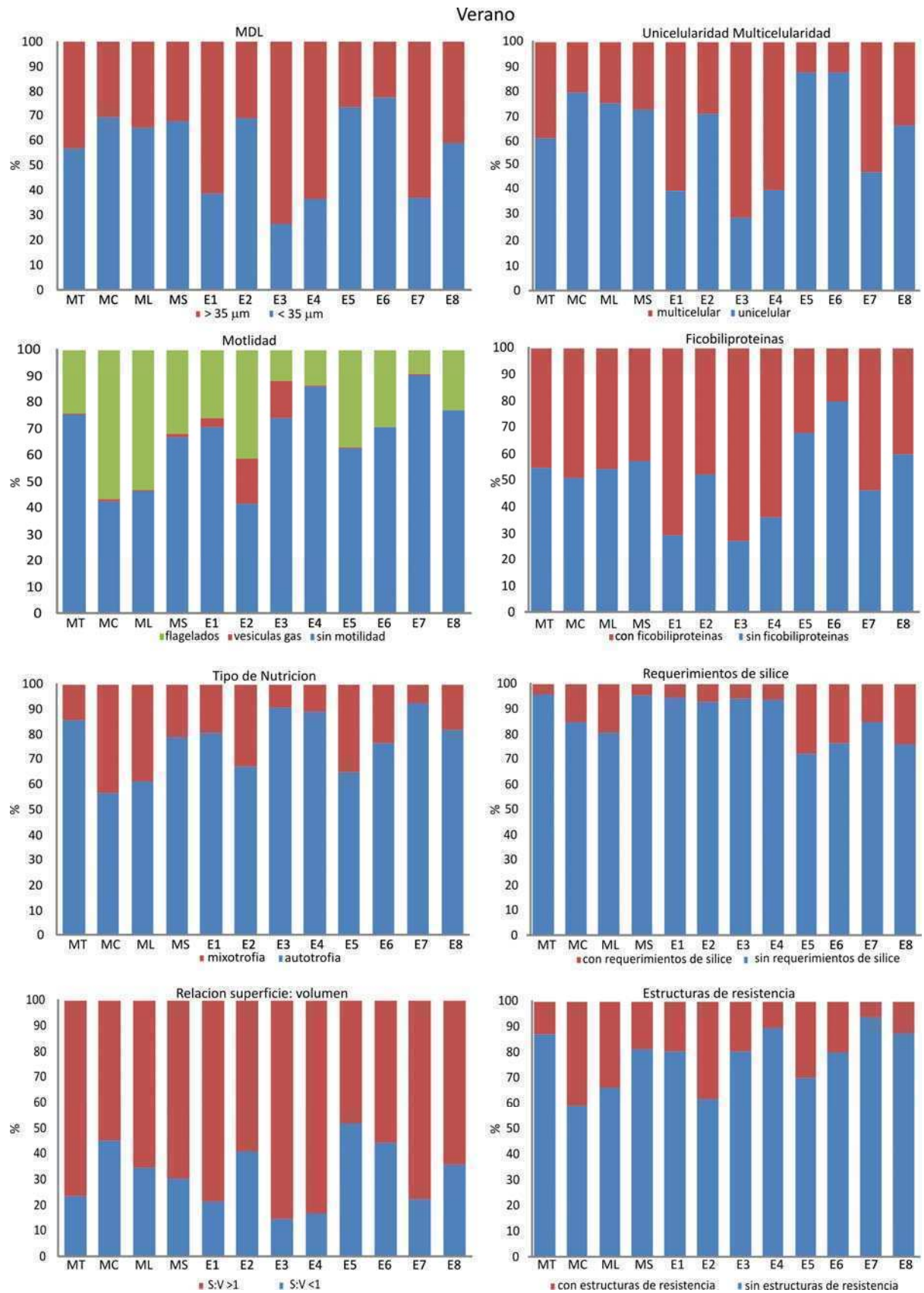


Fig. 7d-V. Rasgos ecológicos en verano

Variable	Período	Media	p
Oxígeno	PFL-dominancia	2.5	0.174
	PFL-esporádica	5.3	
pH	PFL-dominancia	5.9	0.000*
	PFL-esporádica	8.2	
Conductividad	PFL-dominancia	1255	0.033*
	PFL-esporádica	2868	
Temperatura	PFL-dominancia	15	0.031*
	PFL-esporádica	24	
Profundidad	PFL-dominancia	49	0.137
	PFL-esporádica	37	
Fosfato	PFL-dominancia	272	0.011*
	PFL-esporádica	1114	
NID	PFL-dominancia	177	0.274
	PFL-esporádica	193	
Densidad	PFL-dominancia	5.7E+03	0.007*
	PFL-esporádica	8.2E+04	
Biovolumen	PFL-dominancia	7.9E+06	0.107
	PFL-esporádica	1.2E+08	
Clorofila	PFL-dominancia	37	0.042*
	PFL-esporádica	95	
Riqueza sps.	PFL-dominancia	26	0.010*
	PFL-esporádica	45	
Riqueza GFx	PFL-dominancia	9	0.001*
	PFL-esporádica	14	
H dens GFx	PFL-dominancia	1.7	0.058**
	PFL-esporádica	2.4	
H biov GFx	PFL-dominancia	1.6	0.060**
	PFL-esporádica	2.2	

Tabla 1-V. Resultados del análisis de t de comparación de medias entre el período de PFL-dominancia y PFL-esporádica. * denota significancia de $p < 0,05$, ** denota significancia de $p \leq 0,06$.

fue más homogéneo debido a la ausencia de PFL. La composición fitoplanctónica, tanto en clases como en GFx, durante el período PFL-dominancia difirieron marcadamente entre los sitios con y sin PFL (Fig. 9a y c-V). Los meandros, que siempre estuvieron cubiertos por PFL estuvieron dominados por Cyanophyceae de grupos S_2 (filamentos delgados) y Z (picoplancton procarionte) y por Bacillariophyceae del grupo C y otras diatomeas ticoplanctónicas. Por el contrario, en la laguna Grande, generalmente libre de PFL, dominaron las Chlorophyceae del grupo X_1 y sub-dominaron las Cryptophyceae del grupo Y , las Cyanophyceae del grupo K y L_0 y las Bacillariophyceae ticoplanctónicas. Durante el período PFL-esporádica (Fig. 9b y d-V) el mejor clima lumínico favoreció a la clase Chlorophyceae con representantes del grupo X_1 y X_2 , seguida por las Cyanophyceae del grupo L_0 y S_1 , y por menores contribuciones

de Cryptophyceae del grupo Y , Chrysophyceae del grupo X_2 y Bacillariophyceae del grupo C . En ambos períodos, los sitios sin restricción lumínica presentaron composiciones algales (clases y GFx) similares.

Discusión

Período con ausencia de PFL (2004-2006)

En los ecosistemas de las llanuras de inundación el pulso hídrico es el eje moderador (Junk *et al.*, 1989). Sin embargo, en el período PFL-esporádica, las precipitaciones fueron las principales responsables del incremento de los niveles de agua en este ecosistema y no se registraron inundaciones. Si bien la amplitud total en la fluctuación del nivel de agua no fue marcada, fue suficiente para disparar procesos de conectividad. El mayor nivel hídrico (verano) generó homogeneidad en el ecosistema, tanto fisicoquímica como biológica, y se registró la mayor diversidad α y la menor diversidad β fitoplanctónica. Por el contrario, en los períodos de aguas bajas, se observó una mayor heterogeneidad ambiental tanto en las variables fisicoquímicas, como en la abundancia y en la composición fitoplanctónica. En el período hídrico más bajo (primavera tardía) se registraron las menores riquezas, aunque los índices de Shannon y Simpson evidenciaron valores elevados y similares a los de períodos de aguas intermedias debido

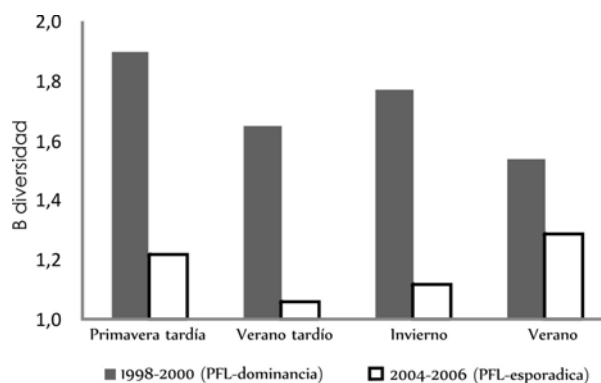


Fig. 8-V. β diversidad en los períodos de PFL esporádica y de PFL dominancia.

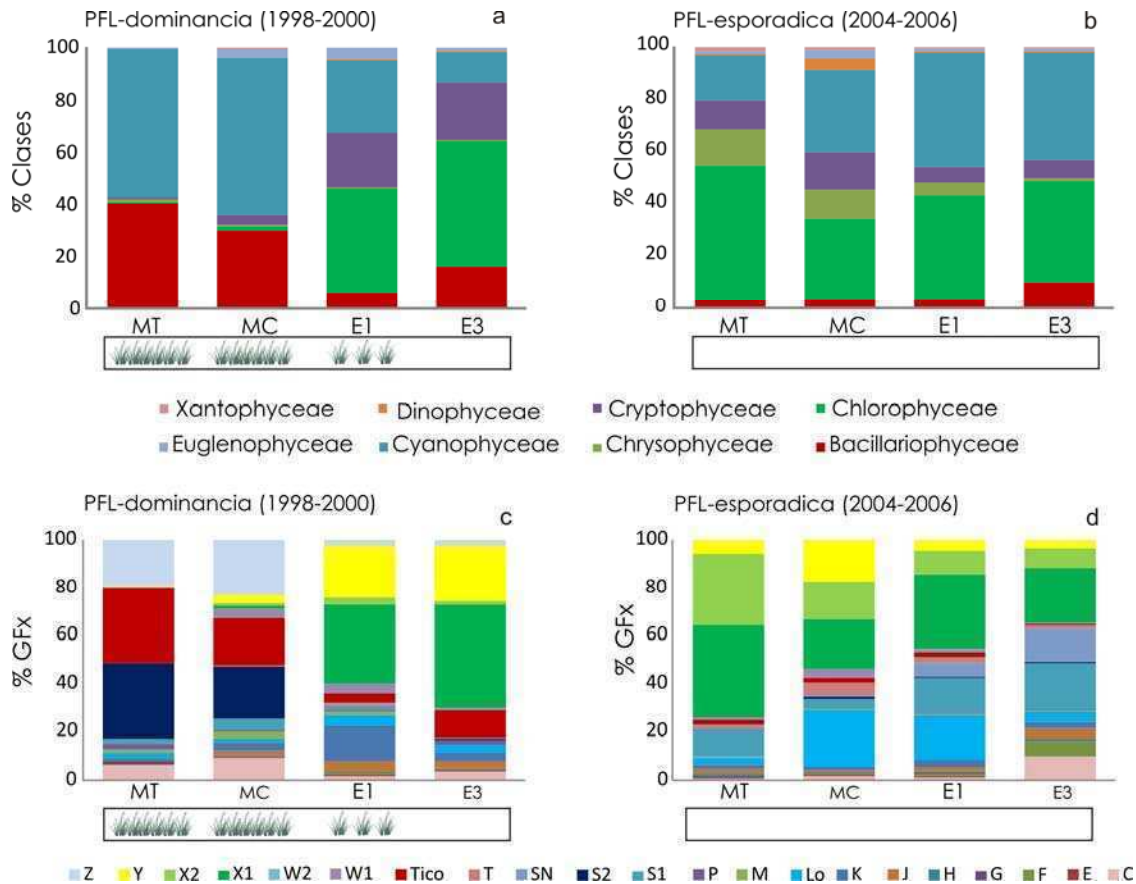


Fig. 9-V. Composición del fitoplancton en clases algales y grupos funcionales en los períodos PFL-dominancia (1998-2000) (a y c) y PFL-esporádica (2004-2006) (b y d). En el eje horizontal se denota la presencia de PFL en 1998-2000 en los sitios MT, MC (densa y persistente cobertura) y E1 (generalmente cubierta con PFL), en los demás sitios no hubieron PFL.

a una mayor equitatividad. Los resultados indican que en este ecosistema, el nivel hídrico afecta más a la β que a la α alfa diversidad, básicamente a través de mecanismos generados por la conectividad. Asimismo, las variaciones en diversidad α (Shannon y Simpson) dependen más de la equitatividad que de la riqueza.

Otro importante modelador del fitoplancton en este ecosistema es la disponibilidad de luz en la columna de agua. La disminución sub-superficial de la radiación fotosintéticamente activa se produjo principalmente por el alto contenido de sustancias húmicas y en algunas ocasiones por una densa cobertura de PFL. Cuando la cobertura de PFL fue densa se generaron

situaciones de oscuridad y bajos tenores de oxígeno. Sin embargo, la ocasional densa cobertura de PFL no afectó ni a la composición, ni a la diversidad, ni a la abundancia fitoplanctónica, y sus efectos sobre el ambiente físico químico fueron menores.

Los hábitats acuáticos en el humedal de Otamendi fueron siempre ricos en fosfato y silicato. El nitrógeno inorgánico disuelto (NID) siempre fue suficiente en los meandros. Sin embargo, en las lagunas su disponibilidad fue frecuentemente inferior a los valores considerados potencialmente limitantes para el crecimiento fitoplanctónico ($<100 \mu\text{g L}^{-1}$, Reynolds, 2006), de forma tal que puede considerarse

como el nutriente responsable de limitar el máximo crecimiento fitoplanctónico. En los meandros, las elevadas concentraciones de todos los nutrientes sugieren que el fitoplancton no estaría limitado por éstos recursos minerales; es probable que la luz sea el factor modelador de la respuesta fitoplanctónica, debido al alto contenido húmico de las aguas. En las lagunas, cuando el NID es totalmente consumido, la estructuración de la comunidad fitoplanctónica puede encontrarse regulada por la limitación del nitrógeno disuelto. Los altos valores registrados de NT (Izaguirre *et al.*, 2004, Rodríguez y Pizarro, *com. pers.*) sugieren que la mayor parte del NID se encuentra capturado en la biomasa.

Las comunidades fitoplanctónicas fueron muy diversas en el humedal de Otamendi, incluso durante la época invernal. La alta riqueza del ecosistema se debió probablemente a un alto "pool" regional de especies, a inviernos suaves, a una alta heterogeneidad fisicoquímica y a un alto régimen de disturbios (desplazamiento de matas de PFL, remoción de sedimentos, variaciones bruscas en el nivel de agua) característico de las llanuras de inundación. En este sistema dinámico, la variación en el ambiente fisicoquímico más que la competencia parece ser el mecanismo por el cual las comunidades fitoplanctónicas se estructuran. Es posible que la variabilidad física y la predación mantengan las poblaciones debajo de sus capacidades de carga, disminuyendo la importancia de la competencia. La heterogeneidad espacial y temporal observada fue alta, sugiriendo gran dinamismo del ecosistema y consecuentemente las condiciones de equilibrio serían raras, lo que resulta en una alta biodiversidad. O'Farrell *et al.* (2003) también registraron una falta de equilibrio en los ensambles fitoplanctónicos en las zonas pelágicas de la laguna Grande, donde las PFL estuvieron prácticamente ausentes. Sin embargo, en los meandros, permanentemente cubiertos por PFL, observaron que los ensambles fitoplanctónicos podrían considerarse en una

situación de equilibrio *sensu* Sommer *et al.* (1993). En los Capítulos I, II, y III se observó que la respuesta de la comunidad fitoplanctónica era retardada respecto al cambio ambiental, por lo que si las fluctuaciones son frecuentes no deberían evidenciarse cambios mayores en los atributos de comunidad fitoplanctónica. Lo contrario se espera en un ambiente poco fluctuante como los encontrados debajo de las densas matas de PFL.

Si bien la diversidad α fue similar en todo el período analizado, la composición funcional fue variando en las distintas estaciones climáticas analizadas. En invierno en todo el humedal y en verano tardío en la laguna Pescado, las Chrysophyceae del Gfx X₂ dominaron la estructura fitoplanctónica. La combinación de varios rasgos ecológicos en este Gfx (unicelular, pequeña talla, flagelados y mixotróficos, con estadios de resistencia y requerimiento de sílice) permite abarcar los tres ejes de la función ecológica (Fig.1-V). Así, la presencia de estados de resistencia aporta ventajas de reproducción, la pequeña talla y presencia de flagelos así como su capacidad mixotrófica, influyen sobre la adquisición de recursos. Otros Gfx recurrentes en el humedal fueron **Lo**, **M**, **K**, **S₁**, **S₂**, **S_N**, todas cianobacterias que comparten varios rasgos ecológicos y similares funcionalidades: posesión de ficobiliproteínas favoreciendo su desarrollo en las aguas coloreadas del humedal, multicelulares, lo que disminuye su palatabilidad, muchas tienen estructuras de resistencia permitiendo la viabilidad de las poblaciones en situaciones adversas y las vesículas de gas permiten controlar la posición respecto de los recursos en columnas de aguas calmas. Es interesante que, a pesar de la frecuente limitación por NID, no se observaron floraciones de cianobacterias fijadoras durante este período y que el rasgo fijación de nitrógeno estuvo pobremente representado. La identidad de una especie dominante está asociada a sus rasgos ecológicos y a las condiciones ambientales prevalentes, y éstos a su vez pueden afectar al funcionamiento del

ecosistema. La vía reversa también es válida ya que el ambiente fisicoquímico afecta las jerarquías de las especies dominantes dentro de los ensambles.

Comparación entre el período PFL-dominancia (1998-2000) y PFL-esporádica (2004-2006)

Meerhoff (2006) y Abdel-Tawwab (2006) sugirieron que el efecto de las plantas sobre el ecosistema es dependiente de la densidad o del volumen del lago poblado por las plantas, y también del estado trófico del lago. Durante el período PFL-dominancia el masivo desarrollo de PFL (cubriendo persistentemente la totalidad de los meandros relictuales y de la zona litoral de la laguna Grande) generó un control significativo sobre el fitoplancton tanto en su estructura como en sus atributos.

El efecto de sombreado generó una fuerte limitación por luz, anoxia y promovió temperaturas y pH bajos creando un ambiente que afecta negativamente el crecimiento fitoplanctónico. Asimismo, generó menores disponibilidades de nutrientes (particularmente fósforo) ya que las densas matas de PFL inmovilizan en su biomasa gran cantidad de nutrientes presentes en la columna de agua; el 39-78% de fósforo y 58-88% de nitrógeno (Rodríguez Gallego *et al.*, 2004). La diversidad α fue significativamente menor en PFL-dominancia que en PFL-esporádica, evidenciando el efecto negativo sobre el fitoplancton debido a la limitación por luz y los demás factores ambientales asociados. La diversidad β fue mayor en PFL-dominancia que en PFL-esporádica, debido a la heterogénea distribución de PFL que selecciona especies con valores críticos de luz bajos en los ambientes cubiertos por PFL, y lo opuesto en los ambientes bien iluminados y óxicos (sin PFL). Sin embargo, el pool de especies (diversidad gamma) fue similar en ambos períodos, proveyendo inóculos capaces de restablecer poblaciones

abundantes si la variación en la condición ambiental los favorece. Estas especies parecen constituir la memoria ecológica del sistema según el criterio de Padišák (1992).

La composición de la comunidad fitoplanctónica se vio muy afectada por la presencia/ausencia de PFL. En PFL-dominancia, la comunidad fitoplanctónica en los meandros se encontró conformada por taxa bien adaptados a bajas condiciones de luz de las clases *Caynophyceae* y *Bacillariophyceae*. En particular, entre las cianobacterias prevalecieron taxa pequeños y/o alargados, formas consideradas más eficientes en la captación de la luz (Kirk, 1994; Reynolds, 1997). Por el contrario, cuando las PFL estuvieron ausentes (laguna Grande en ambos períodos y en los meandros en PFL-esporádica), la comunidad fitoplanctónica estuvo mayoritariamente conformada por la clase *Chlorophyceae* que evidencian un buen rendimiento en altas intensidades lumínicas, por *Cryptophyceae* capaces de persistir en un rango de situaciones diferentes (Naselli-Flores y Barone, 2000), y también por *Cyanophyceae* coloniales y filamentosas de grandes dimensiones.

El pasaje de dominancia a la ausencia de PFL promovió procesos de eutroficación, con marcados incrementos de fósforo, pH, temperatura del agua y conductividad, y resultó en la dominancia de fitoplancton. Bicudo *et al.*, (2007) obtuvieron similares resultados al remover las PFL en un reservorio en Brasil. Estos resultados ponen de manifiesto el importante rol que juegan las PFL en la regulación del funcionamiento de los ecosistemas acuáticos someros. Cabe recalcar que el efecto sobre el ecosistema depende de la proporción del cuerpo de agua cubierto por PFL (Meerhoff, 2006; Abdel-Tawwab, 2006); en 2004-2006 la presencia esporádica de PFL no afectó al funcionamiento del ecosistema ni a la dominancia fitoplanctónica.

Discusión General

Las distintas aproximaciones utilizadas en este estudio ponen de manifiesto la influencia de las plantas flotantes libres (PFL) sobre el fitoplancton y sobre el ambiente físico químico a corto, mediano y largo plazo.

Mecanismos disparados por una densa cobertura de PFL

La persistente dominancia de PFL establece condiciones de cuasi oscuridad en la columna de agua, generando un control sobre el fitoplancton que se manifestó en abundancia y biomasa bajas, y en tasas de crecimiento disminuidas. La riqueza fue baja y sin embargo existió una elevada equitatividad lo que llevó a elevadas diversidades (Capítulo II). Tanto en los experimentos de laboratorio (Capítulo III) y de campo (Capítulo I y II), como a nivel del ecosistema (Capítulo I, Lago), la presencia de PFL homogenizó la respuesta fitoplanctónica generando ensambles con composiciones y abundancias similares, favoreciendo el desarrollo de especies morfológicamente y fisiológicamente adaptadas a baja luz. En estas situaciones, generalmente prevalecieron las cianobacterias. Asimismo algunas diatomeas y *Monoraphidium* tuvieron un mejor desempeño a irradiación baja. Las especies de cianobacterias presentes evidenciaron varias adaptaciones a baja disponibilidad lumínica y mostraron respuestas plásticas en sus rasgos ecológicos que favorecen su éxito ecológico. Así, las cianobacterias de los grupos funcionales **S2** (*Planktothrix agardhii*) y **SN** (*Raphidiopsis mediterranea*) evidenciaron presencia de vesículas de gas en casi la totalidad de las poblaciones (Capítulo I), permitiéndoles explotar los niveles más superficiales de la columna de agua donde las limitaciones de luz serían menores (Komárek *et al.*, 2003). Las cianobacterias del grupo **H** (fijadoras de nitrógeno) fueron capaces de saturar su

crecimiento a muy bajas irradiancias y sus tasas de crecimiento no se vieron mayormente afectadas (Capítulo IV). La ficobiliproteína prevalente en las poblaciones de cianobacterias analizadas fue la ficocianina probablemente debido a que las longitudes de onda dominantes en el ecosistema son rojas. Si bien la adaptación cromática no se manifestó (Capítulo IV), se observó plasticidad en la absorción de los picos de ficocianina, absorbiendo más en irradiancias bajas. Sin embargo, en condiciones de oscuridad total los pigmentos se degradaron y se interrumpió la integridad de las acinetas.

La fuerte limitación de luz resultó el principal factor modelador de la estructura y de la composición del fitoplancton, mientras que la disponibilidad de nutrientes y la relación N:P jugó un rol modelador menor (Capítulo III), aunque disparó distintas respuestas fisiológicas en la fijación del nitrógeno. La fijación de nitrógeno puede ocurrir a bajas irradiancias como se observó en el Capítulo III, pero este rasgo ecológico no se observó debajo de la cobertura de PFL en el ambiente natural (Capítulo I y II), incluso cuando el NID fue cercano a los valores disparadores de la fijación del nitrógeno.

Bajo la dominancia de PFL el picoplancton se mantuvo con bajas densidades, pero análogamente con la fracción nano y micro fitoplanctónica, prevaleció el picoplancton procarionte (Capítulo I). En el humedal de Otamendi Sinistro *et al.* (2006) encontraron que la oscuridad incrementaba las algas mixotróficas sobre las autotróficas, aunque eso no se ha observado en este estudio. El efecto de la presión de pastoreo sobre el fitoplancton en ambientes profusamente vegetados es considerada de importancia menor. Meerhoff *et al.* (2006) han observado que el zooplancton evade activamente a las PFL en vez de utilizarlas como refugio. En el Capítulo II, la comunidad de zooplancton en mesocosmos

con persistente cobertura (30 días en oscuridad y anoxia) estaba principalmente conformada por larvas nauplii, probablemente debido a que toleran mejor los bajos tenores de oxígeno. Fenchel y Finlay (1990) recalcaron que la anoxia continua genera cadenas alimentarias cortas debido a restricciones energéticas ya que la eficiencia de crecimiento de un eucariota anaeróbico es cuatro veces menor que su contraparte aeróbico.

La oscuridad persistente, tanto a corto, mediano y largo plazo, generó un ambiente fisicoquímico muy estable, caracterizado por anoxia, aguas levemente ácidas y temperaturas menores. Todos estos factores desfavorecen el desarrollo fitoplanctónico óptimo. A su vez, como se ha descrito anteriormente, la anoxia produjo incrementos en el contenido de nutrientes debido a la liberación de fosfato y amonio desde los sedimentos anóxicos (Caroco *et al.*, 2006; Beutel, 2006). Los resultados registrados a corto plazo (Capítulo I) sugieren que no hubo competencia por nutrientes entre las PFL y el fitoplancton, probablemente debido a la alta disponibilidad de nutrientes y/o un consumo bajo por las PFL que fueron de talla pequeña (*Lemna* sp.) y a la toma disminuida de nutrientes por parte de las bajas biomásas fitoplanctónicas. En el período 1998-2000, cuando el ecosistema se encontraba dominado por PFL la concentración de fosfato en la columna de agua fue marcadamente inferior (Capítulo V) que en el período de escasa prevalencia de PFL (2003-2006). Esto posiblemente se debió a que una gran fracción del fósforo estaría inmovilizada en la biomasa de las PFL, lo que indica la posibilidad de una mayor competencia por nutrientes con el fitoplancton. Sin embargo, las concentraciones se encontraban dentro de los valores considerados suficientes para el crecimiento fitoplanctónico ($> 3,5 \text{ P } \mu\text{g L}^{-1}$ y $> 100 \text{ N } \mu\text{g L}^{-1}$, Reynolds 2006), por lo que el fitoplancton no estaría limitado por la disponibilidad de los recursos minerales. Por

otro lado, cuando tanto las irradiancias como la disponibilidad de NID son bajas, el fitoplancton sufre una doble limitación que se refleja en biomásas disminuidas (Capítulo II y III).

La anoxia no pareció haber afectado al desarrollo fitoplanctónico en el humedal de Otamendi. Es posible que existieran ambientes micro-aeróbicos suficientes para permitir la fotosíntesis oxigénica, o bien que su pequeña talla les permitiera tolerar bajas tensiones de oxígeno. Sin embargo, Izaguirre *et al.* (ms) observaron en este humedal, que la anoxia favoreció el crecimiento de bacterias fotosintéticas anoxigénicas tanto en ambientes permanentemente o periódicamente anóxicos.

Mecanismos disparados por la ausencia de PFL

La ausencia sostenida de PFL determinó un estado de dominancia de fitoplancton, caracterizado por abundancias y biomásas algales elevadas, crecimiento acelerado y riqueza alta. Sin embargo, la diversidad estuvo más influenciada por la equitatividad que por la riqueza: fue baja en los mesocosmos descubiertos en el Capítulo II debido a la dominancia de un grupo fitoplanctónico, mientras que fue relativamente elevada en el ambiente natural en el Capítulo V. La disponibilidad de luz suficiente promovió la actividad fotosintética que derivó en buenas condiciones de oxigenación en la columna de agua y un consumo elevado de nutrientes por el fitoplancton. El máximo crecimiento fitoplanctónico en estos escenarios se encontró restringido por la disponibilidad de nitrógeno inorgánico disuelto (NID), recurso mineral que ha sido frecuentemente señalado como limitante en el humedal de Otamendi (Unrein, 2001) y otros sitios adyacentes al río Paraná (Carignan y Neiff, 1992).

En los sitios bien iluminados y pobres en NID, pequeñas fluctuaciones ambientales

generaron ensambles fitoplanctónicos muy diferentes, tanto en su composición como en su abundancia (Capítulo II). La relación N:P también jugó un importante rol en la estructuración de la comunidad fitoplanctónica: relaciones de N:P elevadas resultaron en la dominancia de Chlorophyceae que se vieron favorecidas por sus altas tasas de crecimiento en comparación con las cianobacterias. La prevalencia de Chlorophyceae ante un elevado suministro de nitrógeno ha sido observada a escala experimental en el laboratorio (Capítulo III), en los mesocosmos en el campo (Capítulo I) y en el relevamiento a campo (Capítulo V). Sin embargo, en altas irradiancias pero bajas relaciones N:P las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (CB-fij-N) dominaron. En el Capítulo II quedó en evidencia que las CB-fij-N fijaron nitrógeno atmosférico siempre que las concentraciones de NID fuesen inferiores a $100 \mu\text{g L}^{-1}$, pero su éxito ecológico estuvo determinado por la relación NT:PT. Sólo dominaron cuando las concentraciones de NT fueron inferiores a $900\text{-}1200 \mu\text{g L}^{-1}$; mientras que a valores de NT superiores, las Chlorophyceae dominaban el ensamble. Los valores de NT en el humedal de Otamendi frecuentemente se encontraron por encima de este valor, pudiendo explicar la prevalencia de Chlorophyceae sobre las CB-fij-N. Asimismo los altos valores de NT indican que este nutriente está en concentraciones suficientes para el crecimiento algal, aunque la mayor fracción del nitrógeno disuelto se encuentra inmovilizado en biomasa. Los resultados de esta tesis sugieren que la relación entre las fracciones totales (NT:PT) juega un rol preponderante en los patrones de dominancia en la comunidad fitoplanctónica, mientras que las concentraciones absolutas generalmente regulan las biomásas máximas. En sitios bien iluminados de las lagunas del humedal de Otamendi, no se observaron bacterias fotosintéticas anoxigénicas (Izaguirre *et al.*, ms) y las densidades de

picoplancton eucariota fueron más elevadas que el picoplancton procariota (Capítulo 1). En estas condiciones, Sinistro *et al.* (2007) observaron en el humedal de Otamendi que la presencia de zooplancton genera un control sobre el fitoplancton, los ciliados y los nano flagelados heterotróficos, generando una mayor disponibilidad de nutrientes, mientras que lo opuesto ocurre en situaciones de ausencia de zooplancton (Sinistro *et al.*, *op. cit.*), como las generadas por efectos en cascada de los peces.

Mecanismos disparados por la fluctuación en la cobertura de PFL

La fluctuación entre escenarios con dominancia de PFL y con dominancia de fitoplancton género alternancias en la jerarquía de los recursos limitantes: luz en dominancia de PFL y NID en dominancia de fitoplancton. También se observaron diferentes respuestas de resiliencia del sistema en respuesta a los cambios ambientales. El estado dominado por PFL fue resiliente al cambio ambiental provocado por la remoción de la densa cobertura macrofítica (Capítulo I) ya que solamente se observaron cambios marcados en la estructura del fitoplancton y en las variables físicas y químicas luego de un retardo de tres-cuatro días. Por lo tanto los desplazamientos en la cobertura de PFL con una duración menor al período de retardo no resultaría en cambios en el ecosistema. Sin embargo si las fuerzas externas forzantes (fuertes vientos, estacionalidad marcada o cambios bruscos del nivel hídrico) remueven permanentemente las PFL, se establecerá un nuevo estado dominado por fitoplancton. La composición de la comunidad fitoplanctónica resultante y las abundancias dependerán de los niveles de nutrientes existentes. La reorganización de la comunidad ocurre a partir de especies raras o poco frecuentes que mejoran sus competitividades debido al cambio ambiental (Flöder y Burns, 2005). Los rasgos ecológicos fitoplanctónicos que

adquieren una ventaja inicial son: talla pequeña, presencia o ausencia de flagelo y elevada tasa de crecimiento. Esto fue observado a escala de mesocosmos en el campo (Capítulo I) al remover la densa cubierta de PFL donde el mejoramiento del clima lumínico en un ambiente rico en nutrientes resultó en el reemplazo del ensamble “S” (cianobacterias filamentosas) por “X” (algas verdes mótilas y no mótilas). Las cianobacterias de los grupos funcionales S2 y SN evidenciaron pérdida de vesículas de gas como respuesta al mejor clima lumínico y la longitud de los filamentos se incrementó mostrando plasticidad frente a la variabilidad ambiental. Sin embargo, esto no les proveyó una ventaja adaptativa y fueron rápidamente desplazadas por las especies pioneras más competitivas. El reemplazo de especies producido por la variación de la luz, a un mismo nivel alto de N:P, también se observó en los ensayos de laboratorio (Capítulo III). Así, en alta luz y alta relación N:P dominaron las Chlorophyceae y en baja luz y alta relación N:P prevalecieron las CB-fij-N que funcionaron como no fijadoras (rol ecológico análogo al ensamble “S”: cianobacterias filamentosas no fijadoras de nitrógeno) debido a la elevada disponibilidad de NID.

Si bien partiendo de un estado de completa cobertura de PFL, la respuesta a la remoción de la cobertura fue lenta tanto para el ambiente fisicoquímico como para la comunidad fitoplanctónica (Capítulo II), cuando el sistema se encontraba dominado por fitoplancton y las PFL son desplazadas (ej. por efecto del viento) el incipiente efecto del sombreado genera cambios fisicoquímicos rápidos (anoxia y aumento de nutrientes por liberación desde los sedimentos), pero una respuesta fitoplanctónica lenta. Así, la reorganización de la comunidad, la disminución de abundancia, y la exclusión de especies fitoplanctónicas solamente se observaron luego de quince días de persistente oscuridad. Por lo tanto, si la invasión de las densas matas de PFL dura menos de 15 días,

no se deberían observar variaciones en la comunidad fitoplanctónica, incluso a pesar del marcado cambio fisicoquímico. Esto se observó en el Capítulo II, en el tratamiento con fluctuación periódica en la cobertura. Es interesante puntualizar que si bien la respuesta a nivel de la comunidad es lenta, la respuesta fisiológica de las algas es rápida, ya que rápidamente regulan el consumo de nutrientes en función de la disponibilidad de luz. Por ejemplo, en situaciones de oscuridad reciente el fitoplancton no incorpora nutrientes debido al incremento en los costos energéticos (Litchman y Klausmeier, 2004). Sin embargo, cuando la oscuridad es persistente el fitoplancton incorpora nutrientes, incluso a pesar de los altos costos energéticos (Litchman y Klausmeier, *op. cit.*), tal como fuera observado en el Capítulo II y III.

En la naturaleza la fluctuación en el régimen lumínico dependerá de la frecuencia del desplazamiento de las matas de PFL (número de días con y sin cobertura de PFL) y de la intensidad (% de cobertura) del disturbio. Thornley (1974) y Dromgoole (1988) demostraron que cuando la fluctuación de la luz ocurre a escalas de tiempo menores a las tasas de crecimiento de las algas, éstas integran la irradiancia. En este caso, el crecimiento debería ser igual a la tasa de crecimiento en condiciones de luz constantes de la misma irradiancia total ($\mu_{\text{fluctuación}} = \mu[(I_{\text{alta}} + I_{\text{baja}})/2]$), explicándose así los resultados de la experiencia con mesocosmos con cobertura fluctuante. Sin embargo, cuando las fluctuaciones son más prolongadas que la tasa de crecimiento, las algas ajustan sus tasas de crecimiento a las nuevas irradiancias. Las tasas de crecimiento serán el promedio de las tasas de los niveles de alta y baja luz ($\mu_{\text{fluctuación}} = [\mu(I_{\text{alta}} + I_{\text{baja}})]/2$), explicándose los efectos observados en persistente baja luz (Capítulo I y II).

Litchman (2000) utilizó las aproximaciones de Thornley (1974) y Dromgoole (1988) para estudiar los efectos de la fluctuación de la luz sobre las tasas de crecimiento,

estimándolas a partir de tasas de crecimiento obtenidos a luces constantes. Sus resultados evidenciaron que si las fluctuaciones ocurrían dentro de una misma zona de la curva de crecimiento (ej. dentro de la zona de saturación de crecimiento), el efecto de las fluctuaciones sobre el crecimiento era menor. Por el contrario, si las fluctuaciones de luz ocurrían entre las zonas de limitación y saturación del crecimiento, el efecto de las fluctuaciones era más importante. Sin embargo, no siempre las tasas observadas coincidieron con las predicciones realizadas a partir de la curva en luz constante (Litchman, 2000) y las extrapolaciones a la naturaleza deben ser tomadas con precaución, ya la limitación de nutrientes puede modelar las tasas de crecimiento tanto en alta como en baja irradiancia (Litchman *et al.*, 2002; Litchman *et al.*, 2003; Young y Beardall, 2005).

Efectos de las PFL sobre la dinámica de nutrientes del ecosistema: distintas escalas temporales

Las PFL pueden influenciar de forma marcada la dinámica de nutrientes en el ecosistema (Camargo y Esteves, 1995). Los efectos de la presencia de las PFL sobre el estado trófico del ecosistema fueron diferentes al ser analizados en escalas temporales cortas (de días y semanas, Capítulos I y II) o largas (años, Capítulo V). A corto plazo, la densa cubierta de PFL generó aumentos en la disponibilidad de nutrientes por liberación desde los sedimentos anóxicos, mientras que no se registró un consumo importante por parte de las especies prevalentes de PFL (*Lemna* sp., *Ricciocarpus* sp, ambas de pequeñas talla) ni competencia por nutrientes entre las PFL y el fitoplancton (Capítulo I). Por el contrario, cuando las PFL de mayor porte (*Pistia* sp.) fueron dominantes durante dos años en casi todo el ecosistema (1998-2000), la concentración de nutrientes fue baja pero suficiente para el crecimiento fitoplanctónico. Esto puede deberse a la

inmovilización de una gran fracción de los nutrientes disponibles en la biomasa de las PFL (Rodríguez Gallego *et al.*, 2004), ya que éstas pueden remover entre el 34-99% de N y el 14-99% de P disuelto en la columna de agua (Körner *et al.*, 2003). Asimismo, Abdel-Tawwab (2006) demostró que la remoción de nutrientes desde la columna de agua estaba directamente relacionada con la biomasa de PFL y que cuanto más profusa era la cobertura de PFL, mayor era la toma de nutrientes por unidad de biomasa.

A escala de tiempo de seis-ocho años, el pasaje de la dominancia (1998-2000) a la ausencia de PFL (2004-2006) resultó en un marcado aumento en las fracciones disueltas y totales de nutrientes, particularmente de fósforo. Bicudo *et al.* (2007) también evidenciaron hiper-eutrofización por remoción de la densa cobertura de PFL en una represa en Brasil. Es posible que en el humedal de Otamendi el marcado aumento de fósforo se deba también a la desaparición de las plantas sumergidas, observadas en el período 1998-2000 en el centro de la laguna Grande (O'Farrell, *com. pers.*), y a un aporte desde la cuenca. En la periferia de la reserva se encuentra el parque industrial de Campana, una zona de Landfarming, zonas de ganadería y agricultura (Delguy, 2007), pudiendo aportar fósforo al ecosistema. Hasta la actualidad no hay datos que cuantifiquen la carga de nutrientes que ingresa en el ecosistema y esta información sería necesaria para evaluar correctamente si el incremento en el PT se debe a la ausencia de PFL (que inmovilizaban la carga de nutrientes en su biomasa) o debido a un aumento de eutrofización generado por aportes de las zonas periféricas a la Reserva Natural de Otamendi. Por otro lado, el aporte de fósforo de los sedimentos, que recurrentemente son anóxicos debido a la gran demanda de oxígeno por la materia orgánica, podría también ser un factor relevante. Hasta la actualidad no se poseen datos de la carga de nutrientes aportada desde los sedimentos, aunque se obtuvieron

datos estimativos en el Capítulo II evidenciando que este aporte podría ser importante.

Estados Alternativos en Lagos Someros

Scheffer *et al.* (1993) plantearon la teoría de los estados alternativos para lagos someros caracterizando la alternancia entre dos estados atractores: uno claro con abundantes plantas sumergidas (PS) y otro turbio debido a la alta concentración de fitoplancton. Recientemente Scheffer *et al.* (2003) propusieron un nuevo estado alternativo caracterizado por la alternancia entre PFL y plantas sumergidas, y recalcaron la importancia de desarrollar un marco teórico en el que se incluya al fitoplancton. En esta tesis doctoral se ha abordado en detalle la alternancia entre los estados de dominancia por PFL y por fitoplancton. Los resultados obtenidos indican que existen paralelismos y diferencias entre los equilibrios alternativos PS-fitoplancton y PFL-fitoplancton. Así, en ausencia de PS y PFL el fitoplancton alcanza altas biomásas, y se acelera la eutroficación del sistema disminuyendo la transparencia. Por el contrario, tanto la dominancia de PS como de PFL ejercen un fuerte efecto negativo sobre el desarrollo fitoplanctónico, generando mayor transparencia y alteración en la disponibilidad de nutrientes. Cuando las PS son dominantes la diversidad fitoplanctónica es elevada, mientras que cuando las PFL dominan la diversidad disminuye; este efecto fue mayor sobre la riqueza y diversidad (Shannon y Simpson) de cada sitio (diversidad α), pero no sobre el ecosistema (diversidad γ). La β diversidad aumentó al incrementarse la heterogeneidad espacial generada por la distribución en parches o a lo largo de un gradiente de cobertura de PFL.

Si bien la alternancia de estados PS-fitoplancton ha sido ampliamente documentada, los ejemplos de estados PS-PFL y PFL-fitoplancton son escasos. Scheffer *et al.* (2003) propusieron que la cosecha de PFL llevaba a la dominancia de

PS, tal como ocurrió en el lago Kariba en África (Mitchell, 1968). Sin embargo, en el humedal de Otamendi, la ausencia de PFL no resultó en la dominancia de PS, sino en la dominancia fitoplanctónica. Lo mismo fue observado por Bicudo *et al.* (2007). Si la fluctuación es corta, prevalecerá el estado previo, ya sea dominancia de PFL o de fitoplancton. Asimismo, Abdel-Tawwab, (2006) demostró que los efectos de las PFL sobre el ecosistema dependerán del porcentaje del espejo de agua cubierto: porcentajes menores a 25% no generaban cambios ni en las comunidades acuáticas ni en el ambiente fisicoquímico, mientras que valores del 75% generaban una disminución en la biomasa fitoplanctónica y de zooplancton, anoxia y disminución en los nutrientes, como suele ocurrir con las plantas sumergidas.

Consideraciones finales

Los resultados volcados en esta tesis proveen evidencia del funcionamiento del fitoplancton y del ambiente fisicoquímico asociado en dos estados auto-estabilizados: i) dominancia de PFL, y ii) dominancia de fitoplancton. También se presentan las consecuencias eco-fisiológicas de la comunidad fitoplanctónica en respuesta a la alternancia entre estos dos escenarios. Los resultados sugieren que existe un estado alternativo estable entre PFL-fitoplancton, ya que se ha podido simular tanto en los experimentos como identificar en la naturaleza. Para identificar correctamente un estado alternativo estable se deben dar dos situaciones simultáneamente: a) debe haber histéresis en respuesta a los cambios y b) estados iniciales diferentes deben conducir a estados finales diferentes. La histéresis resulta de la integración de mecanismos de retroalimentación positiva y negativa entre una variable de estado y su tasa de cambio y se evidencia cuando una variable de estado del sistema sigue una trayectoria diferente en respuesta a los cambios. Las distintas respuestas de resiliencia del fitoplancton

frente al cambio ambiental, generado por la cobertura de PFL (presencia/ausencia), parecieran indicar que este proceso estaría ocurriendo. La respuesta del fitoplancton en estado de dominancia de PFL fue poco resiliente al mejoramiento del clima lumínico (disparado por la remoción de la cobertura), observándose una reorganización de la comunidad y un marcado incremento de las biomásas en pocos días. Por el contrario, las respuestas del fitoplancton en el estado dominado por fitoplancton mostraron una mayor resiliencia al cambio (generado por el sombreado de las PFL) ya que las respuestas a nivel de comunidad fueron observadas en escalas de semanas. Partiendo del estado de dominancia del fitoplancton, los disturbios periódicos gene-

rados por la fluctuación en la cobertura no fueron suficientes para desplazar el sistema fuera de ese estado auto-estabilizado de dominancia de fitoplancton, incluso a pesar que las condiciones fisicoquímicas variaron de forma marcada. Si bien estos resultados parecieran indicar la existencia de histéresis, esto debe ser probado empíricamente en condiciones controladas de laboratorio. Asimismo, el segundo requisito para la identificación de estados alternativos estables que requiere que “estados iniciales diferentes conlleven a estados finales diferentes”, todavía permanece sin explorar. En el futuro próximo se abordarán estas preguntas en experimentos de campo y de laboratorio.

Referencias

- Abdel-Tawwab, M. 2006. Effect of Free-Floating Macrophyte, *Azolla pinnata*, on Water Physico-Chemistry, Primary Productivity, and the Production of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), and Common Carp, *Cyprinus carpio* L., in Fertilized Earthen Ponds. *Journal of Applied Aquaculture*, Vol. 18(1): 21-41.
- Agawin NSR, Rabouille S, Veldhuis MJW, Servatius L, Hol S, van Overzee H.M.J. y Huisman, J 2007. Competition and facilitation between unicellular nitrogen-fixing cyanobacteria and non-nitrogen-fixing phytoplankton species. *Limnology and Oceanography* 52: 2233-48.
- APHA, American Public Health Association, 1992. Standard Methods for the examination of water and wastewaters, Washington DC, 1193 pp.
- Atlas Ambiental de Buenos Aires. 2008. <http://atlasdebuenosaires.gov.ar>
- Bachmann, R. W. y D. E. Canfield. 1996. Use of an alternative method for monitoring total nitrogen concentration in Florida lakes. *Hydrobiologia* 323:1-8.
- Beutel M.W. 2006. Inhibition of ammonia release from anoxic profundal sediments in lakes using hypolimnetic oxygenation. *Ecological Engineering*, 28: 271-279.
- Bicudo, D de C., Fonseca B. M., Bini, L.M., Crossetti, L. O., Bicudo, C. E. de M y Araujo-Jesus T. 2007. Undesirable side-effects of water hyacinth control in a shallow tropical reservoir. *Freshwater Biology* 52, 1120-1133.
- Bini, L. M., Thomaz, S. M., Murphy, K. J. y A. F. M. Camargo 1999. Aquatic macrophyte distribution in relation to water and sediment conditions in the Itaipú Reservoir, Brazil. *Hydrobiologia*, 415:147-154.
- Camargo A F. M. y Esteves F.A. 1995. Biomass and productivity of aquatic macrophytes in Brazilian lacustrine ecosystems. En: *Limnology in Brazil* (Eds. J.G. Tundisi, C.E.M. Bicudo y T. Matsumara Tundisi), pp. 136-149.
- Brazilian Academy of Sciences, Brazilian limnological Society, Rio de Janeiro.
- Caraco N., J.C. Cole, S. Findlay y Wigand C., 2006. Vascular plants as engineers of oxygen in aquatic systems. *Bioscience*, 56: 219-225.
- Carignan, R. y J. J. Neiff, 1992. Nutrient dynamics in the floodplain ponds of the Paraná River (Argentina) dominated by the water hyacinth *Eichhornia crassipes*. *Biogeochemistry* 17:85-121.
- Carpenter, S. R., y Lodge D. M. 1986. Effects of submersed macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany*. 26:341-370.
- Chaparro, G. 2007. Respuesta del zooplancton a distintos regímenes lumínicos producidos por la presencia de macrofitas flotantes en un humedal del Bajo Paraná, 54 pp. Tesis de graduación. FCEyN-UBA.
- Chichizola S. E. 1993. Las comunidades vegetales de la Reserva Natural Estricta Otamendi y sus relaciones con el ambiente. *Parodiana*, 8, 227-263.
- Clark D. R., Flynn K. J. y Owens N. J. P. 2002. The large capacity for dark-nitrate assimilation in diatoms may overcome nitrate limitation of growth. *New Phytologist*, 155: 101-108.
- Cohen-Bazire G., y Bryant D.A. 1982. Phycobilisomes: Composition and structure. En: *The Biology of Cyanobacteria*, ed. N.G. Carr y B. A. Whitton, pp. 143-90. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Connell J. H. 1978. Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, 199, 1302-1310.
- Crompton, W.G., Isenhardt, T.M. y Mitchell P.D. 1992. Nitrate and organic N analyses with second-derivative spectroscopy. *Limnology and Oceanography*. 37(4): 907-913.
- Cuenca del Plata, 1987. Evaluación de la calidad de las aguas y control de la contaminación. Segunda Reunión de Contrapartes Técnicas de los países de la

- Cuenca del Plata. Documento de Trabajo 021, 79 pp.
- Delguy, A. 2007. Diagnóstico ambiental de la Reserva Natural Otamendi y sus humedales. Seminario final de Licenciatura en Ciencias Ambientales. Facultad de Filosofía, Historia y letras. Universidad del Salvador. 84pp.
- Dromgoole, F. I. 1988. Light fluctuations and the photosynthesis of marine algae. II. Photosynthetic response to frequency, phase ratio and amplitude. *Functional ecology* 2: 211-219.
- de Tezanos Pinto, P., Allende L., y O'Farrell I. 2007. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. *Journal of Plankton Research*. 29: 47-56.
- Diakoff, S. y Scheibe, J. 1973. Action spectra for chromatic adaptation in *Tolypothrix tenuis*. *Plant Physiology* 51: 382-385.
- Downing, J. A., Watson S. B., y McCauley E. 2001. Predicting Cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* 58:1905-1908.
- Elber F y Shanz F. 1988. The causes of change in the diversity and stability of phytoplankton communities in small lakes. *Freshwater Biology* 21: 237-251.
- Falkowski PG y LaRoche J. 1991. Acclimation to spectral irradiance in algae. *Journal of Phycology*, 27: 8-14.
- Falkowski P.G. y Raven J. A. 2007. *Aquatic Photosynthesis*. Princeton: Princeton University Press. 500 pp.
- Fenchel, T. y Finlay, B. J. 1990. Anaerobic free living protozoa: growth efficiencies and the structure of anaerobic communities. *FEMS Microbiology, Ecology*. 74: 269-276.
- Flöder S, Urabe J y Kawabata Z. 2002. The influence of fluctuating light intensities on species composition and diversity of natural phytoplankton communities. *Oecologia* 41(5): 950-956.
- Flöder S. y Burns C. W. 2005. The influence of fluctuating light on diversity and species number of nutrient-limited phytoplankton. *Journal of Phycology*, 41, 950-955.
- Gross, E. M. 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 22, 313-339.
- Guillard R.R.L. 1975. Culture of phtoplankton for feeding marine invertebrates. En: Smith WL, Chantey MH (eds) *Culture of marine invertebrate animals*. Plenum, New York, pp 29-60.
- Heckman C. W. 1998. Ecosystem dynamics in the Pantanal of Mato Grosso, Brazil. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 26, 1343-1347.
- Helbling E. W., Villafañe V. E., y Holm-Hansen O. 1994. Effects of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. En: *Ultraviolet Radiation in Antarctica: Measurements and Biological Effects*. (Eds S. Weiler y P. Penhale), pp. 207—227. American Geophysical Union, Antarctic Research Series. Washington DC.
- Hillebrand, H., Durselen, C-D., Kirshstel D., Pollinger U. y Zohary T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424.
- Howarth, R. W., R. Marino, y J. J. Cole. 1988. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. 2. Biogeochemical controls. *Limnology and Oceanography* 33:688-701.
- Huisman J. y Weissing F.J. 1994. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology* 75: 507-20.
- Huisman, J., H. C. P. Matthijs, y P. M. Visser. 2005. *Harmful cyanobacteria*. Springer, New York
- Interlandi S.J y Kilham S. S. 2001. Limiting resources and the regulation of diversity in phytoplankton communities. *Ecology*. 82. 5. 1270-1282.
- Izaguirre, I., Sinistro, R., O'Farrell, I. Unrein, F. y Tell, G. 2001. Algal assemblages in anoxic relictual oxbow

- lakes from the Lower Paraná floodplain (Argentina). *Nova Hedwigia*, 123, 95-106.
- Izaguirre, I., I. O'Farrell, F. Unrein, R. Sinistro, M. dos Santos Afonso y G. Tell, 2004. Algal assemblages across a wetland, from a shallow lake to relictual oxbow lakes (Lower Paraná River, South America). *Hydrobiologia* 511: 25-36.
- Izaguirre, I., Pizarro, H., de Tezanos Pinto, P., O'Farrell, I., Pizarro, P., Unrein, F y Gasol, P. ms. Autotrophic picoplankton structure and productivity in environments with different light conditions in a South American wetland.
- Jeppesen, E., M. Søndergaard, M. Søndergaard, y K. Christoffersen. 1997. The structuring role of submerged macrophytes in lakes. Springer-Verlag, New York.
- Jeppesen E., Jensen J. P., Søndergaard M., Lauridsen T. y Landkildehus F. 2000. Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes: changes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology*, 45: 201-218.
- Juliarena de Moretti, C.E. 1982. La vida silvestre en el área de Otamendi. Serie Cuadernos de Ecología I. Fac. de Filosofía y letras. Instituto de Geografía "Romualdo Ardissoné".
- Jun S. y Dongyan L., 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331-1346.
- Junk WJ. 1997. The Central Amazon Floodplain. *Ecology of a Pulsing System*. *Ecol Stud* 126: 1-525.
- Junk W. J, Bayley P. B. y Esparks, R. 1989. The flood pulse concept in river floodplain systems. En: *Proceedings of the International Large River Symposium*. Ed by J. P. Podge p 110-127. *Canadians Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences*, Ohawa, Canada.
- Junk W.J. y Piedade M. T. F., 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. En: *The Central Amazon Floodplain in Ecology of a pulsing system*. W. J. Junk (Ed). Springer Berlin. pp 147-186.
- Kirk, J. T. O. 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press, Melbourne.
- Komárek, J., Komárková, J. y Kling, H. 2003. Filamentous cyanobacteria. En Wehr, J. D. and Sheath, R. G. (eds), *Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification*. Elsevier Science, San Diego, pp. 117-196.
- Komárek, J. y Zapomělová, E. 2007: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum*. 1st part: coiled types. *Fottea* 7(1): 1-3.
- Komárek, J. y Zapomělová, E. 2008: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum*. 2nd part: straight types. *Fottea* 8(1): 1-14.
- Korner, S., Vermaat J.E., y Veenstra S. 2003. The capacity of duckweed to treat wastewater: ecological considerations for a sound design. *Journal of Environmental Quality* 32: 1583-1590.
- Koroleff, F., 1983. Simultaneous oxidation of nitrogen and phosphorus compounds by persulfate. En: K. Grosshoff, M. Eberhodt y K. Kremling (eds.), *Methods of seawater analysis*. Verlag. Chemie, Wainheimer, Germany, 168-168 pp.
- Levine, S. N., y Schindler D. W. 1999. Influence of nitrogen to phosphorus supply ratios and physicochemical conditions on cyanobacteria and phytoplankton species composition in the Experimental Lakes Area, Canada. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* 56:451-466.
- Litchman E. 1998. Population and community responses of phytoplankton fluctuating light. *Oecologia*, 117: 247-257.
- Litchman E. 2000. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology*, 44, 223-235.
- Litchman E., y Klausmeier C. A. 2001. Competition phytoplankton under

- fluctuating light. *The American Naturalist*, 157, 171-187.
- Litchman E, Neale PJ, Banaszak AT. 2002. Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: photoprotection and repair. *Limnology and Oceanography* 47: 86-94.
- Litchman E, Steiner D, Bossard P. 2003. Photosynthetic and growth responses of three freshwater algae to phosphorus limitation and daylength. *Freshwater Biology* 48: 2141-48.
- Litchman, E., Klausmeier C.A. y Bossard P. 2004. Phytoplankton nutrient competition under dynamic light regimes. *Limnology and Oceanography* 49: 1457-1462.
- Litchman, E. y Klausmeier C.A. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 39: 615-639.
- Mackereth, F.J.H., Heron J. y Talling J.F., 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. *Scientific Publications of the Freshwater Biological Association*. 36: 1-120.
- Marker A.F.H., Nusch, A. Rai H. y Riemann, B. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv fur Hydrobiologie Beihandlung Ergebnisse der Limnologie*, 14: 91-106.
- Meerhoff M., Mazzeo N., Moss B. y Rodriguez-Gallego L. 2003. The structuring role of free floating versus submerged plants in a subtropical shallow lake. *Aquatic Ecology*, 37, 377-391.
- Meerhoff, M. y Mazzeo N., 2004. Importancia de las plantas flotantes libres de gran porte en la conservación y rehabilitación de lagos someros de Sudamérica. *Ecosistemas*, 13(2) (URL:<http://www.aeet.org/ecosistemas/042/revision1.htm>).
- Meerhoff, M., 2006. The structuring role of macrophytes on trophic dynamics in shallow lakes under a climate warming scenario. Tesis doctoral.
- Meerhoff M., Fosalba C., Bruzzone C., Mazzeo N., Noordoven W. y Jeppesen E.. 2006. "An experimental study of habitat choice by *Daphnia*: plants signal danger more than refuge in subtropical lakes". *Freshwater Biology* 51: 1320-1330.
- Miller, T. E., Burns J. H., Munguia P., Walters E. L., Kneitel J. M, Richards P. M., Mouquet N., y Buckley H. L. 2005. A critical review of twenty years' use of the resource-ratio theory. *American Naturalist* 165:439-448.
- Mitchell, D.S., 1969 The ecology of vascular hydrophytes on Lake Kariba. *Hydrobiologia*, 34: 448-64.
- Morales E.A., Trainor F. R. y Schlichting C.D., 2002. Evolutionary and ecological implications of plastic responses of algae. *Constancea* 83, (4): http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/morales_et_al/plasticity.html.
- Moss, B. 1990. Engineering and biological approaches to the restoration from eutrophication of shallow lakes in which aquatic plant communities are important components. *Hydrobiologia* 200-201: 367-377.
- Naselli-Flores, L. y R. Barone, 2000. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia* 438:65-74.
- Neiff, J. J. 1986. Aquatic plants of the Paraná system. En: Davies B. R., Walker K.F. (eds.). *The ecology of river systems*. Junk Dordrecht, Holanda, pp. 557-571.
- Noges, T., R. Laugaste, P. Noges, y I. Tonno. 2008. Critical N:P ratio for cyanobacteria and N₂-fixing species in the large shallow temperate lakes Peipsi and Vortsjarv, North-East Europe. *Hydrobiologia* 599:77-86.
- O'Farrell, I.; R. Sinistro, I. Izaguirre y F. Unrein, 2003. Do steady state assemblages occur in shallow lentic environments from wetlands? *Hydrobiologia*, 502, 197-209.

- O'Farrell, I., I. Izaguirre, P. Tezanos Pinto, R. Sinistro, H. Pizarro, P. Rodríguez, R. Lombardo, G. Chaparro, F. Unrein, & G. Tell. 2008. Tendencias a mediano-largo plazo de la cobertura macrofítica flotante y de la abundancia de fitoplancton en una laguna de inundación. IV Congreso Argentino de Limnología (CAL). Bariloche, 23 al 30 Octubre.
- Padisák, J. 1992. Seasonal succession of phytoplankton in a large shallow lake (Balaton, Hungary), a dynamic approach to ecological memory, its possible role and mechanisms. *Journal of Ecology*. 80: 217-230.
- Padisák, J., E. Soróczki-Pintér y Z. Reznér, 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an experimental study. *Hydrobiologia* 500: 243-257.
- Passarge J, Hol S, Escher M, Huisman J. 2006. Competition for nutrients and light: Stable coexistence, alternative stable states, or competitive exclusion? *Ecological Monographs* 76: 57-72.
- Pompêo, M. L. M y V. Moschini-Carlos, 2003. Macrófitas acuáticas e perifiton. Aspectos ecológicos e metodológicos. Sao Carlos, RiMa Editora, 124 pp.
- Powell, E., 1989. Oxygen sulfide and diffusion: why the biotic meiofauna must be sulfide-insensitive first-order respirers. *J. Mar. Res.* 47, 887-932.
- Revenga, C., y Mock G. 2000. Freshwater Biodiversity in Crisis. En: *Earth Trends*. World Resources Institute.
- Reynolds, C. S., 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds C.S. 1997. Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystems theory. En: Kinne, O (ed), *Excellence in Ecology*. ECI, Oldendorf, pp. 114-122.
- Reynolds, C. S. 1999. Non-determinism to Probability, or N:P in the community ecology of phytoplankton. *Archiv Fur Hydrobiologie* 146:23-35.
- Reynolds C. S. 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds C. S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli Flores y S. Melo, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417-428.
- Rhee G. Y. y Gotham I. J. 1981. The effect of environmental factors on phytoplankton growth – light and the Interactions of light with nitrate limitation. *Limnology and Oceanography* 26: 649-659.
- Richardson K, Beardall J. y Raven J. A. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytologist*, 93: 157-91.
- Rocap, G., F. W. Larimer, J. Lamerdin, S. Malfatti, P. Chain, N. A. Ahlgren, A. Arellano, M. Coleman, L. Hauser, W. R. Hess, Z. I. Johnson, M. Land, D. Lindell, A. F. Post, W. Regala, M. Shah, S. L. Shaw, C. Steglich, M. B. Sullivan, C. S. Ting, A. Tolonen, E. A. Webb, E. R. Zinser, y S. W. Chisholm, 2003. Genome Divergence in Two *Prochlorococcus* ecotypes Reflects Oceanic Niche Differentiation. *Nature* 424:1042-7.
- Rodríguez Gallego, L.R., Mazzeo, N., Gorga, J., Meerhoff, M., Clemente, J., Kruk, C. Scasso, F., Lacerot, G., García J. y F. Quintans, 2004. The effects of an artificial wetland dominated by free-floating plants on the restoration of a subtropical, hypertrophic lake. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 9: 203-215.
- Rodríguez P. y Pizarro H. 2007. Phytoplankton productivity in a highly colored shallow lake of a South American floodplain. *Wetlands*, 27: 1152-1159.
- Roijackers, R., Szabó, S. y Scheffer, M. 2004. Experimental analysis of the competition between algae and duckweed. *Archiv für Hydrobiologie* 160: 401–412.
- Scheffer M. y van Nes E. H. 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative

- regimes driven by climate, nutrients depth and lake size. *Hydrobiologia*, 584: 455-466.
- Scheffer, M., 1998. Ecology of shallow lakes. Population and Community Biology Series, 22. Chapman y Hall, London.
- Scheffer, M., S. H. Hosper, M-L Meijer, B. Moss y E. Jeppesen, 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in ecology and Evolution*, 8(8): 275-279.
- Scheffer, M., S. Szabó, A. Gragnani, E. H. van Ness, S. Rinaldi, N. Kautsky., J. Norberg, R. M. M. Roijackers y R.J.M. Franken, 2003. Floating plant dominance as a stable state. *PNAS*, 100(7): 4040-4045.
- Schindler, D. W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* 195:260-262.
- Sculthorpe C. D. (1967) The biology of aquatic vascular plants. Edward Arnold Publishers, London.
- Schwaderer, A., K. Yoshiyama, y E. Litchman. ms Meta-analysis of light-dependent growth in freshwater phytoplankton.
- Shannon, C. E. y Wiener W., 1949. The mathematical theory of communication. Univ Illinois Press, Chicago, 125 pp.
- Sinistro R., Izaguirre I. y Asikian V. 2006. Experimental study on the microbial plankton community in a South American wetland (Lower Paraná River Basin) and the effect of the light deficiency due to the floating macrophytes. *Journal of Plankton Research* 28, 753-768.
- Sinistro, R., Sanchez, M. L., Marinone, M. C e Izaguirre, I., 2007. Experimental study of the zooplankton impact on the trophic structure of phytoplankton and the microbial assemblages in a temperate wetland (Argentina). *Limnologica*. 37: 88-99.
- Smith, V. H. 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science* 221:669-671.
- Smith, V. H. 1986. Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green algae in lake phytoplankton. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* 43:148-153.
- Smith, V. H. 1992. Effects of nitrogen: phosphorus supply ratios on nitrogen fixation in agricultural and pastoral ecosystems. *Biogeochemistry* 18:19-35.
- Sommer U. 1995. An experimental test of the intermediate disturbance hypothesis using cultures of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 40, 1271-1277.
- Sommer U., Padisák J., Reynolds C. S. y Juhász-Nagy P. 1993. Hutchinson's heritage: the diversity-disturbance relationship in phytoplankton. *Hydrobiologia*, 249,1-7.
- Sunda, W., Graneli, E. y Glober, C. J., 2006. Positive feedback and the development and persistence of ecosystem disruptive algal blooms. *Journal of Phycology*, 42: 963-974.
- Stomp M, Huisman J, de Jongh F, Veraart AJ, Gerla D, Rijkeboer M, Ibelings B.W, Wollenzien U.I.A, Stal L.J. 2004. Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. *Nature* 432: 104-07.
- Talling, J. F. y J. Lemoalle 1998. Ecological dynamics of tropical inland waters, Cambridge University Press.
- Thornley, J. H. M. 1974. Light fluctuations and photosynthesis. *Annals of Botany* 38:363-373.
- Tilman, D., 1982. Resource Competition and Community Structure. Monographs in Population Biology 17. Princeton, New Jersey, Princeton University Press.
- Ting C.S., Rocap G., King J., y Chisholm S.W. 2002. Cyanobacterial photosynthesis in the oceans: the origins and significance of divergent light-harvesting strategies. *Trends in Microbiology* 10: 134-42.
- Underwood A. J. 1997. Experiments in Ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press, Cambridge.

- Unrein F. 2001. Efecto de los nutrientes y el pH sobre el crecimiento y la estructura del fitoplancton en ambientes de la llanura aluvial del Paraná inferior. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Utermöhl, M., 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik, MIH. Verh. int. Ver. Limnol., 9:1-38.
- van der Heide T., Roijackers R. M. M., van Nes E. H. y Peeters E. T.H.M. 2006. A simple equation for describing the temperature dependent growth of free-floating macrophytes. *Aquatic Botany*, 84: 171-175.
- Venrick E. L. 1978. How many cells to count? En: *Phytoplankton Manual* (Ed. Sournia A), pp. 167-180. UNESCO, Paris.
- Vitousek, P. M., K. Cassman, C. Cleveland, T. Crews, C. B. Field, N. B. Grimm, R. W. Howarth, R. Marino, L. Martinelli, E. B. Rastetter, y J. I. Sprent. 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* 57:1-45.
- Weithoff G., 2003. The concepts of plant functional types and functional diversity in lake phytoplankton: a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology*. 48: 1669-1675.
- Weyhenmeyer, G. A., Jeppesen E., Adrian R., Arvola L., Blenckner T., Jankowski T., Jennings E., Noges P., Noges T. y Straile D.. 2007. Nitrate-depleted conditions on the increase in shallow northern European lakes. *Limnology and Oceanography* 52:1346-1353.
- Williamson C. E., Morris D. P., Pace M. L. 1999. Dissolved Organic Carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography* 44: 795-803.
- Wilson, M.V. y Mohler, C.L. 1983. Measuring compositional change along gradients. *Vegetatio*, 54, 129-41.
- Whittaker, R. H. 1960. Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs*. 30: 279-338.
- Young E.B., Beardall J. 2005. Modulation of photosynthesis and inorganic carbon acquisition in a marine microalga by nitrogen, iron, and light availability. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 83: 917-28.
- Zalocar de Domitrovic Y. 1993. Fitoplancton de una laguna vegetada por *Eichhornia crassipes* en el valle de inundación en el río Paraná (Argentina). *Ambiente subtropical*, 3, 39-67.
- Zar, J. H. 1996. *Comparing Simple Linear Regression Equations*. Prentice Hall, New Jersey.
- Zonneveld C. 1997. Modeling the effects of photoadaptation on the photosynthesis-irradiance curve. *Journal of Theoretical Biology* 186: 381 – 88.

Anexo 1. Subsidios que financiaron mis estudios doctorales

La presente tesis se realizó con una Beca Nacional de Postgrado tipo I otorgada por el CONICET. Las investigaciones se realizaron en el marco de los siguientes subsidios nacionales e internacionales en los que colaboré:

- ANPCyT: “Biodiversidad de algas y sus interacciones bióticas de un humedal de la llanura de inundación del Bajo Paraná (Argentina)” BID 1201/OC-AR PICT 12332; UBACYT X195, Res. CS No. 1542/03. Directora: Dr. Irina Izaguirre
- 2004 PEI. Res CONICET 1194/03. Efecto de las macrófitas flotantes sobre el fitoplancton y el perifiton de un humedal del Bajo Paraná (Provincia de Buenos Aires, Argentina) Directora: Dra. O’Farrell
- 2005-2006. PIP 5355. Resolución CONICET N° 1227/05. Influencia de la fluctuación de la luz en la composición, diversidad y productividad del fitoplancton en un humedal del Bajo Paraná. Directora: Dra. O’Farrell.
- NSF Grant DEB 06-10531 and 06-10532. Directora: Dra. Elena Litchman

Asimismo, las investigaciones, cursos y congresos realizados en el exterior fueron financiados por las siguientes ayudas económicas, como titular.

- 2004. Student Research Scholarship Program. Otorgada por la Society of Wetlands Scientists (SWS), Estados Unidos. “Influence of floating macrophytes on the phytoplankton community in a wetland from the low Paraná Floodplain (Otamendi

National Reserve, Argentina): An experimental approach”.

- 2005. Student Research Scholarship Program. Otorgada por la Society of Wetlands Scientists (SWS), Estados Unidos. “Morphological plasticity of cyanobacteria under different light underwater climates in a pristine natural wetland (Otamendi National Reserve, Argentina): an experimental approach”.
- 2005. Financiamiento por parte de la Universidad de Estambul para la asistencia al 14th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology, Sapanca Turquía.
- 2006. Kellogg Biological Station Visiting Grad Fellowship. Otorgada por el Michigan State University. “Physiological, population and competition responses of ecologically important species of cyanobacteria to different light regimes”.
- 2007. Kellogg Biological Station (KBS) scholarship para participar en el curso “Enhancing linkages between Mathematics and Ecology”. MTH 490, Secciones 431-433. 3 semanas, Junio-Julio.
- 2007. G. H. Lauff Research Award. KBS. Michigan State University (MSU). “The role of phosphorous in the ecology and physiology of nitrogen fixing cyanobacteria”
- 2007. KBS Visiting Graduate Fellowship. KBS-MSU. “The role of phosphorous in the ecology and physiology of nitrogen fixing cyanobacteria”
- 2007. Tonolli Memorial Fellowship. Ayuda Económica para jóvenes limnólogos en países del tercer

- mundo. Societas Internationalis Limnologiae (SIL).
- 2008. British Phycological Society (BPS). Ayuda económica (600 dólares) para participar en el curso "The Determination Course of Freshwater and Terrestrial Cyanobacteria", České Budějovice, República Checa.
 - 2008. British Phycological Society. Ayuda económica (350 dólares) para participar en el 15th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology, Ramot, Israel.
 - 2008. Comité organizador de laIAP, ayuda económica (600 dólares) para participar en el 15th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology, Ramot, Israel.

Anexo 2. Caracterización de los Grupos Funcionales *sensu* Reynolds *et al.* 2002

Codon	Habitat	Especies representativas	Tolerancias	Sensibilidades
A	Lagos claros, bien mezclados	<i>Urosolenia</i> <i>Cyclotella comensis</i>	Deficiencia de nutrientes	Aumento de pH
B	Lagos pequeños o medianos, mesotróficos mezclados.	<i>Aulacoseira subartica</i> <i>Aulacoseira islandica</i>	Deficiencia de luz	Aumento de pH, agotamiento de sílice y estratificación
C	Lagos pequeños o medianos, eutróficos mezclados.	<i>Asterionella formosa</i> <i>Aulacoseira ambigua</i>	Deficiencia de luz y carbono	Agotamiento de sílice y estratificación
D	Lagunas enriquecidas, de aguas turbias, incluyendo ríos	<i>Synedra acus</i> <i>Nitzschia spp.</i> <i>Stephanodiscus hantzschii</i>	Lavado	Agotamiento de nutrientes
N	Epilimnion mesotrófico	<i>Tabellaria</i> <i>Cosmarium</i> <i>Staurodesmus</i>	Deficiencia de nutrientes	Estratificación y al incremento de pH
P	Epilimnion eutrófico	<i>Fragilaria crotonensis</i> <i>Aulacoseira granulata</i> <i>Closterium aciculare</i> <i>Staurastrum pingue</i>	Bajas intensidades de luz y a la limitación de C	Estratificación y agotamiento de sílice
T	Epilimnion profundo y bien mezclado	<i>Geminella</i> <i>Mougeotia</i> <i>Tribonema</i>	Deficiencia de luz	Deficiencia de nutrientes
S ₁	Estratos mezclados y turbios	<i>Planktothrix agardhii</i> <i>Limnothrix redekei</i> <i>Pseudoanabaena</i>	Condiciones de extremada baja luz	Lavado
S ₂	Estratos mezclados y turbios, poco profundos	<i>Spirulina</i> <i>Arthrospira</i>	Condiciones de extremada baja luz	Lavado
S _x	Estratos mezclados calidos	<i>Cylindrospermopsis</i> <i>Anabaena minutissima</i> <i>Raphidiopsis</i>	Condiciones de extremada baja luz y bajo nitrógeno	Lavado
Z	Estratos mezclados claros	<i>Synechococcus</i> Picoplancton procarionte	Bajos nutrientes	Deficiencia de luz y pastoreo
X ₃	Estratos mezclados claros y someros	<i>Koliella</i> <i>Chrysococcus</i> Picoplancton eucarionte	pH ácidos	Mezcla y pastoreo
X ₂	Estratos mezclados claros y someros	<i>Plagioselmis</i> <i>Chrysocromulina</i> <i>Chlamydomonas</i>	Estratificación	Mezcla, zooplancton filtrador
X ₁	Estratos mezclados someros en condiciones enriquecidas	<i>Chlorella</i> <i>Ankyra</i> <i>Monoraphidium</i>	Estratificación	Deficiencia de nutrientes, zooplancton filtrador
Y	Generalmente en lagos pequeños y enriquecidos	<i>Cryptomonas</i>	Baja luz	Pastoreo
E	Generalmente en lagos pequeños, oligotróficos o en charcos heterotróficos	<i>Dinobryon</i> <i>Mallomonas</i> <i>Synura</i>	Baja luz, cambian a la mixotrofia	Deficiencia de dióxido de carbono
F	Epilimnion claros	Chlorophytas coloniales <i>Botryococcus</i> <i>Pseudosphaerocystis</i> <i>Coenochloris</i> <i>Oocystis lacustris</i>	Baja nutrientes, y alta turbidez	Deficiencia de dióxido de carbono

Codon	Habitat	Especies representativas	Tolerancias	Sensibilidades
G	Columnas de agua cortas y ricas en nutrientes	<i>Eudorina</i> <i>Volvox</i>	Alta luz	Deficiencia de nutrientes
J	Lagos someros, rios y charcos enriquecidos	<i>Pediastrum</i> <i>Coelastrum</i> <i>Scenedesmus</i> <i>Golenkinia</i>		Precipitar hacia estratos con baja luz
K	Columnas de agua cortas y ricas en nutrientes	<i>Aphanothece</i> <i>Aphanocapsa</i>		Mezcla profunda
H₁	Nostocales fijadoras de nitrogeno	<i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Aphanizomenon</i>	Bajo nitrogeno bajo carbono	Mezcla, baja luz, bajo fosforo
H₂	Nostocales fijadoras de nitrogeno de lagos grandes mesotroficicos	<i>Anabaena lemmermani</i> <i>Gloeotrichia echinulata</i>	Bajo nitrogeno	Mezcla, baja luz
U	Epilimnion de verano	<i>Uroglena</i>	Bajos nutrientes	Deficiencia de dióxido de carbono
L_o	Epilimnion de verano en lagos mesotroficicos	<i>Peridinium</i> <i>Woronichinia</i>	Nutrientes segregados	Mezcla prolongada o profunda
L_m	Epilimnion de verano en lagos eutroficicos	<i>Ceratium</i> <i>Microcystis</i>	Muy bajo carbono	Mezcla, estratificacion pobre, luz
M	Estratos diariamente mezclados en lagos pequenos eutroficicos, lagos de latitudes bajas	<i>Microcystis</i> <i>Sphaerocavum</i>	Alta insolacion	Lavado, baja luz
R	Metalimnion de lagos mesotroficicos estratificados	<i>Planktothrix rubescens</i> <i>Planktothrix mougeotii</i>	Baja luz, gran segregacion	Inestabilidad de la columna de agua
V	Metalimnion de lagos mesotroficicos estratificados	<i>Chromatium</i> <i>Chlorobium</i>	Muy baja luz, gran segregacion	Inestabilidad de la columna de agua
W₁	Pequenos charcos organicos	Euglenoideos <i>Synura</i> <i>Gonium</i>	Muy baja luz, gran segregacion	Inestabilidad de la columna de agua
W₂	Pequenos lagos mesotroficicos	<i>Trachelomonas</i> de fondo	?	?
Q	Lagos someros humicos	<i>Gonyostomum</i>	Aguas coloreadas	?

Anexo 3. Especies, GFx y clasificación en rasgos ecológicos.

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Achnanthes biasoletiana</i> Grun.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Achnanthes cf. reversa</i> Lange-Bertalot et Krammer	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Achnanthes delicatula</i>	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Achnanthes exigua</i> Grun.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Achnanthes hungarica</i> Grun. in Cl. et Grun.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Achnanthes lanceolata</i> (Bréb.) Grun.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Achnanthes lemmermanii</i> Hustedt	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Achnanthes minutissima</i> Kütz.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Achnanthes</i> sp.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Actinastrum hantzschii</i> Kom. & Fott	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Amphora copulata</i> (Kütz.) Sch. et Arch./lybica	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Amphora</i> sp.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Anabaena minderi</i>	H	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Anabaena</i> sp.	H	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Anabaena sphaerica</i> Born. et Flah.	H	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	con e.res.	>1	sin Si
<i>Anabaenopsis circularis</i>	H	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	con e.res.	>1	sin Si
<i>Anabaenopsis elenkini</i> Miller	H	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	con e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Ankistrodesmus falcatatus (Corda) Ralfs</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Ankistrodesmus fusiformis</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Ankyra sp.</i>	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Anomoenoeis sp.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Anomoenoeis sphaerophora</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Aphanocapsa delicatissima plus</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aphanocapsa delicatissima W. and G.S. West</i>	H	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aphanocapsa elachista W. and G.S. West</i>	K	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aphanocapsa hyalina (Lingbye) Hansgirg</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Aphanocapsa roseana de Bary</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aphanothece clathrata W. et G. S. West</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Aphanothece nidulans</i> Ritcher in Wittrock & Nordestedt	K	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aphanothece smithi</i>	K	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Aphanothece spp.</i>	K	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Arthrospira cf. khannae</i> Drouet et Strickland	S2	gas vesicle	>35	unicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Aulacoseira ambigua (Grun.) Sim.</i>	P	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	con Si
<i>Aulacoseira granulata var. angustissima (Müll.) Sim.</i>	P	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	>1	con Si
<i>Aulacoseira granulata var. granulata (Ehr.) Sim.</i>	P	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	>1	con Si

Especies por orden alfabético	GfX	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Bacillaria paradoxa</i> Gmelin	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Bacillariophyceae n.i. (Pennales)</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Carteria sp.</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Chaetoceros muelleri</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Chlamydocapsa spp.</i>	F	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlamydomonas 1 (perita con dos flagelos)</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlamydomonas 10 oval</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Chlamydomonas spp.</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlamydomonas spp. EXTRA LARGE</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlorococal pequiña</i>	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chlorogonium fusiforme</i> Matwienko	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chodatella quadriseta</i>	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chromulina E2</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	>1	con Si
<i>Chroococcus minutus</i> (Kütz.) Nag.	Lo	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Chroococcus minimus</i> (Keissler) Lemm.	Lo	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chroococcus minor</i>	Lo	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Chroococcus sp.</i>	Lo	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Chroomonas</i> sp.	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	>1	sin Si
Chrysophyceae	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	>1	con Si
<i>Chrysophyceae flagelada</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	>1	con Si
<i>Closteriopsis aciculare</i>	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Closterium aciculare</i>	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Closterium acutum</i> var. <i>variabile</i> (Lemm.) Krieger	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Closterium</i> cf. <i>gracile</i> Bréb.	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Cocconeis placentula</i> Ehr.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Coelastrum microporum</i> Näg.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Coelomoron minimus</i>	M	gas vesicle	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Coelosphaerium dubium</i> Grun. in Rabh.	K	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i> Näg.	K	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Coelosphaerium minutissimum</i> Lemm.	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Coenocystis</i> cf. <i>micrococca</i> Kom. (3micro)	P	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Cosmarium angulosum</i> var. <i>concinnum</i> (Rabenh.) West & West	P	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Cosmarium</i> sp.	P	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Cosmarium subtumidum</i> Nords.	P	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Crucigenia cuadrata</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Crucigeniella crucifera</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Crucigeniella rectangularis (Näg.) Kom.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Cryptomonadal</i>	Y	flagellate	<35	unicel	con ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Cryptomonas erosa Ehrenb.</i>	Y	flagellate	<35	unicel	con ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Cryptomonas marssonii Skuja</i>	Y	flagellate	<35	unicel	con ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Cryptomonas ovata Ehr.</i>	Y	flagellate	<35	unicel	con ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Cyanosarcina cf.burmensis (Skuja) Kováčik</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Cyclotella chiquita</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Cyclotella meneghiniana Kütz.</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Cymbella mesiana Chohn.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Cymbella silesiaca Bleisch in Rabh.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Cymbella sp.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Diatoma sp.</i>	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Dichotomococcus curvatus Kors.</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Dictyochlorella cf. reniforme</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Dictyosphaerium ehrenbergianum Næg.</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabetico	Gfx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Dictyosphaerium pulchellum var. minutum</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Dictyosphaerium pulchellum Wood</i>	F	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Didimocystis fina</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Didimocystis planctonica</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Didimogenes anomala</i> (G. M. Smith) Hind.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Didymogenes palatina Schmidle</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Diploneis elliptica</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Diploneis smithii</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Epithemia cf.praerupta</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Epithemia sp</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Eucapsis cf. minor</i> (Skuja) Elenkin	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Eucapsis starmachii Kom. et Hindák</i>	K	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Eudorina elegans</i>	G	flagellate	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena 3</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena 7</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena acus Ehr.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena anabaena var minor</i> Mainx	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Euglena archeoplastidata/ phacus agilis</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena comunis Gojdics</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena ehrenberghii Klebs</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena gasterosteus (chiquit)</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	>1	sin Si
<i>Euglena ignobilis</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena oxyuris Schmarda</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena proxima</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena spp.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Euglena variabilis.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Eunotia arcus</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Eunotia spp.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Fragilaria construens (Ehr.) Grun.</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Fragilaria pinnata var. intercedens (Grun.) Hust</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Fragilaria ulna (Nitzsch.) Lange-Bertalot</i>	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Fragillaria construens var. venter (Ehr.) Hustedt</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Fragillaria en empalizada</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Mult	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Fusola viridis</i> Snow	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Gloeotila contorta</i>	T	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Golenkinia radiata</i> Chod.	J	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Golenkiniopsis solitaria</i> (Kors.) Kors.	J	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Gomphonema augur</i> Ehr.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Gomphonema clavatum</i> Ehr.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Gomphonema parvulum</i> Kütz.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Gomphonema spp.</i>	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Goniochloris falax</i>	J	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Goniochloris parvula</i> Pascher	J	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Goniochloris pulchra</i>	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Gyrosigma spp</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Hantzschia amphyoaxis</i> (Ehr.) Grun.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Kirchneriella aperta</i> Teil.	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Kirchneriella cf diana</i>	F	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Kirchneriella contorta</i> var. <i>elongata</i> (G. M. Smith) Kom.	F	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Kirchneriella irregularis</i> (G. M. Smith) Kors.	F	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Mult	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Lagerheimia chodati</i>	J	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Lagerheimia wratislaviensis Schrod.</i>	J	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Lepocinclis caudata da Cunha</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Lepocinclis fusiformis (Carter) Lemm. emend. Conr.</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Lepocinclis ovum</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Lepocinclis salina Hub.-Pest.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob con	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Leptolyngbya fragilis (Menegh.) Gomont</i>	S1	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Lobocystis sp.</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Lyngbya limnetica Lemm.</i>	S1	no motil	>35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Lyngbya spp.</i>	S1	no motil	>35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Mallomonas spp.</i>	E	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	con Si
<i>Merismopedia cf. minima Beck.</i>	Lo	no motil	<35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Merismopedia punctata Meyen</i>	Lo	no motil	<35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Merismopedia tenuissima Lemm.</i>	Lo	no motil	<35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Micractinium pusillum</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Microcystis aeruginosa (Kütz.) Kütz.</i>	M	gas vesicle	>35	multicel	sin ficob con	sin fij	autotrof.	con e.res.	>1	sin Si
<i>Microcystis firma (Kütz.) Schimidle</i>	M	gas vesicle	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Microcystis viridis</i> (A. Braun in Raben.) Lemm.	M	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korsch.) Hind.	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium caribeum</i> Hind.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Monoraphidium cf. convolutum</i> (Corda) Kom.-Legn.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium circinale</i> (Nyg.) Nyg.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thur. in Bréb.) Kom.-Legn.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium griffithi</i> (Berk.) Kom.-Legn.	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium komarkovae</i> Nyg.	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium minutum</i> (Nag.) Kom.-Legn.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium mirabile</i> (W. & G. S. West) Pankow	X1	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Monoraphidium subclavatum</i> Nyg.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Navicula capitata</i> Ehr.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula capitatoradiata</i> Germain	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula cryptocephala</i> Kütz.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula cuspidata</i> Kütz.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula halophila</i> (Grun.) Cl.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula peregrina</i> (Ehr.) Kütz.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilida	MDL	Uni/Mult	Ficob.	Fij- N	Nutricio	E. res.	S:V	Silice
<i>Navicula pupula</i> var. <i>nyassensis</i> (O. Müller) Lange-	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula pupula</i> var. <i>pupula</i> Kütz.	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula radiata</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula recens</i> cf	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula</i> sp.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Navicula viridula</i> var. <i>rostellata</i> (Kütz.) Cl.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Naviculita</i>	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	con Si
<i>Neidium dubium</i> (Ehr.) Cl.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Neodesmus</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Nitzschia</i> cf <i>capitellata</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia sigma</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia</i> sp.	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia vermicularis</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia acicularis</i> (Kütz.) Smith	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia acicularoides</i> Hust.	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia amphibia</i> Grun.	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia</i> cf <i>constricta</i> o <i>hantzshiana</i>	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si

Especies por orden alfabetico	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Nitzschia frustulum</i> (Kütz.) Grun.	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia gracilis</i> Hantz.	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia hungarica</i> Grun.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia levidensis</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia linearis</i> (Agardh) W. Smith	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) W. Smith	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia reversa</i> W. Smith	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Nitzschia umbonata</i> (Ehr.) Lange-Bertalot	C	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Oedogonium</i>	T	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Oocystis lacustris</i> Chod.	F	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Oocystis marssonii</i> Lemm.	F	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Oocystis solitaria</i> Wittr. in Wittr. & Nordst.	F	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Oocystis</i> sp.	F	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Ophiocytium belenophorus</i>	T	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Oscillatoria cf. amphigranulata</i>	S1	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Oscillatoria tabicada cels largas</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Oscillatoria agudizada en os 2 extremos</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si

Especies por orden alfabetico	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Pandorina morum</i>	G	flagellate	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Pediastrum boryanum</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Pediastrum duplex</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Pediastrum tetras (Ehr.) Ralfs.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Peridinium sp.</i>	Y	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	con e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus aenigmaticus</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus agilis</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus brevicaudatus (Klebs) Lemm.</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus cochleatus Pochm.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus contortus Bourr.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus curvicauda</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus ephippion</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus heimii Lef.</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus longicauda</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus orbicularis Hubn.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus pseudonordestii</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus pyrum</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabetico	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Phacus sp nov con cola</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus sp. nov.</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus spp.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus tortus (Lemm.) Skv.</i>	W1	flagellate	>35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Phacus viguieri All. et Lef.</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Pinnularia cf.acrosphaeria W. Smith</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Pinnularia sp.</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Plagioselmis nannoplantica</i>	X2	flagellate	<35	unicel	con ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktolynbya contorta (Lemm.) Anag. et Kom.</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktolynbya curvadita</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktolynbya limnetica</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktolynbya subtilis</i>	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktonema lauterbornii</i>	T	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Planktosphaeria gelatinosa G. M. Smith</i>	F	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Planktothrix aghardhii</i>	S1	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Pseudoanabaena catenata Lauterb.</i>	S1	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	con fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Pseudostaurastrum</i>	P	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabético	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Pteromonas sp.</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Quadricocus sp.</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Quadrigula sp.</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Raphidiposis mediterranea/Cylindrospermopsis raciborskii</i>	SN	gas vesicle	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	>1	sin Si
<i>Scenedesmus cf. disciformis</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus acuminatus (Lagerh.) Chod.</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus acunae</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus armatus Chod.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus bicaudatus (Hansg.) Chod.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus cf. brasiliensis Bohl.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus dimorphus (Turp.) Kütz.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus ecornis (Ralf.) Chod.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus intermedius var. acaudatus Hortob.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Scenedesmus intermedius var. balatonicus Hortob.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Scenedesmus linealis</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus oahuensis</i>	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus obtusus fa. alternans (Reinsch) Comp.</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabetico	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Scenedesmus opoliensis</i> P. Richt	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus ovalternus</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Breb.	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus smithii</i>	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus spinosus</i> Chod.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Scenedesmus</i> spp.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Schroederia indica</i> Philip.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Shroederia setigera</i> (Schrod.) Lemm.	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Spermatozopsis exultans</i>	X2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Sphaerocystis planctonica</i> (Korš.) <i>Bourr./schroeterri</i>	F	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Spirogyra</i>	T	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Spirulina</i> sp.	S1	no motil	>35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Staurastrum leptocladum</i>	P	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Strombomonas cf gibberosa</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Strombomonas cf. berrucosa</i>	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Strombomonas cf. fluviatilis</i> (Lemm.) Defl	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Strombomonas scabra</i> (Playf.) Tell et Conforti	W1	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabetico	GFx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Surirella ovalis</i> Bréb.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Surirella striatula</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Synedra</i> sp.	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Synedra tabulata</i>	Tico	no motil	>35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Synura</i> spp.	E	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	con Si
<i>Synura uvella</i>	E	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	con Si
<i>Tabellariasp.</i>	Tico	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	con Si
<i>Tetraedriella poligonum</i>	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedriella polychloris</i>	X1	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedriella regularis</i> (Kütz.) Fott	J	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedron caudatum</i>	X1	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedron longispinum</i>	X1	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedron minimum</i> (A. Br.) Hansg.	X1	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraedron triangulare</i> Korš.	X1	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetraplektron torsum</i> (Skuja) Dedusenko Segoleva	J	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetrastrum elegans</i> Playf.	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetrastrum heteracanthum</i> (Nordst) Chod.	J	no motil	>35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Especies por orden alfabetico	Gfx	Motilidad	MDL	Uni/Multi	Ficob.	Fij- N	Nutricion	E. res.	S:V	Silice
<i>Tetrastrum komarekii</i> Hind.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Tetrastrum staurogeniaeforme</i> (Schröd.) Lemm.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Tetrastrum triangulare</i> (Chod.) Kom.	J	no motil	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	>1	sin Si
<i>Thalassiosira</i>	C	no motil	<35	unicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	con e.res.	<1	con Si
<i>Trachelomonas cf intermedia</i>	W2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Trachelomonas fluviatilis</i>	W2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Trachelomonas volvocina</i> Ehr.	W2	flagellate	<35	unicel	sin ficob	sin fij	mixotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Trichodesmus lacustre</i> Klebs	S1	gas vesicle	<35	multicel	sin ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si
<i>Woronichinia elorantae</i> Kom. et Kom.-Legn.	Lo	no motil	<35	multicel	con ficob	sin fij	autotrof.	sin e.res.	<1	sin Si

Anexo 4. Artículos publicados y en preparación

Artículos publicados:

de Tezanos Pinto, P., Allende L., y O'Farrell I. 2007. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. *Journal of Plankton Research*. 29: 47-56

O'Farrell I., de Tezanos Pinto P. y Izaguirre I., 2007. A pattern of morphological variability in phytoplankton in response to different light conditions. *Hydrobiologia*, 578, 65–7

O'Farrell I, de Tezanos Pinto, P., Rodríguez P., Chaparro G. y Pizarro H. 2008. Experimental evidence of the dynamic effect of free-floating plants on phytoplankton ecology, *Freshwater Biology*. 54, 363-375

Artículos enviados a revistas indexadas de la especialidad

“Interactive effects of N:P ratios and light on nitrogen fixer abundance” de Tezanos Pinto Paula y Litchman Elena.

“Eco-physiological responses of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria to light”. de Tezanos Pinto Paula y Litchman Elena.

Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach

PAULA DE TEZANOS PINTO, LUZ ALLENDE AND INÉS O'FARRELL*

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET) AND LAB. LIMNOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA, GENÉTICA Y EVOLUCIÓN, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, C1428 EHA, BUENOS AIRES, ARGENTINA

*CORRESPONDING AUTHOR: ines@ege.fcen.uba.ar

Received April 6, 2006; accepted in principle August 4, 2006; accepted for publication October 3, 2006; published online October 9, 2006

Communicating editor: K.J. Flynn

*The influence of free-floating plants on the structure of natural phytoplankton was assessed using field mesocosms. Poor underwater light climate (natural macrophyte cover and dark mesh treatments) determined the dominance of shade-adapted, slow-growing filamentous and colonial cyanobacteria [S and L₀ functional groups; Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C. et al. (2002) Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.*, **24**, 417–428]. Biovolume and chlorophyll a (Chl a) remained low, anoxic conditions prevailed, pH was circumneutral and nutrient levels did not differ significantly. Conversely, the improvement in light availability by removal of floating plants brought about major changes on the phytoplankton and in the physicochemical environment: the S–L₀ assemblage was replaced by fast-growing unicellular green algae (X1 and X2) and eukaryotic picophytoplankton (X3) increased, anoxia was reverted and ammonium and phosphate concentrations decreased significantly. We propose that in warm nutrient-rich wetlands, the shading effect posed by floating plants is the driving force in shaping the phytoplankton and in determining a newly described alternative state. Notwithstanding, if the shading constraint is released, a strong phytoplankton enhancement occurs and nitrogen becomes limiting. This experimental approach confirms the behaviour of dominant functional groups as described in nature and thus reinforces the validity and deepens the comprehension of this novel scheme for phytoplankton control.*

INTRODUCTION

Free-floating plant dominance creates dark and anoxic underwater conditions that affect the functioning and biodiversity of freshwater ecosystems (Junk, 1997). In tropical and subtropical shallow lakes, free-floating plant dominant states occur frequently; however, their influence on the function of aquatic systems has been scarcely studied, and their structuring role in the phytoplankton assemblages is practically unknown (Meerhoff and Mazzeo, 2004). Free-floating plants affect phytoplankton biomass and composition because of the strong decline of available solar energy radiation

(Meerhoff *et al.*, 2003), through competition for nutrients and secretion of allelopathically active compounds (Gross, 2003).

In particular, light limitation affects the strategies and dynamics of phytoplankton by promoting pigmentation shifts and favouring the development of low critical light intensity phytoplankton species (Flöder *et al.*, 2002). In this way, phytoplankton species thriving under non-optimal light conditions have developed mechanisms for adjusting to the alteration in intensity, spectral distribution and periodicity of photosynthetic active radiation to maintain an efficient light harvest (Falkowski and La Roche, 1991). The different strategies

adopted by phytoplankton are related to morphological and physiological differences in size, shape, motility and nutritional status (Reynolds *et al.*, 2002; Kamenir *et al.*, 2004), which influence essential processes such as growth, sedimentation and nutrient acquisition (Weithoff, 2003).

Izaguirre *et al.* (Izaguirre *et al.*, 2001; Izaguirre *et al.*, 2004) and O'Farrell *et al.* (O'Farrell *et al.*, 2003) discussed the importance of a persistent floating macrophyte cover for the structure of the phytoplankton in the Otamendi National Reserve, a natural floodplain wetland of the River Paraná. Water bodies in this system are nutrient-rich and present large areas with extreme low underwater light intensities because of a dense and persistent cover of free-floating plants. The flora described in the above-mentioned studies comprised algal assemblages with high capacity to grow under light-limiting conditions.

The present study was designed to experimentally assess the influence of a dense and persistent free-floating plant cover on natural phytoplankton in the main shallow lake of the Otamendi Natural Reserve. Environmental change was simulated by removing the natural cover, and the response of the algal assemblages to different light underwater climates was explored. The functional group approach, conveying the notion of a group of species responding similarly to a single set of environmental conditions (Reynolds *et al.*, 2002), was used to describe the phytoplankton assemblages under each scenario. This experimental approach confirms the behaviour of dominant functional groups as described in nature and thus reinforces the validity and deepens the comprehension of this novel scheme for phytoplankton.

METHODS

Study site

The Otamendi Natural Reserve is a natural floodplain wetland located between the lower reach of the Luján and the Paraná de las Palmas River, Argentina (34°14'S, 58°50'W) (Fig. 1). The site includes two shallow lakes and several semi-permanent water bodies, some of which are relict oxbow lakes. The experiment was carried out in the 'Laguna Grande', the largest water body (28 ha) which contains an abundant vegetation composed of rooted and aquatic floating macrophytes. The most conspicuous floating plants are small and medium-sized species such as *Lemna minima*, *Wolffella oblonga*, *Azolla filiculoides*, *Pistia stratiotes* and *Salvinia rotundifolia* that are all sensitive to wind action.

Differences in underwater light conditions within the system are mainly reflected in the patchiness of the floating vegetation. In addition, waters in this wetland have a brownish colour because of high amounts of dissolved organic substances that further contribute to the attenuation of underwater light. The region has a temperate sub-humid climate, and the hydrological cycle is controlled by rainfall (annual mean of 950 mm). Drainage is poor and impacted by groundwater fluctuations; the area is flooded during heavy rainfalls and river high water periods (Chichizola, 1993).

Experimental design

The experiment was performed during late spring 2003, in the littoral area of the lake. The site was completely covered with floating macrophytes and presented no submerged plants. Nine circular enclosures (mesocosms hereafter) constructed of transparent polycarbonate material were placed and buried in the sediments to ensure isolation of the water column. Lateral light income was not expected because of the full coverage of floating plants outside the mesocosms. Each mesocosm had a volume of 180 L, a surface area of 1.6 m² and an average depth of 46 cm.

The experiment consisted of three treatments, carried out by triplicate: T1, dense intact floating vegetation cover corresponding to the natural system; T2, removal of floating vegetation cover and addition of a dark mesh on the water surface to imitate the light decline posed by floating plants and T3, removal of the floating vegetation cover allowing light penetration (Fig. 1). To assess possible enclosure effects, open water ('Lake' hereafter) was analysed with the same periodicity for all studied variables. Following the establishment of the mesocosms, a time lag of 2 h was allowed to restore the stability of the water column and sediments. Treatments were assigned at random to the mesocosms. The experiment started on 27 November 2003, and the sampling frequency was 2 h (t₀), 18 h (t₁), 24 h (t₂), 48 h (t₃), 72 h (t₄), 96 h (t₅) and 120 h (t₆).

Phytoplankton physical and chemical analyses

The following parameters were measured *in situ*: temperature, conductivity and pH with a HI 991301 Hanna, dissolved oxygen with a HI 9143 Hanna portable instrument and incident and underwater photosynthetically available radiation (PAR) with a Li-Cor PAR spherical quantum sensor. The light extinction coefficient was calculated following Kirk (Kirk, 1994). The dissolved fraction of nutrients was analysed after sample

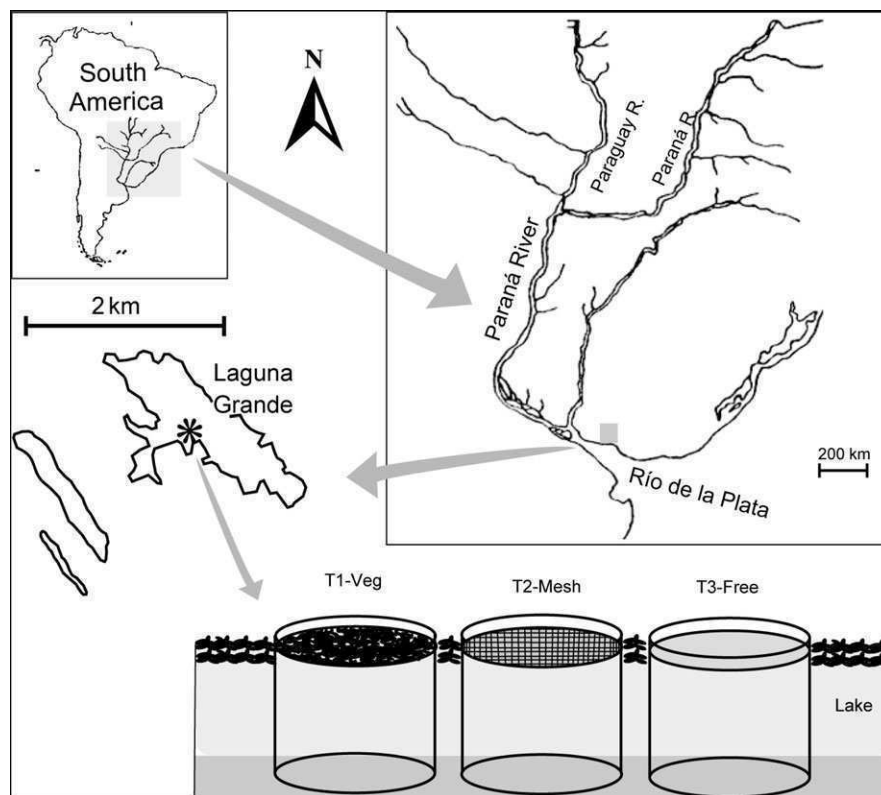


Fig. 1. Location of the study area in the Otamendi Natural Reserve. Treatments: T1, dense intact floating vegetation cover; T2, removal of floating vegetation and addition of a dark mesh; T3, free of vegetation cover.

filtration through fibreglass filters (Whatman GF/F); phosphate was analysed with the stannous chloride method, nitrate with the cadmium reduction method using Hach reagents and ammonium with the phenate method (American Public Health Association, 1992). Water samples for determination of phytoplanktonic chlorophyll *a* (Chl *a*) were filtered through fibreglass filters (Whatman GF/F) and stored at -20°C after which pigments were extracted with hot ethanol ($60-70^{\circ}\text{C}$). The Chl *a* concentration was measured with a spectrophotometer and calculated following Marker *et al.* (Marker *et al.*, 1980). Suspended solids were determined by drying the non-filterable (Whatman GF/C) residue at $103-105^{\circ}\text{C}$ until constant weight was obtained.

The taxa registered were classified in functional groups *sensu* Reynolds *et al.* (Reynolds *et al.*, 2002). Quantitative analyses of nanophytoplankton and microphytoplankton were performed on unfiltered samples fixed with acid Lugol iodine solution (1%) and counted with an inverted microscope according to Utermöhl (Utermöhl, 1958). The counting unit was the individual (cell, filament or colony), with 20% error for the most frequent species (Venrick, 1978). Samples for

quantitative analyses of heterotrophic (bacterioplankton) and autotrophic picoplankton (picophytoplankton) were collected at the initial (t_0) and final sampling dates (t_6) and preserved with ice-cold 2% glutaraldehyde. The samples were filtered through 0.2- μm Isopore (Millipore) black polycarbonate filters GTPB 02500 and mounted on a microscope slide with a drop of immersion oil for fluorescence (Immersol 518 F). Picophytoplankton cells were counted with a Zeiss Axioplan epifluorescence microscope equipped with an HBO 50W lamp, a plan-Apochromat 100X objective and a filter set for blue light excitation (eukaryotic picophytoplankton) (BP 450–490 nm, FT 510 nm, LP 520 nm) and green light excitation (prokaryotic picophytoplankton) (BP 546 nm, FT 580 nm, LP 590 nm) (Wynn-Williams, 1992; Rankin *et al.*, 1997). For picophytoplankton abundance estimates, a minimum of 20 fields and 400 cells were counted on each microscope slide—error below 15%. Biovolumes were estimated following Hillebrand *et al.* (Hillebrand *et al.*, 1999) and Jun and Dongyan (Jun and Dongyan, 2003). Relative abundance rather than relative biomass was used to describe the structure and behaviour of the assemblages, because biovolume underestimated the numerical importance of

numerous small-sized phytoplankton species frequent in this environment. Moreover, abundance variations reveal the performance of phytoplankton populations in terms of growth rates and decrease of losses, thus allowing the assessment of a short-term response to different light underwater climates.

Data analysis

The treatment effects (light condition) on Chl *a*, pH, oxygen concentration and nutrients were analysed using two-way repeated measures ANOVA (RM-ANOVA), with treatment as the main factor and time as repeated measures. To test for significant differences between treatments, *post hoc* comparisons were made by Student–Neuman–Keuls test (Underwood, 1997). When data did not meet the sphericity assumption, log 10 and square root transformations were performed. Sphericity was checked with the Mauchly test. Temporal changes in the structure of microphytoplankton and nanophytoplankton functional groups within and between treatments were analysed using the similarity index of Stander ($0 \leq \text{SIMI} \leq 1$) to compare samples pairwise (Elber and Shanz, 1988). The picoplankton fraction response to the treatment was analysed by one-way ANOVA, when normality and homogeneity of variance assumptions were fulfilled. A robust test of comparison of means (Zar, 1996) was performed when the latter assumption was not fulfilled. *A posteriori* (Duncan and Dunnett T3) contrasts were used to assess the differences among the treatments. Absolute difference in abundance [final abundance (t_6) – initial abundance (t_0)] was the variable used to study the responses to the treatments.

RESULTS

Physical and chemical factors

Subsurface underwater PAR ranged from 0.1 to 1.2 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in T1, 8–44 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in T2 and 86–787 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in T3, dropping surface photon flux by 99.9% in T1, 98% in T2 and 70% in T3. PAR values under the macrophyte cover in the Lake ranged from 1 to 2 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, which was similar to T1. The extinction coefficient was $K_d = 5 \text{ m}^{-1}$, indicating that PAR is strongly attenuated in the water column. Conductivity ranged from 1400 to 2000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ and water temperature from 20 to 28°C. For each sampling date, temperature was similar in all treatments and in the Lake. Anoxia initially occurred in all treatments and in

the Lake (Fig. 2a) and remained throughout the experiment in T1, T2 and in the Lake. Conversely, in T3, the anoxia was reverted at t_4 , to 3.6 $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, which was still below the saturation limit; however, in t_5 and t_6 , oxygen reached super saturation concentrations. In T3, pH increased from 7.3 to 8.5, with values in t_5 and t_6 significantly higher than those in T1 and T2 (Table I), which remained circumneutral (Fig. 2b). Suspended solids ranged from 18 to 40 mg L^{-1} with similar values within treatments (Fig. 2c); concentrations in the Lake were more irregular, probably because of sediment resuspension.

Concentrations of phosphate, ammonium and nitrate were within the range usually observed for eutrophic systems (Fig. 2d–f). Nutrient concentrations in T1 and T2 remained similar throughout the experiment (Table I), whereas in T3, significant decreases in ammonium and phosphate occurred after t_4 (Table I). For nitrate, no significant difference was detected among treatments (Table I).

Phytoplankton Chl *a*, biomass and abundances

Phytoplanktonic Chl *a* ranged from 13 to 425 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 3a). In T3, values after t_4 were significantly higher than those in T1 and T2 which showed no significant differences (Table I). Phytoplankton biomass in dim-light situations (T1, T2 and Lake) remained low and similar throughout the experiment, whereas in T3, final biomass values were 8-fold higher than initial values (Fig. 3b). As regards phytoplankton abundance, maximum abundance in T1, T2 and the Lake never exceeded 5.9×10^5 individuals mL^{-1} , with a mean of 1.2×10^5 individuals mL^{-1} . In T3, values ranged from 7×10^4 to 7×10^5 individuals mL^{-1} up to t_3 , with a mean of 2×10^5 individuals mL^{-1} ; after t_5 , abundances reached 1.9×10^6 individuals mL^{-1} (Fig. 3c). Picophytoplankton abundances at the onset of the experiment ranged from 2.1×10^5 to 3.3×10^5 cells mL^{-1} and remained similar at the end of the study in T1 and in the Lake, whereas final abundances in T2 and T3 were 1.5- and 3-fold higher, respectively (5.5×10^5 and 7.8×10^5 cells mL^{-1}). In terms of biomass, picophytoplankton never exceeded 2% of the total phytoplankton.

Phytoplankton functional groups

Phytoplankton analysis revealed a total of 250 specific and infraspecific taxa. The most abundant species corresponded to the functional groups S1, S2, S_N, L_o, X1, X2, X3 and Z proposed by Reynolds *et al.* (Reynolds *et al.*, 2002). Functional groups with <3% of

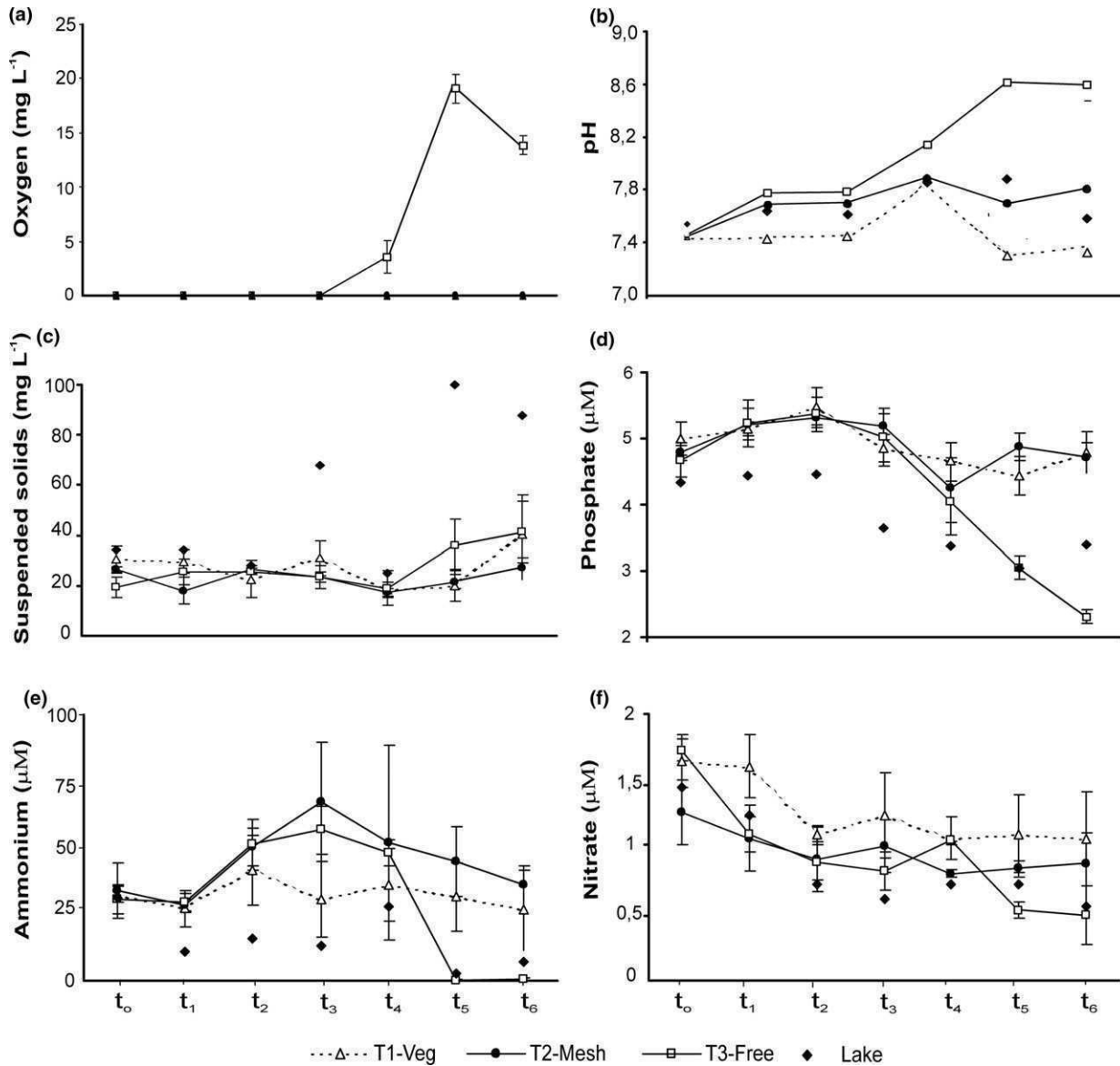


Fig. 2. Temporal variation of (a) dissolved oxygen, (b) pH, (c) suspended solids, (d) phosphate, (e) ammonium and (f) nitrate throughout the experiment in the three treatments and in the Lake. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

total abundance were grouped in ‘others’, comprising the following coda: C, D, E, F, G, H1, J, K, L_M, M, N, P, T, W1, W2 and Y. The relative abundance of the microphytoplankton and nanophytoplankton fraction at the onset of the experiment was characterized by filamentous and colonial blue greens algae: S1 (*Planktothrix agardhii*), S2 (*Planktolyngbya limnetica*), S_N (*Cylindrospermopsis raciborskii*) and L_o (*Merismopedia minima* and *Merismopedia tenuissima*). S2 dominated and was followed in decreasing importance by S1, S_N and L_o (Fig. 4a). This structure persisted throughout the experiment in T1 and in the Lake, but in T3, after 72 h, the S shade-adapted assemblage shifted to an X assemblage characterized

by unicellular small green algae: X1 (*Chlorella* spp., *Monoraphidium circinale* and *Monoraphidium komarkovae*) and X2 (*Chlamydomonas* spp.). In T2, the S assemblage continued to be dominant throughout the study; however, a slight increase in the X group was observed after 72 h. Both in T2 and in T3, S_N and S1 groups disappeared with time, whereas the relative abundances of S2 remained fairly constant (Fig. 4a). Abundances of S_N also decreased in T1, whereas they increased in the Lake, suggesting an enclosure effect. L_o increased in T1 after t₂, whereas in T2, T3 and the Lake it mainly remained constant throughout the experiment. As regards biomass, the phytoplankton structure and

Table I: Outcome of the post hoc comparisons (Neuman–Keuls) after the two-way repeated measures (RM-ANOVA) between treatments for consecutive sampling dates

	t ₀ -t ₂			t ₃			t ₄			t ₅			t ₆		
	T1/T3	T1/T2	T2/T3	T1/T3	T1/T2	T2/T3	T1/T3	T1/T2	T2/T3	T1/T3	T1/T2	T2/T3	T1/T3	T1/T2	T2/T3
PH	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.004	NS	0.012	0.004	NS	0.011
Dissolved oxygen	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.0002	NS	0.0001	0.0002	NS	0.0002	0.0002	NS	0.0002
Ammonium	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.019	NS	0.017	0.005	NS	0.029
Nitrate	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Phosphate	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.038	NS	0.043	0.008	NS	0.008
Phytoplankton abundance	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Chlorophyll a	NS	NS	NS	nc	nc	nc	NS	NS	NS	0.037	NS	0.015	0.017	NS	0.02

Significant *P*-values are indicated. nc, not compared; NS, non-significant.

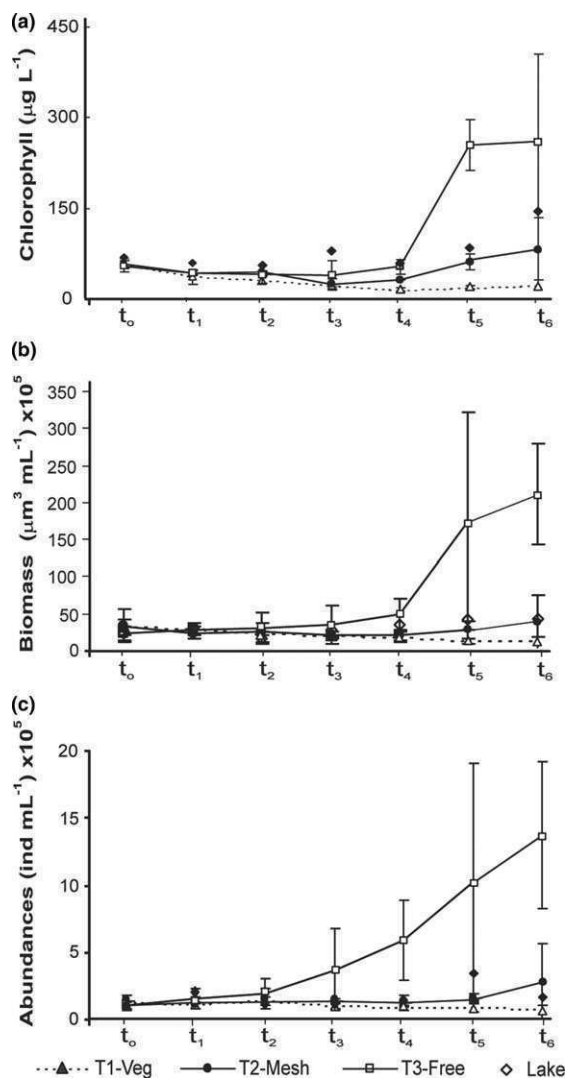


Fig. 3. Temporal variation of phytoplankton (a) chlorophyll *a*, (b) biomass and (c) abundance throughout the experiment in the three treatments and in the Lake. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

behaviour were similar to those described for relative abundance, S2 and L₀ being of less importance because of their small biomass (Fig. 4b). The picophytoplankton fraction was represented by Z (*Synechococcus*-like cells) and X3 (*Chlorella*-like picoeukaryotes) functional groups, with initial dominance of Z over X3 in all treatments (Fig. 5). At the end of the experiment (t₆), picophytoplankton abundances remained similar to those in t₀ in T1, T2 and Lake, whereas in T3, X3 abundances increased significantly ($P < 0.0001$) (Fig. 5).

The pairwise comparison between consecutive temporal samplings within each treatment revealed a similar functional group structure for T1, T2 and the Lake (SIMI > 0.95) (Table II). As regards T3, the index remained similar up to t₄ (SIMI > 0.99), but at t₅, it dropped (SIMI < 0.64) reflecting the shift in the structure observed for this treatment. Likewise, the SIMI index between treatments indicated similar structures for T1/T2, T1/Lake and T2/Lake (SIMI > 0.74) (Table III). T3 remained similar to these treatments up to t₄ (SIMI > 0.84), but from t₅ onwards, the phytoplankton functional group structure markedly differed from that in T1 and the Lake (SIMI < 0.66). At t₆, the structure between T2/T3 became more similar (SIMI = 0.83) (Table III).

DISCUSSION

Physical and chemical variables

The initial conditions of the experiment reflected environmental features recurrently observed in wetlands where free-floating plants show profuse development: anoxia produced by the strong biochemical oxygen demand of large amounts of organic material combined with hindered surface oxygen diffusion and decreased light penetration (Junk, 1997; Scheffer *et al.*, 2003).

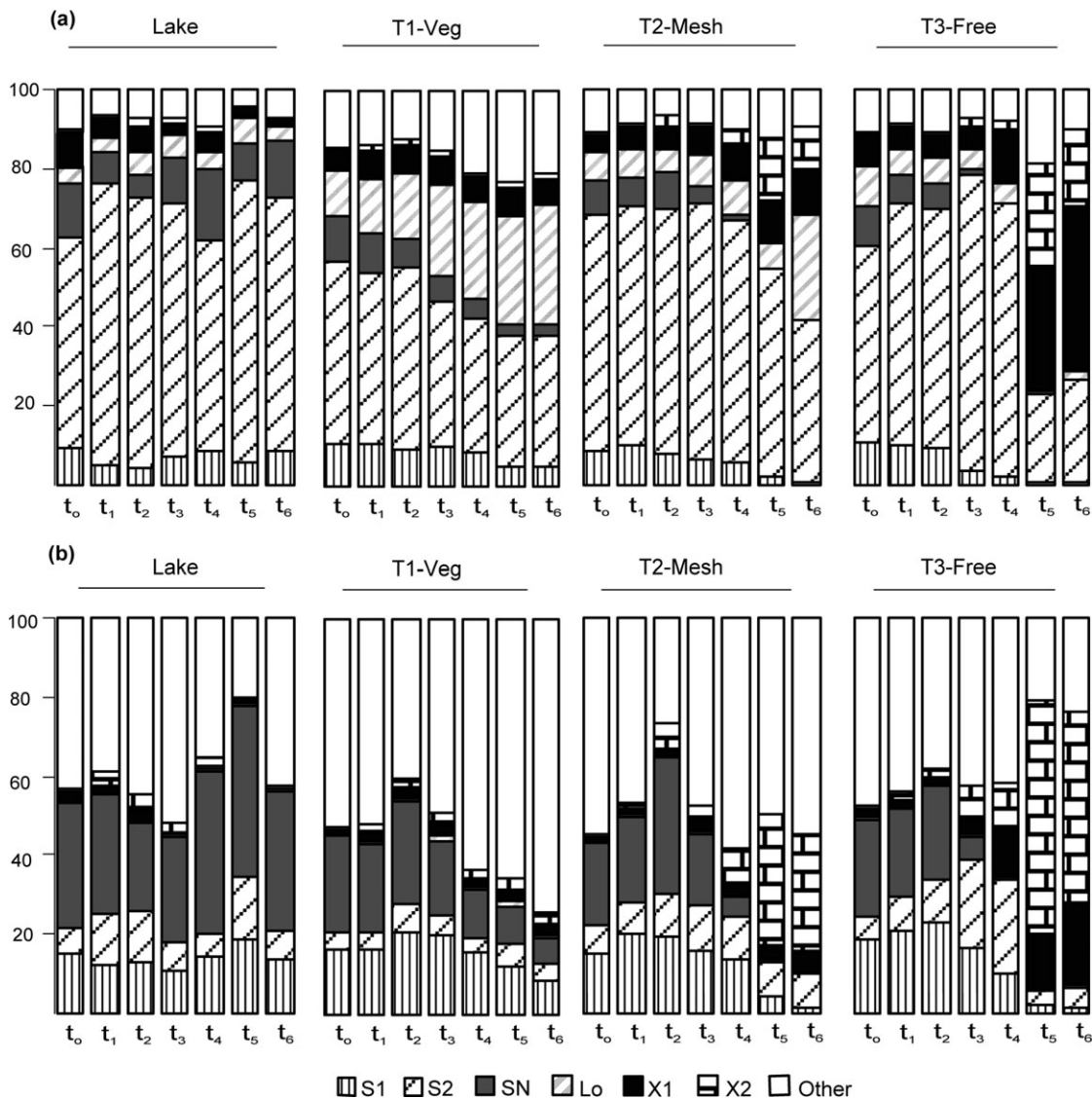


Fig. 4. Phytoplankton functional group structure for the three treatments and for the Lake throughout the experiment: (a) relative abundance and (b) relative biomass. S1 (*Planktothrix agardhii*), S2 (*Planktolyngbya limnetica*), S_N (*Cylindrospermopsis raciborskii*) and L_o (*Merismopedia minima* and *Merismopedia tenuissima*), X1 (*Chlorella* spp., *Monoraphidium circinale* and *Monoraphidium komarkovae*), X2 (*Chlamydomonas* spp.) and others (C, D, E, F, G, H1, J, K, L_M, M, N, P, T, W1, W2 and Y).

This scenario persisted under the natural (T1 and Lake) and artificial (T2) covers; the underwater light climate was very poor, mainly because of the shadowing by the floating covers and the high vertical attenuation coefficient in the water column. Furthermore, results showed no significant nutrient decrease in either the natural or the artificial cover treatments, probably because of the prevailing high nutrient concentrations and the low nutrient requirements of the small-sized species dominating the macrophyte community. Thus, in this experiment, floating plants might not compete with phytoplankton for nutrients. Our observations concur with those of Meerhoff *et al.* (Meerhoff *et al.*, 2003) who

suggested that the impact of free-floating macrophytes on bottom-up mechanisms depends greatly on plant biomass and cover and that originally prevailing high nutrient concentrations can dampen such mechanisms. In the dim-light scenarios where PAR remained below values continuously and directly regulating photosynthesis (Reynolds, 1997), phytoplankton biomass remained low and rather constant throughout the experiment, even under high nutrient concentrations. Thus, the effect of shading seems of major importance, whereas the effect of plants themselves, regarding nutrient consumption and exudation of allelochemically active compounds, appears to be of minor importance.

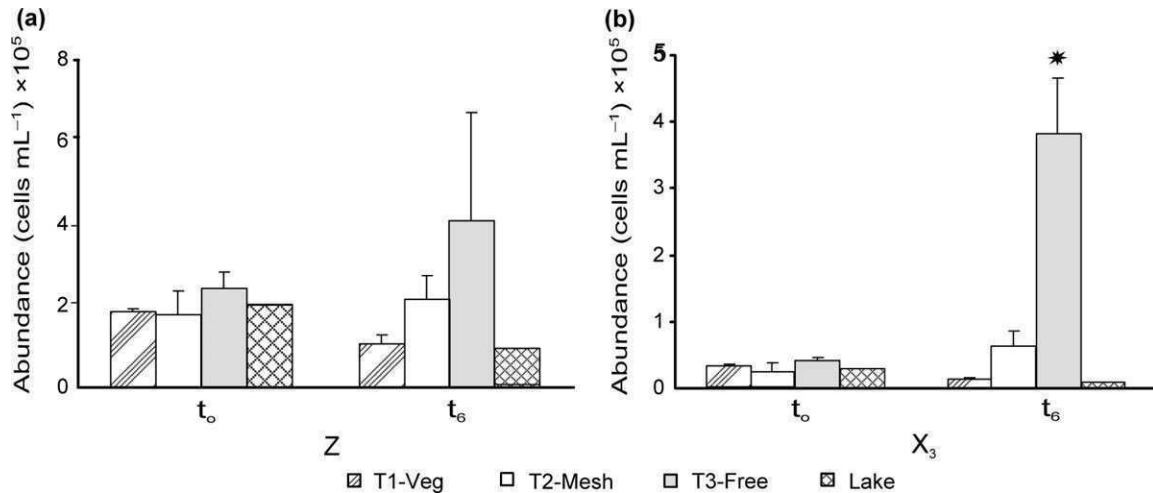


Fig. 5. Abundance of the pico-sized functional groups at t_0 and t_6 in the three treatments and in the Lake (a) Z (*Synechococcus*-like) prokaryotic picophytoplankton and (b) X3 (*Chlorella*-like) eukaryotic picophytoplankton. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$); *significant difference.

The release of the shading effect posed by free-floating plants implied an immediate improvement of the light underwater condition, but changes in the abiotic and biotic parameters were observed only after 72 h: anoxia reverted to supersaturating oxygen concentrations, pH significantly increased and nutrients diminished. These changes can likely be explained by the 13-fold abundance increase and 8-fold biomass increase observed in the treatment free of floating plants at the end of the experiment. In particular, phosphate and ammonium concentrations significantly decreased, with final concentrations of phosphate still above and dissolved inorganic nitrogen close to values ($0.1 \mu\text{M P}$, $7 \mu\text{M N}$) that potentially limit phytoplankton growth (Reynolds, 1997). Likewise, the studies performed by Unrein (Unrein, 2001) in the same wetland suggest that nitrogen rather than phosphate may become limiting for phytoplankton development in open waters during certain periods; our observations in this treatment resembled those of the natural environment.

Phytoplankton functional groups

Results indicate a strong effect of shading on the phytoplankton functional groups. Poor underwater light climate determined the dominance of several cyanobacteria functional groups adapted to successfully withstand low-light conditions. The S_N , S1 and S2 functional groups are characterized by solitary, thin and mainly photoadaptive filaments that thrive in mixed layers, are sensitive to flushing and tolerant of light-deficient conditions (Reynolds *et al.*, 2002). They can successfully develop under dim photosynthetic radiation because of their possession of phycobilins, together with other morphological and physiological characteristics such as a high surface to volume ratio and the presence of gas vacuoles in S1 and S_N . The dominance of S2 (*P. limnetica*) reflects the success of very thin trichomes, which improve light capture and minimize cell self-shading (Whitton and Potts, 2000). S1 (*P. agardhii*) and S_N (*C. raciborskii*) have gas vacuoles, allowing buoyancy

Table II: Results of the similarity index of Stander ($0 < SIMI < 1$) between consecutive sampling dates within each treatment

	T_0-t_1	t_1-t_2	t_2-t_3	t_3-t_4	t_4-t_5	t_5-t_6	t_4-t_6
T1-Veg	1.00	1.00	0.97	1.00	1.00	0.99	
T2-Mesh	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.97	
T3-Free	0.99	1.00	0.99	0.99	0.63	0.99	0.645
Lake	0.98	1.00	0.99	0.99	0.98	0.99	

Table III: Results of the similarity index of Stander ($0 < SIMI < 1$) between treatments for each sampling date

	t_0	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5	t_6
T1-Veg/T2-Mesh	0.99	0.98	0.96	0.90	0.88	0.84	0.76
T1-Veg/T3-Free	1.00	0.97	0.96	0.87	0.84	0.51	0.49
T1-Veg/Lake	0.99	0.95	0.94	0.88	0.85	0.84	0.74
T2-Mesh/T3 Free	0.99	1.00	1.00	1.00	0.99	0.66	0.83
T2-Mesh/Lake	0.99	0.99	0.99	0.99	0.95	0.94	0.82
T3-Free/Lake	0.99	0.99	0.99	0.98	0.94	0.50	0.50

regulation in the water column and to exploit upper surface levels where light constraints are lessened (Komárek *et al.*, 2003). When the floating plants were removed, the S1 and S_N functional groups showed morphological plasticity in terms of gas vacuoles loss and filament length increase by the end of the experiment, whereas no morphological response was recorded in the light-limited enclosures (O'Farrell *et al.*, in press). Regardless of the treatment, S_N abundances decreased towards the end of the experiment, whereas they increased in the surrounding waters, indicating possible sensitivity to the hindered horizontal movement of water within the mesocosms. Nevertheless, S dominance remained unchanged in the light-deprived scenarios until the end of the experiment, showing tolerance to dark and anoxic conditions. As regards the L_o functional group, its final relative abundance under the natural cover increased, whereas relative abundances in the surrounding waters remained low and constant. This possibly indicates that the isolation of the water column might have had a positive effect on the development of L_o, which is described as being sensitive to flushing (Reynolds *et al.*, 2002). In the mesh treatment, an enhanced development of the X group was observed towards the end of the experiment, probably because of the slight improvement in light intensity.

The environmental change produced by plant removal was reflected in the phytoplankton functional group structure only after several days of improved light condition: the blue green algae (S1, S2, S_N and L_o) were replaced by green algae (X1: *Chlorella* spp., *M. circinale* and *M. komarkovae* and X2: *Chlamydomonas* spp.), which perform better under high-light conditions. The improvement in the light condition also favoured the development of pico-sized green algae (X3), whereas picocyanobacteria (Z) densities remained almost unchanged. Thus, the new environmental situation benefited fast-growing small round-shaped unicellular forms, whereas permanent dim-light conditions promoted slow-growing attenuated multicellular (thin filaments and tabular colonies) forms. In this way, changes generated by deliberate environmental variation reveal reproducible behaviour of the dominant functional groups, as proposed by Reynolds *et al.* (Reynolds *et al.*, 2002). This matched well with the prevailing environmental conditions encountered during the experiment.

Changes in the light regime evidently had a major effect on the phytoplankton of this system where there is a predominance of light limitation because of the free-floating vegetation. However, the effect of zooplankton grazing, one of the main factors shaping phytoplankton structure, was not tackled in this study, and it requires further analyses. Probably, grazing by

copepods and rotifers on phytoplankton was not significant because of persistent anoxic conditions (O'Farrell *et al.*, 2003). Ciliates and heterotrophic flagellates were observed, and thus, the assessment of their importance in determining the structure and dynamics of picophytoplankton remains a major challenge.

Scheffer *et al.* (Scheffer *et al.*, 2003) demonstrated that free-floating plant dominance could be a self-stabilizing ecosystem state but suggested the need of developing a framework for predicting which conditions give rise to dominance by submerged plants, free-floating plants or phytoplankton. Our data suggest that in warm nutrient-rich wetlands, floating plant dominant states result in low phytoplankton biomass because of the prevailing oligophotic condition over the nutrient status, and in an anoxic environment. On the contrary, when the cover is permanently removed producing underwater light improvement, a phytoplankton dominant state is likely to occur and the anoxia is discontinued. The free-floating plant community here studied is characterized by species which can be easily removed by wind; thus, it is tempting to suggest that if fluctuations in the cover are short lasted, no significant alterations in either phytoplankton biomass and structure or the physicochemical parameters are to be expected. We stress the need to develop a framework to improve the understanding of these unique wetland ecosystems, which are a focus of nature conservation and may need adequate management measures to be maintained.

ACKNOWLEDGEMENTS

Financial support for this project was provided by the University of Buenos Aires (UBACyT X195), CONICET (PEI 6382) and ANPCyT (PICT 12332). PTP was further supported by a Student Grant awarded by the Society of Wetlands Scientists. We are specially grateful to Lic. Patricia Rodríguez for her assistance in the field and nutrient determination work. We thank Dr Erik Jeppesen and two anonymous referees for their kind criticism and suggestions on the manuscript and A. M. Poulsen for linguistic assistance. We acknowledge the Otamendi Natural Reserve (Parques Nacionales) staff for their collaboration.

REFERENCES

- American Public Health Association (1992) *Standard Methods for the examination of Water and Wastewaters*. APHA, New York.
- Chichizola, S. E. (1993) Las comunidades vegetales de la Reserva Natural Estricta Otamendi y sus relaciones con el ambiente. *Parodiiana*, **8**, 227–263.

- Elber, F. and Shanz, F. (1988) The causes of change in the diversity and stability of phytoplankton communities in small lakes. *Freshw. Biol.*, **21**, 237–251.
- Falkowski, P. G. and La Roche, J. (1991) Acclimation to spectral irradiance in algae. *J. Phycol.*, **27**, 8–14.
- Flöder, S., Urabe, J. and Kawabata, Z. (2002) The influence of fluctuating light intensities on species composition and diversity of natural phytoplankton communities. *Oecologia*, **133**, 395–401.
- Gross, E. M. (2003) Allelopathy of aquatic autotrophs. *Crit. Rev. Plant Sci.*, **22**, 313–339.
- Hillebrand, H., Durselen, C. D., Kirshtel, D., Pollinger, U. and Zohary, T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.*, **35**, 403–424.
- Izaguirre, I., O'Farrell, I., Unrein, F., Sinistro, R., dos Santos Afonso, M. and Tell, G. (2004) Algal assemblages across a wetland, from a shallow lake to relictual oxbow lakes (Lower Paraná River, South America). *Hydrobiologia*, **511**, 25–36.
- Izaguirre, I., Sinistro, R., O'Farrell, I., Unrein, F. and Tell, G. (2001) Algal assemblages in anoxic relictual oxbow lakes from the Lower Paraná floodplain (Argentina). *Nova Hedwigia*, **123**, 95–106.
- Jun, S. and Dongyan, L. (2003) Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *J. Plankton Res.*, **25**, 1331–1346.
- Junk, W. J. (1997) The Central Amazon Floodplain. Ecology of a pulsing system. *Ecol. Stud.*, **126**, 1–525.
- Kamenir, Y., Dubinsky, Z. and Zohary, T. (2004) Phytoplankton size structure stability in a meso-eutrophic subtropical lake. *Hydrobiologia*, **520**, 89–104.
- Kirk, J. T. O. (1994) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Komárek, J., Komárková, J. and Kling, H. (2003) Filamentous cyanobacteria. In Wehr, J. D. and Sheath, R. G. (eds), *Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification*. Elsevier Science, San Diego, pp. 117–196.
- Marker, A. F. H., Nusch, A., Rai, H. and Riemann, B. (1980) The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, **14**, 91–106.
- Meerhoff, M. and Mazzeo, N. (2004) Importancia de las plantas flotantes libres de gran porte en la conservación y rehabilitación de lagos someros de Sudamérica. *Ecosistemas*. <http://www.aect.org/ecosistemas/042/revision1.htm>
- Meerhoff, M., Mazzeo, N., Moss, B. and Rodriguez Gallego, L. (2003) The structuring role of free floating versus submerged plants in a subtropical shallow lake. *Aquat. Ecol.*, **37**, 377–391.
- O'Farrell, I., de Tezanos Pinto, P. and Izaguirre, I. (in press) A pattern of morphological variability in phytoplankton in response to different light conditions. *Hydrobiologia*.
- O'Farrell, I., Sinistro, R., Izaguirre, I. and Unrein, F. (2003) Do steady state assemblages occur in shallow lentic environments from wetlands? *Hydrobiologia*, **502**, 197–209.
- Rankin, L. M., Franzmann, P. D., Michelin, T. A. and Burton, H. R. (1997) Seasonal distribution of picoCyanobacteria in Ace Lake, a marine-derived Antarctic lake. In: Battaglia, B., Valencia, J. and Walton, D. W. H. (eds), *Antarctic Communities Species, Structure and Survival*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 178–184.
- Reynolds, C. S. (1997) Vegetation processes in the pelagic: a model for ecosystems theory. In Kinne, O. (ed.), *Excellence in Ecology*. ECI, Oldendorf, pp. 114–122.
- Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli Flores, L. and Melo, S. (2002) Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J. Plankton Res.*, **24**, 417–428.
- Scheffer, M., Szabó, S., Gragnani, A., van Ness, E. H., Rinaldi, S., Kautsky, N., Norberg, J., Roijackers, R. M. M. and Franken, R. J. M. (2003) Floating plant dominance as a stable state. *PNAS*, **7**, 4040–4045.
- Underwood, A. J. (1997) *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Unrein, F. (2001) Efecto de los nutrientes y el pH sobre el crecimiento y la estructura del fitoplancton en ambientes de la llanura aluvial del Paraná inferior. Thesis, University of Buenos Aires, Argentina.
- Utermöhl, H. (1958) Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitt. Int. Ver. Limnol.*, **9**, 1–38.
- Venrick, E. L. (1978) How many cells to count?. In Sournia, A. (ed.), *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Paris, pp. 167–180.
- Weithoff, G. (2003) The concepts of plant functional types and functional diversity in lake phytoplankton: a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshw. Biol.*, **48**, 1669–1675.
- Whitton, B. A. and Potts, M. (2000) *The Ecology of Cyanobacteria. Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Wynn-Williams, D. D. (1992) *Biotas Manual of Methods*. Scientific Committee on Antarctic Research, Cambridge.
- Zar, J. H. (1996) *Comparing Simple Linear Regression Equations*. Prentice Hall, New Jersey.

Phytoplankton morphological response to the underwater light conditions in a vegetated wetland

Inés O'Farrell · Paula de Tezanos Pinto ·
Irina Izaguirre

© Springer Science+Business Media B.V. 2007

Abstract This study analyses the influence of the underwater light climate on the morphometric characteristics of the phytoplankton at the population and community levels. The differences in light conditions across the floodplain were mainly defined by the patchiness of floating macrophytes and humic acids concentration. A morphometric response at the community level to the underwater PAR was registered. Sites with strong light constraints were characterised by non-flagellated organisms or with a small proportion of unicellular flagellates. Short organisms ($<10\ \mu\text{m}$) with a unit volume of less than $1,000\ \mu\text{m}^3$ and a high surface:volume ratio ($S/V > 2$) were the morphotypes related to poorly illuminated environments. Moreover, the organisms showed forms more slender under these limiting conditions. This

pattern was different to that registered in well-illuminated sites where longer and larger organisms, with a smaller S/V and frequently flagellated, coexisted with the previously mentioned organisms. The autotrophic picoplankton, the smallest phytoplankton fraction, revealed lower abundances at sites with higher humic substances. Short term morphological changes were additionally studied for the dominant species by means of mesocosm experiments simulating different light climates. Intraspecific morphological plasticity was observed with respect to the filament length and the vacuolization of cells.

Keywords Phytoplankton · Morphology
PAR · Macrophytes · South American wetland

Guest editors: M. Albay, J. Padišák & L. Naselli-Flores
Morphological plasticity of phytoplankton under different environmental constraints.

Electronic supplementary Material Supplementary material is available for this article at <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-006-0434-3> and is available for authorized users.

I. O'Farrell (✉) · P. de Tezanos Pinto ·
I. Izaguirre
Lab. Limnología, Dpto. Ecología, Genética y
Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Universidad de Buenos Aires. CONICET, Buenos
Aires, Argentina
e-mail: ines@ege.fcen.uba.ar

Introduction

Reynolds (1984) relates the success of the algae in exploiting the potential advantages offered by pelagic habitats with a certain degree of pre-adaptation to a dispersed existence. This capability is connected to the low level of structural organization and the morphological plasticity of algal cells, and is evidenced by the existence of a diversity of form, function and adaptive strategies. Algal growth depends upon intercepting sufficient light energy to perform the photosynthesis needed to sustain carbon fixation. The

photosynthetic response of algae will be dependent upon the quality, intensity and subsurface attenuation of the solar radiation, and the efficiency of the pigment light trap among other factors. The *in vivo* absorbance spectrum is determined by the pigment composition, as well as the size and shape of the chloroplasts, cells or colonies (Kirk, 1994). This author asserts that either very long and thin filaments, or small spheres (<6 μm diameter), are the most efficient forms in harvesting light. Likewise, Reynolds (1997) stated that species morphologically attenuated grow best under sub-ideal conditions of light. In particular, Naselli-Flores & Barone (2000) observed that light influenced the dimensions and shapes of phytoplankton at the morphological level, affecting their ability to exploit resources in Sicilian man made lakes. Organisms belonging to the same species can show a highly variable morphology under different light underwater climates. Phenotypic plasticity may be viewed as a way of maintaining fitness during environmental changes (Morales et al., 2002). Moreover, Padisák et al. (2003) showed that slight variations in morphology have an adaptive meaning regarding different sinking behaviours, which in turn are related to the efficiency in light harvesting. One of the strategies of planktonic species towards minimizing the sinking losses is a decrease in specific gravity, which is typically observed in many Cyanoprokaryota with gas vacuoles. Buoyancy regulation allows an improvement in the supply of light as cells get nearer the illuminated surface water layers (Humphries & Lyne, 1988) making optimal use of photosynthetically active radiation.

Photosynthetically active radiation (PAR) is not homogeneously distributed in water: it attenuates vertically and patchiness in the horizontal dimension occurs frequently. A typical scenario reflecting different light climates is encountered in floodplain environments on behalf of the high and fluctuating macrophyte development, both floating and submersed, and the uneven concentrations of suspended material and humic acids. In this sense, O'Farrell et al. (2003) and Izaguirre et al. (2004) asserted that the algal species distribution in the Low Paraná floodplain was related to the extreme environmental conditions associated to

the profuse development of floating macrophytes. Strong light constraints accounted for the dominance of shade adapted cyanobacteria, whereas waters free of vegetation cover were related to an enhanced functional diversity revealed by species with diverse nutrition strategies.

In this study we tested the following hypotheses: (a) the underwater light climate strongly influences the dominant morphological traits of the phytoplankton, being favoured under very poor light conditions small organisms and/or attenuated forms; (b) intraspecific morphological plasticity occurs as a response to fluctuations in the light climate.

Three different sources of data were used for this research: (i) a 16-month study (1998–2000) on two environments with contrasting floating macrophyte development, (ii) spring-summer surveys of twelve sites across the wetland (2004–2005) presenting different light conditions, and (iii) field mesocosm experiments (2003) simulating different underwater light climates.

Study area

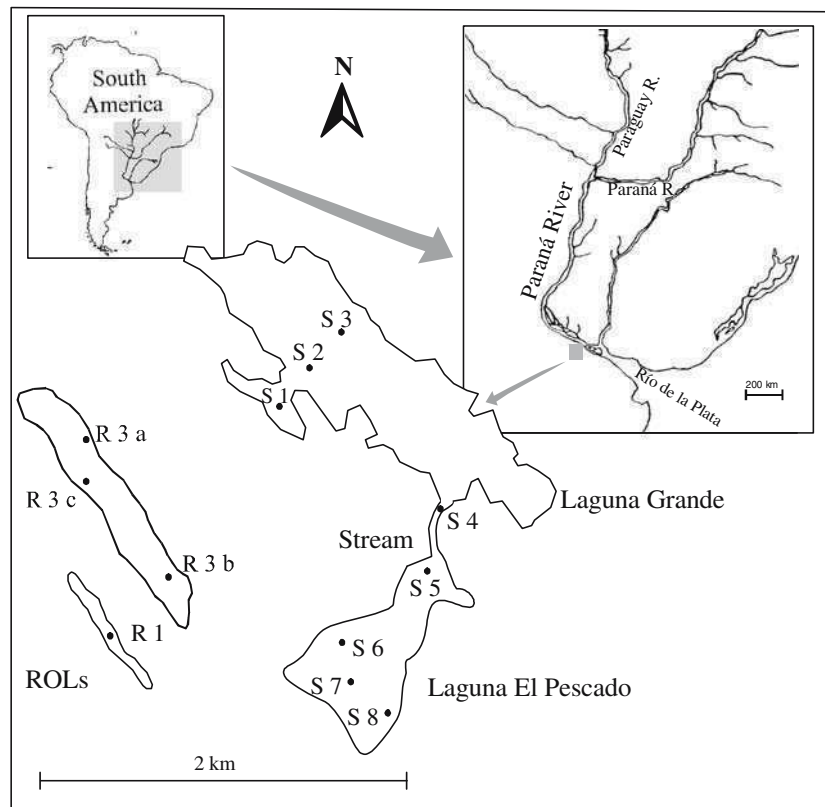
This study was carried out in the Otamendi Natural Reserve located on the right margin of the Paraná de las Palmas River (34°10' to 34°17' S; 58°48' to 58°53' W). This floodplain comprises two shallow lakes, Laguna Grande and Laguna El Pescado, which are connected by an 800-meter stream, and several relict oxbow lakes (R) (Fig. 1). These systems present a high development of aquatic macrophytes with a marked spatial and temporal variation in the floating vegetation. The 1998–2000 period revealed higher vegetation development than the 2004–2005 period. In both cases lake littoral areas presented more profuse development of floating vegetation.

Materials and methods

Phytoplankton and physical and chemical analyses

The data collection during the 16-month survey of 1998–2000 is detailed in Izaguirre et al. (2004).

Fig. 1 Location of the sampling sites in the study area in the Otamendi Natural Reserve



A strong and persistent light reduction (ca. 99% at 5 cm from the surface) typically occurred under the macrophyte cover in the relict oxbow lakes (R hereinafter), opposed to better light condition (ca. 40% reduction) in the limnetic area of the Laguna Grande (S3), mainly due to the scarcity of floating vegetation. Thus, R1 and S3 were compared for the 1998–2000 period as representative of opposite underwater light climates.

The spring-summer survey comprised 12 sites sampled on December 2004 and March 2005 (Fig. 1): one located in R1, three in R3 (a–c) representing different habitats, three in the Laguna Grande (S1–S3), two in the Stream El Pescado (S4 and S5) and three in Laguna El Pescado (S6–S8). Incident and sub-superficial PAR was measured at each site using a Li-Cor spherical quantum sensor. Chlorophyll *a* corrected for phaeopigments was analysed using hot ethanol (60–70°C) as extraction solvent, following Marker et al. (1980). Suspended solids were determined drying the non-filterable residue

at 103–105°C and humic acids content was estimated spectrophotometrically reading the absorbance at 254 nm (Kronberg, 1999).

Phytoplankton species larger than 3 μm were counted according to Utermöhl (1958). Biovolumes were estimated following the criteria and equations of Hillebrand (1999) and Jun & Dongyan (2003). Species were classified in three categories of unit volume, considering as a unit either the cell, colony or filament: <1000; 1000–10,000; >10,000 μm^3 . Likewise, four categories of surface to volume (S/V) were defined: <0.4; 0.4–1; 1–2; >2 μm^{-1} . Greatest axial linear dimension (GALD) was categorized into four ranges: <10; 10–30; 30–80; >80 μm . Motility was simplified as flagellates or non-flagellates, and the level of aggregation either as unicellular, colonial or filament. The morphometric classifications carried out intend to match Reynolds C- R- and S-strategists division; modifications were included to avoid the overlapping of categories.

Samples for quantitative analyses of autotrophic picoplankton were preserved with ice-cold 2%

glutaraldehyde, and then filtered through 0.2 μm black polycarbonate filters Isopore GTPB 02500. Autotrophic picoplankton (APP) was counted from the fluorescence given off by photosynthetic pigments (Callieri & Pinolini, 1995), using a Zeiss Axioplan Microscope equipped under blue light excitation (BP 450–490 nm, FT 510 nm, LP 520 nm) and green light excitation (BP 546 nm, FT 580 nm, LP 590 nm).

2003 Mesocosm field experiment

The data collection and design of the mesocosm field experiment is detailed in de Tezanos Pinto et al. (2006). Circular enclosures of 180 l were placed in the Laguna Grande in a littoral area densely covered with floating macrophytes on the spring of 2003. Three treatments were performed by triplicate: (T1) dense intact macrophyte cover (reducing surface photon flux density to 1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ / 99.9% reduction); (T2) removal of floating vegetation and addition of a dark mesh (surface photon flux density 26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ / 98% reduction); (T3) removal of vegetation cover (surface photon flux density 440 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ / 70% reduction). The experiment lasted for seven days and samples were taken daily.

The morphometric characteristics of the dominant species (69–77% of total abundance), *Planktothrix agardhii*, *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Planktolyngbya limnetica*, were analysed in terms of length, width, S/V, presence/absence of gas vacuoles and presence of akinets and heterocysts. At least 50 individuals of *Planktothrix agardhii*, 20 individuals of *Cylindrospermopsis raciborskii* and 20 individuals of *Planktolyngbya limnetica* were observed for each treatment in each sampling date.

Statistical analysis

χ^2 Tests of independence were performed on the average percentage densities for the 1998–2000 period, to test the association between the two sites with contrasting light climates, and the categories of morphometric characteristics, motility and aggregation level. For the data of 2004–2005 period, a Principal Component Analysis was performed on the abundance correlation matrix

produced with the subsurface PAR and the percentages of the morphometric categories (unit volume, S/V and GALD), motility and aggregation variables.

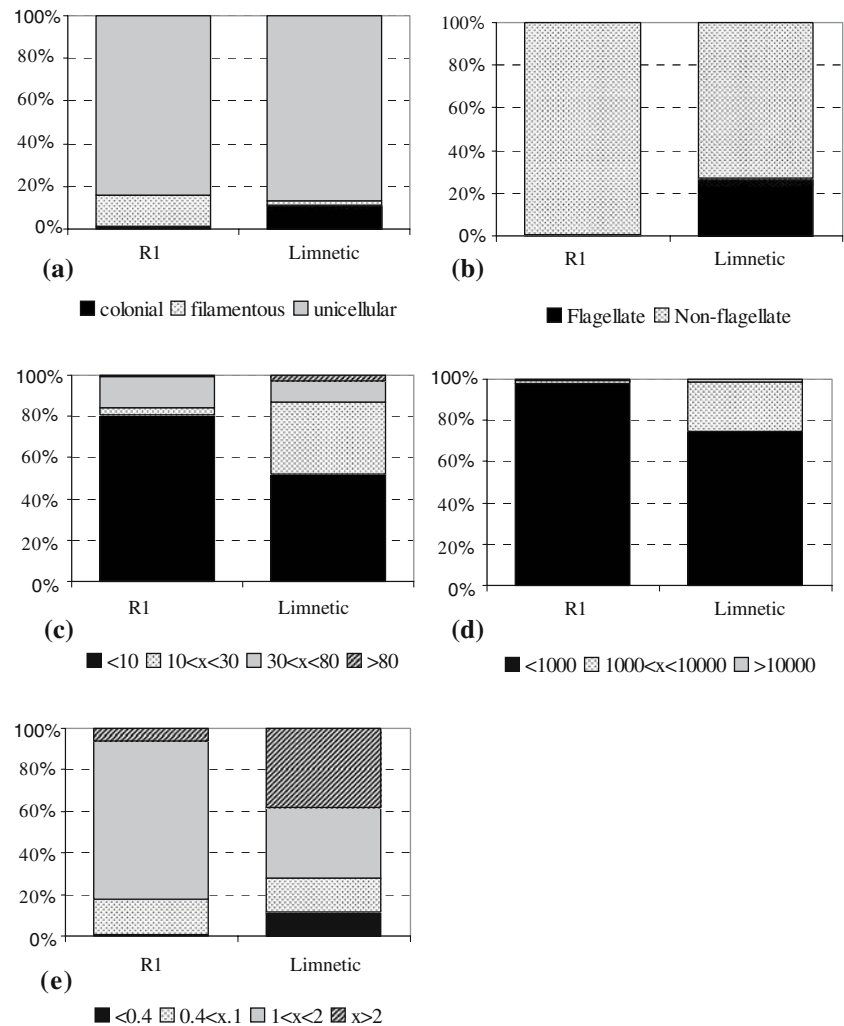
Results

1998–2000

Average frequencies of unicellular, filamentous and colonial algae were associated either to R1 or to the limnetic area of the lake ($P < 0.00001$), sites characterised by poor and better light climates, respectively (Fig. 2a). Unicellular species were dominant at both sites representing nearly 50% of the biomass and more than 80% of the phytoplankton density; filamentous organisms sub-dominated at R1 whereas colonial algae were frequent at the lake. In a similar way, motility appeared associated to better light conditions ($P < 0.00001$) (Fig. 2b). Under the persistent floating vegetation at R1, almost the entire assemblage was represented by non-flagellates, but this share was lower at the lake with nearly 73% of the density and 56% of the biovolume.

Phytoplankton also differed in morphometric variables; results are only given in terms of density, as biovolume strongly biased the analysis of the distribution of the dimensions considered here. The shorter GALD category appeared associated to R1 ($P < 0.00001$); ca. 80% of the individuals were shorter than 10 μm at R1 while this percentage amounted to only about 50% at the lake, where individuals between 10 and 30 μm became more abundant (34.7%) (Fig. 2c). The algal density differences between unit volume categories were not so marked (Fig. 2d) but were still associated to sites with contrasting light climates ($P < 0.001$): 98% and 75% of the individuals were smaller than 1,000 μm^3 at R1 and the lake, respectively; 12% of the individuals at the latter site had an average volume between 1,000 and 10,000 μm^3 . The average ratio S/V category was also associated to either site ($P = 0.001$); at R1 82.2% of the specimens corresponded to values higher than 1, whereas in the lake this fraction decreased to 71.9% (Fig. 2e). The product of the GALD and S/V of each species was

Fig. 2 Average abundance percentage of: **(a)** aggregation level (colonial, filamentous, unicellular), **(b)** motility (flagellate, non-flagellate), **(c)**: Greatest Axial Linear Dimensions (μm); **(d)** volume categories (μm^3); **(e)** Surface Area/Volume ratios (μm^{-1}) at R1 and the limnetic area (S3) of the Laguna Grande for the 1998–2000 period



higher at the relict oxbow lake (R1) than at the lake as indicated by the medians, 20.9 and 18, respectively. This difference was enhanced (14.2 and 8.85) when considering only the dominant species selected for the CANOCO presented in Izaguirre et al. (2004).

Cyanobacteria dominated the phytoplankton at R1 both in terms of density (62%; 8,734 ind ml^{-1}) (Fig. 3) and biovolume (56%; 1.3 $10^6 \mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$). Contrarily, Chlorophyceae represented 53.3% of the average phytoplankton density at the limnetic area of the lake, mainly accompanied by Cryptophyceae (22.3%; 1,004 ind ml^{-1}). As for biovolume, Bacillariophyceae and Cryptophyceae contributed with 34.8% and 34.3% ($1.9 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$ each), respectively,

whereas Chlorophyceae constituted only 7% ($3.9 \cdot 10^5 \mu\text{m}^3 \text{ml}^{-1}$) of the assemblage at this site.

2004–2005

The water level of the wetland varied nearly 20 cm between both study periods, revealing a shorter water column on December 2004. The absorbance due to humic materials was correlated to underwater PAR ($r = -0.63$, $P < 0.05$) (Fig. 4). The relict oxbow lakes showed a much higher humic content, with at least twice the absorbances measured in the lakes and the stream, specially during December 2004. Even though no spatial pattern was observed for suspended solids, temporary changes were registered, as concentrations

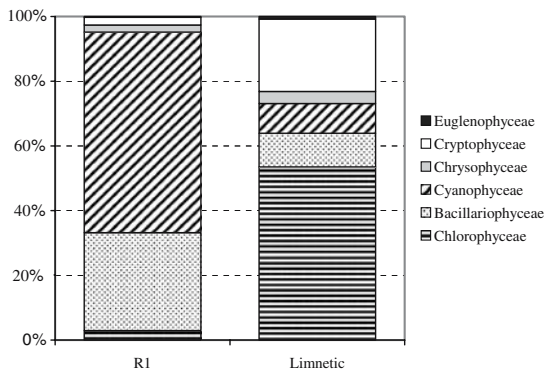


Fig. 3 Average abundance percentage of the different algal classes at R1 and the limnetic area of the Laguna Grande (S3) for the 1998–2000 period

were much lower on March 2005 than on December 2004.

In general, unicellular organisms dominated in terms of abundance over colonial and filamentous ones in the wetland (Fig. 1a ap). This pattern was specially marked at R1 and S8 for both months, and at S4, S5, and S6 on March, where 90% of the abundance consisted of unicellular forms. Colonial algae sub-dominated except at S2 and S3 on March, when filamentous algae achieved 75% and 59% of the phytoplankton, respectively. Even though non-flagellates prevailed in this wetland, motility was very well represented in the stream and Laguna El Pescado on March 2005 (Fig. 1b ap). Organisms shorter than 10 μm prevailed, and a strong contribution of organisms between 10 μm and 30 μm was also observed (Fig. 1c ap). During March 2005 the percentages of both these GALD categories differed most, as shorter organisms constituted more than 60% of the phytoplankton. An exception to this pattern was found in the Laguna Grande on March 2005, when longer organisms dominated, especially at S2 and S3. Regarding the percentage distribution of the unit volume categories (Fig. 1d ap), smaller organisms generally dominated in this system. At the relict oxbow lakes, more than 80% of the organisms had unit volumes smaller than 1,000 μm^3 . A similar scenario was observed in the littoral area of the Laguna Grande on December (S1 and S2) and in the Laguna El Pescado on March (S6 and S8). In accordance with the GALD results, larger algae achieved

Fig. 4 (a) Underwater light variation; (b) humic acids absorbance (254 nm); (c) suspended solids (mg l^{-1}); (d) chlorophyll *a* ($\mu\text{g l}^{-1}$) at the 12 sites studied during the spring-summer period of December 2004 (D) and March 2005 (M). Arrows in “a” indicate sites covered with floating macrophytes

more relevance in the Laguna Grande on March 2005 (Fig. 1d ap). The S/V pattern mostly repeated the differences found for the other morphometric variables (Fig. 1e ap); algae with the higher ratio (>2) always dominated the relict oxbow lakes and on December, and at the littoral area of the Laguna Grande. Moreover, the percentage of algae with a smaller S/V increased in the Laguna El Pescado on March 2005. The product of GALD and S/V for most abundant species was higher in the relict oxbow lakes, than in the shallow lake system as indicated by the medians, 21 and 15, respectively.

The Principal Component Analysis based on the categorized morphometric characteristics, the motility and aggregation level of the phytoplankton species together with the underwater light explains 64.4% of the total variance between the first two factors. The first axis is positively correlated with the smallest GALD and unit volume categories and the largest SA/V ones, and negatively correlated with the opposite categories of these morphometric variables and with the percentage of filamentous organisms. Factor 2 is directly correlated to flagellates, unicellular algae and small S/V categories, and inversely with colonial phytoplankton and the highest S/V category. In this way the relict oxbow lakes, together with the littoral sites corresponding to December, are ordinated towards the bottom and right side of the plot (Fig. 5), due to the abundance of non-motile species with small GALD and unit volume, and a high S/V. The opposite characteristics stand for the phytoplankton species prevailing in the remaining sites of the lakes and the stream. Even though the correlation of underwater light with factors 1 and 2 is not strong, it points to a poor light climate in the relict oxbow lakes and better light conditions in the shallow lakes and the stream.

Chlorophyceae and Cyanophyceae contributed to the bulk of total phytoplankton density during

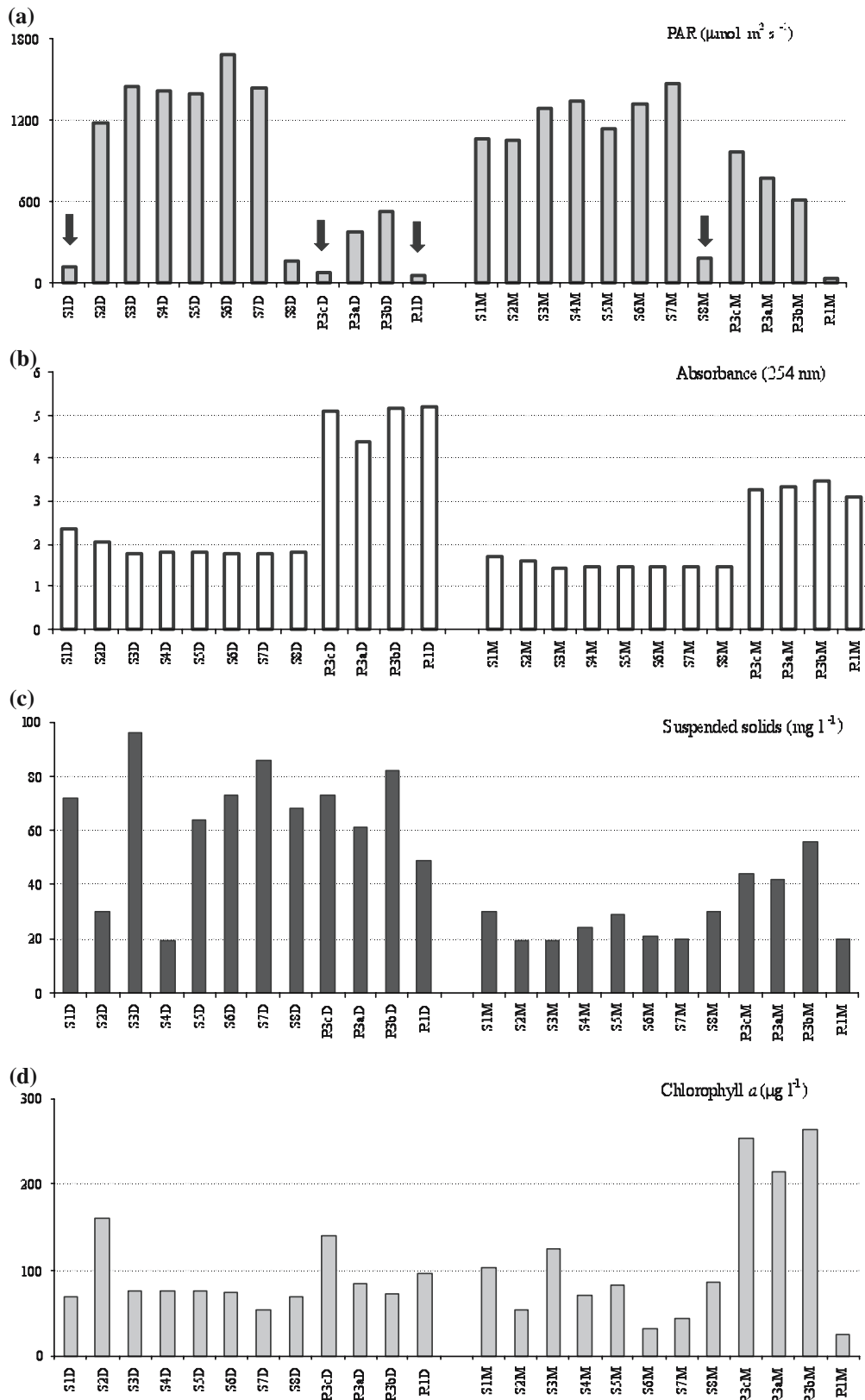
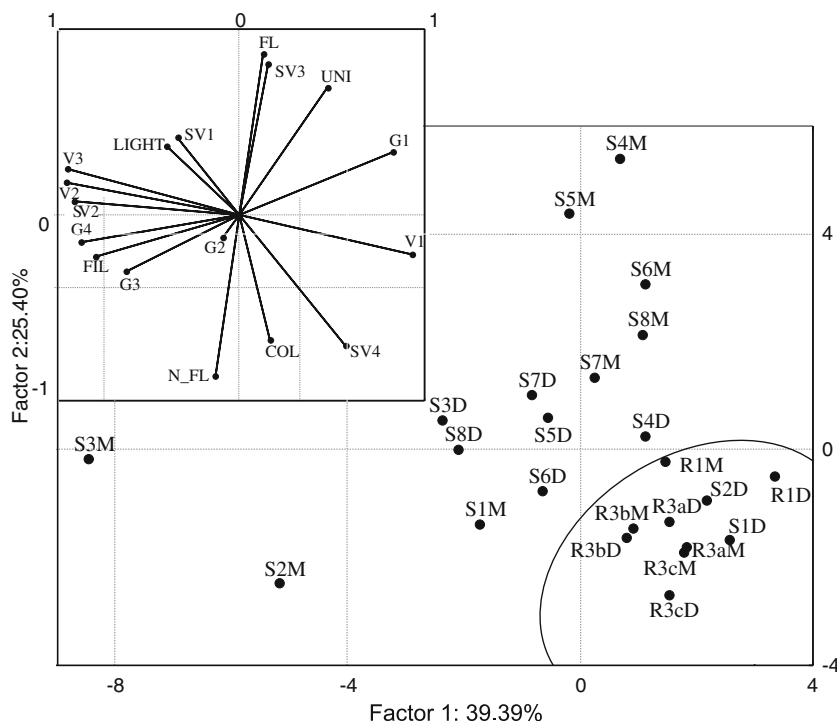


Fig. 5 Ordination of the 12 sites according to the Principal Component Analysis performed with categorised variables in terms of abundance for percentage of the categories corresponding to: unit volume (V1:<1000; V2:1000–10,000; V3:>10,000 μm^3), SA/V (SV1:<0.4; SV2:0.4–1; SV2:1–2; SV3:>2 μm^{-1}), GALD (G1:<10; G2:10–30; G3:30–80; G4:>80 μm), motility (F:flagellates; N_FL:non-flagellates) and level of aggregation (UNI: unicellular; COL: colonial; FIL: filament). Sites: detailed in Fig. 1; D: December, M: March



the warm 2004–2005 season (Fig. 2 ap). Cyanophyceae were more abundant in the relict oxbow lakes and, in the Laguna Grande in March 2005. Chrysophyceae increased markedly on March 2005 in El Pescado Lake achieving more than 50% in the stream confluence with the lake; a minor Cryptophyceae enhancement was observed in these samples.

Total picoplankton abundance ranged between 0.11×10^5 cells ml^{-1} and 4.57×10^5 cells ml^{-1} . The highest densities were registered in Laguna El Pescado and in the stream, and the lowest ones in the relict oxbow lakes (Fig. 6a). Pico-cyanobacteria (CyAPP) strongly dominated over pico-eukaryotes (EuAPP) in the lakes system, constituting more than 80% of the total picoplankton. In general terms, the proportion of EuAPP was higher in the relict oxbow lakes, mainly in R3a (Fig. 6b). In December 2004 EuAPP contributed with 60–80% of the total picoplankton abundance in the three sites of R3. CyAPP was represented by *Synechococcus* and *Synechocystis* like cells, whereas EuAPP was constituted by *Chlorella*-type cells. In terms of biomass, this fraction never exceeded 10% of the total phytoplankton, except on December 2004 at one relict oxbow lake (R1),

where the micro and nano-phytoplankton densities were extremely low, and mainly represented by small species.

2003 Mesocosm field experiment

Initial morphometric values of *Planktothrix agardhii*, *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Planktolyngbya limnetica* were similar among the three treatments. However, by the end of the experiment, *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii* specimens were longer at high light conditions (T3) than under dim underwater light climates (T1 and T2) (Fig. 7a). This trend was similar for biovolume and the length to diameter ratio (L/D) and inverse for the S/V. In *Planktolyngbya limnetica* the morphological parameters did not show a definite pattern throughout the experiment. The entire population of *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii* consisted exclusively of straight filaments mostly of 3 μm diameter. In the light limited mesocosms ca. 80% of the filaments of *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii* presented gas vacuoles throughout the experiment (Fig. 7b). In T3 only 40% of the

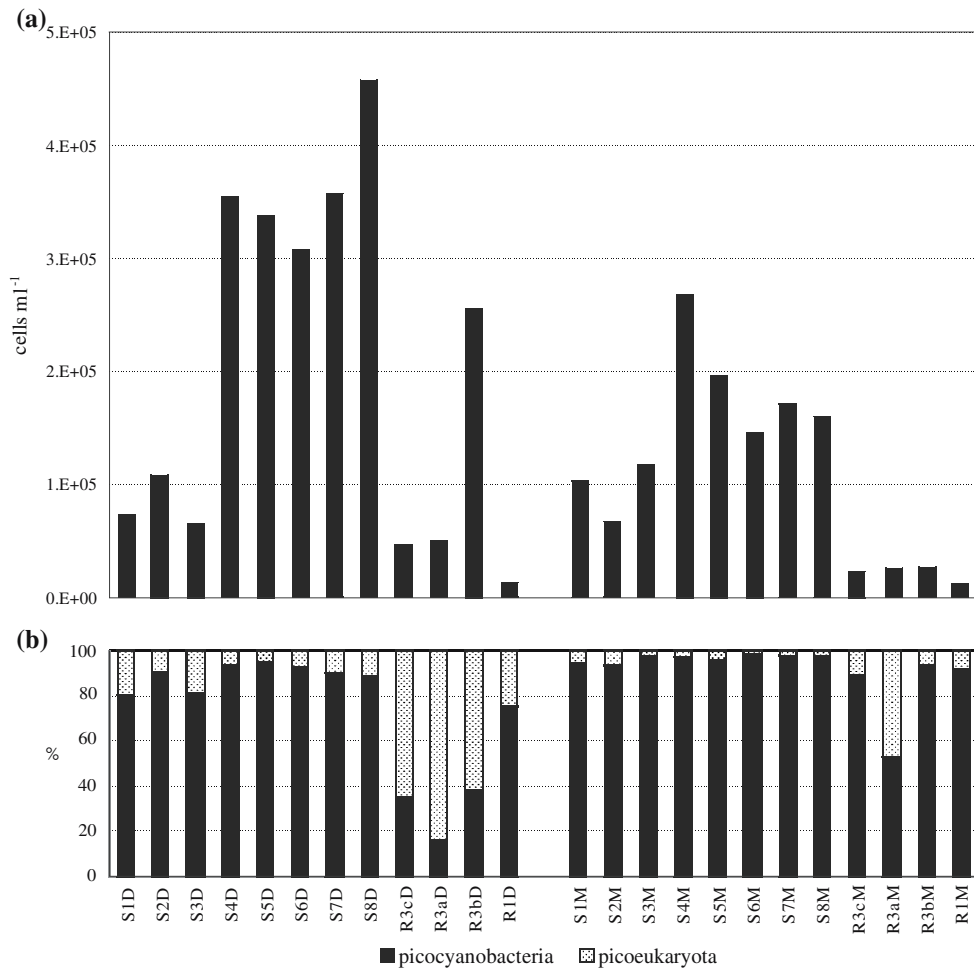


Fig. 6 Picoplankton density (a) and percentages of picocyanobacteria and picoeukaryotes (b) in the 12 sites surveyed in December 2004 (D) and March 2005 (M)

filaments of *Planktothrix agardhii* after day 4 and 20% of the filaments of *Cylindrospermopsis raciborskii* at t_6 presented gas vacuoles.

In *Cylindrospermopsis raciborskii*, akinets occurred only at rare occasions and heterocysts were not observed. In T1, after day 4, 55% of the filaments of *Cylindrospermopsis raciborskii* presented one rounded and one pointed end, evidencing filament fragmentation (Padisak, 2003). Both in T2 and T3 filaments predominantly had two attenuated ends, suggesting that the filaments were not under fragmentation. Towards the end of the experiment individuals in light deprived treatments showed signs of deterioration.

Discussion

Shallow lakes are often systems characterized by a high frequency of external disturbances. These are mostly caused by the wind effect that resuspend sediments shifting the lake from a clear to a turbid state (Scheffer, 1998). The presence of submersed vegetation buffers or even impedes this shift between the alternative states, promoting transparent waters with a good light underwater climate. In this case, the subsurface reduction of radiation is produced by factors other than particulate matter in suspension; these include shading by floating macrophytes and

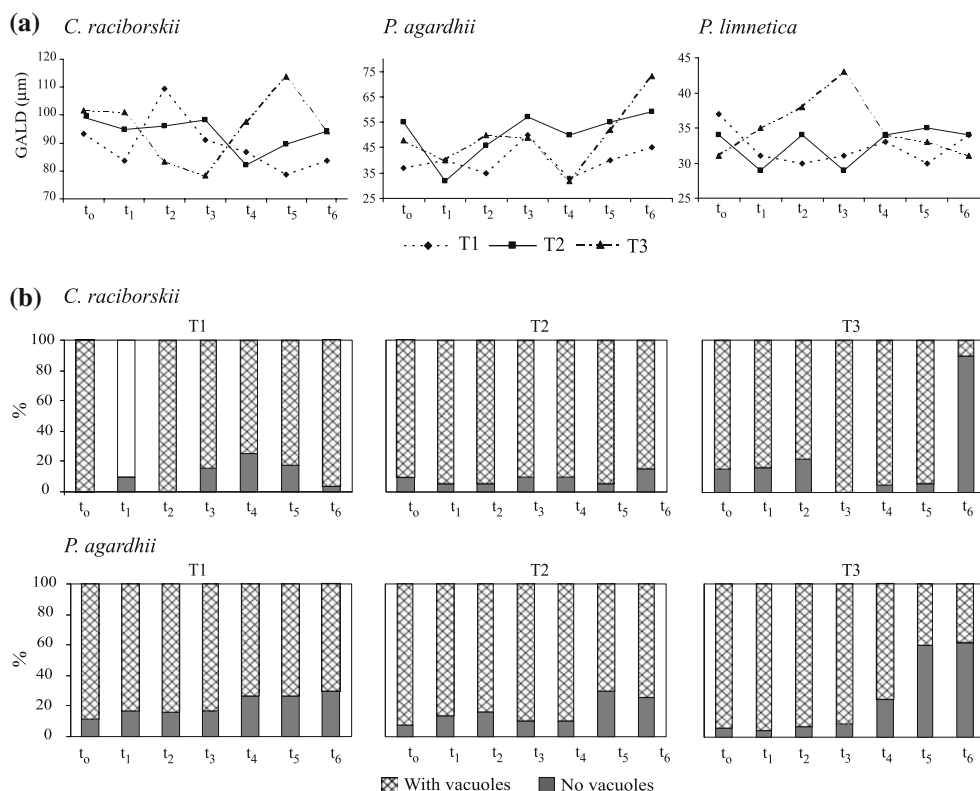


Fig. 7 Temporal variations for the dominant species in the mesocosm experiment: **(a)** median GALD and **(b)** relative presence of gas vacuoles. Treatments: T1, dense intact

macrophyte cover; T2, removal of floating vegetation and addition of a dark mesh; T3, removal of vegetation cover

absorption by phytoplankton and humic substances. Light attenuation caused by coloured substances is typically encountered in marshes, swamps and bogs. Floodplain lakes with a rich supply of allochthonous organic matter from the corresponding basin or from the autochthonous vegetation, typically present a high concentration of humic substances, especially when these systems have a high hydraulic residence time (Keskitalo & Eloranta, 1999). In lakes from tropical and subtropical latitudes, and sometimes during the warm periods in sheltered systems from temperate locations, the development of floating macrophytes also poses a strong light limitation. Last, phytoplankton cells also scatter and absorb light, attenuating the irradiance in the water column. In our study the main factors responsible for decreasing underwater light are the shading produced by floating macrophytes and the high concentrations of humic materials. Even though the former produces a stronger light

decrease (ca 99%), this condition is highly dependent upon the persistence of the vegetation cover. A massive development of floating vegetation was typically encountered in the relict oxbow lakes during the 1998–2000 period, whereas during the 2004–2005 period it was rarely observed, as the floating plants were restricted to very sheltered areas in the relict oxbow lakes or the littoral areas. A declining macrophyte development, both of submerged and floating vegetation, has been recently registered and its causes are yet not understood, but may be related to the River Paraná pulse dynamics. On the other hand, the light attenuation produced by humic acids presented a stable pattern, where the relict oxbow lakes were always identified as the most coloured waters; less than 50% of the incident irradiance was usually registered during the 2004–2005 period. Moreover, the deterioration of the water light climate increased under lower water levels (December) due to the enhancement of humic

acid concentration. Reynolds (1997) asserts that when the immediate sub-surface irradiance level is less than $100\text{--}200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, photosynthesis will be continuously and directly regulated by light. Radiation figures were even lower in the relict oxbow lakes during the 1998–2000 period and in the light deprived mesocosms (T1 and T2), and less frequently in the sheltered littoral areas of the lakes and in some relict oxbow lakes during the recent samplings.

A morphometric response of the phytoplankton at the community level to the underwater PAR was registered in this wetland notwithstanding the cause of light attenuation. Sites with acute light constraints presented assemblages mainly composed of small unicellular non-flagellated organisms (*Synechococcus* spp. and *Synechocystis* spp.), thin filaments (cf. *Arthrospira* sp., *Planktolyngbya limnetica*, *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborski*) or small tabular colonies (*Merismopedia tenuissima*, *M. minima*). The benefit of flagella in very shallow systems under such extreme conditions may not be substantial, and contrarily, the success of vacuolate cyanobacteria seems to be a proof of the advantage brought by the possession of gas vesicles in buoyancy regulation in order to bring cells closer to better-illuminated layers under conditions of reduced turbulence (Oliver, 1994). The strong decrease of the vacuole content registered in *P. agardhii* and *C. raciborskii* 72 h after removing the macrophyte cover in the mesocosm experiment indicates that there is also a physiological answer within the population level, which might be considered as species plasticity. As for the morphometric variables, short organisms ($<10 \mu\text{m}$) with a unit volume of less than $1,000 \mu\text{m}^3$ and a high S/V (>2) correspond to the phytoplankton morphotypes better adapted to poorly illuminated environments. This pattern is different to that registered in well-illuminated sites where longer and larger species with a smaller S/V, and frequently flagellated, coexist with the previously mentioned organisms. A favourable irradiance determines good growth conditions as long as there is nutrient availability, as it was revealed by the filament lengthening in the mesocosms (T3) and by species with larger dimensions in the lakes. Even though, previous

studies in this system indicated that nitrogen might be a limiting factor for phytoplankton development during certain periods in the areas free of floating macrophyte cover (Unrein, 2001), the morphotypes at the community level seem to respond to an optimisation of light capturing.

These community morphological traits suggest that the most efficient arrangement for light collection, just as suggested by Kirk (1994), corresponds to very long, thin, cylindrical filaments that increase their light harvesting capacity if “chopped” up into sphere-like pieces of $6 \mu\text{m}$. The increase in length may be sustained under a poor light intensity as long as the S/V remains high in order to optimise the uptake of light of a biomass unit. Moreover, Reynolds (1997) asserted that under sub-ideal conditions of light, the species maintaining growth best are morphologically attenuated: the distance between sites of uptake and the resources and their assembly into cellular components will tend to be smaller. The success of this strategy in the relict oxbow lakes was revealed by the highest median of the product of GALD and S/V of the most abundant species, measured in these environments where light conditions were almost always limiting, or at least the lowest irradiances in the wetland.

The use of body size has been addressed as an organizing community factor on behalf of the relationship between size and variables describing the main physiological and ecological processes that occur in aquatic systems. Cermeño et al. (2005) have shown that the relationship between phytoplankton metabolism and cell size is highly variable along a vertical light gradient; nevertheless, under favourable conditions for growth, namely high irradiance and nutrient concentration, larger cells predominate. Moreover, Quintana et al. (2002) performed a biomass-size spectra in shallow fluctuating salt marshes and registered that small species such as *Synechococcus* sp. were more important during periods of higher stability. This result coincides with our previous findings, as the extreme but stable conditions of the relict oxbow lakes led to steady state assemblages (O’Farrell et al., 2003), which are presently characterised by the lowest unit volume and GALD categories.

Pigment composition is a crucial physiological attribute related to photosynthesis and thus, the

differential efficiency in capturing light of the phytoplankton groups must be considered. During the 1998–2000 survey phytoplankton assemblages in the relict oxbow lakes were composed of species with both phylogenetic and physiological affinities, adapted to low light conditions. In these extreme environments Cyanophyceae of the SN, S1, S2 and Lo functional groups (Reynolds et al., 2002) proved to be successful thanks to their low light requirements. This scenario was encountered once again in the littoral area of the Laguna Grande during the 2003 mesocosm experiment, persisting in the light deprived treatments. Contrarily, in the lake the high diversity of functional groups encountered obeyed to a fluctuating environment where the limiting constraints frequently varied. The improvement in the underwater light climate of the relict oxbow lakes during the 2004–2005 survey, as explained by the poor floating macrophyte development, account for the specific composition changes along the community morphological spectrum. Dominance of Cyanophyceae was not that absolute, and phylogenetic diversity was enhanced; blue-greens were partly replaced by green algae that perform better under higher light intensities and by Cryptophyceae, which are tolerant to low and high irradiance exposure. The latter have been indicated as species that may persist in a range of different situations (Naselli Flores & Barone, 2000).

If we analyse the distribution of autotrophic picoplankton (APP) with respect to the light climate in the same way as it was done with the other phytoplankton fractions, the lower abundances of APP observed in the sites with higher humic substances seems to be a paradox. In fact, we could expect that the pico-cells with high S/V would prevail under the poorest light conditions typically encountered in the relict oxbow lakes. Different authors have demonstrated that the abundance of APP is directly correlated with lake productivity (Stockner, 1991; Vörös et al., 1998). Pick (1991) found an inverse relationship between numbers of Cyanobacterial APP and increasing light attenuation, as result of higher humic matter contents. Moreover, other factors also play a key role in controlling the growth of APP as grazing, light quality and competition for nutrients (Jasser & Arvola, 2003). In this sense, in the relict oxbow

lakes the microbial communities are dominant, including a great abundance of heterotrophic nanoflagellates and ciliates that prey on picoplankton. The abundance of APP was within the range usually reported for lakes (Fahnenstiel et al., 1986; Sorokin, 1999). The higher proportion of Eukaryotic APP observed in the sites with higher concentration of humic substances is in agreement with observations by Jasser & Arvola (2003) for boreal lakes, who compared the proportion CyAPP/EuAPP for different water bodies and found that eukaryotic picoalgal cells predominated in the most humic water body. Our preliminary results concerning to APP, need to be sustained by further investigations that consider variables such as DOC, grazing and prevailing accessory pigments within the pico-cells.

Conclusion

Profusely vegetated floodplain systems have strong variations in the underwater light climate, which are mainly determined by the floating vegetation and the humic acid content. In this wetland the morphological response to poor light conditions has been registered in terms of light antenna efficiency (morphological attenuation and/or increase in S/V) indicating an optimisation of the light harvesting and buoyancy regulation (gas vacuoles) which allows for a better access to illuminated areas. Nevertheless, the pigment composition, as revealed by the taxonomic structure, was a crucial factor, specially in those environments with very strong light constraints.

Acknowledgements Financial support for this project was provided by the University of Buenos Aires (UBACyT X195), CONICET (PEI 6382), ANPCyT (PICT 12332) and by a Student Grant awarded to P.T.P by the Society of Wetlands Scientists. We are grateful to the Otamendi Natural Reserve (Parques Nacionales) staff for their collaboration.

References

- Cermeño, P., E. Maraño, J. Rodríguez & P. Fernández, 2005. Size dependence of coastal phytoplankton under vertical mixing conditions. *Journal of Plankton Research* 27: 473–483.

- Callieri, C. & M. L. Pinolini, 1995. Picoplankton in Lake Maggiore, Italy. *Internationale Revue Gesamten Hydrobiologie* 80: 491–501.
- de Tezanos Pinto, P., I. O'Farrell & L. Allende, 2006. Influence of free-floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. *Journal of Plankton Research* (in press).
- Fahnenstiel, G. L., L. Sicko-Goad, D. Scavia & E. F. Stoermer, 1986. Importance of picoplankton in Lake Superior. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43: 235–240.
- Hillebrand, H., C.-D. Durselen, D. Kirshtel, U. Pollinger & T. Zohary, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.
- Humphries, S. F. & V. D. Lyne, 1988. Cyanophyte blooms: the role of cell buoyancy. *Limnology and Oceanography*, 33: 79–91.
- Izaguirre, I., I. O'Farrell, F. Unrein, R. Sinistro, M. dos Santos Afonso & G. Tell, 2004. Algal assemblages across a wetland, from a shallow lake to relictual oxbow lakes (Lower Paraná River, South America). *Hydrobiologia* 511: 25–36.
- Jasser, I. & L. Arvola, 2003. Potential effects of abiotic factors on the abundance of autotrophic picoplankton in four boreal lakes. *Journal of Plankton Research* 25: 873–883.
- Jun, S. & L. Dongyan, 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.
- Keskitalo, J. & P. Eloranta, 1999. *Limnology of Humic Waters*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Kirk, J. T. O., 1994. *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press, Melbourne.
- Kronberg, L., 1999. Content of humic substances in freshwater. In Keskitalo J. & P. Eloranta (eds), *Limnology of Humic Waters*. P. Backhuys Publishers, Leiden, 9–10.
- Marker, A. F. H., A. Nusch, H. Rai & B. Riemann, 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie Beiheft* Ergebnisse der Limnologie, 14: 91–106.
- Morales, E. A., F. R. Trainor & C. D. Schlichting, 2002. Evolutionary and ecological implications of plastic responses of algae. *Constancea* 83, (4): http://ucjeps.berkeley.edu/constancea/83/morales_etal/plasticity.html
- Naselli-Flores, L. & R. Barone, 2000. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia* 438: 65–74.
- O'Farrell, I., R. Sinistro, I. Izaguirre & F. Unrein, 2003. Do steady state algal assemblages occur in the shallow lentic environments from wetlands? *Hydrobiologia* 502: 197–209.
- Oliver, R. D., 1994. Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria. *Journal of Phycology*, 30: 161–173.
- Padisák, J., 2003. Estimation of minimum sedimentary (akinet) pool of *Cylindrospermopsis raciborskii*: a morphological and life-cycle based method. *Hydrobiologia* 502: 389–394.
- Padisák, J., E. Soróczki-Pintér & Z. Reznér, 2003. Sinking properties of some phytoplankton shapes and relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an experimental study. *Hydrobiologia* 500: 243–257.
- Pick, F. R., 1991. The abundance and composition of freshwater pico-cyanobacteria in relation to light penetration. *Limnology and Oceanography* 36: 1457–1462.
- Quintana, X. D., F. A. Comín & R. Moreno-Amichi, 2002. Biomass-size spectra in aquatic communities in shallow fluctuating Mediterranean salt marshes (Empordà wetlands, NE Spain). *Journal of Plankton Research* 24: 1149–1161.
- Reynolds, C. S., 1984. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds, C. S., 1997. *Vegetation Processes in the Pelagic: A model for Ecosystems Theory*. Excellence in Ecology, Ecology Institute, Odendorf.
- Reynolds, C. S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores & S. Melo, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.
- Scheffer, M., 1998. *Ecology of Shallow Lakes*. Population and Community Biology Series, 22. Chapman & Hall, London.
- Sorokin, Y. I., 1999. *Aquatic Microbial Ecology*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Stockner, J. G., 1991. Autotrophic picoplankton: an overview from marine and freshwater ecosystems. *Limnology and Oceanography* 33: 765–775.
- Unrein, F., 2001. Efecto de los nutrientes y el pH sobre el crecimiento y la estructura del fitoplancton en ambientes de la llanura aluvial del Paraná Inferior. Ph.D. Thesis. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Utermöhl, M., 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung Limnologie* 9: 1–38.
- Vörös, L., C. Callieri, K. V. Balogh & R. Bertoni, 1998. Freshwater picocyanobacteria along trophic gradient and light quality range. *Hydrobiologia* 369/370: 117–125.

Experimental evidence of the dynamic effect of free-floating plants on phytoplankton ecology

INÉS O'FARRELL^{*,†}, PAULA DE TEZANOS PINTO^{*,†}, PATRICIA L. RODRÍGUEZ^{*,†},
GRISELDA CHAPARRO^{*} AND HAYDÉE N. PIZARRO^{*,†}

^{*}Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

[†]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

SUMMARY

1. There is an increasing concern to understand the role of free-floating plants (FFP) on the functioning and structure of shallow lakes, particularly the mechanisms by which their dominance is self-stabilizing and how they may outcompete phytoplankton.
2. In a field experiment with mesocosms, we simulated three commonly encountered scenarios in warm temperate shallow lakes: FFP dominance, FFP fluctuation and FFP absence. We explored the effects of several key processes, triggered by FFP dynamics, on the composition, diversity and production of phytoplankton, and on the physicochemical conditions.
3. The effects of persistent floating mats on light interception triggered a complex response by the phytoplankton: species were lost and biomass was low, yet high diversity and productivity potential were maintained. A contrasting phytoplankton response characterized mesocosms lacking FFP, where light was sufficient but nitrogen was limiting. Fluctuating FFP cover brought periodic shifts between these two limiting resources for the phytoplankton, which most probably explain the maintenance of richness, diversity and production in these shallow lakes.
4. These results support the recently proposed framework of alternative stable states, providing experimental field evidence of the mechanisms resulting from the shifts between floating plants and phytoplankton dominance.

Keywords: disturbance, free-floating plants, light regime, phytoplankton, shallow lake

Introduction

Many aspects of the functioning and structure of shallow lakes depend on the presence of aquatic plants, both in temperate and tropical zones (Moss, 1990; Jeppesen *et al.*, 1997; Talling & Lemoalle, 1998; Thomaz & Bini, 2003). The effects of submerged plants on ecosystem functioning have been widely assessed

(Jeppesen *et al.*, 1998; Scheffer, 1998), although surprisingly the role of free-floating plants (FFP) has received much less attention (Pompêo & Moschini-Carlos, 2003; Meerhoff & Mazzeo, 2004; Bicudo *et al.*, 2007; Meerhoff *et al.*, 2007a,b). However, there is increasing concern about the effects of FFP because their geographical range is likely to expand as a consequence of increasing winter minimum air temperatures (Meerhoff, 2006) and the accelerating eutrophication (Scheffer *et al.*, 2003) of freshwater ecosystems.

Lake ecosystems where FFP occur often fluctuate between states of dense plant cover and their complete absence; these states mainly depend on lake size and morphometry, water level, nutrient concentration

Correspondence: Inés O'Farrell, Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, C1428 EHA, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: ines@ege.fcen.uba.ar

and temperature (Camargo & Esteves, 1995; van der Heide *et al.*, 2006). The sensitivity of FFP to low air temperature and freezing is reflected in their predominantly tropical and subtropical distribution (Sculthorpe, 1967), and their stability and persistence during the warm season depend mostly on the intensity and direction of wind.

The effect of FFP on ecosystem functioning depends on the percentage of water surface covered (Meerhoff *et al.*, 2003; Abdel-Tawwab, 2006). When floating plants form extensive meadows, irradiance is strongly attenuated in the water column and anoxia is induced due to a decline in the photosynthesis to respiration ratio (Hamilton, Sippel & Melack, 1995; Cattaneo *et al.*, 1998; Takamura *et al.*, 2003; Caraco *et al.*, 2006) and reduced diffusion from the atmosphere. Anoxic conditions result in increases in the concentration of nutrients and changes in their chemical speciation due to the liberation of phosphate and ammonium from the sediment and nitrate reduction, respectively (Rodriguez-Gallego *et al.*, 2004; Beutel, 2006; Bicudo *et al.*, 2007). Nevertheless, FFP may decrease the nutrient content by consumption (Mitchell, 1973). The effects of FFP on aquatic communities are complex and evidence about them is scarce. Known effects include a decrease in phytoplankton biomass (Bicudo *et al.*, 2007), enhancement of heterotrophic and mixotrophic microbial plankton components (Sinistro, Izaguirre & Asikian, 2006), decrease in zooplankton abundance (Meerhoff *et al.*, 2003; Abdel-Tawwab, 2006) and a variety of contradictory fish responses (Meerhoff *et al.*, 2003; Abdel-Tawwab, 2006). The relationships between biotic components and their interactions with the physicochemical environment may establish positive feedbacks that auto-stabilize the ecosystem under FFP dominance. Recently, Scheffer *et al.* (2003) and Scheffer & van Nes (2007) recognized FFP dominance as an alternative stable state to submerged plants, but have not addressed either its effects on phytoplankton or the ecosystem processes that are affected by anoxia.

Cover by FFP has been described as a regulating factor on phytoplankton selection in floodplain wetlands (Zalocar de Domitrovic, 1993; Izaguirre *et al.*, 2004). In the extremely dark and non-fluctuating environments under permanent cover by FFP, phytoplankton diversity is low and species replacement rates are slow, whereas the opposite occurs under a changing macrophyte cover (O'Farrell *et al.*,

2003). Experimental field evidence indicates that light limitation imposed by FFP is the driving force shaping phytoplankton composition and abundance, whereas nutrient conditions may regulate phytoplankton growth in open water (de Tezanos Pinto, Allende & O'Farrell, 2007). The influence of FFP on phytoplankton productivity has not been explored hitherto.

The best documented pulsed disturbances of the phytoplankton have been related to the flushing or strong mixing of the water column and to fluctuating nutrients (Sommer *et al.*, 1993; Sommer, 1995). In ecosystems where FFP occupy a large percentage of the lake surface, short-term changes in cover induced by the wind might also be considered as a disturbance, mainly affecting the light climate for algae. The effect of a fluctuating light regime on phytoplankton structure is not well known. Laboratory experiments with light fluctuating over short periods (<8 h) revealed changes at the population and community levels (Litchman, 1998). Further theoretical analysis using simple models with two competitors suggested that fluctuation periods >100 h may lead to long-term coexistence (Litchman & Klausmeier, 2001). These predictions were confirmed experimentally for semi-continuous cultures of natural phytoplankton grown both under sufficient nutrient supply and phosphorus limitation, showing diversity enhancement by periodic changes in light intensity at the scale of 1–12 days (Flöder, Urabe & Kawabata, 2002; Flöder & Burns, 2005). The findings related to light fluctuations and phytoplankton ecology must be revisited in terms of the features characteristic of densely vegetated shallow lakes, where the enhanced interface with the sediment implies complex nutrient dynamics.

In this study, we experimentally exposed natural phytoplankton to different light scenarios resulting from the FFP dynamics using field enclosures including lake sediments. We hypothesized that phytoplankton diversity and production would increase under the fluctuating light conditions imposed by FFP dynamics. We quantified the disturbance effect of fluctuations in plant cover on phytoplankton in terms of species and functional group composition, richness, diversity and primary production. Community and ecosystem responses were analysed within the framework of the intermediate disturbance hypothesis (Connell, 1978) and the theory of alternative stable states for shallow lakes (Scheffer *et al.*, 1993) respectively.

Methods

Study area

The Otamendi Natural Reserve is a natural floodplain wetland located between the lower reach of the Luján and the Paraná de las Palmas Rivers, Argentina (34°14'S, 58°50'W). The region has a temperate sub-humid climate, and the hydrological cycle is controlled by rainfall (annual mean of 950 mm). Drainage is poor and impacted by groundwater fluctuations; the area is flooded during heavy rainfall and peaks in river flow (Chichizola, 1993). An experiment was carried out in the shallow floodplain lake 'Laguna Grande' (156 ha, $Z_{\max} < 1$ m), where a vegetation of small and medium-sized FFP (*Lemna minima* Phil. ex Hegelm., *Wolffiella oblonga* (Phil.) Hegelm., *Azolla filiculoides* Lam., *Pistia stratiotes* L. and *Salvinia rotundifolia* Willd.) is periodically abundant. Differences in underwater light conditions within the ecosystem mainly reflect the spatial patchiness and varying abundance of the floating vegetation. In addition, waters in this wetland have a brownish colour because of high amounts of dissolved organic substances that further contribute to the attenuation of underwater light (Rodríguez & Pizarro, 2007).

Experimental design

The experiment was performed in late austral summer 2006, 8 March–6 April. Nine black cylindrical polycarbonate enclosures (0.9 m diameter) were placed in an area free of floating and submerged plants, with their lower ends buried in the sediment. When setting up the enclosures, a gill net was placed over the bottom of each enclosure to prevent fish entering. The gill net was removed as the enclosures were buried. Fish were then added (8 m^{-2} *Jenynsia multidentata* Jenyns of similar size per enclosure, an omnivorous–benthivorous–planktivorous cyprinid sometimes abundant in this lake) to prevent increased zooplankton grazing on phytoplankton. This fish density is similar to values encountered under natural FFP cover elsewhere (Meerhoff *et al.*, 2003), though data were not available for this ecosystem. The enclosures isolated 180 L of the lake water (0.5 m depth) and were established 48 h before starting the experiment to allow settling of the sediments.

Three scenarios naturally occurring in these ecosystems were simulated: FFP dominance (constant low light), FFP fluctuation (periodic light fluctuation) and FFP absence (constant high light). Each treatment was run in triplicate. The FFP effect was simulated by placing a fine dark mesh on the water surface at the onset of the experiment, both in FFP dominance and in FFP fluctuation. The mesh attenuated incident radiation by about 98%, thus mimicking the FFP shading effect estimated at 99% (de Tezanos Pinto *et al.*, 2007). In FFP dominance, the mesh covered the surface throughout the experiment, while in FFP fluctuation we generated disturbance by removing/replacing the dark mesh every 5th day. Thus, the treatment FFP fluctuation was subjected to three cycles of mesh cover (days 0–5, 10–15 and 20–25) and mesh removal (days 5–10, 15–20 and 25–30). The use of a mesh rather than real plants allowed us to achieve identical initial conditions in terms of quantity and quality of cover. All enclosures were sampled every fifth day: 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30. We chose this frequency based on previous studies (de Tezanos Pinto *et al.*, 2007), which showed that shifts in the phytoplankton structure and in the physical and chemical variables occurred 4 days after removal of the FFP. Moreover, this sampling frequency was adequate to observe any changes in phytoplankton diversity sufficient to test the intermediate disturbance hypothesis (Sommer *et al.*, 1993).

Biological, physical and chemical analyses

In situ measurements of temperature, conductivity, pH and dissolved oxygen were made at 5, 20 and 35 cm depths using a HI 991301 Hanna® (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, U.S.A.) and a HI 9143 Hanna® (oxygen) portable instruments (Hanna Instruments). Photosynthetically available radiation (PAR 400–700 nm) was measured in each mesocosm with a submersible spherical quantum sensor (LI-193SA; Li-Cor, Lincoln, NE, U.S.A.). The PAR penetration was recorded every 5 cm in the water column to calculate the vertical attenuation coefficient (K_d) (Kirk, 1994) and mean irradiance (E_{mean}) following Helbling, Villafañe & Holm-Hansen (1994):

$$E_{\text{mean}} = E_0(1 - e^{-K_d Z})(K_d Z)^{-1}$$

where E_0 is the sub-surface irradiance and Z is the maximum depth (m). Water colour (g_{440}) was

estimated spectrophotometrically on filtered water (0.7 μm pore) at 440 nm (Kirk, 1994).

Samples for nutrients, chlorophyll-*a* and phytoplankton were taken from a vertically integrated sample. The dissolved fraction of nutrients was analysed after sample filtration through fibreglass filters (0.7 μm pore): phosphate with the stannous chloride method, nitrate with the cadmium reduction method using Hach® reagents and ammonium with the phenate method (American Public Health Association, 1992). Samples for chlorophyll-*a* were filtered through fibreglass filters (0.7 μm pore) and stored at -20°C . After 24 h, pigments were extracted with ethanol (60–70 $^\circ\text{C}$), measured with a spectrophotometer and calculated following Marker *et al.* (1980).

Quantitative analyses of nano- and microphytoplankton were performed on unfiltered samples fixed with an acid Lugol iodine solution (1%) and counted under an inverted microscope according to Utermöhl (1958). The counting unit was the individual (cell, filament or colony), with 20% error for the most frequent species (Venrick, 1978). Biovolumes were estimated following Hillebrand *et al.* (1999) and Jun & Dongyan (2003). The taxa registered were classified in functional groups *sensu* Reynolds *et al.* (2002). Phytoplankton diversity (Shannon–Weaver Index) and evenness were calculated on the basis of species and functional groups abundance and biovolume. Richness was estimated for both species and functional groups.

Primary production estimations were performed on three occasions (days 10, 20 and 30) from integrated samples, using the ^{14}C assimilation technique (Holm-Hansen & Helbling, 1995). Clear acrylic bottles (62.5 mL, sharp cut-off at 400 nm) with water from each mesocosm, were placed in a container in the field, after the addition of 1 μCi $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (Perkin Elmer Life Sciences, Inc., Waltham, MA, U.S.A.). Bottles were incubated at noon for 2 h at three light intensities (0%, 10% and 100%), achieved using dark meshes of neutral attenuation, and were run in duplicate. Next, samples were filtered onto glass-fibre filters (0.7 μm pore). Filters were placed in scintillation vials and fumed with concentrated HCl, dried before the addition of a scintillation cocktail (Opti-phase Hi Safe 3; Perkin Elmer) and measured in a Beckman LS-6500 liquid scintillation counter (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, U.S.A.). To determine

specific radioactivity in the sample, 1 mL of the incubated water was pipetted onto three drops of 0.1 N NaOH, mixed with the scintillation cocktail and counted as previously described. Dissolved inorganic carbon was determined from alkalinity by Gran titration, pH and temperature (Stumm & Morgan, 1996). The production per unit area (P_A) was calculated by integrating the area below the curve of primary production versus depth. P_A was standardized with E_{mean} and with chlorophyll-*a* ($P_A E_{\text{mean}}^{-1}$ and $P_A \text{Chl-}a^{-1}$, respectively) to be used as estimators of production efficiency.

Zooplankton was sampled at all dates by integrating the water column. Twelve litres of water was filtered through a 50 μm pore net and the filtered water was returned to the enclosures to avoid a drop in water level. Microzooplankton was analysed using a 1-mL Sedgwick-Rafter counting cell under a binocular microscope and sub-samples of dense samples were taken with a Hensen–Stempel pipette. Macrozooplankton was counted in a 5-mL Bogorov chamber under a stereomicroscope. Total zooplankton abundance (micro + macro), was expressed as individuals per litre (error below 10%).

Statistical analysis

The treatment effects (cover condition) on oxygen concentration, phosphate and dissolved inorganic nitrogen (DIN = nitrate + ammonium), E_{mean} , K_d , g_{440} , phytoplankton density, biovolume and chlorophyll-*a*, P_A , $P_A E_{\text{mean}}^{-1}$ and $P_A \text{Chl-}a^{-1}$ were analysed using two-way repeated measures ANOVA (RM-ANOVA), with treatment as the main factor and time as repeated measures. To test for significant differences between treatments, within time and for initial conditions, *post hoc* comparisons were made by LSD test for P_A , $P_A E_{\text{mean}}^{-1}$ and $P_A \text{Chl-}a^{-1}$, and by Student Newman–Keuls test for the other variables (Underwood, 1997). For pairwise comparisons of means at different levels of the between and within (RM) factors, we used the pooled mean squares error for the within effect and the between portion of the current effect; in such cases only P is indicated. When data did not meet the sphericity assumption, log 10 (oxygen, density, E_{mean}) and square-root (DIN) transformations were performed. Sphericity was checked with the Mauchly test. Spearman's rank nonparametric correlations were performed between

variables for three sets of data corresponding to each treatment (Zar, 1996). At the end of the experiment (day 30) a multiple comparison (LSD test) was performed to compare the levels of diversity, richness and evenness among treatments.

Results

Physical and chemical variables

Mean irradiances (E_{mean}) in the three treatments were $6.6 \pm 4.3 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in FFP dominance, 4.3 ± 2.8 and $352 \pm 195 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in FFP fluctuation (for the dark and light periods, respectively) and $204 \pm 105 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in FFP absence; significant differences were observed between treatments ($F_{2,6} = 367.1, P < 0.05$) and in time ($F_{6,30} = 80.2, P < 0.05$) (Fig. 1a). K_d ranged between 1.99 and 13.43 m^{-1} and g_{440} varied between 3.7 and 27.6 m^{-1} , values characteristic of this humic wetland (Rodríguez & Pizarro, 2007). These variables did not show significant differences among treatments nor among sampling dates. Temperature, conductivity and pH were barely affected by the light regime. Temperature fluctuations ranged between 16.7 and $29.7 \text{ }^\circ\text{C}$, were mostly uniform with depth and mirrored lake conditions. Conductivity ranged between 1070 and $1540 \mu\text{S cm}^{-1}$ in all enclosures. The pH remained close to neutral and similar in FFP dominance and was slightly higher during the uncovered phases in FFP fluctuation, resembling the maximum values in FFP absence (8.8).

Sub-surface dissolved oxygen differed markedly among treatments ($F_{2,5} = 76.1, P < 0.05$) (Fig. 1b): in FFP dominance a steady drop to anoxia was observed ($P < 0.05$), in FFP fluctuation an alternation of high and anoxia/low concentrations followed the periods of open waters and mesh cover, respectively ($P < 0.05$), and in FFP absence oxygen was high but concentrations declined somewhat (Fig. 1b). Oxygen patterns in FFP absence and the lake were very similar, suggesting that enclosures closely mimicked the lake oxygen dynamics. Moreover, in FFP dominance sediments were always anoxic, in FFP fluctuation they were anoxic most of the time, and in FFP absence they were oxygenated but below saturation.

Phosphate (P-PO_4) always exceeded values considered limiting for phytoplankton growth ($3 \mu\text{g L}^{-1}$, *sensu* Reynolds, 2006) and was always within the

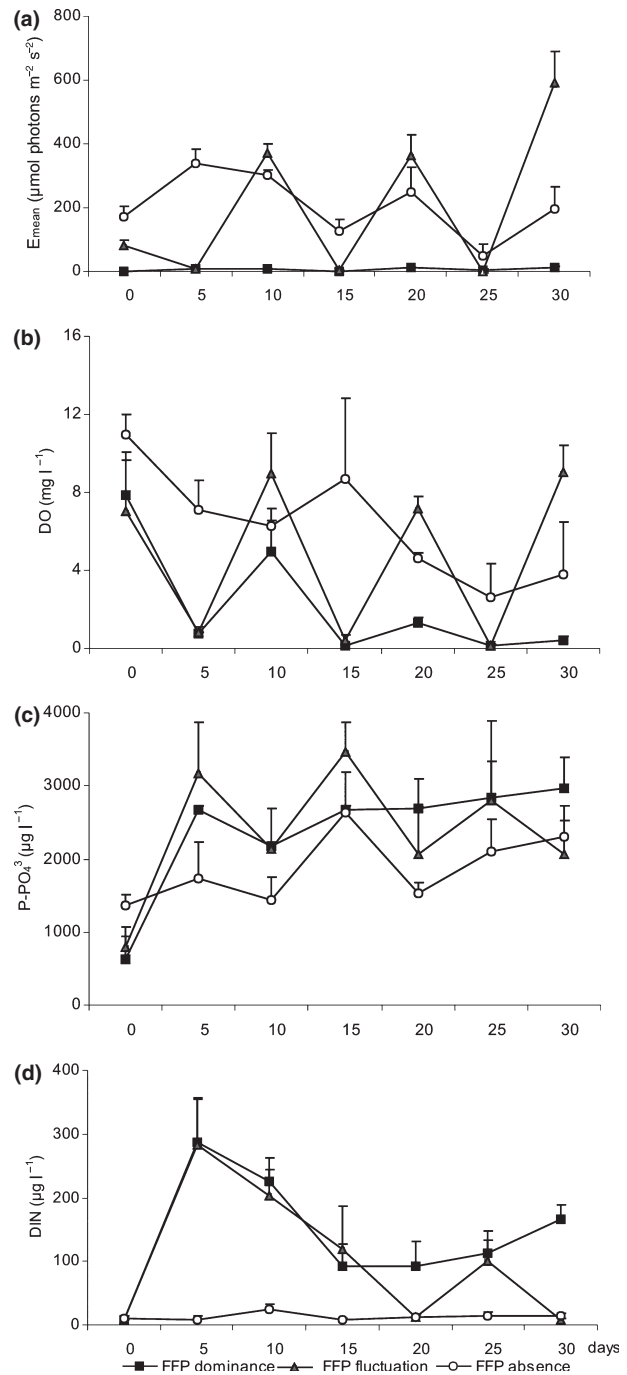


Fig. 1 Temporal fluctuations in (a) mean irradiance, (b) sub-superficial (5 cm depth) dissolved oxygen, (c) phosphate and (d) dissolved and inorganic nitrogen in the three treatments. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

range of hypereutrophic systems (mean of $2300 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fig. 1c). Phosphate concentrations in FFP dominance and FFP fluctuation initially increased after 5 days ($P < 0.05$) of anoxic conditions, probably

due to release from the anoxic sediments. A rough estimate suggests that more than $1500 \mu\text{g L}^{-1}$ were released in FFP dominance and FFP fluctuation in this phase. After this initial strong increase, phosphate concentrations did not differ between the three treatments, despite the periodic replenishments in FFP fluctuation ($P > 0.05$). Conversely, DIN concentrations differed among the three treatments ($F_{12,36} = 18.89$, $P < 0.05$) (Fig. 1d). At the onset of the experiment, DIN was below concentrations limiting for phytoplankton growth ($100 \mu\text{g L}^{-1}$, *sensu* Reynolds, 2006) in all treatments, but increased markedly in FFP dominance and FFP fluctuation from days 0 to 5 ($P < 0.05$) (Fig. 1d) and remained low throughout the experiment in FFP absence ($< 33.2 \mu\text{g L}^{-1}$). In FFP dominance, DIN concentration remained high from days 5 to 15 ($> 250 \mu\text{g L}^{-1}$) and then dropped to approximately $100 \mu\text{g L}^{-1}$. In FFP fluctuation, concentrations increased during the covered phases and dropped significantly during uncovered periods ($P < 0.05$), except after the heavy rains between days 5 to 10. Nitrate concentration was always very low ($< 20 \mu\text{g L}^{-1}$); in FFP dominance and FFP fluctuation it did not exceed 5% of DIN, whereas the opposite occurred in FFP absence.

Phytoplankton

Persistently low light in FFP dominance had a strongly negative effect on phytoplankton density, chlorophyll-*a* and biovolume, whereas in FFP fluctuation and FFP absence both light regimes rendered quite similar and higher values, regardless of periodic light restrictions in FFP fluctuation (Fig. 2). Final mean total phytoplankton densities in FFP fluctuation and FFP absence ($2.8 \times 10^5 \pm 3.5 \times 10^4 \text{ ind mL}^{-1}$) were nearly 30 times higher than in FFP dominance ($1 \times 10^4 \pm 5.5 \times 10^3 \text{ ind mL}^{-1}$) ($P < 0.05$) (Fig. 2a). Initially, high chlorophyll-*a* concentrations were recorded (mean = $182 \pm 55 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fig. 2b); in FFP dominance a strong and steady decrease to $11 \mu\text{g L}^{-1}$ occurred ($P < 0.05$), in FFP fluctuation values alternated depending on the light status after 15 days, and in FFP absence values were higher and less variable (Fig. 2b). Biovolume patterns resembled chlorophyll-*a* variations, but an increase in biovolume was recorded in FFP absence after day 15 ($P < 0.05$) (Fig. 2c).

The phytoplankton included 194 taxa distributed among 18 functional groups typically encountered in

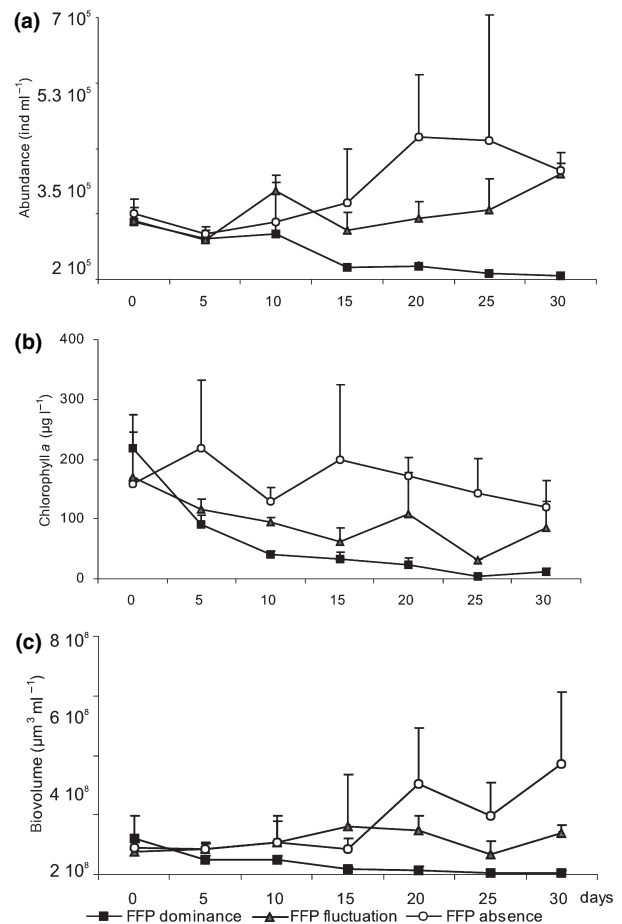


Fig. 2 Temporal variations in phytoplankton (a) abundance, (b) chlorophyll-*a* and (c) biovolume in the three treatments. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

shallow waterbodies. Table 1 summarizes data regarding tolerance/benefit to resources and the life forms of all encountered groups. Groups X1 (small unicellular non motile), X2 (small unicellular flagellates), Lo (colonial cyanobacteria) and S2 (filamentous non-fixing cyanobacteria) occurred consistently in the assemblages throughout the experiment, but dominance of either Y (mixotrophs) or K (colonial cyanobacteria) also occurred. The groups J, F, X1 and W1 were very diverse and clustered between 12 and 41 species each, whereas most other groups were represented by less than six species. Final species and functional group richness in FFP dominance were significantly lower than in the other scenarios (Table 2). In this treatment, more than 30 species and about five functional groups were lost during the first 15 days of persistent darkness. Richness remained similar subsequently, reflecting

Table 1 Species representative of the functional groups (FG) recorded during the experiment, denoting their tolerance (+), no benefit (–), tolerance suspected but not proven (?) of: mean daily irradiance (I^* , $<17.4 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$), concentration of reactive phosphorus (P, $<3.5 \mu\text{g L}^{-1}$) and concentration of dissolved nitrogen (n , $<14 \mu\text{g L}^{-1}$) *sensu* Reynolds *et al.* (2002)

Representative species	FG	I^*	P	n	Observations
<i>Cyclotella meneghiniana</i> Kütz.	C	+	–	–	Unicellular
<i>Nitzschia acicularis</i> (Kütz.) W. M. Smith	C				
<i>Nitzschia linearis</i> (Agardh.) W. M. Smith	C				
<i>Nitzschia palea</i> (Kütz.) W. Smith	C				
<i>Nitzschia reversa</i> W. Smith	C				
<i>Mallomonas</i> sp. Perty	E	+	+	–	Unicellular, flagellate, mixotrophy
<i>Dichotomococcus curvatus</i> Korš.	F	–	+	–	Coenobial
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i> Wood	F				
<i>Pandorina morum</i> (O.F.Müll.) Bory	G	–	–	–	Colonial, flagellate
<i>Anabaena</i> spp. Bory	H	–	–	+	Filament
<i>Aphanizomenon gracile</i> Lemm.	H				
<i>Actinastrum hantzschii</i> Kom. et Fott.	J	?	–	–	Coenobial
<i>Didymocystis fina</i> Kom.	J				
<i>Scenedesmus acuminatus</i> (Lagerh.) Chod.	J				
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (Turp.) Bréb.	J				
<i>Aphanocapsa delicatissima</i> W. et G. S. West	K	?	–	–	Colonial
<i>Aphanothece smithii</i> (Kom.-Legn.) Cron.	K				
<i>Eucapsis alpina</i> Clem. et Shantz	K				
<i>Eucapsis starmachii</i> Kom. et Hind.	K				
<i>Chroococcus minimus</i> (Keiss.) Lemm.	Lo	–	+	–	Colonial
<i>Merismopedia minima</i> Beck.	Lo				
<i>Merismopedia punctata</i> Meyen	Lo				
<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemm.	Lo				
<i>Coelomonon minimum</i> (Bern.) Kom.-Legn. et Tavera	M	–	–	–	Colonial
<i>Microcystis aeruginosa</i> (Kütz.) Kütz.	M				
<i>Microcystis firma</i> (Kütz.) Schm.	M				
<i>Aulacoseira granulata</i> (Ehr.) Sim.	P				Filament
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gom.) Anag. et Kom.	S1	+	–	–	Filament
<i>Pseudoanabaena catenata</i> Lauterb.	S1				
<i>Arthrospira</i> cf. <i>khannae</i> Drouet et Strickland	S2	+	–	–	Filament
<i>Planktolyngbya limnetica</i> (Lemm.) Kom.-Legn. et Cron.	S2				
<i>Raphidiopsis mediterranea</i> Skuja	SN	+	–	+	Filament
<i>Centrित्रachus belenophorus</i> Lemm.	T	?	+/-	–	Unicellular
<i>Euglena</i> cf. <i>gasterosteus</i> Skuja	W1	+	–	–	Unicellular, flagellate
<i>Euglena variabilis</i> Klebs	W1				Mixotrophy
<i>Phacus aenigmaticus</i> Drez.	W1				
<i>Phacus viguieri</i> All. et Lef.	W1				
<i>Monoraphidium arcuatum</i> (Korš.) Hind.	X1				Unicellular
<i>Monoraphidium circinale</i> (Nyg.) Nyg.	X1				
<i>Monoraphidium contortum</i> (Thur. in Bréb.) Kom.-Legn.	X1				
<i>Monoraphidium griffithii</i> (Berk.) Kom.-Legn.	X1				
<i>Monoraphidium komarkovae</i> Nyg.	X1				
<i>Monoraphidium minutum</i> (Näg.) Kom.-Legn.	X1				
<i>Tetraedron triangulare</i> Korš.	X1				
<i>Chlamydomonas</i> spp. Ehr.	X2	–	?	–	Unicellular, flagellate
<i>Chlorogonium fusiforme</i> Matw.	X2				
<i>Chrysophyceae</i> ni	X2				
<i>Plagioselmis nannoplanctica</i> (Skuja) Novar. Lucas et Morr.	X2				
<i>Spermatozopsis exsultans</i> Korš.	X2				
<i>Cryptomonas erosa</i> Ehr.	Y	+	–	–	Unicellular, flagellate
<i>Cryptomonas marssonii</i> Skuja	Y				Mixotrophy
<i>Peridinium</i> sp.	Y				

Observations of each functional group are included.

Table 2 Mean values of species and functional group richness, diversity and evenness at the end of the experiment (day 30) for the three treatments

	FF- DOM	FF- FLUC	FF- ABS
Specific richness	24 ^a	72 ^b	60 ^b
Functional group richness	11 ^a	16 ^b	14 ^{b*}
Species diversity (abundance)	2.93 ^a	3.12 ^a	2.69 ^a
Species diversity (biovolume)	2.80 ^a	3.16 ^a	1.96 ^a
Functional group diversity (abundance)	2.17 ^a	2.46 ^a	2.16 ^a
Functional group diversity (biovolume)	2.32 ^a	2.54 ^a	1.34 ^{b*}
Species evenness (abundance)	0.64 ^a	0.51 ^a	0.45 ^{b*}
Species evenness (biovolume)	0.61 ^a	0.51 ^a	0.33 ^{b*}
Functional group evenness (abundance)	0.63 ^a	0.62 ^a	0.55 ^a
Functional group evenness (biovolume)	0.77 ^a	0.83 ^a	0.25 ^{b*}

Different superscript letters denote significant differences at 5% among treatments as determined by the LSD test.

*Differences at 10%.

the persistence of species better adapted to or tolerant of low light conditions. Final community composition showed a higher share of X1, accompanied by a lower contribution of groups S2, M or Lo. In FFP fluctuation and FFP absence, species and functional group richness responded similarly (Fig. 3a,b, Table 2), even if species richness was enhanced in FFP fluctuation after each light period and declined after each shade period (Fig. 3a). In FFP fluctuation groups S2 and X2 prevailed together with lesser numbers of X1, Lo and C; the effect posed by light fluctuation influenced most functional groups: densities in X1, X2, J, F, T and Y increased at high irradiance and decreased during the light limited periods (Fig. 4a), whereas the opposite occurred for M (Fig. 4b). In FFP absence, the assemblages in the three replicates responded differently, especially after day 20. Densities in the final community assemblages showed dominance of either X2, S2 or co-dominance of S2, X1 and K.

Final species diversity, based both on abundance and biovolume, was similar in all treatments (Table 2); however, final species evenness was significantly lower at FFP absence. Functional group diversity and evenness at FFP absence were significantly lower by the end of the experiment in terms of biovolume (Table 2, Fig. 3c) due to the dominance (55–90%) of mainly one functional group, either K or W1, in each replicate.

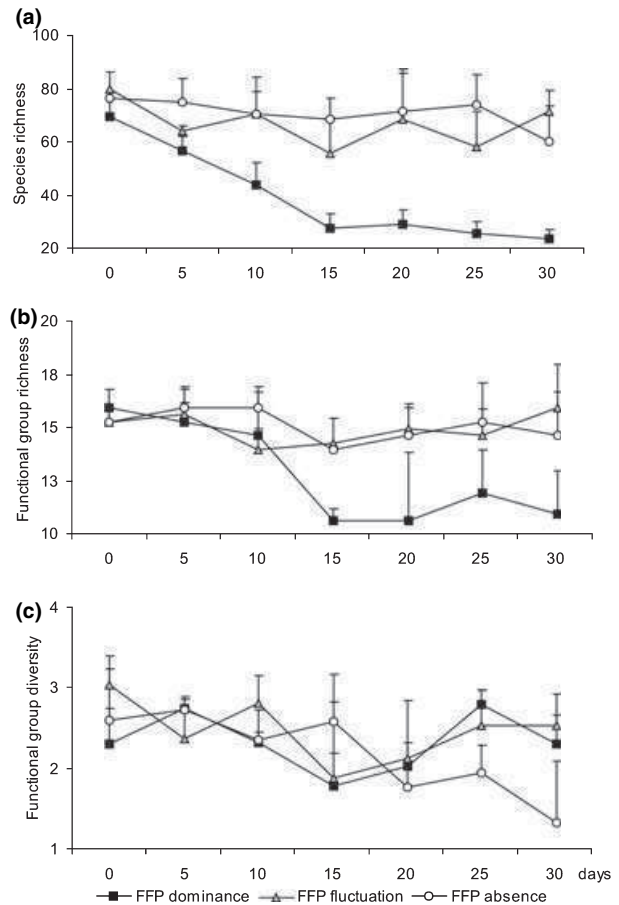


Fig. 3 Temporal variations in (a) species richness, (b) functional group richness and (c) functional group diversity based on biovolume in the three treatments. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

Phytoplankton production

Production per unit area was similar among all treatments on day 10 (Fig. 5a), although by day 20, P_A in FFP absence increased up to a mean value of $676 \pm 41 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ and was significantly higher than in FFP dominance, where production was low. FFP fluctuation was intermediate and did not differ from the other treatments. On day 30, P_A remained low in FFP dominance but in FFP fluctuation increased to values comparable to those in FFP absence (mean $519 \pm 238 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) (Fig. 5a). Production standardized by E_{mean} ($P_A E_{\text{mean}}^{-1}$) was maximum on day 10 in FFP dominance (mean $216 \pm 18 \text{ } \mu\text{g C } \mu\text{mol photons}^{-1}$) and then dropped significantly on days 20 and 30, reaching values similar to those of the other treatments, which remained low and unchanged throughout the experiment (mean $26 \pm 16 \text{ } \mu\text{g C } \mu\text{mol photons}^{-1}$) (Fig. 5b).

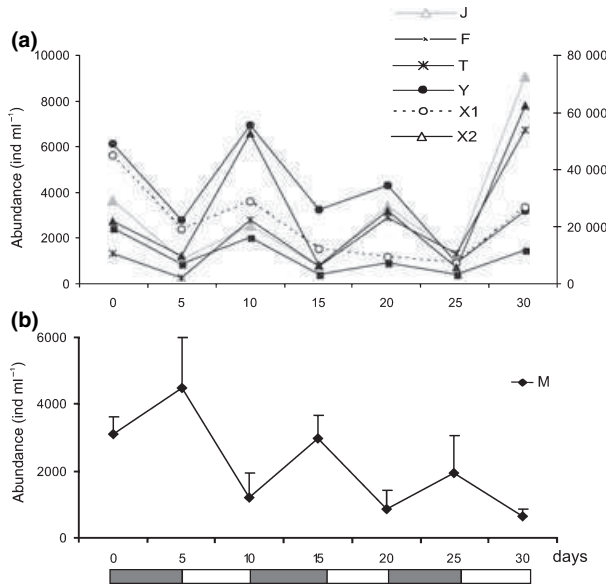


Fig. 4 Abundance dynamics of the functional groups affected by the light fluctuations in FF-fluc. Note that the X1 and X2 groups correspond to the right hand axis scale.

Mean productivity ($P_A \text{ Chl-}a^{-1}$) was highest in FFP dominance ($P < 0.05$) and remained relatively constant (mean $46 \pm 7 \text{ mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1} \mu\text{g Chl-}a^{-1}$), whereas values in FFP fluctuation and FFP absence were always one order of magnitude lower (Fig. 5c). P_A was positively correlated with E_{mean} , species richness, total density, total biovolume and chlorophyll-*a* ($P < 0.05$) (Table 3). $P_A \text{ Chl-}a^{-1}$ was negatively correlated with E_{mean} , species richness, total density and total biovolume, whereas $P_A E_{\text{mean}}^{-1}$ was negatively correlated with species richness (Table 3).

Zooplankton

Initial total zooplankton density was similar in all treatments ($P > 0.05$), ranging from 1.3×10^3 to $2.6 \times 10^3 \text{ ind L}^{-1}$ and decreased to at least one-third in all scenarios at the end of the experiment ($P > 0.05$). Zooplankton community composition was initially dominated by rotifers, but on day 30 nauplii prevailed in FFP dominance and an even contribution of rotifers, nauplii and copepods occurred in FFP fluctuation and FFP absence.

Discussion

The development of a truly general framework for predicting which conditions give rise to dominance by

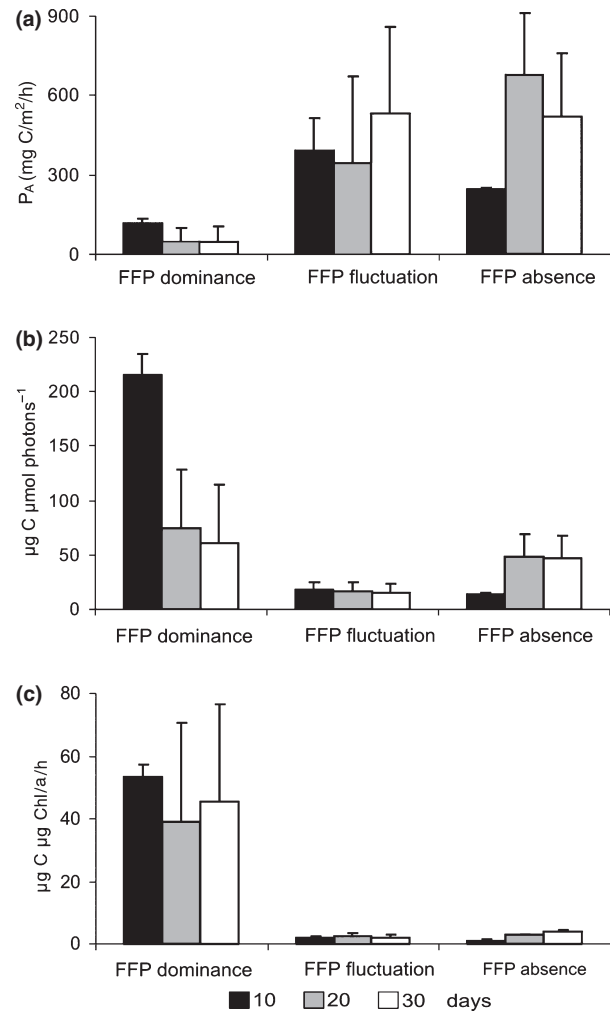


Fig. 5 Temporal variations of (a) production per unit area (P_A), (b) P_A standardized by E_{mean} and (c) biomass-specific productivity in the three treatments on days 10, 20 and 30. Error bars indicate standard deviations ($n = 3$).

Table 3 Spearman’s correlation coefficients ($P < 0.05$) for production variables: P_A ($\text{mg C m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), $P_A \text{ Chl-}a^{-1}$ ($\mu\text{g C } \mu\text{g Chl-}a^{-1} \text{ h}^{-1}$) and $P_A E_{\text{mean}}^{-1}$ ($\mu\text{g C } \mu\text{mol photons}^{-1}$) versus E_{mean} ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), species richness, total density (ind mL^{-1}), total biovolume ($\mu\text{m}^3 \text{ mL}^{-1}$) and chlorophyll-*a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) on days 10, 20 and 30 in all treatments ($n = 27$)

	P_A	$P_A \text{ Chl-}a^{-1}$	$P_A E_{\text{mean}}^{-1}$
E_{mean}	0.65	-0.55	
Species richness	0.61	-0.79	-0.53
Total density	0.82	-0.54	
Total biovolume	0.76	-0.56	
Chlorophyll- <i>a</i>	0.75		

floating plants or phytoplankton still needs further understanding (Scheffer *et al.*, 2003). Our current results provide evidence of several mechanisms involved in the shift between both scenarios and on the effect that FFP cover exert on phytoplankton. Persistence of a floating cover established a stressful environment for phytoplankton, due to the low light intensity that impaired photosynthesis and growth, generating an imbalance between production and respiration. Moreover, the sediments rich in decomposing organic matter may have determined additional oxygen consumption. The resulting anoxic conditions promoted phosphate and ammonium release from sediments which, in combination with a low biological uptake by phytoplankton due to light limitation, yielded enhanced concentrations of dissolved nutrients. Conversely, in the absence of cover, light transmission was high and photosynthesis was able to counteract oxygen consumption in the water column. Light sufficiency allowed enhanced phytoplankton growth and nutrient uptake; phosphate concentration was still very high, yet phytoplankton growth was limited by nitrogen. In the fluctuating cover treatment, an alternation of both patterns described was evident: dark phases quickly became anoxic, DIN and phosphorus replenishment occurred and algal biomass decreased, whereas when cover was removed oxygen increased but nutrients diminished, mostly due to enhanced phytoplankton biomass. Thus, the presence or the absence of FFP establishes contrasting light-nutrient scenarios which determine phytoplankton abundance variations along the horizontal axis of shallow systems.

Different FFP scenarios also shaped phytoplankton attributes such as composition and diversity. Prolonged light limitation rendered assemblages with low species and functional group richness due to the exclusion of taxa that did not tolerate the almost dark water column and low dissolved nitrogen concentration. The few species able to withstand these conditions were represented by sparse populations, which were comparable to the abundances recorded by Izaguirre *et al.* (2004) when the wetland was densely covered by macrophytes. Most of the species belonged to groups X1 (mainly unicellular non-motile green algae) and S2, M or Lo (filamentous and colonial cyanobacteria), all well adapted to low light conditions either by virtue of their morphology, possession of accessory pigments or gas vesicles, as described in de

Tezanos Pinto *et al.* (2007) and O'Farrell, de Tezanos Pinto & Izaguirre (2007). However, in the absence of FFP, where light was sufficient but nitrogen was limiting, all the species and functional groups initially present coexisted to the end of the experiment, but with few of them dominating the community. Functional group composition shifted towards a dominance, in terms of biovolume, of either Y (mixotrophs) or K (colonial cyanobacteria), suggesting either low dependence on nitrogen availability or low nitrogen quotas respectively. The imposed cyclic interruption of light limitation simulating periodic plant removal was sufficient to maintain the existing species pool of the lake, sustaining high and quite even abundances. Thus, our results at the mesocosms scale provide field evidence supporting (Lichtman & Klausmeier, 2001) mathematical theory of stable coexistence among phytoplankton species under slow light fluctuations (100 h). The fluctuations in FFP cover produced concomitant oscillations in the abundance of several functional groups; their persistence under oligophotic conditions provided an inoculum for their recovery as soon as the light conditions became favourable. In particular, this was evident for the most abundant group (X2: small unicellular flagellates), which exhibited enhanced growth during the uncovered phases, probably because their motility and small size allow for a better access to resources. Changing conditions also benefited the non-fluctuating diatom group C, represented mainly by *Nitzschia* spp. that combine low half saturation constants for irradiance-dependent growth (Richardson, Beardall & Raven, 1983) and efficient nitrogen uptake in the dark compared to flagellates (Clark, Flynn & Owens, 2002). Moreover, theory proposes that unchanged environments sustain less diverse communities, whereas the introduction of an intermediate frequency of disturbances entails an increase in biodiversity (Connell, 1978). Thus, permanently FFP covered or uncovered conditions should lead to lower functional group diversity, whereas wind-driven displacements of mats in the time scale of an intermediate disturbance should result in more diverse assemblages.

Our results confirm the maintenance of high functional diversity by externally imposed disturbance in FFP cover and concurs with observations under controlled laboratory conditions, where induced light fluctuation at the scale of a few days have produced diversity enhancements of natural

phytoplankton (Flöder *et al.*, 2002; Flöder & Burns, 2005). Moreover, as predicted by Connell's (1978) theory, our results confirm a drop in diversity in the undisturbed treatment free of FFP. However, diversity remained high in the FFP permanent treatment, despite the lack of disturbance and the marked species loss (due to high evenness). The contrasting phytoplankton responses between these non-disturbed environments probably lie in the nature of the limiting resource (light in FFP dominated or nitrogen in free of FFP) in addition to the intrinsic 'stability' of the two scenarios.

Phytoplankton production in the permanently open and periodically shaded treatments was similar to field values in open areas previously recorded in this wetland (Rodriguez & Pizarro, 2007). Thus, the intermittent light/dark regime did not diminish phytoplankton production. Sustained darkness imposed a severe impairment on production, causing species, biomass and production loss, yet the community had a high photosynthetic efficiency, maximizing chlorophyll-*a* specific production. These results diverge from our present view of the relationship between diversity and production, which is mostly derived from terrestrial ecosystems and asserts that declining species richness can lead to less efficient capture of resources and, in turn, lower production of biomass (Cardinale, Ives & Inchausti, 2004).

Our study demonstrates that, in shallow lakes where FFP occur, fluctuations in the plant cover generate strong environmental changes that particularly affect phytoplankton ecology and ecosystem function. The onset of shaded conditions elicits a quick response in the chemical environment yet a slower phytoplankton response, which becomes evident only after the persistence of restrictive light conditions, resulting in community reorganization, species loss, and a decline in abundance and total production along with an increase in biomass specific productivity. Conversely, the absence of FFP leads to high phytoplankton abundance and production that cause nitrogen limitation, producing different and less diverse assemblages, yet maintaining high richness. The wax and wane of FFP meadows generate an intermediate situation, where the fluctuating light regime continually resets the chemical environment, but maintains phytoplankton production, abundance and richness as in scenarios permanently free of FFP and shows even higher diversities.

We provide evidence of several mechanisms involved in the shift between floating plants and phytoplankton, thus contributing to the understanding of alternative stable states of shallow lakes. Information is scarce regarding states dominated by FFP and the observed patterns are not consistent. While Scheffer *et al.* (2003) asserted that a single harvest of FFP may lead to a permanent switch to submerged plant dominance, Bicudo *et al.* (2007) observed that this action ultimately led to phytoplankton dominance. Our results indicate that FFP wind-driven displacements frequently trigger an alternation between FFP and phytoplankton dominance. Finally, the assessment of the impact of invading FFP mats as a consequence of eutrophication and global warming, poses an increasing need to deal with the biological and physicochemical responses engineered by these macrophytes.

Acknowledgments

The financial support for this study was provided by grants PICT 12332 (ANCYT), PIP 5355 (CONICET) and UBACYT X815 (UBA). We thank Lic Solange Vera and Dr Soledad Fontanarrosa for their collaboration. We are especially grateful to Drs Erik Jeppesen, Elena Litchman, two anonymous reviewers and Prof. Alan Hildrew for their helpful criticism and suggestions on the manuscript. We acknowledge the Otamendi Natural Reserve (Parques Nacionales) staff for their collaboration.

References

- Abdel-Tawwab M. (2006) Effect of free-floating macrophyte, *Azolla pinnata*, on water physico-chemistry, primary productivity and the production of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, L., and common carp, *Cyprinus carpio* L., in fertilized earthen ponds. *Journal of Applied Aquaculture*, **18**, 21–41.
- American Public Health Association (1992) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters*. APHA, New York.
- Beutel M.W. (2006) Inhibition of ammonia release from anoxic profundal sediments in lakes using hypolimnetic oxygenation. *Ecological Engineering*, **28**, 271–279.
- Bicudo D.C., Fonseca B.M., Bini L.M., Crossetti L.O., Bicudo C.E.M. & Araújo-Jesus T. (2007) Undesirable side-effects of water hyacinth control in a shallow tropical reservoir. *Freshwater Biology*, **52**, 1120–1133.

- Camargo A.F.M. & Esteves F.A. (1995) Biomass and productivity of aquatic macrophytes in Brazilian lacustrine ecosystems. In: *Limnology in Brazil* (Eds J.G. Tundisi, C.E.M. Bicudo & T. Matsumara Tundisi), pp. 136–149. Brazilian Academy of Sciences, Brazilian limnological Society, Río de Janeiro.
- Caraco N., Cole J.C., Findlay S. & Wigand C. (2006) Vascular plants as engineers of oxygen in aquatic systems. *BioScience*, **56**, 219–225.
- Cardinale B.J., Ives A.R. & Inchausti P. (2004) Effects of species diversity on the primary productivity of ecosystems: extending our temporal scales of inference. *Oikos*, **104**, 437–450.
- Cattaneo A., Galanti G., Gentinetta S. & Romo S. (1998) Epiphytic algae and macroinvertebrates on submerged and floating leaved macrophytes in an Italian lake. *Freshwater Biology*, **39**, 725–740.
- Chichizola S.E. (1993) Las comunidades vegetales de la Reserva Natural Estricta Otamendi y sus relaciones con el ambiente. *Parodiana*, **8**, 227–263.
- Clark D.R., Flynn K.J. & Owens N.J.P. (2002) The large capacity for dark-nitrate assimilation in diatoms may overcome nitrate limitation of growth. *New Phytologist*, **155**, 101–108.
- Connell J.H. (1978) Diversity in tropical rain forests and coral reefs. *Science*, **199**, 1302–1310.
- Flöder S. & Burns C.W. (2005) The influence of fluctuating light on diversity and species number of nutrient-limited phytoplankton. *Journal of Phycology*, **41**, 950–955.
- Flöder S., Urabe J. & Kawabata Z. (2002) The influence of fluctuating light intensities on species composition and diversity of natural phytoplankton communities. *Oecologia*, **133**, 395–401.
- Hamilton S.K., Sippel S.J. & Melack J.M. (1995) Oxygen depletion and carbon dioxide and methane production in waters of the Pantanal wetland of Brazil. *Biogeochemistry*, **30**, 115–141.
- van der Heide T., Roijackers R.M.M., van Nes E.H. & Peeters E.T.H.M. (2006) A simple equation for describing the temperature dependent growth of free-floating macrophytes. *Aquatic Botany*, **84**, 171–175.
- Helbling E.W., Villafañe V.E. & Holm-Hansen O. (1994) Effects of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. In: *Ultraviolet Radiation in Antarctica: Measurements and Biological Effects* (Eds S. Weiler & P. Penhale), pp. 207–227. American Geophysical Union, Antarctic Research Series, Washington, D.C.
- Hillebrand H., Durselen C.D., Kirshtel D., Pollinger U. & Zohary T. (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, **35**, 403–424.
- Holm-Hansen O. & Helbling E.W. (1995) Técnicas para la medición de la productividad primaria en el fitoplancton. In: *Manual de Métodos Ficológicos* (Eds K. Alveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira & E. Sar), pp. 329–350. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Izaguirre I., O'Farrell I., Unrein F., Sinistro R., Dos Santos Afonso M. & Tell G. (2004) Algal assemblages across a wetland, from a shallow lake to relictual oxbow lakes (Lower Paraná River, South America). *Hydrobiologia*, **511**, 25–36.
- Jeppesen E., Jensen J.P., Søndergaard M., Lauridsen T., Pedersen L.J. & Jensen L. (1997) Top-down control in freshwater lakes: the role of nutrient state, submerged macrophytes and water depth. *Hydrobiologia*, **342/343**, 151–164.
- Jeppesen E., Christofferson M., Søndergaard M. & Søndergaard M. (1998) *The Structuring Role of Submerged Macrophytes in Lakes*. Springer, Berlin.
- Jun S. & Dongyan L. (2003) Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, **25**, 1331–1346.
- Kirk J.T.O. (1994) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Litchman E. & Klausmeier C.A. (2001) Competition phytoplankton under fluctuating light. *The American Naturalist*, **157**, 171–187.
- Litchman E. (1998) Population and community responses of phytoplankton fluctuating light. *Oecologia*, **117**, 247–257.
- Marker A.F.H., Nusch A., Rai H. & Riemann B. (1980) The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie Beiheftung Ergebnisse der Limnologie*, **14**, 91–106.
- Meerhoff M. (2006) *The Structuring Role of Macrophytes on Trophic Dynamics in Shallow Lakes Under a Climate Warming Scenario*. PhD thesis, University of Aarhus, Aarhus.
- Meerhoff M. & Mazzeo N. (2004) Importancia de las plantas flotantes libres de gran porte en la conservación y rehabilitación de lagos someros de Sudamérica. *Ecosistemas*, **13**, 17–27.
- Meerhoff M., Mazzeo N., Moss B. & Rodriguez-Gallego L. (2003) The structuring role of free floating versus submerged plants in a subtropical shallow lake. *Aquatic Ecology*, **37**, 377–391.
- Meerhoff M., Clemente J.M., Teixeira de Mello F., Iglesias C., Pedersen A.R. & Jeppesen E. (2007a) Can warm climate-related structure of littoral predator assemblies weaken the clear water state in shallow lakes? *Global Change Biology*, **13**, 1888–1897.
- Meerhoff M., Iglesias C., Teixeira de Mello F., Clemente J.M., Jensen E., Lauridsen T.L. & Jeppesen E. (2007b)

- Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behaviour of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes. *Freshwater Biology*, **52**, 1009–1021.
- Mitchell D.S. (1973) The growth and management of *Eichhornia crassipes* and *Salvinia* spp. in their native environments and in alien situations. In: *Aquatic Weeds in South East Asia* (Eds K. Varshney & J. Rzoska), pp. 167–176. Dr W. Junk b.v. Publishers, The Hague.
- Moss B. (1990) Engineering and biological approaches to the restoration from eutrophication of shallow lakes in which aquatic plant communities are important components. *Hydrobiologia*, **200–201**, 367–377.
- O'Farrell I., Sinistro R., Izaguirre I. & Unrein F. (2003) Do steady state assemblages occur in shallow lentic environments from wetlands? *Hydrobiologia*, **502**, 197–209.
- O'Farrell I., de Tezanos Pinto P. & Izaguirre I. (2007) A pattern of morphological variability in phytoplankton in response to different light conditions. *Hydrobiologia*, **578**, 65–77.
- Pompêo M.L.M. & Moschini-Carlos V. (2003) *Macrófitas Acuáticas e Perifiton. Aspectos Ecológicos e Metodológicos*. RiMa Editora, Sao Carlos.
- Reynolds C.S. (2006) *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds C.S., Huszar V., Kruk C., Naselli-Flores L. & Melo S. (2002) Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, **24**, 417–428.
- Richardson K., Beardall J. & Raven J.A. (1983) Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytologist*, **93**, 157–191.
- Rodriguez P. & Pizarro H. (2007) Phytoplankton productivity in a highly colored shallow lakes of a South American floodplain. *Wetlands*, **27**, 1152–1159.
- Rodriguez-Gallego L.R., Mazzeo N., Gorga J., Meerhoff M., Clemente J., Kruk C., Scasso F., Lacerot G., García J. & Quintans F. (2004) The effects of an artificial wetland dominated by free-floating plants on the restoration of a subtropical, hypertrophic lake. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, **9**, 203–215.
- Scheffer M. (1998) *Ecology of Shallow Lakes*. Chapman & Hall, London.
- Scheffer M. & van Nes E.H. (2007) Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients depth and lake size. *Hydrobiologia*, **584**, 455–466.
- Scheffer M., Hosper S.H., Meijer M.L., Moss B. & Jeppesen E. (1993) Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution*, **80**, 275–279.
- Scheffer M., Szabó S., Gragnani A., van Nes E.H., Rinaldi S., Kautsky N., Norberg J., Roijackers R.M.M. & Franken R.J.M. (2003) Floating plant dominance as a stable state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 4040–4045.
- Sculthorpe C.D. (1967) *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold Publishers, London.
- Sinistro R., Izaguirre I. & Asikian V. (2006) Experimental study on the microbial plankton community in a South American wetland (Lower Paraná River Basin) and the effect of the light deficiency due to the floating macrophytes. *Journal of Plankton Research*, **28**, 753–768.
- Sommer U. (1995) An experimental test of the intermediate disturbance hypothesis using cultures of marine phytoplankton. *Limnology & Oceanography*, **40**, 1271–1277.
- Sommer U., Padisák J., Reynolds C.S. & Juhász-Nagy P. (1993) Hutchinson's heritage: the diversity–disturbance relationship in phytoplankton. *Hydrobiologia*, **249**, 1–7.
- Stumm W. & Morgan J.J. (1996) *Aquatic Chemistry. Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. John Wiley and sons, Inc., New York.
- Takamura N., Kadono Y., Fukushima M., Nakagawa M. & Kim B.-H.O. (2003) Effects of aquatic macrophytes on water quality and phytoplankton communities in shallow lakes. *Ecological Research*, **18**, 381–395.
- Talling J.F. & Lemoalle J. (1998) *Ecological Dynamics of Tropical Inland Waters*. Cambridge University Press, Cambridge.
- de Tezanos Pinto P., Allende L. & O'Farrell I. (2007) Influence of free floating plants on the structure of a natural phytoplankton assemblage: an experimental approach. *Journal of Plankton Research*, **29**, 47–56.
- Thomaz S.M. & Bini L.M. (2003) Análise crítica dos estudos sobre macrófitas acuáticas desenvolvimos no Brasil. In: *Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas* (Eds S.M. Thomaz & L.M. Bini), pp. 19–38. EDUEM, Maringá.
- Underwood A.J. (1997) *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Utermöhl H. (1958) Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton methodik. *Methodik, Mitteilungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, **9**, 1–38.
- Venrick E.L. (1978) How many cells to count? In: *Phytoplankton Manual* (Ed. A. Sournia), pp. 167–180. UNESCO, Paris.
- Zalocar de Domitrovic Y. (1993) Fitoplancton de una laguna vegetada por *Eichhornia crassipes* en el valle de inundación en el río Paraná (Argentina). *Ambiente Subtropical*, **3**, 39–67.
- Zar J.H. (1996) *Comparing Simple Linear Regression Equations*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

(Manuscript accepted 30 August 2008)

Enviado

Interactive effects of N:P ratios and light on the nitrogen-fixer abundance

P. de Tezanos Pinto^{1,2} and E. Litchman²

¹ Departamento de Ecología, Genética y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, C1428 EHA, Buenos Aires, Argentina ; Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

² Kellogg Biological Station and Zoology Department, Michigan State University, Hickory Corners, MI 49060, USA

Introduction

Nitrogen, phosphorus and light are major resources for most primary producers. Both the absolute levels and ratios of these resources impact total biomass dynamics and community structure (Tilman 1982). Nitrogen to phosphorus (N:P) ratio is often viewed as a key factor determining the outcomes of competition for nitrogen and phosphorus and, consequently, species composition (Tilman 1982, Miller et al. 2005). Low N:P supply ratios should favor free-living or symbiotic nitrogen (N_2)-fixers, thus shifting communities towards dominance by legumes in terrestrial and cyanobacteria in aquatic ecosystems (Schindler 1977, Smith 1992, Vitousek et al. 2002a). An increase in N-fixer abundance greatly impacts community structure of primary producers, ecosystem stoichiometry and biogeochemical cycling (Sterner and Elser 2002). Consequently, understanding the mechanisms controlling the abundance of N-fixers should improve our understanding of the functioning of many terrestrial and aquatic ecosystems, especially under N:P ratios changing rapidly due to human activities (Vitousek et al. 2002b).

The role of N:P ratios in controlling community composition of primary producers is especially important in aquatic ecosystems, as many N-fixers (cyanobacteria) are capable of producing toxins that negatively affect water quality and higher trophic levels (Huisman et al. 2005). Moreover, nitrogen fixation can be a main source of nitrogen in oligotrophic ocean (Capone et al. 1997). A seminal work by Val Smith showed that in natural water bodies cyanobacteria dominate when N:P ratios do not exceed 29 by weight (Smith 1983). Other studies report different critical N:P ratios (Howarth et al. 1988, Noges et al. 2008), but the qualitative pattern remains: low N:P ratios tend to favor cyanobacteria. However, several studies report a lack of or only a weak influence of N:P ratios on cyanobacterial abundance (Reynolds 1999, Downing et al. 2001).

How universal is the role of N:P ratios in controlling cyanobacterial and N-fixer abundance? In addition to the observational studies, experimental tests of the effect of N:P ratios on cyanobacteria and N-fixers are needed. Surprisingly, there are almost no experimental studies investigating the effect of N:P supply ratio on phytoplankton community structure and cyanobacterial abundance. Levine and Schindler (1999) manipulated total N:P ratio in mesocosms and found that cyanobacterial N-fixers were stimulated by low N:P, while non-heterocystous (and presumably non N-fixing) cyanobacteria were more abundant at high N:P. Due to the nature of mesocosm experiments, there was a high variability in light and temperature conditions, as well as a substantial deviation from the target N:P ratios in treatments (Levine and Schindler 1999). This makes interpreting the results less straightforward.

An experimental investigation of the role of N:P ratio in promoting N-fixers and other cyanobacteria in a more controlled environment would provide a more direct test and a more solid foundation for managing cyanobacterial blooms in nature. Currently there is an even greater need to better understand the connection between low N:P ratios and cyanobacterial blooms, as N:P ratios are declining in many lakes worldwide (Weyhenmeyer et al. 2007, Noges et al. 2008).

Nitrogen fixation is an energetically costly process that depends on light: the rates of N fixation increase with increasing light levels (Agawin et al. 2007). Consequently, light levels may mediate the effects of N:P ratios on N-fixers and affect their success. In the analysis of data from 22 lakes, Smith (1986) found that light levels mediated the effects of N:P ratios: at fixed light levels, decreasing TN:TP (Total N :Total P) ratio increased abundance of cyanobacteria and at a fixed TN:TP, decreasing light increases relative cyanobacterial abundance. Despite the observational evidence for the interaction of N:P ratios and light in determining the biomass of

cyanobacteria (Smith 1986), to our knowledge, there are no published experimental tests of this interaction. It is unclear whether manipulating N:P ratios and light levels affects all cyanobacteria or N-fixers only. Under high light and low N:P, N-fixers may gain a competitive advantage due to their ability to fix atmospheric N and dominate the community. Under low light and low N:P, there may not be enough energy to maintain N-fixation, but cyanobacteria, not necessarily N-fixers, may still dominate the community because of their low light requirements (Richardson et al. 1983, Smith 1986, Schwaderer et al. In prep.). Consequently, we may observe cyanobacterial dominance under high N:P as well, and there should be less difference in cyanobacterial abundance between contrasting N:P treatments under low light.

Zooplankton may also mediate the effects of light and N:P (Smith 1986), making it harder to interpret field observations. An experimental simultaneous manipulation of light levels and N:P ratios in the absence of zooplankton or other confounding factors would allow us to address the exact mechanisms by which light and N:P structure phytoplankton communities. Here we experimentally examine the interaction between N:P supply ratios and light levels in determining N-fixer abundance and phytoplankton community composition in an experimental multispecies assemblage that includes representatives from major taxonomic groups of freshwater phytoplankton.

Materials and Methods

Species selection. We chose eleven species from major freshwater taxonomic groups ranging in size and their light and nutrient competitive abilities: *Anabaena flos-aquae* is a cyanobacterial N-fixer, other species included non N-fixing cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix rubescens*, green algae *Chlamydomonas reinhardtii*,

Ankistrodesmus falcatus, *Oocystis* sp. and *Scenedesmus quadricauda*, diatoms *Asterionella formosa* and *Fragilaria crotonensis* and cryptophytes *Cryptomonas erosa* and *Rhodomonas minuta*. All these species are common in lakes worldwide (Reynolds 1984) and were obtained either from culture collections or isolated from local lakes. To distinguish the effects of N:P on all cyanobacteria versus on N-fixers only, we included both a N-fixer and non-fixers to represent cyanobacteria in the community.

Experimental design

We used two light levels (15 and 100 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and two N:P ratios (4 and 32 by moles) in a factorial design. The chosen light levels and N:P ratios, as well as absolute nutrient concentrations, are common in epilimnia (upper part of the water column) of many lakes (Wetzel 1983, Kirk 1994). Each treatment was run in duplicate in 125-ml flasks with 100 ml of medium in semi-continuous regime (daily dilutions of 0.2 day^{-1}). Light was measured using a Biospherical quantum sensor immersed in distilled water at the onset and in the algal suspensions directly in the end of the experiment. The two N:P ratios were obtained by changing N levels (8 μM and 64 μM N) and holding P levels constant (2 μM P). To prevent carbon or iron limitation (due to high iron demands for N-fixation), extra HCO_3^- (x2 the standard concentration) and extra trace metals (x1.5) were added aseptically after autoclaving the medium.

The experimental flasks were randomly arranged within an environmental chamber at 20°C and 16:8 LD photoperiod. They were swirled and randomly re-arranged once a day. The experiment was run for 52 days to allow sufficient time for competitive interactions (Litchman 2003).

We quantified the response of the assemblage to the combined effects of light and N:P ratios in terms of species composition, biomass (biovolume), diversity and nutrient availability

(both dissolved and total fractions). Samples for dissolved nutrient analyses were taken once a week and for algae enumeration twice a week. Total N and total P were measured at the end of the experiment. Nitrate was measured following Crumpton et al (1992) and TN following Bachmann and Canfield (1996). Phosphate and TP were measured using the standard molybdate method on a Lachat nutrient analyzer (Hach Instruments, USA).

We also estimated the amount of N fixed in each treatment by subtracting the supplied N (according to the treatment) from the TN measured in the end of experiment. This is a conservative estimate, as some fixed N gets washed out of the system through daily dilutions.

Phytoplankton samples were fixed with Lugol solution and counted microscopically in a Palmer-Maloney counting chamber using a Nikon Eclipse 80i microscope (400X magnification). The counting unit was the individual (cell, colony, coenobium or filament); at least 80 fields were counted for the dominant species and the whole chamber was scanned for rare species. Colonial (*Microcystis* and *Asterionella*) and coenobial (*Scenedesmus* and *Ankistrodesmus*) species were mostly encountered as single cells (>80%), while *Anabaena* and *Planktothrix* remained filamentous. As unit volumes differed several orders of magnitude, we used biovolumes to describe species dynamics. Biovolume calculations followed Hillebrand et al (1999) and Jun and Dongyan (2003). Diversity was calculated following Shannon and Weaver (1949) using cell density. Assemblages were not grown axenically, but regular microscopic inspection revealed that heterotrophic bacteria remained well under 1% of total biomass.

The effects of light level and N:P ratio and their interaction on variables such as total biovolume, diversity and abundances (both absolute and relative) of different taxonomic groups and of *Anabaena* and fixed N were analyzed using two-way ANOVA (JMP) at the end of the experiment. Tukey post hoc comparisons were used to test for significant differences between

treatments. The effects of light level and N:P ratio on dissolved nutrient variables were analyzed using one-way ANOVA at each sampling date.

We report mostly the results across treatments from the final sampling time (day 52), when the dominant species reached their equilibrium densities and major competitive trends were evident.

Results

Both N:P supply ratios and light levels significantly affected community composition, absolute and relative abundances of major groups of phytoplankton, including the N-fixer dominance, and diversity. Total biomass (estimated as biovolume) increased significantly with increasing N:P and light levels and was the highest at high light and high N:P ratio (Fig. 1a), however, the interaction effect of light and N:P ratio on biomass was not significant (Table 1). Green algae and the N-fixer contributed the most to the total biomass in all treatments. Diatoms, cryptomonads and non-N fixing cyanobacteria did not exceed 4% of the total biovolume in any of the treatments.

Absolute abundances of the N-fixer, green algae and non-fixing cyanobacteria depended significantly on N:P ratio, light level (green algae and non-fixers only) and their interaction (Table 1). The biomass of the N-fixer was high in all treatments except for high light high N:P ratio, where it was much lower (Fig. 1b?). For green algae the pattern was reverse: their highest biomass was in this treatment, indicating that under high light and high N:P green algae outcompeted the N-fixer (Fig. 1c?). In contrast to the N-fixer, the non-fixing cyanobacteria showed a different response to the light and N:P combinations: their biomass was the lowest in

the low light and low N:P and was higher and not significantly different among all other treatments.

Both N:P ratios and light levels, as well as their interaction, had significant effects on diversity the amount of N fixed and on the relative abundances of all cyanobacteria, as well as of the N-fixer and cyanobacteria non-fixers separately (Table 1). The relative abundances of green algae depended significantly on light level and the interaction of N:P and light (Table 1). The relative abundances of diatoms and cryptophytes were very low by the end of the experiment and did not differ significantly among treatments (Table 1).

Different taxonomic groups responded to N:P and light levels in a contrasting way. At high light, low N:P ratio lead to the dominance by the cyanobacteria N-fixer and lowest diversity (Fig 1f?), while high N:P lead to the dominance by a mixture of green algae, mostly *Chlamydomonas*, *Oocystis* sp. and *Scenedesmus* (Fig. 1d-e?, and see Supplementary Information for dynamics of individual species). Under low light, both N:P treatments had a high relative abundance of cyanobacteria (mainly N-fixer), but it was not significantly different for two N:P ratios.

Light and nutrients declined during the experiment. Light levels in the end of the experiment were (mean±SE): 9.5 ± 0.7 and 8.6 ± 0.1 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in N:P 4 and 32, low light treatments, respectively, and 78.5 ± 1.3 and 74 ± 1.0 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in N:P 4 and 32, high light treatments, respectively. At high light, the light levels in the end of experiment were significantly lower ($p=0.02$) at the high N:P ratio, possibly due to higher biomass in this treatment. Nutrient levels dropped within the first week of the experiment and remained low throughout the experiment (Fig. 2). For most of the time, nitrate levels were significantly higher in the low light high N:P ratio treatment (Fig. 2a) and phosphate levels were significantly higher

in the low light low N:P ratio than in other treatments (Fig. 2b), indicating weaker relative limitation by nitrogen and phosphorus in those treatments, respectively.

According to the mass balance calculations, N fixation occurred only in the low N:P treatments and increased with increasing light (Fig. 3a). The amount of N fixed was directly proportional to the density of heterocysts (N-fixing cells) (Fig. 3b and c). N fixation increased TN:TP ratios in the low N:P treatments from 4 (inflow N:P ratio) to 9 and by 20 moles on average in low and high light treatments, respectively.

Discussion

Our experimental results confirm previous observational findings that cyanobacteria tend to increase in abundance under low N:P ratios (Smith 1983, Schindler et al. 2008), but this effect of N:P ratio holds under high light only. The dominance by cyanobacteria at low N:P was due to high abundance of the N-fixer only and not of the non-fixing cyanobacteria, thus supporting the mechanistic explanation that the ability to fix atmospheric N affords a competitive advantage at low N:P. Under low light however, N:P ratio did not significantly influence cyanobacteria abundance, probably due to the overriding effect of light limitation. The high abundance of cyanobacteria (N-fixer *A. flos-aquae*) can be due to the low light requirements of this species (Reynolds 1984, Litchman 2000, Litchman 2003). The amount of N fixed did, however, depend on N:P ratio even at low light and was significant only at low N:P. The results underscore the importance of light levels in predicting the effect of N:P ratios on cyanobacteria abundance and N-fixation (Smith 1986). The dependence of the N:P effects on light may contribute to the scatter in the relationship between the relative cyanobacteria abundance and N:P found in some

observational studies (Downing et al. 2001). Consequently, future analyses of the effects of N:P on N-fixer abundance should explicitly include the effect of light.

Our experiments confirm that N-fixation strongly depends on N:P ratio and light availability and that the abundance of heterocysts can be used as an indicator of rates on N-fixation in heterocystous N-fixers. The limiting effect of light on the N-fixer abundance was observed in natural water bodies as well: in Lake Okeechobee, FL, N-fixers were restricted by low light availability, despite low N:P ratios (Havens et al. 2003). In addition to light, N-fixation may be constrained by temperature, availability of macro- and micronutrients such as iron and molybdenum and physical structure of the water column (Howarth et al. 1988, Vitousek et al. 2002a). Experiments that address interactions of these factors in determining N-fixer abundance would improve our understanding of environmental controls on N-fixation.

Green algae were strongly stimulated by the combination of high N:P and high light. This result agrees well with the ecophysiological preferences of green algae reported previously, as they tend to have high N and light requirements (Rhee and Gotham 1980, Richardson et al. 1983, Litchman and Klausmeier 2008).

The low species diversity observed in our experiment under high light and low N:P ratio occurred due to the strong dominance by N-fixer: the decline in diversity corresponded to the increase in *A. flos-aquae* abundance. This scenario resembles the low diversity cyanobacteria blooms in lakes (Reynolds 1984, Huisman et al. 2005). A higher diversity in low light treatments is probably due to lower rates of competitive exclusion associated with slower growth rates, as was observed in other multispecies laboratory experiments (Litchman 1998) and natural water bodies .

Little is known about the interaction of N:P ratios and light in regulating the abundance of N-fixers in terrestrial systems. Terrestrial N-fixation rates also likely depend on light (Hardy and Havelka 1976, Sprent 1976) and were shown to increase at high light in legumes in a pine forest (Hiers and Mitchell 2007). It would be of interest to investigate experimentally how N:P ratios interact with light levels in determining the success of N-fixers in terrestrial systems and to compare the strength of the light level influence on N-fixers in terrestrial *versus* aquatic systems. It is possible that light control on N-fixation is weaker in terrestrial systems, as it is less direct due to the “division of labor”: light capture and N-fixation are carried out by different organisms (plant host and rhizobia).

Global environmental change will likely alter not only N:P ratios of nutrient loading (Tilman et al. 2001, Weyhenmeyer et al. 2007) but also light levels due to changes in cloudiness and dissolved organic matter (DOM) inputs (Williamson et al. 1999) and thus modify the important drivers of N-fixer abundance in many aquatic ecosystems.

Acknowledgments

We thank P. Woodruff for running nutrient analyses and Jen Lau and for comments. This work was in part supported by the NSF grants DEB 06-10531 and 06-10532, the J.S. McDonnell Foundation and the Kellogg Biological Station summer fellowships to PTP. This is W.K. Kellogg Biological Station contribution.

Literature Cited

- Agawin, N. S. R., S. Rabouille, M. J. W. Veldhuis, L. Servatius, S. Hol, H. M. J. van Overzee, and J. Huisman. 2007. Competition and facilitation between unicellular nitrogen-fixing cyanobacteria and non-nitrogen-fixing phytoplankton species. *Limnology and Oceanography* **52**:2233-2248.
- Capone, D. G., J. P. Zehr, H. W. Paerl, B. Bergman, and E. J. Carpenter. 1997. *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium. *Science* **276**:1221-1229.
- Downing, J. A., S. B. Watson, and E. McCauley. 2001. Predicting Cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* **58**:1905-1908.
- Hardy, R. W. F., and U. D. Havelka. 1976. Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. *in* P. S. Nutman, editor. *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Havens, K. E., R. T. James, T. L. East, and V. H. Smith. 2003. N : P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. *Environmental Pollution* **122**:379-390.
- Hiers, J. K., and R. J. Mitchell. 2007. The influence of burning and light availability on N₂-fixation of native legumes in longleaf pine woodlands. *Journal of the Torrey Botanical Society* **134**:398-409.
- Howarth, R. W., R. Marino, and J. J. Cole. 1988. Nitrogen fixation in freshwater, estuarine, and marine ecosystems. 2. Biogeochemical controls. *Limnology and Oceanography* **33**:688-701.
- Huisman, J., H. C. P. Matthijs, and P. M. Visser. 2005. *Harmful cyanobacteria*. Springer, New York.
- Kirk, J. T. O. 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*, 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Levine, S. N., and D. W. Schindler. 1999. Influence of nitrogen to phosphorus supply ratios and physicochemical conditions on cyanobacteria and phytoplankton species composition in the Experimental Lakes Area, Canada. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* **56**:451-466.
- Litchman, E. 1998. Population and community responses of phytoplankton to fluctuating light. *Oecologia* **117**:247-257.
- Litchman, E. 2000. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology* **44**:223-235.
- Litchman, E. 2003. Competition and coexistence of phytoplankton under fluctuating light: experiments with two cyanobacteria. *Aquatic Microbial Ecology* **31**:241-248.
- Litchman, E., and C. A. Klausmeier. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **39**:In press.
- Miller, T. E., J. H. Burns, P. Munguia, E. L. Walters, J. M. Kneitel, P. M. Richards, N. Mouquet, and H. L. Buckley. 2005. A critical review of twenty years' use of the resource-ratio theory. *American Naturalist* **165**:439-448.
- Noges, T., R. Laugaste, P. Noges, and I. Tonno. 2008. Critical N : P ratio for cyanobacteria and N₂-fixing species in the large shallow temperate lakes Peipsi and Vortsjarv, North-East Europe. *Hydrobiologia* **599**:77-86.
- Reynolds, C. S. 1984. *The ecology of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds, C. S. 1999. Non-determinism to Probability, or N : P in the community ecology of phytoplankton. *Archiv Fur Hydrobiologie* **146**:23-35.
- Rhee, G. Y., and I. J. Gotham. 1980. Optimum N-P Ratios and Coexistence of Planktonic Algae. *Journal of Phycology* **16**:486-489.
- Richardson, K., J. Beardall, and J. A. Raven. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytol.* **93**:157-191.

- Schindler, D. W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* **195**:260-262.
- Schindler, D. W., R. E. Hecky, D. L. Findlay, M. P. Stainton, B. R. Parker, M. J. Paterson, K. G. Beaty, M. Lyng, and S. E. M. Kasian. 2008. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105**:11254-11258.
- Schwaderer, A., K. Yoshiyama, and E. Litchman. In prep. Meta-analysis of light-dependent growth in freshwater phytoplankton.
- Smith, V. H. 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science* **221**:669-671.
- Smith, V. H. 1986. Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green algae in lake phytoplankton. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences* **43**:148-153.
- Smith, V. H. 1992. Effects of nitrogen: phosphorus supply ratios on nitrogen fixation in agricultural and pastoral ecosystems. *Biogeochemistry* **18**:19-35.
- Sprent, J. I. 1976. Nitrogen fixation by legumes subjected to water and light stresses. *in* P. S. Nutman, editor. *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sterner, R. W., and J. J. Elser. 2002. *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton University Press, Princeton.
- Tilman, D. 1982. *Resource competition and community structure*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Tilman, D., J. Fargione, B. Wolff, C. D'Antonio, A. Dobson, R. Howarth, D. Schindler, W. H. Schlesinger, D. Simberloff, and D. Swackhamer. 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science* **292**:281-284.
- Vitousek, P. M., K. Cassman, C. Cleveland, T. Crews, C. B. Field, N. B. Grimm, R. W. Howarth, R. Marino, L. Martinelli, E. B. Rastetter, and J. I. Sprent. 2002a. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* **57**:1-45.
- Vitousek, P. M., S. Hattenschwiler, L. Olander, and S. Allison. 2002b. Nitrogen and nature. *Ambio* **31**:97-101.
- Wetzel, R. G. 1983. *Limnology*. Saunders.
- Weyhenmeyer, G. A., E. Jeppesen, R. Adrian, L. Arvola, T. Blenckner, T. Jankowski, E. Jennings, P. Noges, T. Noges, and D. Straile. 2007. Nitrate-depleted conditions on the increase in shallow northern European lakes. *Limnology and Oceanography* **52**:1346-1353.
- Williamson, C. E., D. P. Morris, M. L. Pace, and O. G. Olson. 1999. Dissolved organic carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography* **44**:795-803.

Table 1. Results of two-way ANOVAs testing the effects of light levels and N:P ratios and their interaction on community variables measured in the end of experiment (day 52). Species diversity and biomasses of different groups were log-transformed. The relative abundances were transformed by $\ln(x+0.000001)$. P-values for the model, as well as for individual effects and their interaction are given. Significant p-values (<0.05) are in bold

	Model P-value	Model R^2	N:P ratio	Light level	N:P*light
Total biomass (biovolume)	0.01	0.93	0.01	0.005	0.33
Species diversity	0.0062	0.94	0.055	0.02	0.0028
N fixed	0.0032	0.96	0.0012	0.0023	0.024
N-fixer (<i>A. flos-aquae</i>) absolute biomass	0.01	0.92	0.047	0.13	0.005
Green algae biomass	0.001	0.97	0.001	0.003	0.004
Non-fixer cyanobacteria biomass	0.0004	0.99	0.0007	0.0005	0.0009
All cyanobacteria relative abundance	0.0014	0.97	0.0024	0.0029	0.002
N-fixer relative abundance	0.0023	0.96	0.0039	0.0047	0.003
Non-fixer cyanobacteria relative abundance	0.0036	0.96	0.0069	0.0053	0.005
Green algae relative abundance	0.0049	0.95	0.012	0.2	0.002
Diatom relative abundance	0.61	0.34	0.87	0.87	0.23
Cryptophyta relative abundance	0.79	0.20	0.69	0.51	0.60

Figure 1.

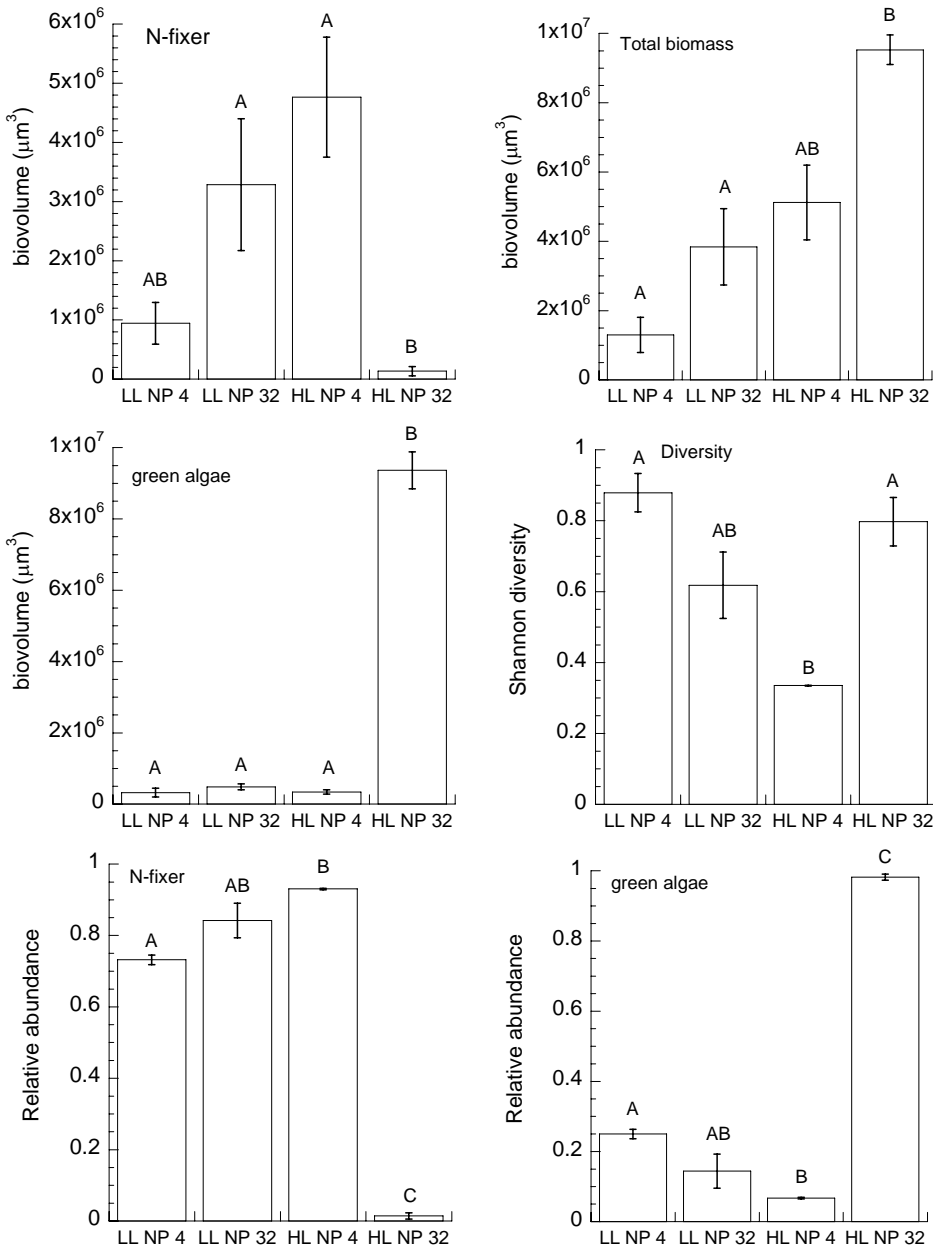
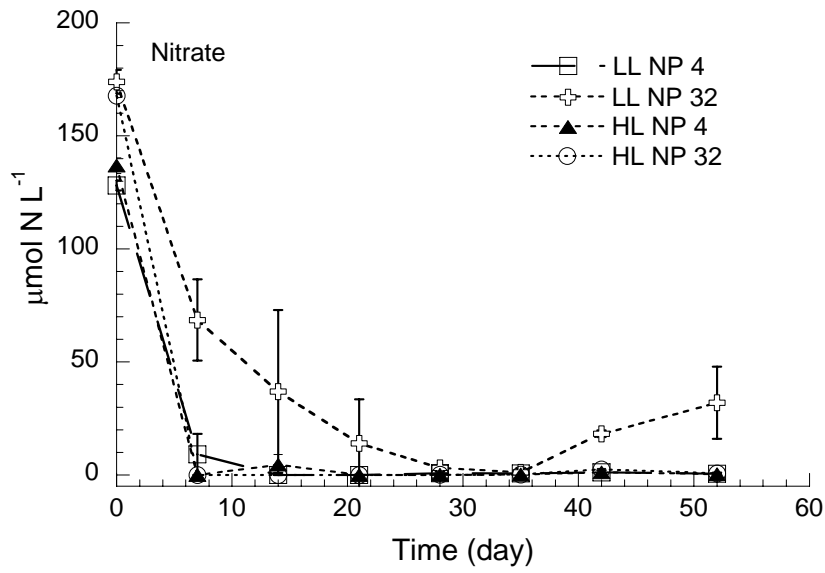


Figure 2.

a.



b.

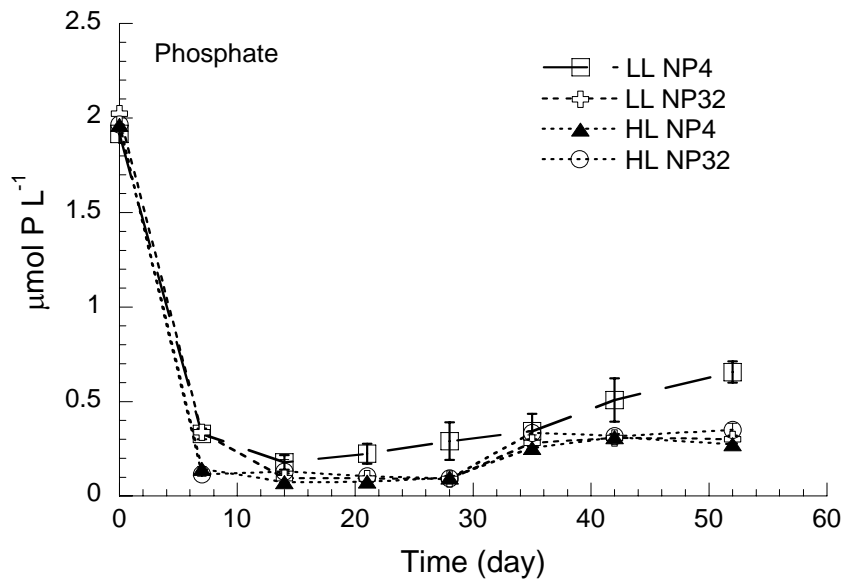
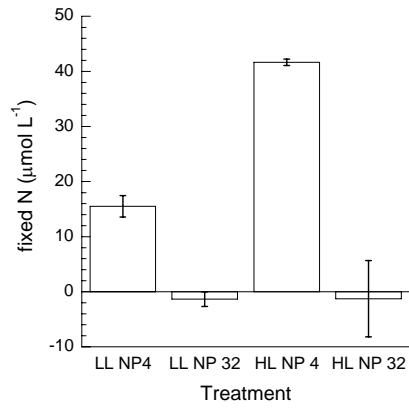
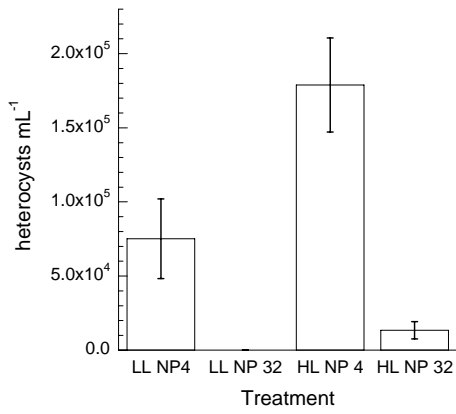


Figure 3.

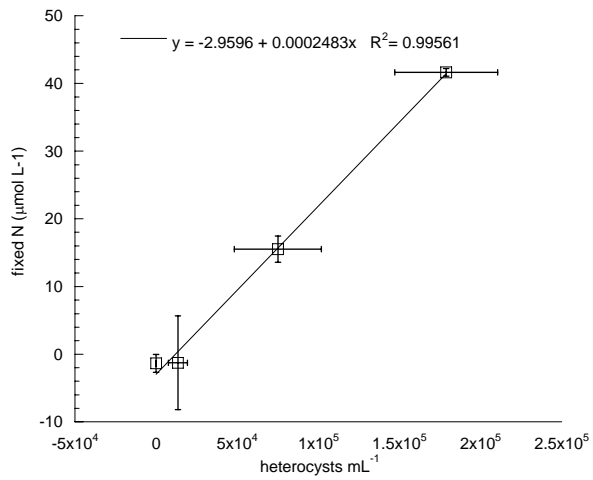
a.



b.



c.



Enviado

Eco-physiological responses of nitrogen-fixing cyanobacteria to light

Paula de Tezanos Pinto¹ and Elena Litchman²

¹ University of Buenos Aires -CONICET

² Michigan State University and Kellogg Biological Station, 3700 E. Gull Lake Dr.,
Hickory Corners, MI 49060, USA

Key words: Nitrogen fixers, Light, Growth-irradiance, Akinetes, Wetland.

"This paper has not been submitted elsewhere in identical or similar form, nor will it be during the first three months after its submission to Hydrobiologia."

Abstract

The eco-physiological responses of three nitrogen-fixing cyanobacteria (N-fixing cyanobacteria), *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena minderi* and *Anabaena torques-reginae* (Nostocales), to light were assessed under nutrient saturation. The N-fixing cyanobacteria were isolated into monocultures from a natural bloom in a shallow lake in a RAMSAR floodplain wetland, Argentina. Their growth irradiance parameters and pigment composition was assessed. The different ecological traits related to light use (μ_{\max} , α , I_k) suggest good competitive abilities of these N-fixing cyanobacteria under low light and sufficient nutrients, yet interspecific differences were observed. *Aph. gracile* and *An. minderi* showed similar responses to light, with high relative growth rates at low irradiances (ca. 70% of those in high light), low irradiance of onset of growth saturation ($I_k < 9.09 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and high efficiency ($\alpha < 0.11 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{d}$). Conversely, *An. torques-reginae* showed poorer light competitiveness: low relative growth rates at low irradiances (ca. 40% of those in high light), low α ($0.009 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{d}$) and higher I_k ($35.5 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Moreover, final densities in *Aph. gracile* and *An. minderi* reached bloom densities at irradiances above $30 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ with different hierarchy depending on irradiance, whereas *An. torques-reginae* never achieved bloom densities. All species had very low densities at irradiances $\leq 17 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, thus no N- fixer blooms would be expected at these irradiances. Also, under prolonged darkness and at lowest irradiance (0 and $3 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) akinetes were degraded, suggesting that in ecosystems with permanently dark sediments, the prevalence of N-fixing cyanobacteria should not be favored. All species displayed peaks of phycocyanin, but no phycoeritrin, probably due to the prevailing red light in the ecosystem from which they were isolated.

Light levels that phytoplankton receive may oscillate between darkness in the aphotic zone or under the free floating plants (FFP), to irradiances higher than $1500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ in the surface or in waters free of FFP. Growth rate responses to these different light levels are among major traits that determine ecological success of phytoplankton species (Litchman & Klausmeier 2008). The species or groups capable of growing at lower light intensities can competitively displace species/groups with higher light requirements (Huisman & Weissing, 1994). In addition to the amount of light, the quality of the available light in the medium also affects the eco-physiological responses of phytoplankton; this may favor the development of species with accessory pigments.

Individual species and taxonomic groups differ in major parameters of light-dependent growth and these differences often define contrasting ecological niches. For example, cyanobacteria are known to be good light competitors associated with low light environments, while green algae generally require higher irradiances (Richardson et al. 1983, Reynolds 1984). To increase our ability to generalize across taxonomic groups, we need to assess light-related traits in a greater number of species from diverse environments. Moreover, within a single major taxonomic group, individual species likely differ in their responses to light. This interspecific variation is still poorly characterized because of the limited number of species tested.

Nitrogen-fixing (N-fixing) cyanobacteria (Nostocales) recurrently bloom in water bodies worldwide. Their massive and persistent growth is responsible for significant losses of diversity and ecosystem functioning in aquatic ecosystems (Huisman et al. 2005). N-fixing cyanobacteria possess various ecological traits that favor their success in aquatic ecosystems, including accessory pigments (phycobiliproteins), nitrogen fixation, buoyancy regulation, resting stages (akinetes), toxin synthesis and grazer resistance. Light availability (quantity and quality) may impact these traits at the physiological level and ultimately affect ecological niches and success of N-fixers. There is a need to better understand how environmental factors, such as light, shape the eco-physiological responses of N-fixing cyanobacteria.

Light availability in the RAMSAR floodplain wetland of Otamendi in Argentina, is markedly affected by presence of free floating plants (FFP) and by the high humic content of its waters (O'Farrell et al., 2007, Rodriguez & Pizarro, 2007). Recently, in areas without FFP, where usually many species of Chlorophyceae develop, short-lived blooms of N-fixing cyanobacteria have been observed. Interestingly, such blooms were never observed under the

FFP cover (Izaguirre et al., 2001, 2004, O'Farrell et al., 2003). The ultimate reasons of this dominance pattern are still unknown, yet light availability may play an important role, as FFP generate dark underwater environments. We assessed the influence of light availability on growth rates and pigment composition of three N-fixing cyanobacteria species isolated from a natural bloom. The species were taxonomically identified and their responses to different irradiances were explored through the light-dependent growth parameters, densities and absorption spectra.

Species identification and isolation

In autumn 2006, in the RAMSAR floodplain wetland of Otamendi, Argentina (34°10' to 34° 17' S; 58 ° 48' to 58° 53' W), a bloom comprised by three species of N-fixing cyanobacteria was observed. The species were isolated into monocultures in sterile WC medium (Guillard, 1975); cycloheximide was used to prevent the development of eukaryotic algae (final concentration of 75 mg L⁻¹). The taxonomic identification was based on the morphological characters, the heterocyst and akinete pattern distribution and the relative position of the heterocysts with respect to akinetes, following Komárek & Zapomělová (2007, 2008). The three N-fixing cyanobacteria (Nostocales) were identified as *Aphanizomenon gracile* (Lemmermann) Elenkin, *Anabaena minderi* Huber-Pestalozzi and *Anabaena torques-reginae* Komárek.

Experimental design

Growth irradiance curves (μ -I) were obtained for these N-fixing cyanobacterial species isolated into monocultures. For each species, cultures were grown in 250 ml flasks, with 200 ml of full strength WC medium (Guillard 1975) ensuring oversaturation of essential elements (N=14 mg L⁻¹, P=1.7 mg L⁻¹), in batch culture. These cultures were exposed to twelve different irradiances of cool white fluorescent light, from limiting to saturating: 0 to 350 μ mol photon m⁻² s⁻¹. To attain the twelve irradiances, different positions within an environmental chamber, in respect to the light source, were used. For lower irradiances, layers of neutral density screen (from 1 to 5) were utilized. Light was measured with a Biospherical QSL Quantum Scalar Laboratory sensor (Biospherical Inc., USA) in distilled water at the start of the experiment and directly in the cultures at the end of the experiment. Flasks were kept at a

constant temperature of 20°C with a photoperiod of 16:8 hours of light and dark. Each flask was swirled daily.

Before starting the growth irradiance (μ -I) experiment, monocultures were preconditioned to each experimental irradiance for five days to allow cultures to acclimate (from August 13th to 18th, 2006). This phase started with the inoculation of ca. 200 filaments mL⁻¹ of *Aph. gracile* and *An. minderi*, and of ca. 100 filaments mL⁻¹ of *An. torques-reginae* because densities within this monoculture were very low. At the end of this period, algae were quantified and dilutions were performed to avoid effects of self-shading and of nutrient limitation due to high biomasses. Dilutions were performed in *Aph. gracile* and *An. torques-reginae* in irradiances of 200, 250 and 350 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and in *An. minderi* at the irradiances 100, 200, 250 and 350 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$, using WC medium. The μ -I experiment lasted four days, from August 19th to 23th, 2006. At the end of the experiment, each flask was exposed to 9 days of a given irradiance (including the preconditioning period and the μ -I experiment).

Each day 20 ml were removed from each culture and fixed with a 2% Lugol solution for enumeration. If densities were low, cultures were sedimented in graduated cylinders of 25 mL for 48 hours (Litchman 2000). Phytoplankton counts were performed using a Palmer-Maloney counting chamber with a Nikon Eclipse 80i microscope (magnification 250X). The counting unit was the individual (filament); at least three transects were counted for dense samples and whole chamber for diluted samples. Heterocysts and akinetes were also quantified. Cultures were not axenic, nevertheless, regular microscopic observations revealed that heterotrophic bacteria were below 1% of the total density.

At the end of the experiment the absorption spectra was measured for each monoculture at each irradiance, as described in Litchman et al. (2002), to assess pigment composition.

Growth-irradiance curve fitting

The growth rates at each irradiance were calculated using the slope of the natural logarithm of the density plotted *versus* time. The linear part of this curve, corresponding to the exponential growth, was used, including at least 3-4 points.

For obtaining the growth irradiance parameters (μ -I), the growth rate data were fitted to a Monod function (Marquardt-Levenburg minimization, Origin 7.5 program) without photoinhibition (Schwaderer et al., in prep.) (I), because no cultures showed photoinhibition.

$$\mu(I) = \frac{\mu_{\max} I}{I + \frac{\mu_{\max}}{\alpha}} - r \quad (\text{I})$$

Where μ is the growth rate (days^{-1}), μ_{\max} is the maximum growth rate (days^{-1}), I is the irradiance ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$), α is the initial slope of the growth irradiance curve ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{d}$) and r is the loss rate due to respiration (days^{-1}). The model was run both with and without the loss term r . Here we report only the parameters of the model without the respiration term because including it did not significantly improve the fit. The irradiance at the onset of saturation (I_k , $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was calculated using $I_k = \mu_{\max} / \alpha$.

Final irradiances in the experiment were lower than the initially assayed (from 0 to 38% lower) due to attenuation by the biomass; light attenuation increased at higher irradiances (Table 1). Final average irradiance values were used for fitting the Monod function.

The species identified as *Aphanizomenon gracile*, *Anabaena minderi* and *Anabaena torques-reginae* (Nostocaceae) (Fig. 1) are filamentous, isopolar, planktonic, solitary, with gas vesicles and capable of fixing nitrogen. Filaments in *An. minderi* and *Aph. gracile* are straight, whereas in *An. torques-reginae* are coiled; filament morphology did not vary with the light availability. The pattern of heterocysts and akinetes in *Aph. gracile* is sub-symmetric whereas in the other two species of *Anabaena* it is metametric (regular). Akinetes in *Aph. gracile* are cylindrical and remote from the heterocysts, but in *An. minderi* they are ovoid and adjacent to the heterocysts and in *An. torques-reginae* cylindrical and adjacent to heterocysts.

Aph. gracile had the highest μ_{\max} and duplication time, closely followed by *An. minderi*. *An. torques-reginae* had about three-fold lower μ_{\max} and duplication time than *Aph. gracile* (Table 2). All species saturated their growth at highest irradiances with no photoinhibition (Fig. 2). The parameterized maximum growth rate (μ_{\max}) matched well the maximum values empirically observed (μ) (Fig. 2). Estimated growth rates using the parameters adjusted in the model showed that in low irradiances ($17 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) *Aph. gracile* and *An. minderi* had growth rates of about 70% of those in high irradiance ($200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) being 0.65 versus 0.96 d^{-1} in *Aph. gracile* and 0.48 versus 0.68 d^{-1} in *An. minderi*). Conversely, for *An. torques-reginae* the growth rate at low light was 40% less than at high light (0.10 versus 0.27 d^{-1}). The initial slope of the μ -I curve (α) was the highest in *Aph. gracile*, closely followed by *An. minderi* and much lower in *An. torques-reginae* (Table 2). In all cyanobacteria, the irradiance at the onset of saturation (I_k) was below $40 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Table 2), indicating that these N-fixing cyanobacteria are well adapted to low

light conditions. Nevertheless, I_k was very low in *An. minderi* and *Aph. gracile*, but higher in *An. torques-reginae* (Table 2). In all irradiances, light absorption spectra of the three N-fixing cyanobacteria showed peaks of phycocyanin (PC, $\lambda=620$ nm), but no peaks of phycoerythrin ($\lambda=560$ nm) (Fig. 3); pigment composition (presence or absence of different accessory pigments) did not change at different irradiances.

The final densities of these species were very low at irradiances $\leq 17 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ but at irradiances $\geq 30 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ densities increased proportionally with the irradiance (Fig. 4). In *Aph. gracile* and *An. minderi* densities at irradiances $\geq 40 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\geq 1 \times 10^4$ ind mL^{-1}) were similar to those encountered in natural blooms. Above $80 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ *Aph. gracile* was the species with the highest density, whereas between 30 and $80 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ *An. minderi* was the densest species (Fig. 4). *An. torques-reginae* densities were always the lowest compared to other monocultures and did not reach bloom densities (Fig. 4).

Akinetes were seldom observed in *An. minderi*, but in *Aph. gracile* and *An. torques-reginae* akinete densities were high. At irradiances $\geq 5 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ akinetes did not show any consistent pattern associated with light availability, but in the dark and at lowest irradiance (0 and $3 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) akinete densities decreased during the experiment (Fig. 5) and the integrity of some akinetes was lost (Fig 6). Interestingly, heterocyst dynamics in all species did not show any pattern associated with light availability.

The different ecological traits related to light use (μ_{max} , α , I_k) highlight the high competitive abilities of these N-fixing cyanobacteria in situations of low light and sufficient nutrients. Nevertheless, interspecific differences were observed: *Aph. gracile* and *An. minderi* showed similar responses to light which suggest a better light competitiveness than *An. torques-reginae*. In this sense, *Aph. gracile* and *An. minderi* saturated their growth at low irradiances (low I_k), showed high efficiency (α) and showed high relative growth rates at low irradiances. Similar results were observed by McCausland et al. (2005) for the blooming *An. circinalis* culture strain ACMB 13. Conversely, *An. torques-reginae* had at least three times higher I_k , two and a half times lower μ_{max} , one order magnitude lower α and almost 50% less relative growth rates at low irradiances.

Densities of all N-fixing cyanobacteria below $17 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ were extremely low, thus no blooms would be expected at these irradiances. Densities of *Aph. gracile* and *An.*

minderi at irradiances between 40 and 200 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ were similar to blooms in nature, with changes in the hierarchy of the dominant species within a bloom: *Aph. gracile* would dominate at high irradiances and *An. minderi* at lower irradiances. The low densities of *An. torques-reginae* at all irradiances suggest that this may not be an important bloom-forming species. This, in conjunction with its lower light competitiveness may account for its rareness, as *An. torques-reginae* has only been found in few sites in the world (Komárek & Zapomělová, 2007).

The akinetes, resting structures that differentiate from vegetative cells, are easily detached from the filament and precipitate to the sediments, staying dormant. The ease with which they are generated might be related to the sensitivity of a given species to environmental variables. The low frequency of akinetes in *An. minderi* may suggest a low persistence in the ecosystem, or that the environmental conditions did not favor the development of the resting structures. In the other two species which produced akinetes, their viability decreased under prolonged darkness, suggesting that in ecosystems with permanently dark sediments, such as those encountered below the FFP mats, the prevalence of N-fixing cyanobacteria should not be favored.

All three N-fixing cyanobacteria species had phycocyanin but no phycoeritrin, probably because in the RAMSAR Otamendi wetland the prevailing wavelengths are red, as a consequence of the high humic content of its waters (Rodríguez, 2008). Chromatic adaptation was not observed during the experiment, probably because the light quality was always the same (white light).

Recently, Zapomělová (2008) reported that the 16S rRNA gene sequences of two *Anabaena*'s coiled morphospecies (*Anabaena reniformis* Lemmermann and *Aphanizomenon aphanizomenoides* (Forti) Horecká et Komárek) with spherical akinetes positioned adjacent to the heterocyst, cluster separately from most planktonic *Anabaena* species. The author proposes to relocate all existing species with these morphological characteristics into a new genus *Sphaerospermum* genus novum, including: *An. reniformis*, *Aph. aphanizomenoides*, *Ana. eucompacta*, *An. oumiana*, *An. torques-reginae* and *Aph. capricorni*. Even though the 16S rRNA gene sequences of *An. torques-reginae* still need to be analyzed to confirm that they belong to this cluster, its different eco-physiological responses to light and their poor blooming capabilities reported here support Zapomělová's (2008) suggestion. Like in *An. torques-reginae*, the N-fixing cyanobacteria *An. reniformis* and *Aph. aphanizomenoides* have only been reported a few times from isolated localities worldwide (Cronberg & Annadotter

2006, Komárek & Zapomělová, 2007). It is possible that this genetic heterogeneity also reflects different ecological success among planktonic N-fixing cyanobacteria.

The parameters obtained in the growth-irradiance model may be utilized for predicting the growth of these species in the Otamendi wetland under nutrient sufficiency.

This work was in part supported by the NSF grants DEB 06-10531 and 06-10532, the J.S. McDonnell Foundation, the Kellogg Biological Station summer fellowships and PIP 5355 (CONICET) to PTP. This is W.K. Kellogg Biological Station contribution no. xx.

References

- Cronberg, G & Annadotter, H. 2006. Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and a synopsis of their toxicology. International society for the study of harmful algae and the UNESCO.
- Guillard R.R.L. 1975. Culture of phtoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith WL, Chantey MH (eds) Culture of marine invertebrate animals. Plenum, New York, pp 29-60.
- Huisman, J., H. C. P. Matthijs, & P. M. Visser. 2005. Harmful cyanobacteria. Springer, New York.
- Huisman J. & F.J. Weissing 1994. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology* 75: 507-20.
- Izaguirre, I., R.Sinistro, , I.O'Farrell, F.Unrein, & G.Tell, 2001. Algal assemblages in anoxic relictual oxbow lakes from the Lower Paraná floodplain (Argentina). *Nova Hedwigia*, 123, 95-106.
- Izaguirre, I., I. O'Farrell, F. Unrein, R. Sinistro, M. dos Santos Afonso & G. Tell, 2004. Algal assemblages across a wetland, from a shallow lake to relictual oxbow lakes (Lower Paraná River, South America). *Hydrobiologia* 511: 25-36.
- Komárek, J. & E. Zapomělová, 2007: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum*. 1st part: coiled types. *Fottea* 7(1): 1–3.
- Komárek, J. & E. Zapomělová, 2008: Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* = subg. *Dolichospermum*. 2nd part: straight types. *Fottea* 8(1): 1–14.
- Litchman E. 2000. Growth rates of phytoplankton under fluctuating light. *Freshwater Biology*, 44, 223–235.
- Litchman E, P. J Neale, A. T Banaszak, 2002. Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: photoprotection and repair. *Limnology and Oceanography* 47: 86-94.
- Litchman, E. & C. A. Klausmeier. 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39:615-639.
- McCausland, A. M., Thompson P.A. & Blackburn S.I. 2005. Ecophysiological influence of light and mixing on *Anabaena circinalis* (Nostocales, Cyanobacteria). *European Journal of Phycology*. 40: 9-20.
- O'Farrell, I.; R. Sinistro, I. Izaguirre & F. Unrein, 2003. Do steady state assemblages occur in shallow lentic environments from wetlands? *Hydrobiologia*, 502, 197-209.
- O'Farrell I., P. de Tezanos Pinto. & I. Izaguirre. 2007. A pattern of morphological variability in phytoplankton in response to different light conditions. *Hydrobiologia*, 578, 65–7
- Reynolds, C. S. 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Richardson, K., J. Beardall, and J. A. Raven. 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. *New Phytol.* 93:157-191.
- Rodríguez 2008. Phytoplankton productivity in a highly colored shallow lake of a South American floodplain. PhD thesis
- Rodríguez P. & H. Pizarro, 2007. Phytoplankton productivity in a highly colored shallow lake of a South American floodplain. *Wetlands*, 27: 1152-1159.
- Schwaderer, A., K. Yoshiyama, & E. Litchman. ms Meta-analysis of light-dependent growth in freshwater phytoplankton.

Zapomělová, E. 2008. *Anabaena* phenotypic and genotypic diversity of planktonic strains in fishponds and reservoirs of the Czech Republic. PhD Thesis. University of South Bohemia. Czech Republic.

Table 1. Initial and final average irradiances ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

Initial	0	3	5	10	15	25	40	60	100	200	250	350
Final	0	3	4	8	13	17	31	42	80	137	199	218

Table 2. Parameters obtained from the Monod model: μ_{max} : maximum growth rate (d^{-1}), α : initial slope of the growth irradiance curve ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{d}$) and I_k : irradiance where the once of saturation begins ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Values of R^2 and Chi^2 are provided. Duplication ($\text{Dupl.}=\text{d}^{-1}$) is calculated from the $\ln(2)$, thus, 0.69 d^{-1} corresponds to a duplication. Values in parentheses represent standard deviations.

	μ_{max}	α	I_k	R^2	Chi^2	Dupl.
<i>Aph. gracile</i>	1.00 (0.10)	0.11 (0)	9.09	0.78	0.04	1.45
<i>Ana. minderi</i>	0.71 (0.06)	0.09 (0.04)	7.88	0.88	0.009	1.03
<i>Ana. torques-reginae</i>	0.32 (0.06)	0.009 (0.004)	35.55	0.78	0.003	0.46

Figure Captions

Fig 1. Isolated nitrogen-fixing cyanobacteria. Akinetes and heterocyst positions are shown. *An. minderi* did not produce akinetes during the experiment.

Fig. 3. Absorption spectra of the studied species after nine days (including the preconditioning period and the μ -I experiment) at $80 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Vertical lines show the absorption peaks corresponding to chlorophyll *a*, and the accessory pigments phycocyanin (PC) and phycoerythrin (PE).

Fig. 2. Growth-irradiance curves (μ -I) of the assayed species. Every dot represents the observed growth rates and the solid line represents the fit of the Monod model without the *r* term. For plotting the μ -I curves, final irradiances were used (Table 2).

Fig. 4. Densities at the end of the experiment (ind mL^{-1}) for each species.

Fig. 5. Akinete density in irradiances 0 and $3 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ throughout the experiment in *An. torques-reginae* and *Aph. gracile*. Note that by day 3, organisms were exposed to a given irradiance for 9 days total (including the acclimation period and the μ -I experiment period).

Fig 6. Loss of integrity in the akinete wall of *Aphanizomenon gracile* in the darkness treatment at the end of the experiment (including the acclimation period and the μ -I experiment period).

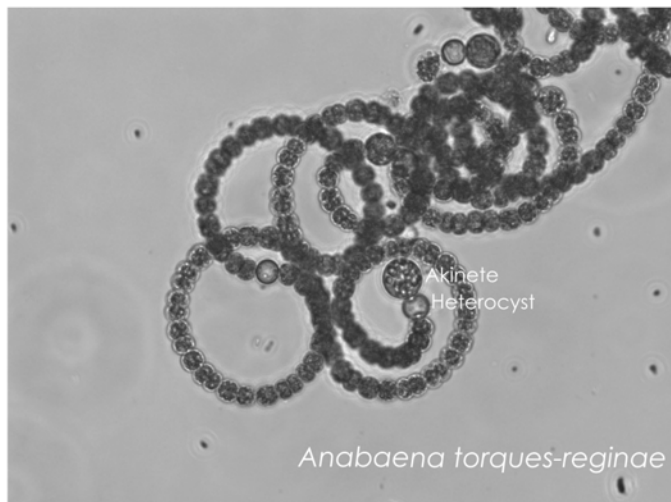
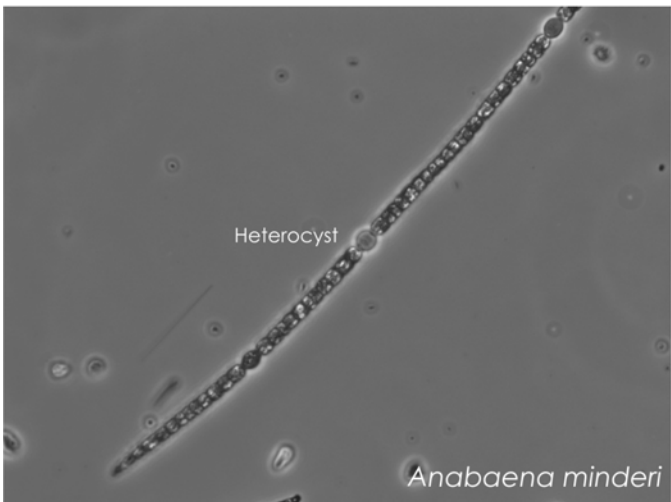


Figure 1

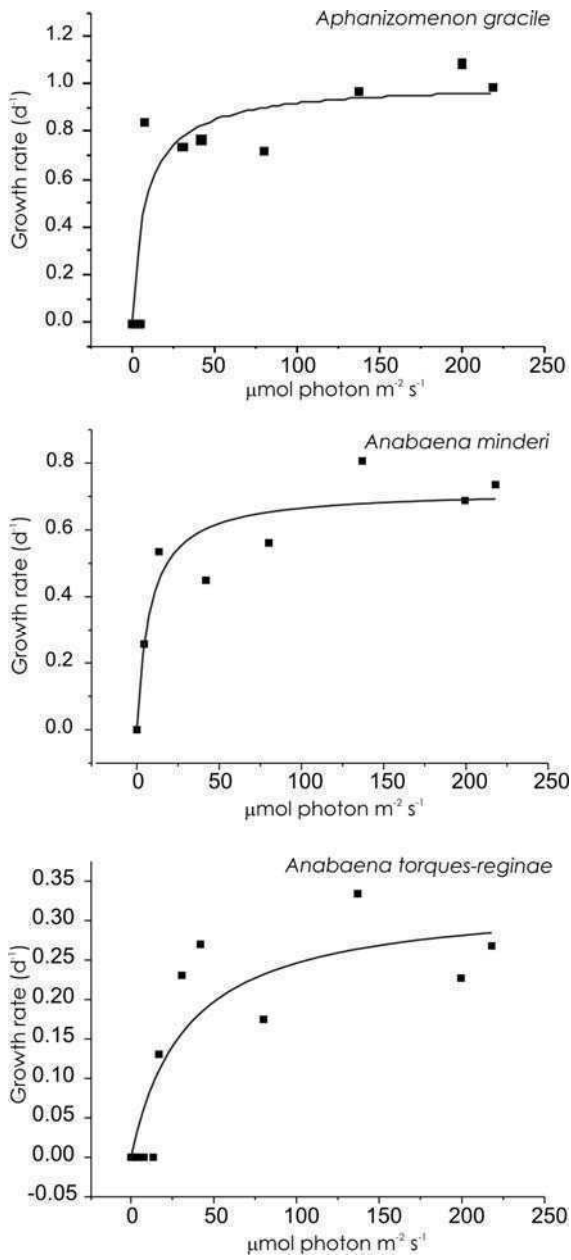


Figure 2.

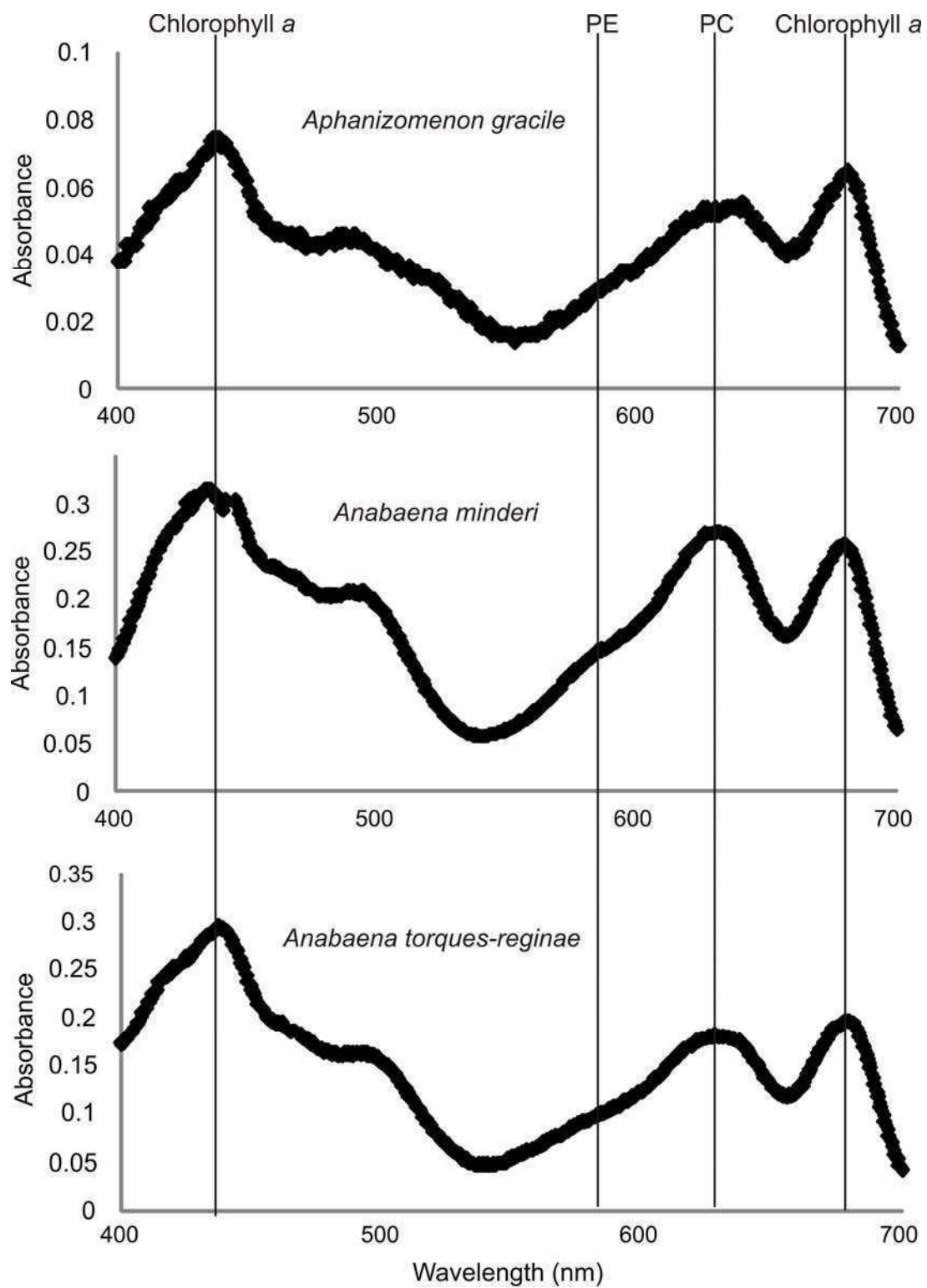


Figure 3.

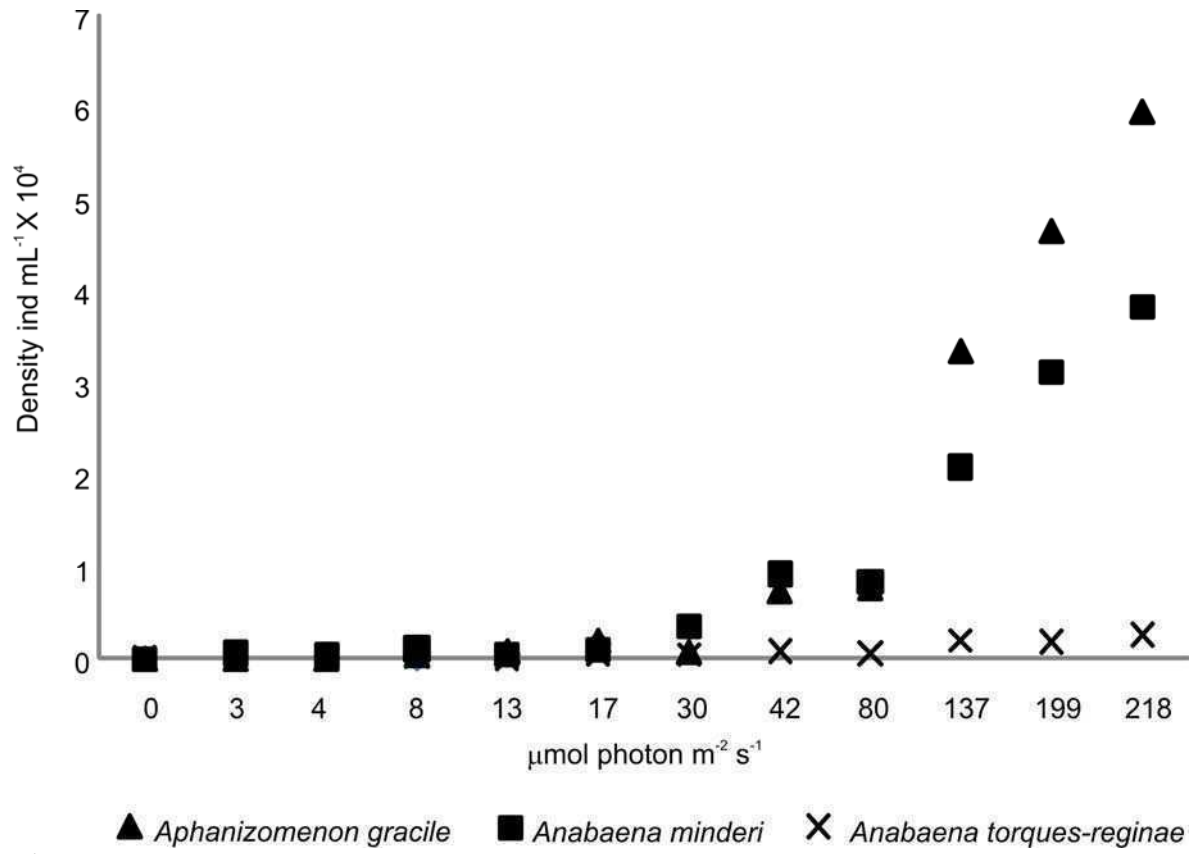


Figure 4.

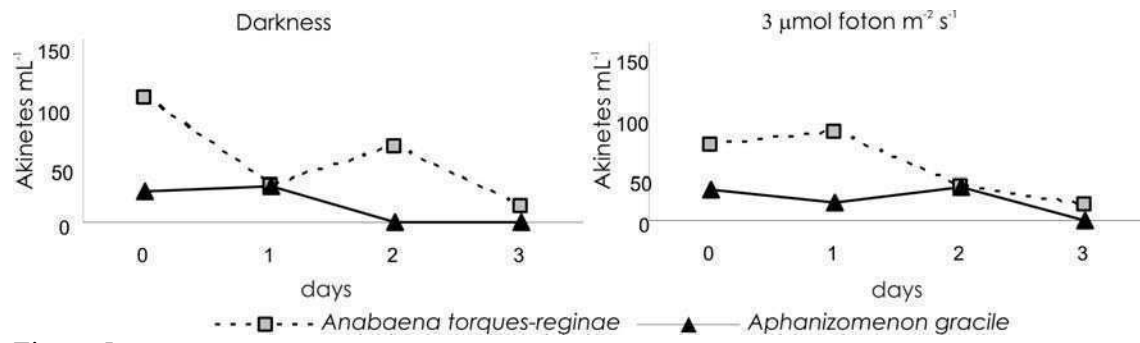


Figure 5

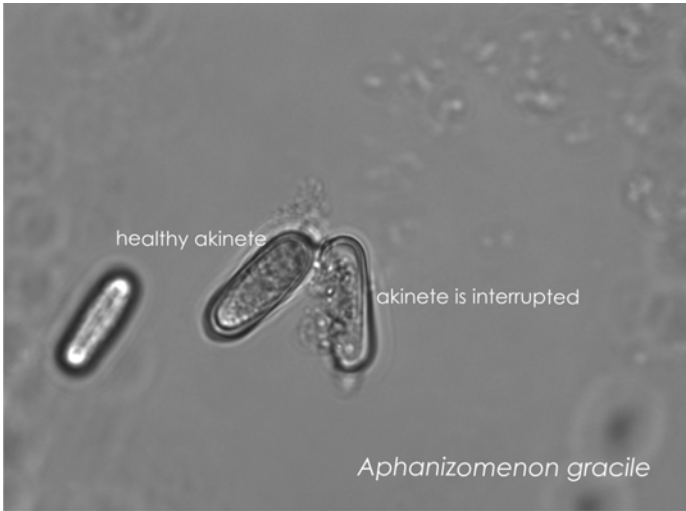


Figure 6.