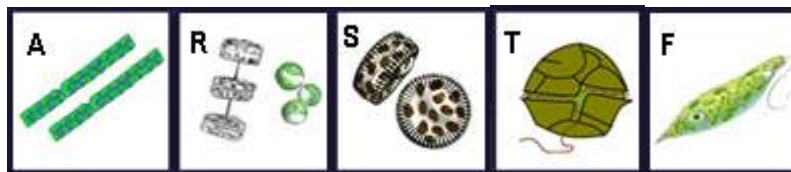


# **Determinación de grupos morfo-funcionales fitoplanctónicos en el Río de la Plata**



**Lucía Nogueira Traverso**

**Tesina de grado de la Licenciatura en Ciencias Biológicas**

**Orientadores: Carla Kruk & Danilo Calliari**

**Sección Limnología & Oceanología**

**Montevideo**

**2011**

## Índice general

Índice general.....	2
Índice de Figuras.....	3
Índice de Tablas .....	3
Lista de abreviaturas .....	4
Agradecimientos .....	5
Resumen.....	6
Introducción .....	7
Importancia del estudio del fitoplancton.....	7
Clasificación de los organismos fitoplanctónicos.....	7
El estuario del Río de la Plata.....	11
Estudios del fitoplancton del Río de la Plata .....	12
Objetivos.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos específicos .....	13
Materiales y Métodos.....	13
Obtención y análisis de muestras.....	13
Análisis de datos .....	16
Construcción de grupos morfológicos .....	16
Relación entre los grupos morfológicos y las variables ambientales .....	17
Resultados.....	18
Morfología de los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata .....	18
Construcción de los grupos morfológicos.....	22
Relación de los grupos morfológicos con las variables ambientales.....	25
Discusión.....	29
Rasgos morfológicos dominantes en la comunidad fitoplanctónica del RP .....	30
Grupos morfológicos fitoplanctónicos del RP .....	32
Relación de los grupos morfológicos con las variables ambientales.....	35
Conclusiones.....	36
Perspectivas.....	36
Bibliografía .....	37

## Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama del modelo de Grime (1977) de ambientes habitables por los organismos fitoplanctónicos .....	9
Figura 2. Área de estudio y sitios muestreados.....	14
Figura 3. Histogramas de distribución de las variables morfológicas continuas.....	20
Figura 4. Ordenación morfológica de los organismos fitoplanctónicas del Río de la Plata según la relación superficie / volumen (S/V) y la máxima dimensión linear (MLD).....	21
Figura 5. Árbol de clasificación de los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata en base a sus rasgos morfológicos (CART).....	23
Figura 6. Box plots de los rasgos morfológicos continuos logaritmizados de cada grupo morfológico (T, S, A, F y R).....	25
Figura 7. Biovolumen de los grupos morfológicos en cada estación.....	27
Figura 8. Diagrama de ordenación triplot del análisis RDA.....	28

## Índice de Tablas

Tabla 1. Fechas, y coordenadas de las estaciones muestreadas.....	15
Tabla 2. Fitoplancton del RP en términos de clases taxonómicas encontradas, biovolumen promedio (BV promedio) y desvío estándar (DS) y frecuencia de ocurrencia calculada como sitios de ocurrencia/sitios totales.....	19
Tabla 3. Proporción de los rasgos categóricos en términos de abundancia de los organismos de fitoplancton en el Río de la Plata.....	19
Tabla 4. Medidas de resumen de los rasgos morfológicos continuos de fitoplancton en el Río de la Plata.....	20
Tabla 5. Coeficiente de correlación de Spearman para cada par de rasgos continuos.....	21
Tabla 6. Descripción de los 5 grupos morfológicos fitoplanctónicos del Río de la Plata.....	24
Tabla 7. Valores de las principales variables abióticas y bióticas de cada estación de cada realizados en el periodo de estudio en el Río de la Plata.....	27

## Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
RP	Río de la Plata
Si	Sílice
Aer	Aerótopos
Fla	Flagelo/s
Muc	Mucílago
V	Volumen
S	Superficie
S/V	Relación superficie/volumen
MLD	Máxima dimensión lineal
Clo-a	Clorofila-a total
RDA	Análisis de redundancia
SiO <sub>3</sub>	Sílice reactivo
NH <sub>4</sub>	Amonio
NO <sub>3</sub>	Nitrato
NO <sub>2</sub>	Nitrito
T	Temperatura
CR	Crucero
BV	Biovolumen
GM	grupo morfológico
PO <sub>4</sub>	Fósforo reactivo soluble
PAR	Radiación fotosinteticamente activa
CART	Árboles de clasificación y regresión
GFBM	Grupos funcionales basados en morfología

## **Agradecimientos**

Gracias a todos los que me han acompañado en estos años de carrera.

A mis padres y hermanos, a mis amigos y a mis compañeros de carrera por hacer esta etapa más divertida y llevadera. A Conciencias Limpias y a los tambores de los viernes. A todos los compañeros de Limnología por la buena onda y las charlas en el laboratorio. A Carla y a Danilo por guiarme y ayudarme en mi formación. A María del Carmen y a Graciela por ayudarme con la identificación de especies. Gracias a la ANII por financiarme esta última etapa de estudio.

## Resumen

La conformación de grupos morfo-funcionales que den cuenta de las estrategias de vida individuales es un problema clásico en ecología del fitoplancton. Estas clasificaciones buscan relacionar las características de los organismos con los procesos ecológicos en los que están implicados. Las clasificaciones propuestas hasta el momento implican avances importantes, pero presentan problemas derivados de la utilización de rasgos difíciles de cuantificar, y requieren información sobre condiciones ambientales de ocurrencia de las especies, o el conocimiento de un experto. Adicionalmente, algunas clasificaciones no son independientes de la filiación taxonómica de los individuos y usan bases de datos geográficamente restringidas. El objetivo de este trabajo es proponer una nueva clasificación de los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata en base a rasgos morfológicos simples medibles bajo microscopio óptico, sin necesidad de información ambiental o conocimiento de un experto. La clasificación se realizó a partir de muestras obtenidas en 4 sitios de muestreo en la zona exterior del Río de la Plata entre mayo y noviembre de 2009. En cada caso se registraron variables abióticas y se tomaron muestras de fitoplancton. Se evaluaron los rasgos morfológicos de los organismos (presencia de flagelo/s, aerótopos, mucilago, teca, sílice, S/V, V, S Y MLD) y se estimó su biovolumen. Los grupos fueron definidos en base a la técnica estadística Árboles de Clasificación y Regresión. El análisis seleccionó cuatro rasgos morfológicos relevantes para separar y caracterizar a los organismos (presencia de teca, aerótopos y flagelos, y relación S/V) en base a los cuales se definieron cinco grupos morfológicos (T, S, A, F y R). Los grupos T (tecados, unicelulares y con flagelos) y F (atecados, unicelulares, con flagelo/s, alta S/V) representaron la mayor biomasa en el sistema. Dada su morfología estos grupos podrían ser favorecidos en ambientes costeros, mezclados y sin limitación por nutrientes, concordando con estudios anteriores en esta zona del estuario. A la vez, estos resultados podrían servir para predecir el efecto de los cambios ambientales sobre la estructura comunitaria.

# **Introducción**

## **Importancia del estudio del fitoplancton**

El fitoplancton es la comunidad de microorganismos fotosintéticos adaptados a vivir en suspensión en la columna de agua (Reynolds 2006). Es el principal productor primario en los sistemas marinos y continentales, y es responsable de casi la mitad de la producción primaria neta global (Field *et al.* 1998, Falkowski *et al.* 2004). Interviene en los procesos biogeoquímicos oceánicos, regulando y modificando las diferentes formas de los compuestos químicos disponibles en el océano (Iglesias-Rodríguez *et al.* 2002, Le Quéré *et al.* 2005). Son, junto con las bacterias, los responsables de la captación y transferencia de energía y materia a niveles tróficos superiores, los cuales tienen como predadores tope a peces de importancia económica (Rhyther 1969, Sherr & Sherr 1991). Cumplen un papel fundamental en el ciclo global del carbono, capturando CO<sub>2</sub> atmosférico, el principal gas invernadero, e incorporándolo en su biomasa (Falkowski 2001). Gran parte de ese carbono orgánico se descompone y pasa a constituir parte del carbono inorgánico en la columna de agua y en las profundidades del océano (Bowler *et al.* 2009). Algunas especies causan floraciones potencialmente tóxicas que son perjudiciales para la salud humana y ecosistémica. Estas floraciones son muy frecuentes en los cuerpos de agua que han sido perturbados por la acción humana, como los estuarios, ya que las actividades antrópicas alteran las condiciones fisicoquímicas causando un cambio en la composición y abundancia de las especies que integran la comunidad fitoplanctónica (Anderson 2002).

## **Clasificación de los organismos fitoplanctónicos**

Tradicionalmente se ha utilizado la agrupación de las especies en grupos taxonómicos fitoplanctónicos para describir la estructura y la dinámica ecológica de esta comunidad. Es decir, se han utilizado las relaciones de parentesco para agrupar a los organismos que la componen, principalmente a nivel de clases u órdenes. Sin embargo, si consideramos que los organismos que co-ocurren en la comunidad fitoplanctónica tienen requerimientos ambientales similares (Web *et al.* 2002), como la adquisición de luz y nutrientes, un enfoque taxonómico basado en las relaciones de parentesco, no sería el más adecuado para reflejar el desempeño ecológico de los

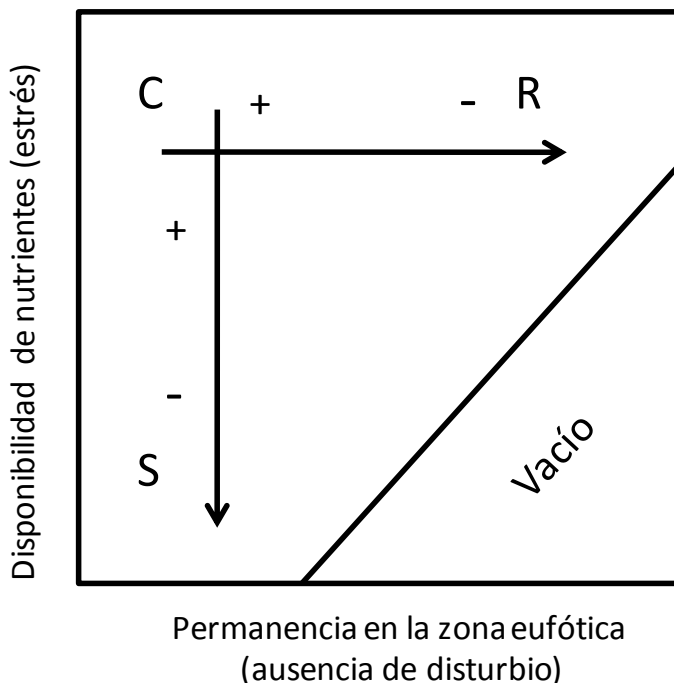
organismos en el ambiente (Kruk *et al.* 2010). Esto es debido a que un mismo grupo taxonómico puede estar comprendido por organismos con tolerancias y requerimientos ambientales muy diversos, por ejemplo en niveles taxonómicos elevados (ej. clase) en donde encontramos organismos con estructuras y formas de vida muy distintas (Reynolds 1997, Salmaso & Padisák 2007, Kruk *et al.* 2011). A la inversa, organismos que respondan de forma similar al ambiente pueden estar muy alejados filogenéticamente y sin embargo co-ocurrir (Costa *et al.* 2009). Es por esta razón que se han desarrollado clasificaciones alternativas en las cuales el criterio de agrupamiento de los organismos no es la filiación filogenética.

Una de estas aproximaciones es el “Mandala” de Margalef (1978) desarrollado principalmente para organismos marinos. Margalef representó el cambio estacional de la comunidad fitoplanctónica como función directa de los nutrientes y de la turbulencia. Según este modelo, estos factores actúan como la principal fuerza que selecciona a los organismos según sus estrategias de vida. A partir de esto identificó dos formas de vida o estrategias de vida; *r* y *K* en referencia a las estrategias de vida de MacArthur & Wilson (1967). La estrategia de vida *r* la tendrían organismos de pequeño tamaño, con alta tasa de crecimiento y adaptados a condiciones de alta turbulencia y altos nutrientes. La estrategia de vida *K* la tendrían organismos de gran tamaño y tasa de crecimiento baja, quedando seleccionados en sistemas con baja turbulencia y pocos nutrientes.

Por otro lado Reynolds (1988) adaptó las tres estrategias de historia de vida creadas por Grime (1977) para las plantas a organismos fitoplanctónicos en su mayoría dulce acuícolas. Al igual que Margalef (1978) consideró a los nutrientes (fuente de estrés) y a la permanencia en la zona eufótica (ausencia de disturbio), como los dos factores principales que seleccionan a los organismos que componen el fitoplancton. Identificó tres estrategias de vida primarias que pueden ser ubicadas en un diagrama bidimensional que incluyen a los nutrientes y al tiempo de permanencia en la zona eufótica como ejes (Figura 1). En un ambiente con alta concentración de nutrientes y alta permanencia en la zona eufótica dominan los organismos con estrategia de vida C (colonizadores). Estos son organismos mayoritariamente unicelulares, con una tasa de crecimiento poblacional alta. Por otro lado, los S-estrategas (estrés tolerantes) dominan en ambientes con alto estrés (baja concentración de nutrientes). Ellos pueden adquirir y almacenar los nutrientes aún en muy bajas concentraciones, siendo esto su principal ventaja. Por último, los estrategias R (ruderales) se desarrollan en condiciones de alta concentración de nutrientes y baja



permanencia en la zona eufótica dado que resisten estar por un tiempo prolongado fuera de la zona eufótica sin que esto implique grandes pérdidas de biomasa. Son organismos que crecen a bajos umbrales de luz y por lo general tienen una relación superficie/volumen (S/V) alta que favorece la captación de luz.



**Figura 1.** Estrategias de vida del fitoplancton modificado de Reynolds (2006) representando ambientes habitables y no habitables por los organismos fitoplanctónicos según la disponibilidad de nutrientes (estrés) y la permanencia en la zona eufótica (ausencia de disturbio). Se incluye la ubicación de las estrategias: C (colonizadoras), R (ruderales) y S (estrés tolerantes).

Reynolds desarrolló una clasificación funcional de las especies fitoplanctónicas denominadas asociaciones funcionales (Reynolds 1980, Reynolds *et al.* 2002, Reynolds 2006). Estas son grupos de especies que responden de manera similar, aumentando o disminuyendo su biomasa, frente a similares cambios en el ambiente. Esta clasificación ha sido ampliamente utilizada en sistemas tan diversos como lagos alpinos hasta estuarios tropicales (Dokulil & Teubner 2003, Costa *et al.* 2009). También se han creado clasificaciones alternativas para organismos fitoplanctónicos marinos como las de Le Quére *et al.* (2005) en donde se clasifica al

plancton marino en tipos funcionales según la función biogeoquímica que cumplen en el océano, o las de Smayda & Reynolds (2001) para dinoflagelados marinos generadores de floraciones donde distinguen nueve tipos de formas de vida en base a un gradiente de nutrientes y mezcla.

Todas estas clasificaciones antes mencionadas constituyen grandes avances en la forma de clasificar a los organismos. Sin embargo, presentan algunos problemas. Por ejemplo la clasificación de nuevas especies puede ser difícil ya que usan rasgos de difícil obtención a nivel individual (ej. fisiológicos) o necesitan de información ambiental (clasificación *r* y *K* de Margalef). Otro problema es que son poco prácticas de aplicar, como las asociaciones funcionales de Reynolds que en la actualidad cuenta con 40 asociaciones (Padisák *et al.* 2009), además de que es necesario el conocimiento de un experto para saber a qué asociación pertenece cada especie ya que los criterios *a priori* son poco claros (Kruk *et al.* 2010, Kruk *et al.* 2011). Otro de los problemas es que no son independientes de la filiación taxonómica (como las asociaciones de Reynolds), o fueron construidas con bases de datos geográficamente restringidas. Tampoco ha sido evaluada la predictibilidad de estas clasificaciones ni se conoce una relación clara con la adecuación biológica de los organismos.

Para que una clasificación refleje el desempeño ecológico de los organismos que la componen tiene que estar basada en rasgos o características que tengan un efecto directo en su adecuación biológica. Para esto se puede utilizar a los rasgos funcionales como forma de clasificarlos. Los rasgos funcionales comprenden rasgos morfológicos, fisiológicos y fenológicos de los organismos (Violle *et al.* 2007). El problema de esta aproximación es que los rasgos fisiológicos y fenológicos son de difícil obtención. Sin embargo, algunas características morfológicas están fuertemente correlacionadas con rasgos fisiológicos de los organismos, como la tasa de crecimiento y hundimiento, o la biomasa de las poblaciones naturales (Joint & Pomory 1988, Agusti 1991, Tang 1995, Kruk *et al.* 2010). A modo de ejemplo, el tamaño de un organismo puede, por sí mismo, explicar gran parte de la variabilidad encontrada en la tasa metabólica, tasa de hundimiento, abundancia, biomasa, diversidad y tiempo generacional de las especies (Finkel 2001, Litchman *et al.* 2007). Por lo tanto, podrían utilizarse rasgos morfológicos como predictores de los rasgos funcionales de las especies. A partir de esto Kruk *et al.* (2010) construyó una clasificación para fitoplancton de agua dulce basada únicamente en la morfología de los organismos: grupos funcionales basados en morfología (GFBM). Ésta clasificación simplifica la identificación de los organismos fitoplanctónicos ya que se los agrupa no por su

filiación taxonómica sino por nueve rasgos morfológicos fácilmente identificables bajo el microscopio óptico incluyendo rasgos continuos como la dimensión linear máxima (MLD) y rasgos categóricos como la presencia de mucilago (Muc). La ventaja de esta clasificación es que es fácil de aplicar ya que utiliza rasgos que son de fácil medición. Otra de las ventajas es que esta relacionada con la adecuación biológica de los organismos por estar basada en los rasgos funcionales, y por tanto puede llegar a captar el desempeño ecológico de los organismos en el ambiente.

## **El estuario del Río de la Plata**

Un estuario es un cuerpo de agua costero, semi-cerrado, con una conexión libre al océano y en el que el agua de mar está diluida con agua dulce procedente del drenaje de la cuenca (Pritchard 1967). El grado de mezcla de estas aguas depende de las condiciones oceanográficas, la descarga de agua dulce, la marea y de eventos meteorológicos como el viento (Bianchi 2007). Estos factores varían a diferente escala temporal. La salinidad, profundidad de la haloclina y la mezcla vertical varían en escala horaria, los vientos lo hacen de forma diaria y el caudal fluvial lo hace a una escala mensual e interanual. Todo esto crea fuertes gradientes espaciales de salinidad, temperatura, turbidez y nutrientes, entre otros (Nybakken 1993, Bianchi 2007). Son ambientes muy productivos (Day *et al.* 1989), pero con una baja diversidad de especies debido a que pocas toleran el estrés generado por los gradientes ambientales (Nybakken 1993). Si bien los estuarios son ecosistemas de gran valor económico y para la conservación, son además sistemas muy impactados por las actividades antrópicas (Nixon 1995, Howarth 1998, Nagy *et al.* 2002). Entre los impactos humanos más comunes en estuarios se encuentran: el enriquecimiento con materia orgánica e inorgánica, las modificaciones físicas (ej. dragado), la introducción de sustancias tóxicas y los cambios en la estructura comunitaria (ej. introducción de especies exóticas, sobrepesca, entre otras) (Day *et al.* 1989). Uno de los impactos humanos más estudiados es el enriquecimiento con nitrógeno y fósforo, también llamado eutrofización. Se produce como consecuencia del uso excesivo de fertilizantes, plaguicidas y otros productos químicos usados por la actividad agrícola-ganadera e industrial, así como por la descarga de aguas de desecho domésticas e industriales (Cloern 2001). Todos estos impactos conducen a una degradación ambiental de los estuarios y regiones costeras en donde hay establecidas grandes ciudades o donde hay un uso intensivo de productos químicos en sus cuencas (Bianchi 2007).

El Río de la Plata (RP) ( $34^{\circ}10'$ -  $36^{\circ}20'S$  y  $55^{\circ}00'$  –  $58^{\circ}30'W$ ) es el estuario más grande de América, drena una cuenca de  $3.170.000 \text{ km}^2$  y tiene un caudal medio de entrada de  $25.000 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  con un máximo en junio y mínimo en enero (Guerrero *et al.* 1997, Nagy *et al.* 1998). Es una zona de transición que por un lado recibe la descarga de los ríos Paraná y Uruguay y por otro la intrusión marina del océano Atlántico. Está dividido en tres zonas morfo-hidrológicas diferentes. Una zona superior o fluvial, con un régimen fluvial. Esta zona se extiende hasta el límite máximo histórico de la intrusión salina, que corresponde aproximadamente al límite entre los departamentos de Colonia y San José en la costa Norte del RP. Luego le sigue una región intermedia caracterizada por un régimen fluvial y mareal que se extiende hasta el delta-fluvio mareal progresivo llamado la Barra del Indio (Nagy *et al.* 1998). Por último, está comprendido por una zona exterior que se extiende hasta la línea imaginaria que une Punta Rasa y Punta del Este, en las márgenes sur y norte, respectivamente. Esta zona contiene aguas salobres y marinas de salinidad variable según las mareas, vientos y aportes de agua dulce de la cuenca (Boschi 1989)

### **Estudios del fitoplancton del Río de la Plata**

Los primeros estudios fitoplanctónicos en la costa uruguaya del RP fueron destinados al estudio taxonómico de las diatomeas; trabajo de éste tipo se pueden rastrear desde la década del 20 (Carbonell & Pascual 1925), hasta el 80 (Burone & Bayssé 1984). Por otro lado, Vaz Ferreira (1943) estudió al género de dinoflagelados *Ceratium* de nuestra costa y Balech (1985, 1995) lo hizo para el género *Alexandrium*. Los estudios de la comunidad fitoplanctónica del RP empezaron a ser más frecuentes a partir de la década del 80 (Parrieti 1985, Negri *et al.* 1988, CARP-SHIN-SOMA 1990) y se han mantenido hasta el presente. También ha habido revisiones y síntesis de los trabajos fitoplanctónicos del RP por diversos autores (Mendez *et al.* 1997, Calliari *et al.* 2003, Ferrari & Vidal 2006). Si bien en algunos de éstos trabajos se han agrupado a los organismos por tamaño (Gomez *et al.* 2002), o por estrategias de CSR de Reynolds (1988) (Ferrari 2008) hasta ahora no se ha utilizado una clasificación que esté basada únicamente en los rasgos funcionales de los organismos y sea fácil de aplicar. La agrupación del fitoplancton estuarino en grupos morfo-funcionales podría facilitar el análisis de la información ya que clasifica a los organismos por la similitud en su desempeño ecológico permitiendo potencialmente una mejor comprensión de la dinámica comunitaria y de las variaciones

temporales y espaciales a la que esta está sujeta. Así mismo, permitiría una mejor predictibilidad a partir de las variables ambientales locales que otras aproximaciones (Kruk *et al.* 2011). Es por todo lo expuesto anteriormente que se propone construir una nueva clasificación mofo-funcional utilizando la metodología ya propuesta por Kruk *et al.* (2010), pero para un nuevo sistema, el Río de la Plata.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Construir grupos morfológicos (GM) de organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata a partir sus rasgos morfológicos y evaluar cómo cambia su biomasa con las variables ambientales.

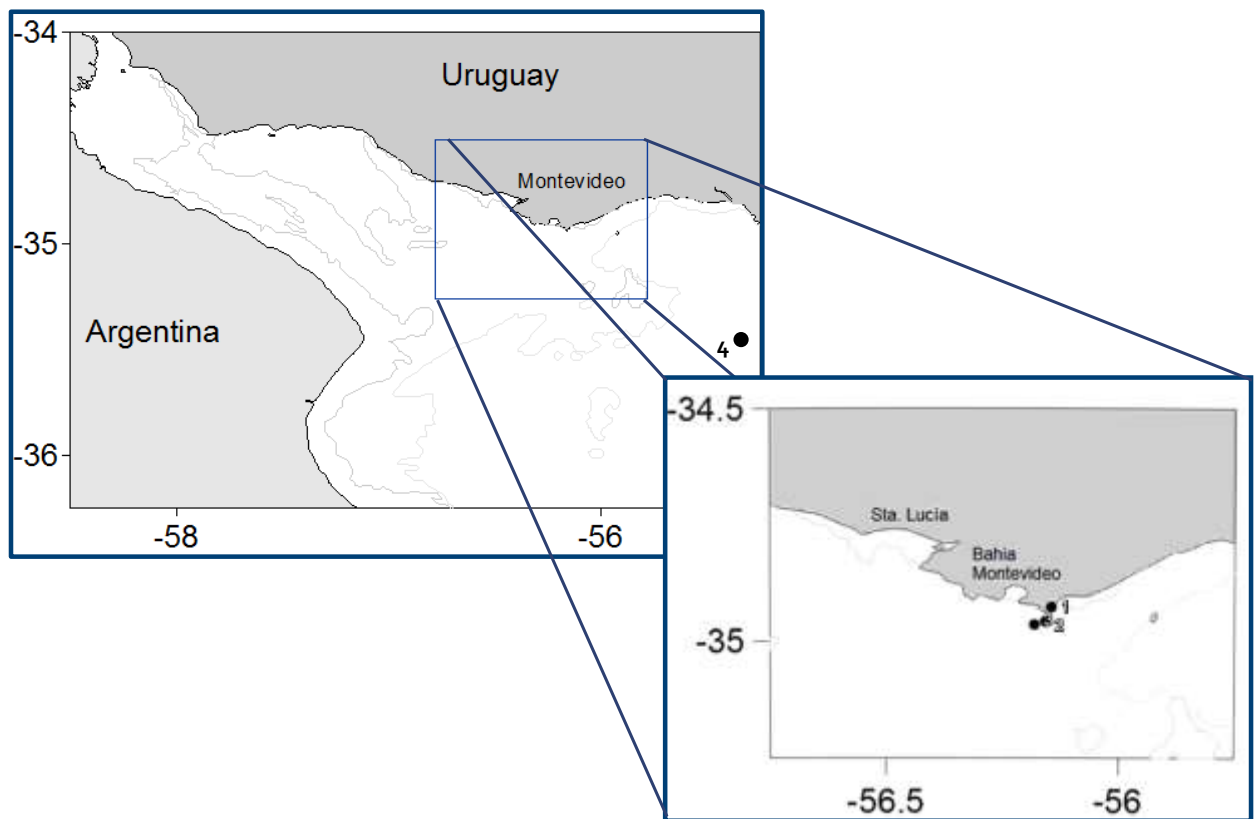
### **Objetivos específicos**

- 1) Analizar la distribución de los rasgos morfológicos en los organismos de fitoplancton presentes en el Río de la Plata
- 2) Construir grupos morfológicos (GM) basados en los rasgos morfológicos estudiados
- 3) Evaluar la relación entre la biomasa de los organismos agrupados en los grupos morfológicos construidos y las variables ambientales en el Río de la Plata

## **Materiales y Métodos**

### **Obtención y análisis de muestras**

En este estudio se incluyeron cuatro estaciones de muestreo en la zona exterior del Río de la Plata (Figura 2). Las tres primeras estaciones se muestrearon cuatro veces entre el mes de agosto y noviembre de 2009 (Tabla 1). La cuarta estación, más al sureste que los anteriores, se muestreó una única vez y se tomó en el mes de mayo de 2009 (Tabla 1, Figura 2).



**Figura 2.** Área de estudio. Los puntos sólidos (•) pertenecen a las 4 estaciones de muestreo realizadas. Las estaciones 1, 2 y 3 frente a Montevideo fueron muestreadas 4 veces entre agosto y noviembre de 2009 y la estación 4, más al suroeste que las anteriores, fue muestreada una única vez en Mayo de 2009.

En cada estación de muestreo se hicieron perfiles de salinidad, temperatura (T), fluorescencia y radiación fotosintéticamente activa (PAR) y turbidez (CTD Seabird 19V plus). Los valores de las variables ambientales se registraron a una profundidad de 1m debido a que todas las muestras tomadas para los análisis bióticos fueron tomadas a esa profundidad. A partir de los valores de PAR se estimó el coeficiente de atenuación de la luz ( $K_d$ ) como  $K_d = \ln(I_0/I_z)/Z$ , donde, Z es la profundidad en metros,  $I_0$  es la intensidad de la luz en la superficie e  $I_z$  es la intensidad de la luz a la profundidad Z. Se colectaron muestras a 1 m de profundidad para análisis de nitrato ( $\text{NO}_3$ ), nitrito ( $\text{NO}_2$ ), amonio ( $\text{NH}_4$ ), fósforo reactivo soluble ( $\text{PO}_4$ ) y sílice reactivo ( $\text{SiO}_3$ ) las cuáles fueron filtradas y congeladas a  $-20^\circ\text{C}$ . Los métodos utilizados fueron: método de reducción del cadmio para el  $\text{NO}_3$  (Mackereth *et al.* 1989), método de la sulfanilamida para el  $\text{NO}_2$  (Strickland & Parsons 1972), método de azul indofenol para el  $\text{NH}_4$  (Koroleff 1970), método del azul de molibdeno para el  $\text{PO}_4$  (Murphy & Riley 1962), y para el  $\text{SiO}_3$  se utilizó el

método del silicomolibdico amarillo (Müllin & Riley 1955). Se calculó la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) como la suma del NO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub> y NO<sub>2</sub>. También se estimó la concentración de clorofila-a por espectrofotómetro extraída en etanol 96% según Wasmund *et al.* (2006). Se tomaron muestras cualitativas de fitoplancton con red de arrastre de 25 µm de poro que fueron observadas frescas y preservadas en formol neutralizado al 4%. Las muestras cuantitativas fueron tomadas a un metro de profundidad con botella muestreadora Hydrobios y preservadas en lugol ácido.

**Tabla 1.** Estaciones de muestreo incluyendo, fechas y coordenadas.

Estación	Fecha	Coordenadas
1	05 Agosto 2009	34° 57' 25"S 56° 10' 6" W
2		34° 57' 00"S 56° 8' 2" W
3		34° 55' 72"S 56° 7' 2" W
1	19 Agosto 2009	34° 58' 21"S 56° 13' 1" W
2		34° 57' 09"S 56° 9.5' 2" W
3		34° 55' 31"S 56° 6.2' 4"W
1	11 Setiembre 2009	34° 58' 75"S 56° 0.5' 0"W
2		34° 58' 26"S 56° 4' 6" W
3		34° 55' 14"S 56° 7' 0"W
1	09 Noviembre 2009	34° 57' 44"S 56° 13' 1"W
2		34° 57' 31"S 56° 9' 8"W
3		34° 55' 21"S 56° 7' 7"W
4	21 Mayo 2009	35° 18' 39" S 55° 32' 00"W

Las muestras de fitoplancton se observaron al microscopio óptico para medir las características morfológicas de los organismos fitoplanctónicos y realizar los conteos. Las características medidas fueron la dimensión lineal máxima (MLD) y aquellas necesarias para calcular volumen (V), superficie (S) y relación superficie/volumen (S/V) de acuerdo con las ecuaciones de Hillebrand *et al.* (1999). Asimismo se registró la presencia o ausencia de heterocitos (Het), exoesqueleto silíceo (Si), teca (Teca), mucilago (Muc), aerótopos (Aer) y flagelos (Fla). En total se midieron 30 organismos de cada especie en cada muestra de cada estación. También se registró el número de células por colonia. Los conteos y medidas de los organismos fueron hechos en microscopio invertido siguiendo el método de Utermöhl (1958) utilizando cámaras de sedimentación de 5 y 10 ml. Los organismos menores a 10 µm se contaron

y midieron a 1000 aumentos y los mayores a 10  $\mu\text{m}$  a 400 aumentos. Se contó hasta llegar a los 100 individuos de la especie más frecuente de acuerdo con Lund *et al.* (1958). Se calculó la abundancia expresada en número de organismos  $\text{ml}^{-1}$ . El biovolumen, expresado en  $\text{mm}^3\text{l}^{-1}$ , se halló como el volumen individual de la especie multiplicado por su abundancia. El volumen individual de la especie se consideró como el promedio del volumen de los organismos medidos en cada muestra.

## **Análisis de datos**

Se evaluó la normalidad de todas las variables estudiadas con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov & Lilliefors. Como no cumplieron con la misma, todas las pruebas y análisis utilizados fueron no paramétricos o robustos a la falta de normalidad. Se realizó la prueba de correlación de Spearman para evaluar la correlación entre los rasgos continuos. Se utilizó el programa PAST versión 1.99 (Hammer *et al.* 2001) para realizar los histogramas de los rasgos morfológicos continuos y el programa Statistica versión 8.0 para Windows (StatSoft 2007) para el resto de estos análisis. Para clasificar a los organismos según su estrategia de vida CSR se construyó un gráfico de S/V en función de S/V.MLD y se asignó una estrategia de vida a cada organismo partir de sus valores de S/V y MLD (Reynolds 1988, Reynolds 2006). Esta clasificación fue diseñada para organismos de sistemas de agua dulce y los rangos de valores para clasificarlos fueron: un S/V.MLD de 6 a 30 y un S/V de entre 0,3 a 3,0 para los estrategias C, un S/V.MLD de 6 a 30 y un S/V de 0,03 a 0,3 para los estrategias S y un S/V.MLD de 15 a 1000 y un S/V de 0,3 a 2,0 para los estrategias R según Reynolds (1988, 2006)

## **Construcción de grupos morfológicos**

Para construir los grupos morfológicos se utilizaron árboles de clasificación (CART) (Breiman *et al.* 1984). Los CART son una forma de partición recursiva binaria utilizada para clasificar casos (organismos) a partir de un grupo de variables explicativas categóricas y continuas (rasgos morfológicos), dando como resultado la agrupación de los casos en nodos terminales con la máxima homogeneidad posible (i.e. grupos morfológicos) (Lewis 2000, Timofeev 2004). La variable dependiente utilizada fue el organismo, mientras que las variables explicativas categóricas fueron: flagelo, aerótopo, sílice, teca y mucílago, y las continuas:  $\log_{10} V$ ,



$\log_{10} S/V$  y  $\log_{10} MLD$ . Los parámetros de detención fueron un mínimo de 410 casos por nodo y no más de 1000 nodos totales. Esto significa que cuando el número de casos (organismos) en un nodo es menor a 410 el árbol para de dividirse (Timofeev 2004). La regla elegida de detención de crecimiento del árbol fue la de ‘poda en la desviación’. Esta es una técnica que reduce el tamaño del árbol (y su complejidad) sin disminuir la exactitud en las predicciones ya que elimina los nodos que no proporcionan información adicional (Ripley 1996). Para elegir el tamaño de árbol correcto se utilizó el método de validación cruzada ‘V’ veces (Breiman *et al.* 1984). Esta forma de validación se calcula tomando ‘V’ submuestras al azar de la muestra original. Se aplica este grupo de datos para comprobar la exactitud de las predicciones del árbol creado. Una predicción será mejor si tiene la menor varianza posible. Por tanto si las predicciones de la muestra creada son mejores a los de la muestra original (los utilizados para crear el árbol que se quiere validar) esto indica que un árbol de tamaño diferente podría validar mejor los datos originales (Breiman *et al.* 1984). El V- valor fue de 10 y la regla de error estándar de 1.

Una vez que los grupos morfológicos estuvieron contruidos se realizaron box-plots con las medias, error y desvío estándar de los rasgos morfológicos continuos logaritmizados. Se utilizaron pruebas de Kruskal-Wallis y *post-hoc* de Tukey, para corroborar que las diferencias entre los grupos fueran significativas en términos de  $\log_{10}V$ ,  $\log_{10}S$ ,  $\log_{10} S/V$  y  $\log_{10}MLD$ . Los box-plots fueron realizados con el programa estadístico R (R Development Core Team 2011) mientras que los test estadísticos se realizaron con el programa Statistica versión 8.0 para Windows (StatSoft 2007).

Por último, se sumó la biomasa de cada especie según su asignación a los grupos contruidos para obtener la biomasa total del grupo por estación.

## **Relación entre los grupos morfológicos y las variables ambientales**

Se realizaron pruebas no paramétricas de Spearman para evaluar el grado de correlación entre las variables abióticas, y entre éstas y la biomasa de los grupos contruidos. Para determinar el conjunto de variables abióticas que más contribuye a explicar la variabilidad de la biomasa de los grupos contruidos se utilizaron análisis de correspondencia canónica. Se realizó un análisis de correspondencia con remoción de tendencias (DCA) para seleccionar el tipo de

análisis más adecuado en base a la longitud del gradiente de cambio de los grupos. Como la longitud del gradiente fue de 1,12 unidades de desvío estándar se realizó un análisis de redundancia (RDA), que es un modelo de respuesta lineal a los distintos gradientes ambientales (ter Braak & Smilauer 1998). Las variables abióticas introducidas en el análisis fueron: densidad, fluorescencia, turbidez, PAR, salinidad, T, Kd, NH<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, PO<sub>4</sub> y SiO<sub>3</sub>, NID y clorofila-a total. Los datos de la estación de muestreo 4 no fueron incluidos por no contaron con la información de nutrientes al momento de efectuar el análisis. La biomasa de los grupos fue transformada a  $\text{Log}_{10} + 3$  para que los valores sean positivos y la matriz abiótica fue centrada y estandarizada por la media por columna:  $((\text{valor} - \text{media})/\text{desvío}) + 7$ . La significancia de los análisis de ordenación se determinó mediante la prueba de Montecarlo utilizando 499 permutaciones. Se evaluó la importancia de cada variable utilizando un procedimiento de selección hacia adelante (RDA forward) para incluir aquellas que aportaran explicación de manera significativa ( $p < 0,05$ ) y no fueran redundantes con las variables ya introducidas en el modelo. Con las variables que seleccionó el RDA forward se construyó el diagrama triplot final (sitios, GM y variables ambientales). Todos estos análisis fueron realizados con el programa CANOCO para Windows versión 4.5 (Biometrics-Plant Research International, Wageningen, The Netherlands).

## Resultados

### Morfología de los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata

Durante todo el período estudiado se registraron 34 especies de fitoplancton pertenecientes a seis clases taxonómicas distintas (Tabla 2). La clase de las diatomeas fue la que presentó una mayor riqueza de especies (Bacillariophyceae, 11 especies) y la segunda clase fue la de los dinoflagelados (Dinophyceae, 10 especies). La clase con mayor biomasa fue la de los dinoflagelados, seguido por las euglenofitas (Euglenophyceae) (Tabla 2). La especie más abundante fue la euglenofícea *Eutreptia globulifera* y la segunda más abundante fue el dinoflagelado *Prorocentrum minimum*.

El 99,4% del total de los organismos tuvieron un nivel de organización unicelular mientras que el 0,4% fue colonial y el 0,05% filamentoso. El rasgo morfológico categórico más

común fue la presencia de flagelo (95%), seguido por la presencia de teca (30%), mientras que el menos frecuente fue la presencia de aerótopo (0,1%) (Tabla 3). El flagelo estuvo presente en cuatro de las seis clases taxonómicas observadas, mientras que la presencia de teca fue exclusiva de la clase Dinophyceae.

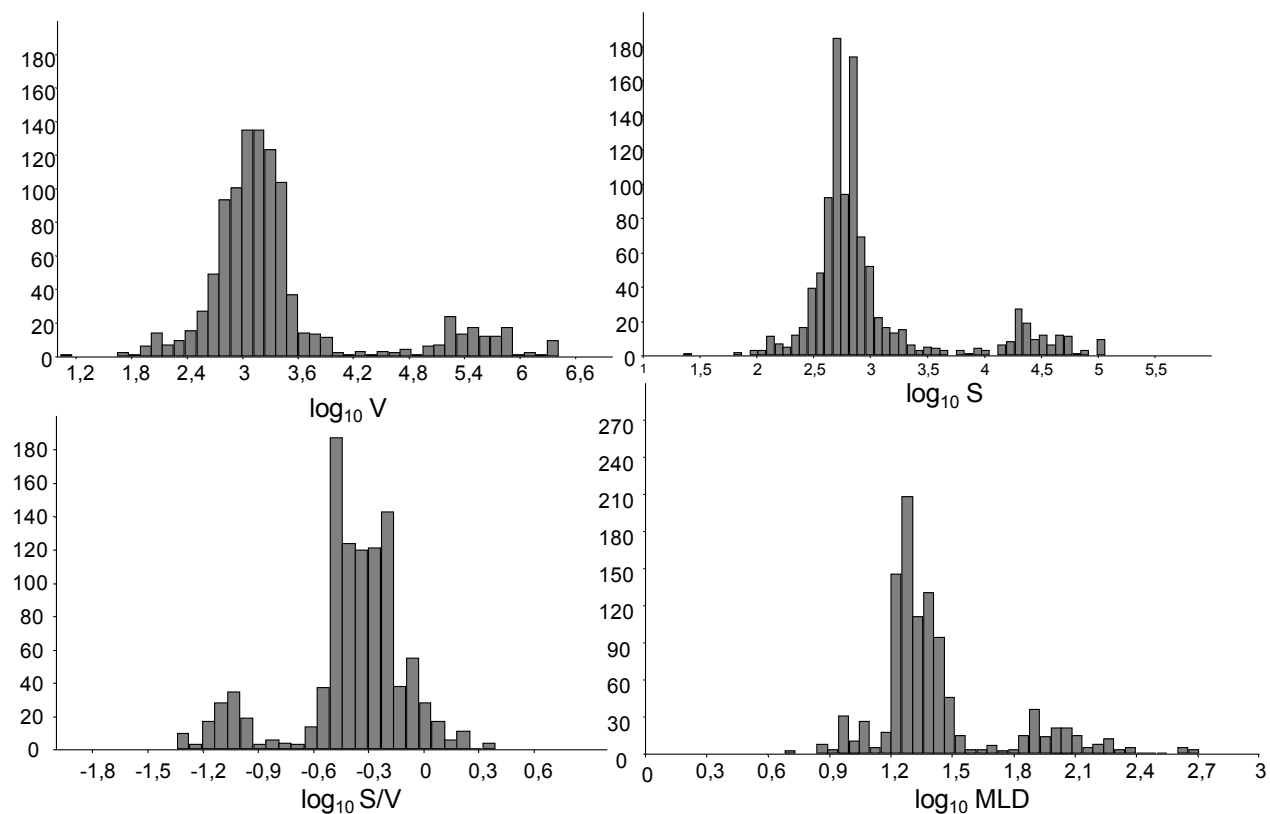
**Tabla 2.** Descripción del fitoplancton del Río de la Plata en términos de clases taxonómicas encontradas, número de especies de cada clase (S), biovolumen promedio (BV promedio) y desvío estándar (DS) y frecuencia de ocurrencia calculada como sitios de ocurrencia/sitios totales

<b>Clase taxonómica</b>	<b>S</b>	<b>BV promedio (mm<sup>3</sup>l<sup>-1</sup>) ± DS</b>	<b>Frecuencia de ocurrencia</b>
Dinophyceae	10	18,7 ± 1,6	1
Euglenophyceae	1	16,1 ± 2,1	0,92
Bacillariophyceae	11	8,4 ± 2,1	0,23
Chlorophyceae	7	0,5 ± 0,1	0,61
Cianophyceae	3	0,05 ± 0,01	0,15
Cryptophyceae	2	0,02 ± 0,005	0,07

**Tabla 3.** Proporción de los rasgos categóricos en términos de abundancia de los organismos de fitoplancton en el RP.

<b>Rasgo categórico</b>	<b>%</b>
Flagelo	96
Teca	30
Sílice	1
Aerótopo	0,1
Mucílago	0,2

El rango de todos los rasgos continuos fue amplio, encontrándose diferencias de varios órdenes de magnitud entre el valor mínimo y el valor máximo (Tabla 4). A partir de los histogramas de los rasgos continuos logaritmizados se observó bimodalidad en su distribución, con dos máximos, uno principal próximo al valor medio de los datos y uno secundario más próximo al valor máximo, excepto para S/V que mostró un patrón contrario (Figura 3, Tabla 4).



**Figura 3.** Histogramas de distribución de las variables morfológicas continuas logaritmizadas del volumen ( $\log_{10} V$ ), superficie ( $\log_{10} S$ ), relación superficie/volumen ( $\log_{10} S/V$ ) y máxima dimensión lineal ( $\log_{10} MLD$ ) para los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata.

**Tabla 4.** Medidas de resumen de los rasgos morfológicos continuos de fitoplancton en el Río de la Plata. Volumen (V), superficie (S), superficie/volumen (S/V), máxima dimensión lineal (MLD), mínimo (Min), máximo (Max), primer cuartil (1erq), tercer cuartil (3erq), tercer cuartil menos primer cuartil (3erq – 1erq).

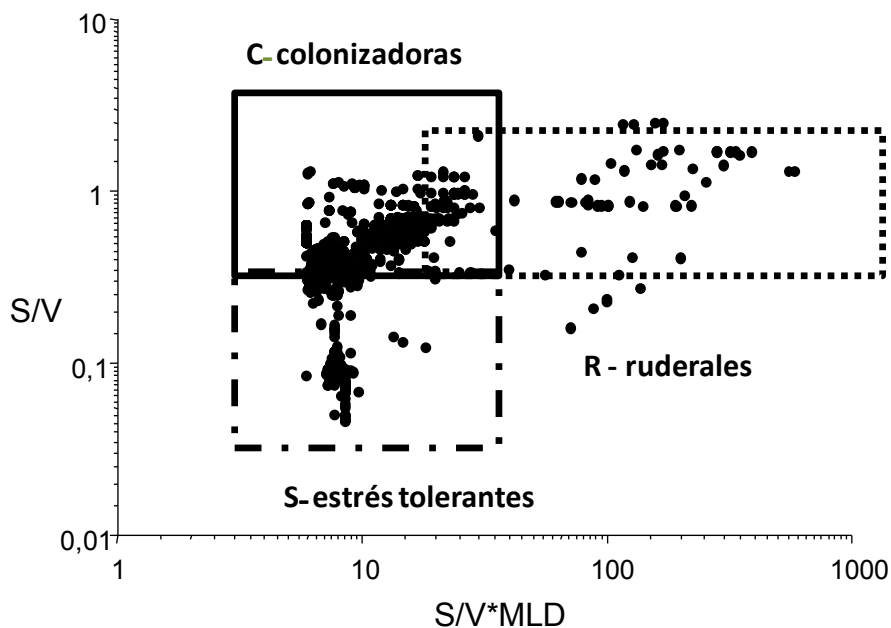
	V ( $\mu\text{m}^3$ )	S ( $\mu\text{m}^2$ )	S/V ( $\mu\text{m}^{-1}$ )	MLD ( $\mu\text{m}$ )
Min	11	23	0,04	5
Mediana	1401	645	0,44	22
Max	$26 \times 10^5$	16396	2,5	510
1er q	847	484	0,33	18
3er q	2548	933	0,62	29
3erq – 1erq	1701	450	0,29	11

Todos los rasgos morfológicos estuvieron correlacionados entre sí (Tabla 5). La relación fue positiva entre el V y la S, así como para MLD con V, y con S. Por otro lado, se observó un patrón contrario con S/V ya que ésta disminuye a medida que aumenta el MLD, S y V (Tabla 5).

**Tabla 5.** Coeficiente de correlación de Spearman ( $r_s$ ) ( $p < 0,05$ ) para cada par de rasgos continuos. Volumen (V), superficie (S), superficie/volumen (S/V) y máxima dimensión lineal (MLD).

Pares de rasgos continuos	$r_s$
V - S	0,92
V - S/V	-0,90
V - MLD	0,51
S - S/V	-0,73
S - MLD	0,69
S/V - MLD	-0,27

Según la clasificación de los organismos en estrategias de vida CSR se encontraron organismos con los tres tipos de estrategia, de tipo C o colonizadora, de tipo R o ruderales y de tipo S ó estrés tolerantes. Los organismos en su mayoría fueron de tipo C o colonizadores (Figura 4).



**Figura 4.** Ordenación morfológica de la organismos fitoplanctónicas del RP según la relación superficie/volumen (S/V) y la máxima dimensión lineal (MLD). Se identifican tres regiones diferentes que corresponden a las tres estrategias de vida C- colonizadora (línea entera), S – estrés tolerante (raya y punto) y R – ruderales (línea punteada) de Reynolds (1988).

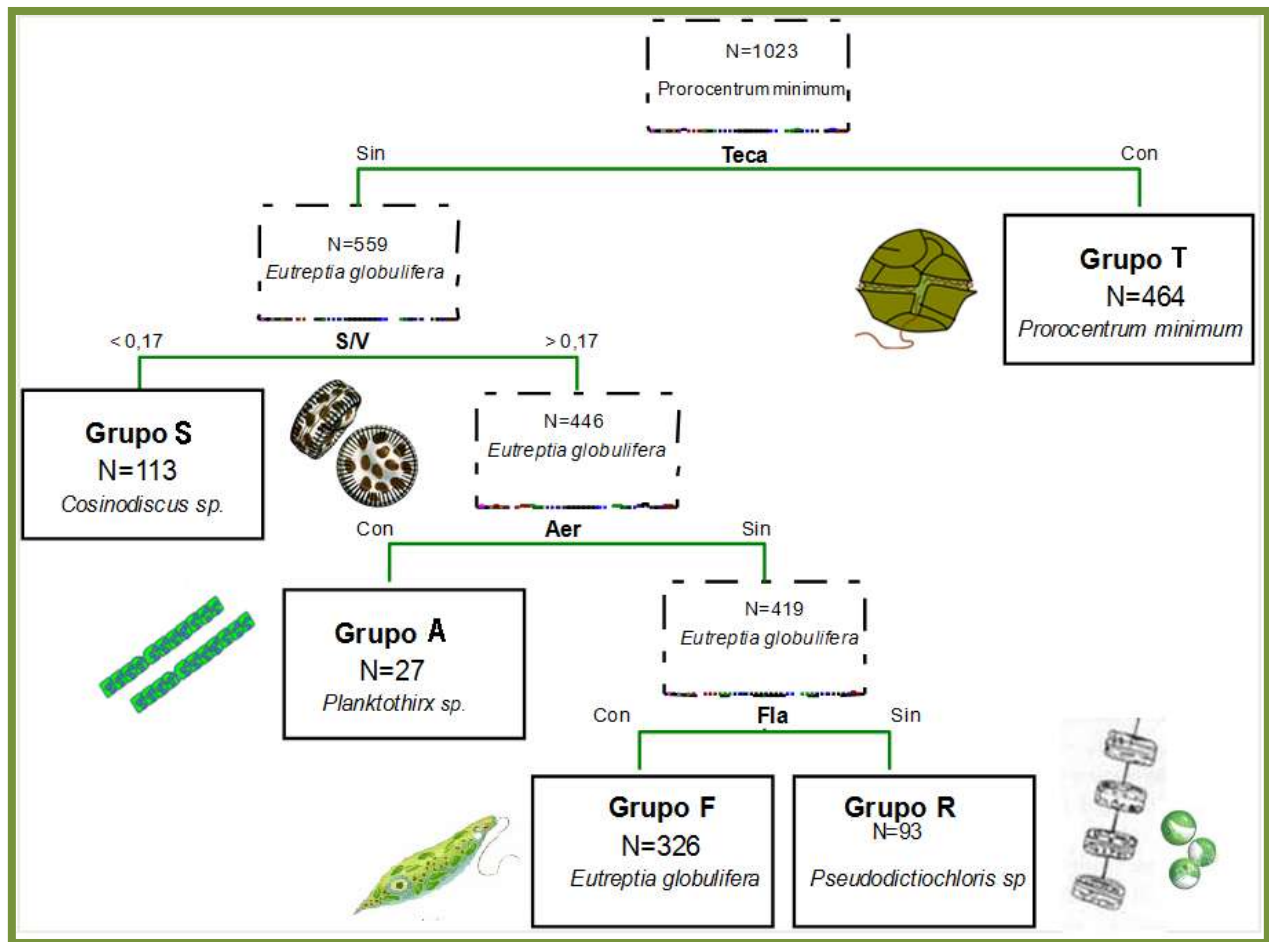
## Construcción de los grupos morfológicos

Se obtuvieron cinco grupos morfológicos (GM) a partir del análisis CART (Figura 5). Los grupos se denominaron T por tecados, S por silíceos, A por aerótopos, F por flagelados y R por restantes. El grupo con menor número de organismos tuvo un total de 27 (A) y el grupo con mayor cantidad estuvo constituido por 464 (T). Tres grupos estuvieron constituidos por individuos de una única clase taxonómica. Estos fueron los grupos T (dinoflagelados tecados), S (diatomeas céntricas) y A (cianobacterias filamentosas). Los grupos F y R estuvieron comprendidos por individuos de cuatro (clorofitas, euglenofitas, dinoflagelados y criptofitas) y tres (cianobacterias, clorofitas y diatomeas) clases taxonómicas respectivamente (Tabla 6).

El grupo T estuvo compuesto enteramente por organismos con teca. Presentó valores medios de S, V, MLD y S/V, pero solo se diferenció significativamente del resto en términos de S/V (Figura 6A). Este grupo estuvo conformado por nueve especies. Todas estas especies fueron dinoflagelados de tamaño medio a pequeño (MLD < 45  $\mu\text{m}$ ) salvo por los individuos del género *Ceratium*, que presentaron mayores tamaños (MLD > 430  $\mu\text{m}$ ). La especie con mayor representación fue el dinoflagelado *Prorocentrum minimum*. Este grupo estuvo presente en todas las estaciones y fue el que más contribuyó a la biomasa total en cinco de éstas (Figura 7) estando correlacionado de manera positiva con la clorofila-a total ( $r_s = 0,71$ ;  $p < 0,05$ ).

El grupo S estuvo constituido por organismos con S/V baja y menor a 0,17. Este grupo presentó mayores valores de S, V y menores valores de S/V, siendo solo éste último rasgo significativamente diferente al resto (Figura 6A, C, D). Este grupo estuvo compuesto solamente por diatomeas céntricas con un diámetro > 50  $\mu\text{m}$ . Sólo fue hallado en el sitio de muestreo de mayor salinidad (estación 4) donde alcanzó la mayor biomasa (Figura 7).

El grupo A estuvo compuesto por organismos de una sola especie, una cianobacteria filamentososa del orden Oscillatorial del género *Planktothrix*. Las características morfológicas que definen al grupo son: ausencia de teca, una S/V > 0,17 y presencia de aerótopos. Fue el grupo con mayor MLD y S/V de todos, aunque sólo este último rasgo tuvo valores significativamente diferentes al resto de los grupos (Figura 6A, B). Solo se observó en uno de los muestreos (estación 3, 11 noviembre) donde alcanzó la mayor biomasa sobre el total (Figura 7).



**Figura 5.** Árbol de clasificación de los organismos fitoplanctónicos del Río de la Plata en base a sus rasgos morfológicos. En línea punteada se ven los nodos no terminales y en línea entera los nodos terminales. Cada nodo terminal corresponde a un grupo morfológico (GM). Dentro de cada nodo terminal se especifica el grupo morfológico (Grupo T, Grupo S, Grupo A, Grupo F y Grupo R), la cantidad de organismos que lo constituyen (N) y el nombre del organismo más representativo del mismo. Al lado de cada nodo terminal se ilustra el morfotipo dominante de cada grupo. En la base de cada ramificación se indica el rasgo utilizado para dividir a los organismos en cada grupo: Teca, S/V, Aer (aerótopo) y Fla (flagelo).

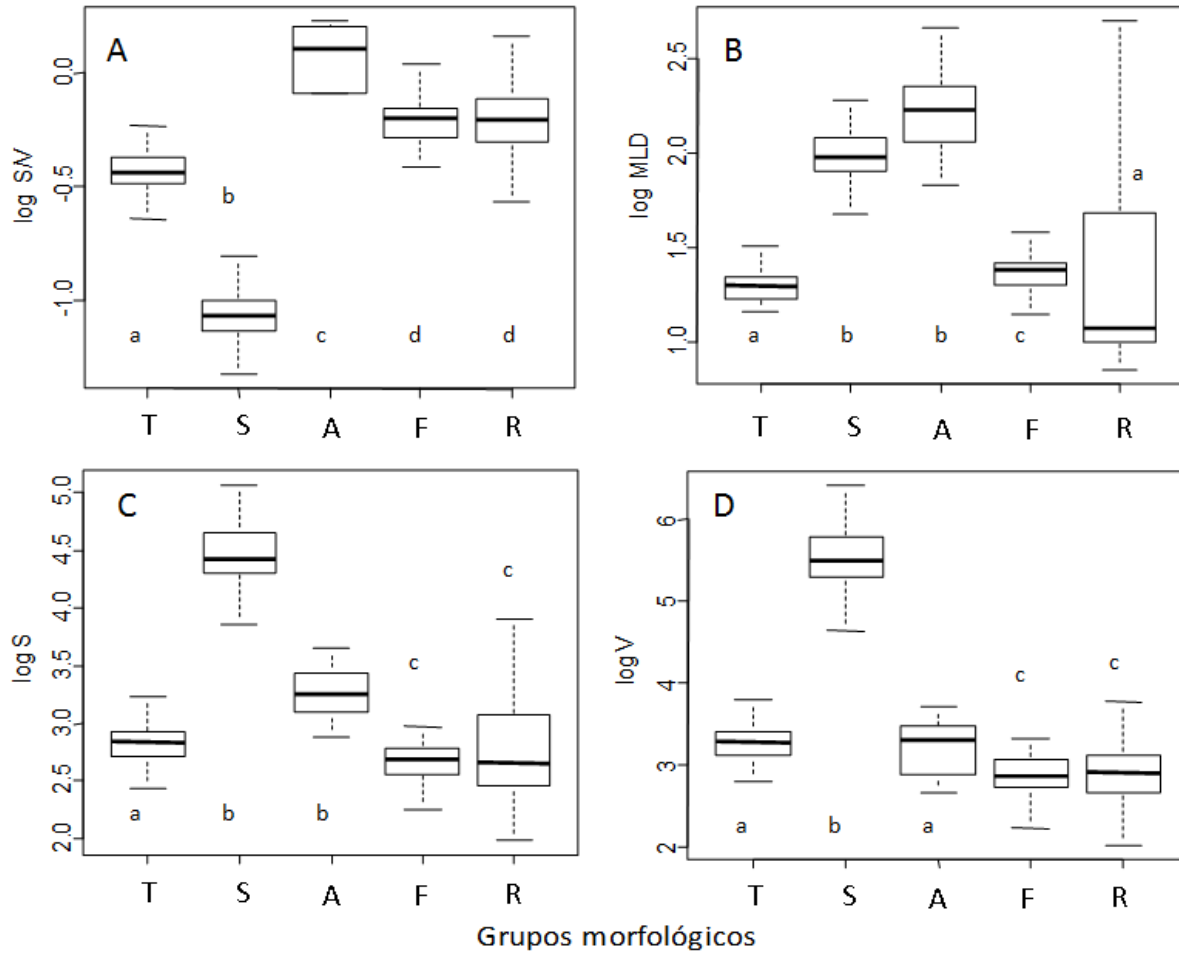
El grupo F estuvo constituido por organismos con flagelo pero sin teca ni aerótopos y con  $S/V > 0,17$ . Incluyó organismos de cuatro clases taxonómicas diferentes; euglenofitas, criptofitas, dinoflagelados y clorofitas, siendo el más diverso desde el punto de vista filogenético. Fue el que presentó menores valores de MLD, S y V, pero solo el MLD fue significativamente diferente al resto (Figura 6B). Este grupo tuvo la mayor biomasa total en seis de los trece muestreos realizados con una salinidad entre 4 y 21 (Figura 7) y estuvo correlacionado positivamente con la clorofila-a total ( $r_s = 0,81$ ;  $p < 0,05$ ). La mayor biomasa de este grupo estuvo representada por una especie de euglenoficea *Eutreptia globulifera*.

**Tabla 6.** Descripción de los cinco grupos morfológicos fitoplanctónicos del Río de la Plata. Se incluye información sobre la pertenencia a los grupos taxonómicos, taxa representativos de cada grupo, medias y los rangos (Min y Max) de las variables continuas: volumen (V), superficie (S), relación superficie/volumen (S/V), dimensión lineal máxima (MLD) y la presencia (1) o ausencia (0) de las variables categóricas: aerótopos (Aer), flagelo (Fla), mucílago (Muc), sílice (Si) y Teca para cada grupo.

Grupo	T	S	A	F	R
<b>Descripción</b>	Tecados	No tecados, S/V < 0,17	No tecados, S/V > 0,17, con Aer	No tecados, S/V > 0,17, sin Aer, Fla	No tecados, S/V > 0,17, sin Aer, sin flagelo
<b>Grupo taxonómico</b>	Dinophyceae	Bacillariophyceae	Cyanophyceae	Clorophyceae, Euglenophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae	Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae
<b>Taxas</b>	<i>Prorocentrum</i> , <i>Heterocapsa</i> , <i>Protoperdinium</i> , <i>Scropsiella</i> , <i>Ceratium</i>	<i>Cosinodiscus</i> , <i>Actynocyclus</i> , <i>Cyclotella</i>	<i>Plankthotrix</i> spp.	<i>Eutreptia</i> , <i>Eutreptiella</i> , <i>Hillea</i> , <i>Gymnodinium</i> , <i>Chlamydomonas</i>	<i>Aulacoseira</i> , <i>Monoraphidium</i> , <i>Thalassiosira</i>
<b>V (<math>\mu\text{m}^3</math>)</b>	<b>3,1x10<sup>3</sup></b> (6,3x10 <sup>2</sup> - 1,2x10 <sup>5</sup> )	<b>5,6x10<sup>5</sup></b> (4,4x10 <sup>4</sup> - 2,6x10 <sup>6</sup> )	<b>2,0x10<sup>3</sup></b> (4,6x10 <sup>2</sup> - 5,2x10 <sup>3</sup> )	<b>8,2x10<sup>2</sup></b> (52 - 2,1x10 <sup>3</sup> )	<b>5,0x10<sup>3</sup></b> (11 - 9,0x10 <sup>4</sup> )
<b>S (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>9,4x10<sup>2</sup></b> (2,7x10 <sup>2</sup> - 2,4x10 <sup>4</sup> )	<b>3,7x10<sup>4</sup></b> (7,3x10 <sup>3</sup> - 1,2x10 <sup>5</sup> )	<b>2,1x10<sup>3</sup></b> (7,6x10 <sup>2</sup> - 4,5x10 <sup>3</sup> )	<b>4,8x10<sup>2</sup></b> (68 - 9,3x10 <sup>2</sup> )	<b>1,8x10<sup>3</sup></b> (23 - 2,4x10 <sup>4</sup> )
<b>S/V (<math>\mu\text{m}^{-1}</math>)</b>	<b>0,38</b> (0,16 - 0,83)	<b>0,09</b> (0,04 - 0,16)	<b>1,2</b> (0,8 - 1,7)	<b>0,67</b> (0,39 - 1,3)	<b>0,73</b> (0,17 - 2,5)
<b>MLD (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>24</b> (14 - 4,5x10 <sup>2</sup> )	<b>1,0x10<sup>2</sup></b> (48 - 1,9x10 <sup>2</sup> )	<b>1,8x10<sup>2</sup></b> (68 - 4,6x10 <sup>2</sup> )	<b>23</b> (5 - 38)	<b>51</b> (7 - 5,1x10 <sup>2</sup> )
<b>Aer</b>	0	0	1	0	0
<b>Fla</b>	1	0	0	1	0
<b>Muc</b>	0	0	1	0	0 -1
<b>Si</b>	0	1	0	0	0 -1
<b>Teca</b>	1	0	0	0	0

El quinto grupo, grupo R, lo constituyeron organismos que no poseen teca, ni aerótopo o flagelo y su S/V es > 0,17. Ninguno de sus rasgos continuos fue significativamente distinto de los demás GM (Figura 6). Es un grupo filogenéticamente diverso que contiene cianobacterias (67%), clorofitas (27%) y diatomeas (5%). También fue un grupo diverso desde el punto de vista morfológico ya que en él se encuentran desde clorofitas unicelulares con un MLD de 10  $\mu\text{m}$  hasta diatomeas céntricas coloniales, del género *Thalassiosira*, con un MLD de 180  $\mu\text{m}$ . Este grupo no alcanzó altas biomásas en ninguna de las estaciones muestreadas.





**Figura 6.** Box-plots de los rasgos morfológicos continuos logaritmizados en base 10 de cada grupo morfológico (T, S, A, F y R), en línea negra gruesa se representa la mediana, con el primer cuartil y tercer cuartil como base y techo de la caja respectivamente. La línea punteada muestra los valores máximos y mínimos de cada grupo. (A)  $\log_{10} S/V$ , (B)  $\log_{10} MLD$ , (C)  $\log_{10} S$ , (D)  $\log_{10} V$ . Todos los rasgos fueron significativamente diferentes considerando la totalidad de los grupos, prueba de Kruskal- Wallis  $p < 0,001$ . Los grupos que presentaron diferencias *post hoc* entre ellos ( $p < 0,05$ ) se detallan con letras diferentes (a,b,c,d).

### Relación de los grupos morfológicos con las variables ambientales

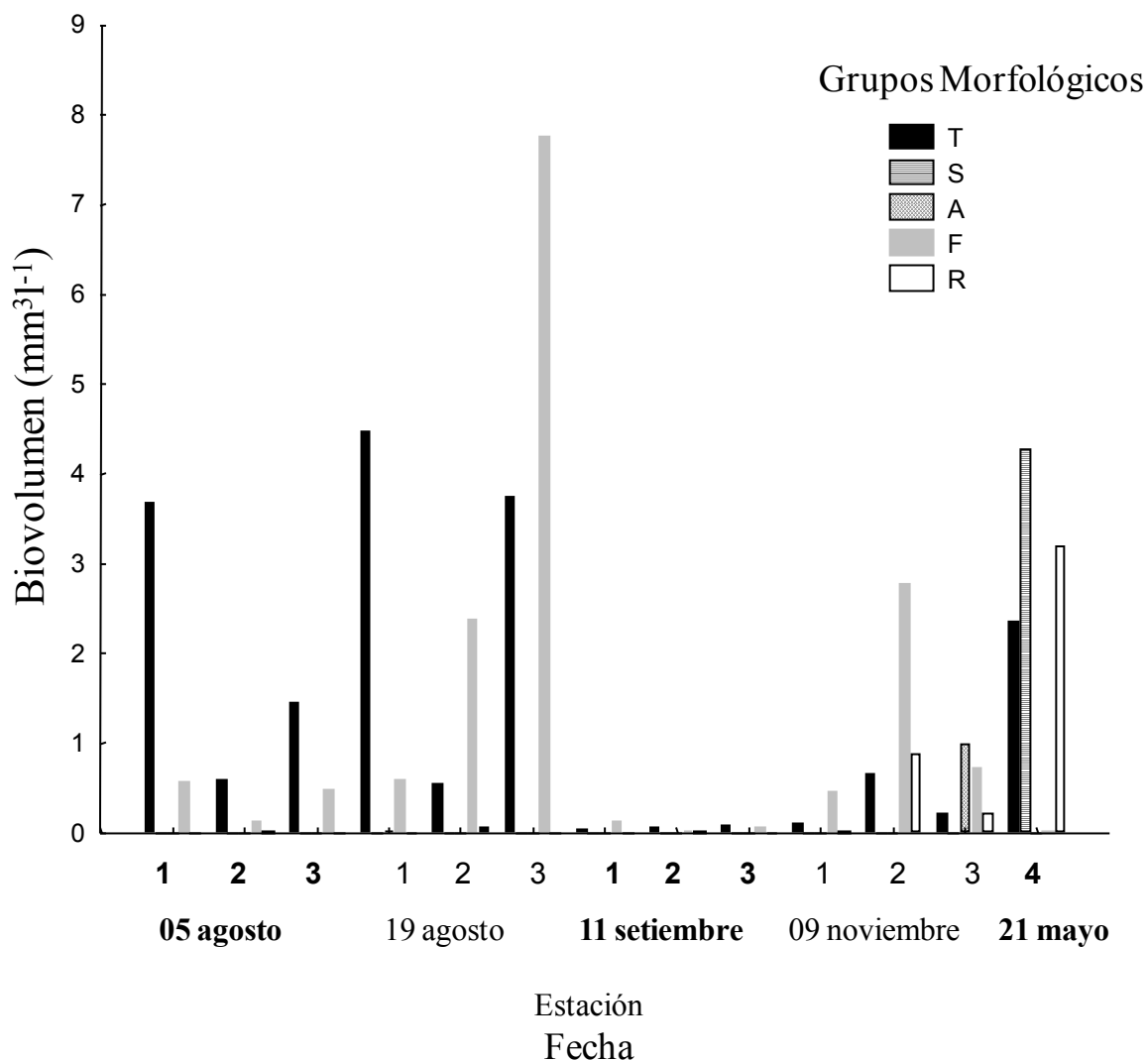
El rango de salinidad fue amplio; de 4,12 a 24,5 no así el de temperatura que varió entre 10,6 °C y 15,8 °C (Tabla 7). Se observó una disminución del Kd con el aumento de la salinidad ( $r_s = -0,75$ ,  $p < 0,005$ ). El valor más bajo de  $PO_4$  fue registrado en las estaciones de mayor salini-

dad (estación 4), pero no se observó una tendencia significativa con la misma. Sin embargo, la salinidad estuvo correlacionada negativamente con las concentraciones de  $\text{NO}_3$  ( $r_s = -0,72$ ,  $p < 0,005$ ) y  $\text{SiO}_3$  ( $r_s = -0,72$ ,  $p < 0,05$ ). El  $\text{NH}_4$  y T no estuvieron relacionados con ninguna de las variables ambientales analizadas. Los valores más altos de clorofila-a total como de biovolumen total fueron registrados en las estaciones de mayor salinidad (Tabla7), pero no se observó una relación negativa entre la clorofila-a total y la salinidad ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 7.** Valores correspondientes a Z= 1m de las principales variables abióticas y bióticas de cada estación (1, 2,3, 4) realizados en el periodo de estudio en el RP. Dentro del paréntesis se detalla las unidades de cada variable. Temperatura (T), coeficiente de atenuación de la luz (Kd), amonio ( $\text{NH}_4$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ), nitrito ( $\text{NO}_2$ ), nitrógeno inorgánico disuelto (NID), fósforo reactivo soluble ( $\text{PO}_4$ ), sílice reactivo ( $\text{SiO}_3$ ), clorofila-a total (Clo-a) y biovolumen total (BV total)

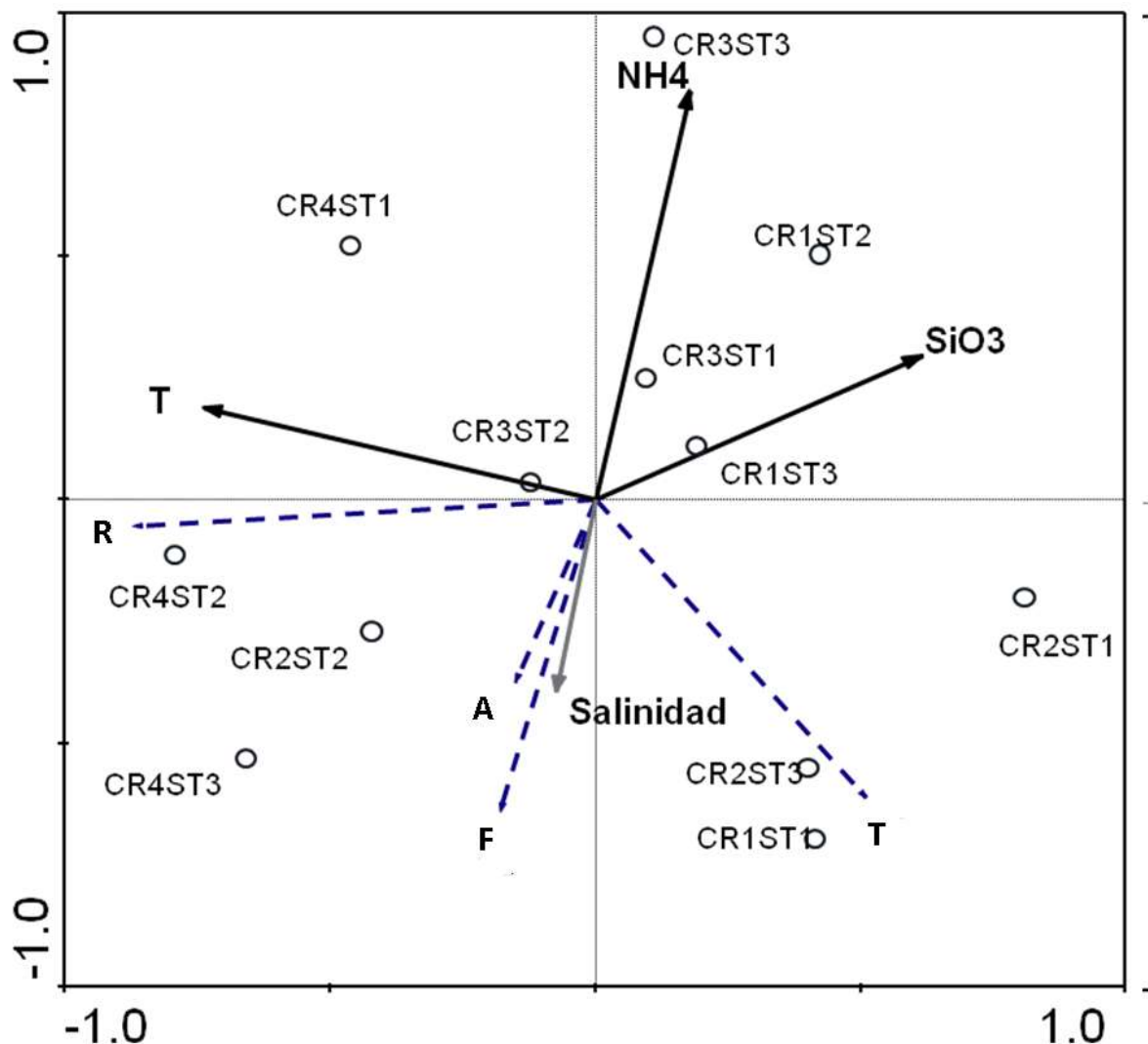
Fecha Estación	05/08/09			19/08/09			11/09/09			09/11/09			21/5/09
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	4
<b>Salinidad</b>	12,3	12,9	21,79	4,63	5,32	5,26	4,12	4,53	3,9	7,5	7,74	16,4	24,5
<b>T (°C)</b>	10,7	10,6	10,72	11,6	11,9	12,3	13,6	13,9	14	15	15	15,2	15,8
<b>Kd m<sup>-1</sup></b>	1,45	1,09	0,45	2,74	1,7	1,77	1,59	1,2	2,2	2,1	1,73	1,95	0,13
<b>NH<sub>4</sub> (µM)</b>	1,66	6,20	4,96	2,16	3,56	0,92	3,23	2,49	5,3	4,2	2,07	0,17	1,2
<b>NO<sub>3</sub> (µM)</b>	6,74	9,16	9,87	15,6	18,5	13,9	15,6	9,52	19	15	9,3	5,31	0
<b>NO<sub>2</sub> (µM)</b>	0,45	0,54	0,52	0,54	0,5	0,56	0,37	0,32	0,5	0,7	0,65	0,54	0,28
<b>NID (µM)</b>	8,85	15,9	15,36	18,3	22,6	15,3	19,2	12,3	25	20	12	6,02	1,48
<b>PRS (µM)</b>	1,58	1,98	2,04	1,18	1,23	1,23	1,13	0,67	1,4	2,5	1,83	0,52	0,83
<b>SiO<sub>3</sub> (µM)</b>	85,7	89,2	67,02	149	27,1	120	123	107	142	90	60,8	76,8	33,61
<b>Clo-a (mg/m<sup>3</sup>)</b>	1,45	1,78	2,03	2,81	2,76	3,73	1,01	0,95	0,6	1,6	1,94	2,77	4,42
<b>BV total (mm<sup>3</sup>/l)</b>	4,3	0,8	2	5,1	3	11,5	0,2	0,1	0,2	0,6	4,3	2,2	9,9

El biovolumen de la estación 4 no correspondió mayoritariamente a ningún grupo particular si no a la suma del biovolumen de los grupos T, S y R (Figura 7). Los grupos T y F fueron frecuentes y dominaron en los todos las estaciones de los muestreos de Agosto, mientras que en las estaciones del 11 de Setiembre (1- 3) se registraron valores muy bajos de biomasa (Figura 7)



**Figura 7.** Biovolumen ( $\text{mm}^3\text{l}^{-1}$ ) de los grupos morfológicos: T, S, A, F y R para cada estación (1, 2, 3, 4) en cada fecha de muestreo (05/08/09, 19/08/09, 11/09/09, 09/11/09, 21/05/09) realizados en el Río de la Plata.

Las variables seleccionadas en los RDA por la significancia de su varianza explicada fueron la T, el  $\text{NH}_4$ , y  $\text{SiO}_3$ . Estas explicaron el 21,6%, 19,7% y 15,9% de la varianza respectivamente (Figura 8). No fue seleccionada la variable salinidad como significativa para explicar la varianza del biovolumen de los grupos. Sin embargo, esta variable fue incluida en el diagrama triplot por haber estado correlacionada con muchas otras variables ambientales, entre ellas el  $\text{SiO}_3$ .



**Figura 8.** Diagrama de ordenación triplot del RDA. Se muestran las variables ambientales seleccionadas: T,  $\text{NH}_4$  y  $\text{SiO}_3$  en líneas enteras negras, la variable suplementaria: Salinidad en línea entera gris, las estaciones (ST1, ST2, ST3) de cada fecha de muestreo: 05/08 (CR1), 19/08 (CR2), 11/09 (CR3), 09/11 (CR4) en puntos y los grupos: T, S, F, R de fitoplancton en líneas punteadas durante el periodo analizado en el Río de la Plata.

En total, un 57,2% de la varianza fue explicada por las tres variables ambientales seleccionadas ( $F = 3,56$ ,  $p = 0,002$ ). Los valores de  $p$ ,  $F$  y la significancia del primer eje (EV) para la prueba de Monte Carlo fueron: 0,034; 2,76 y 0,22 para la temperatura (T), 0,02; 3,01; 0,197 para el  $\text{SiO}_3$  y 0,042; 2,96 y 0,16 para el  $\text{NH}_4$ , respectivamente. Las estaciones del muestreo del 09 de noviembre (CR4) estuvieron asociadas a alta T, mientras que las del 19 de agosto (CR2) estuvieron asociadas a baja concentración de  $\text{NH}_4$  y  $\text{SiO}_3$  y alta salinidad. Las estaciones del 05 de agosto (CR1) y 11 de setiembre (CR3) estuvieron distribuidas en un gradiente de T,  $\text{NH}_4$  y  $\text{SiO}_3$ .

Los grupos A y F estuvieron asociados a bajas concentraciones de  $\text{NH}_4$  y  $\text{SiO}_3$  y alta salinidad. Por otro lado, el grupo R estuvo asociado a alta T y baja concentración de  $\text{SiO}_3$  mientras que el T a baja T y alta salinidad. La salinidad, aunque no significativa, estuvo asociada positivamente con todos los grupos excepto el R. Altas biomásas del grupo T estuvo asociado a la estación 1 del 19 de agosto (CR2), estación 3 del 11 de setiembre (CR3) y estación 1 del 5 de agosto (CR1), mientras que alta biomasa del resto de los grupos (C, R y F) estuvieron asociadas a las estaciones 2 y 3 del 09 de noviembre (CR4) y 2 del 19 de agosto (CR2).

## Discusión

La comunidad fitoplanctónica del Río de la Plata ha sido pocas veces estudiada desde una perspectiva morfológica (Ferrari 2008, Gomez *et al.* 2002). La innovación de este trabajo es crear una clasificación morfo-funcional para fitoplancton en sistemas estuarinos. Este es el único trabajo hasta el momento que utiliza únicamente rasgos funcionales, morfológicos continuos y categóricos, para clasificar a los organismos del Río de la Plata. A la vez, existen pocos trabajos a nivel internacional en esta temática en estuarios (Costa *et al.* 2009). También se utilizó una estrategia novedosa de análisis estadístico (CART) para construir los grupos morfológicos de fitoplancton en base a criterios sustentados estadísticamente. Esta metodología presenta varias ventajas como son; el ser una análisis no paramétrico, no precisar que las variables explicativas sean seleccionadas *a priori* y que sus resultados son invariantes a la transformación de las variables explicativas, entre otras ventajas (Timofeev 2004). Sin embargo también presenta una serie de limitaciones a tener en cuenta. Por ejemplo, el método crea árboles de decisión inestables, esto es, pequeñas modificaciones en la muestra original puede provocar grandes cambios en los grupos creados (Timofeev 2004). También se comenzó la validación de los grupos morfológicos ya que se evaluó la relación de éstos con las variables ambientales y se determinaron las variables estadísticamente significativas en explicar su biomasa.

## Rasgos morfológicos dominantes en la comunidad fitoplanctónica del RP

El nivel de organización dominante fue unicelular y los rasgos dominantes fueron el flagelo y volumen medio, ya que el 75% de los organismos tuvieron un MLD < 30  $\mu\text{m}$ . El flagelo es una estructura presente en muchos taxa no necesariamente emparentados ocurriendo en las clases Dinophyceae, Euglenophyceae, Chlorophyceae y Cryptophyceae registradas en este trabajo. Una gran ventaja es que permite la movilidad de los organismos hacia lugares más o menos iluminados (Figueroa *et al.* 1998) o con mayor concentración de nutrientes (migración vertical diaria) (Cullen 1985, Villarino *et al.* 1995, Smayda 1997). El pequeño tamaño asociado al nivel unicelular les permite la rápida captación de nutrientes a través de su alta superficie por unidad de volumen (Smith & Kalff 1981). Nuestros resultados concuerdan con lo hallado por Gómez *et al.* (2002) en donde el tamaño dominante del fitoplancton en todas las zonas del RP estuvo comprendido entre los 5  $\mu\text{m}$  y 50  $\mu\text{m}$ , incrementando su abundancia desde la zona más interna del Río hacia su desembocadura. También concuerda con lo encontrado por Ferrari & Perez (2002) para la zona costera uruguaya y Ferrari (2008) para la zona exterior del RP, donde el morfotipo dominante fue, en todos los casos, fitoflagelado unicelular y nanoplanctónico. Sin embargo, otros autores encontraron variantes como es el caso de Ferrari & Vidal (2006) a partir de una exhaustiva recopilación bibliográfica establecieron que los organismos dominantes en el período invierno-primavera en la zona intermedia del RP (mixohalina) son además de los organismos unicelulares y flagelados, las diatomeas céntricas unicelulares o en cadenas. Asimismo, Calliari *et al.* (2005) encontraron una predominancia de formas filamentosas en la zona interna del RP, mientras que la zona exterior del estuario estuvo dominada por unicelulares flagelados y cadenas de diatomeas. Por todo lo expuesto anteriormente se puede decir que la dominancia de la zona exterior costera del RP por fitoflagelados unicelulares nanoplanctónicos es un patrón recurrente. Esto concuerda con trabajos realizados en otros ecosistemas que indican que los fitoflagelados nanoplanctónicos suelen dominar la comunidad fitoplanctónica de la plataforma continental junto con las diatomeas solitarias o en cadena (Falkowski & Knoll 2007). Sin embargo, esta morfología no es la mayoritaria en el océano abierto oligotrófico donde predominan organismos picoplanctónicos no flagelados (Reynolds 2006).

A partir de la clasificación morfológica también se pudo discernir cuáles de los rasgos morfológicos fueron importantes para separar y caracterizar a los grupos, más allá de su predominancia en el ecosistema. Aunque no fueron dominantes la teca y los aerótopos éstos

quedaron seleccionados como rasgos relevantes para separar los grupos. La teca o anfisema, está formada por placas de origen orgánico con alto contenido en celulosa. Estas placas se forman en vesículas que yacen debajo de la membrana plasmática y que en conjunto forman la cobertura celular de los organismos (Graham & Wilcox 2000, Tomas 1997). Le confieren resistencia y protección a la célula (Lau *et al.* 2007). Los aerótopos o vesículas de gas son estructuras cilíndricas proteicas, huecas pero rígidas, que están ubicadas en el citoplasma de algunas especies de cianobacterias y les permiten regular la posición vertical en la columna de agua, mediante el llenado de gas de estas estructuras (Reynolds *et al.* 1987, Oliver & Ganf 2000, Reynolds 2007,). Dentro de las ventajas fisiológicas que confiere tener aerótopos están; el acceso a las capas superficiales más iluminadas y a las capas más profundas, ricas en nutrientes, sobre todo en aguas que están verticalmente estratificadas (Oliver & Ganf 2000). Sin embargo, este no sería un rasgo exitoso en el Río de la Plata dada la baja frecuencia de ocurrencia en los organismos. El único rasgo continuo que fue incluido en el análisis fue la relación S/V. Debido a la alta correlación con el resto de los rasgos continuos no sería necesario conocer todos los rasgos continuos de los organismos ya que el S/V resumiría la información necesaria para separar y caracterizar a los grupos. La relación S/V afecta la adquisición de luz y nutrientes así como la liberación de los productos de desecho y el intercambio de calor que un organismo genera (Fogg 1965, Lewis 1976, Naselli-Flores *et al.* 2007). Altos valores de S/V son frecuentes en organismos pequeños (Lewis 1976; Reynolds 1988) y son generalmente asociados a un mayor flujo de nutrientes por unidad de volumen (Smith & Kalff 1981). Asimismo aumentan la eficiencia fotosintética por unidad de volumen (Geider *et al.* 1986) y una alta tasa de crecimiento (Reynolds 1988, Kruk *et al.* 2010).

A partir de los histogramas de distribución de los rasgos continuos se observó bimodalidad. Este patrón ya ha sido observado para organismos fitoplanctónicos de la laguna de Rocha (Segura *et al.* 2011). En el trabajo de Segura *et al.* (2011) se observó que, tomando al log V como un eje del nicho, la coexistencia de especies dentro de un máximo o pico podría estar explicada por la equivalencia funcional de las especies (Abrams 1987), mientras que la coexistencia de especies entre máximos o picos podría estar dada por el uso diferencial de los recursos (Cheesson 2000, Vergnon *et al.* 2009, Segura *et al.* 2011). Estos mecanismos que explican la coexistencia de especies en la Laguna de Rocha también podrían explicar el mismo patrón observado para el fitoplancton del Río de la Plata.

## **Grupos morfológicos fitoplanctónicos del RP**

A partir del análisis CART se crearon cinco grupos morfológicos, dos de los cinco grupos (F y R) incluyen organismos pertenecientes a más de una clase taxonómica. Las distintas clases taxonómicas representadas en los grupos no fueron exclusivas de ningún grupo en particular ya que una misma clase estuvo representada en más de un grupo morfológico. Por lo tanto, no hay concordancia entre los grupos morfológicos construidos y los grupos taxonómicos. La presente clasificación tiene diferencias con aquella de Kruk *et al.* (2010) para el fitoplancton límnic, ya que los grupos T y F corresponderían al grupo V de Kruk *et al.* (2010), y algunos organismos del grupo R, así como todos los del grupo S estarían clasificados como grupo VI. Una de las razones de dicha discrepancia es debido a que en éste análisis se tomaron en cuenta rasgos morfológicos como la teca, no considerada por Kruk *et al.* 2010, y por el contrario rasgos como el sílice no fueron seleccionados por el análisis para definir ningún grupo. Sin embargo, el grupo A de esta clasificación si fue comparable al grupo III de Kruk *et al.* 2010, en el sentido que ambos están definidos por poseer aerótopos. Los GM creados concuerdan parcialmente con Le Quéré *et al.* (2005) para fitoplancton marino, ya que hay grupos que están comprendidos en el grupo “Fitoplancton silicificador” (grupo S) y otros en el “Fitoplancton mixto” (grupo F y T), sin embargo el grupo A no está considerado en la clasificación por no estar constituido por organismos marinos, y algunos organismos del grupo R entran en el grupo “Fitoplancton silicificador” mientras que otros organismos no entran en ningún grupo. Por lo tanto los grupos creados no concordaron con ninguna otra clasificación preexistente.

### **Grupo T: tecados**

El grupo T agrupó del nano al microplancton con teca y flagelo, principalmente de la clase Dinophyceae. La posesión de flagelo les confiere las ventajas anteriormente mencionadas sobre sus competidores. La teca les confiere protección mecánica a los organismos que la poseen (Lau *et al.* 2007). Sin embargo, los pocos trabajos sobre el significado ecológico de la teca y el hecho de que se considera a los dinoflagelados desnudos como un grupo derivado de los tecados (Goodman 1987) deja abierta la discusión sobre su importancia en la adecuación biológica de los organismos que la poseen. Es muy común en este grupo la capacidad de enquistarse (Olli *et al.*



1996) y ser mixótrofos (Smayda 1997, Stoecker 2007) lo que les da una gran ventaja para persistir en condiciones ambientales adversas. Algunos de los integrantes de este grupo pueden causar floraciones bajo determinadas condiciones ambientales (Hallegraeff *et al.* 2003). Clásicamente se atribuía condiciones de baja turbulencia y alta concentración de nutrientes para que florezcan los dinoflagelados (Margalef *et al.* 1979), sin embargo se vio que pueden generar floraciones bajo muy diversas condiciones ambientales (Smayda & Reynolds 2001). Algunos de los organismos que causan floraciones son potencialmente tóxicos, tal es el caso de *Dinophysis acuminata* y *Prorocentrum minimum* (Hallegraeff *et al.* 2003, Smayda 1997). Muchos son muy comunes en las aguas costeras, producen hepatotoxinas y han sido responsables de varias muertes humanas por el consumo de bivalvos contaminados (Nakazima 1965, Steidinger & Tangen 1996).

### **Grupo S: silíceos**

Este grupo incluyó organismos sin teca, con una relación S/V baja y de mayor tamaño celular. Estuvo constituido exclusivamente por diatomeas unicelulares del orden Centrales. La posesión de un esqueleto silíceo y la carencia de motilidad los hace un grupo con alta tasa de hundimiento (Kruk *et al.* 2010). Debido a esto, son favorecidos en ambientes turbulentos donde pueden resuspenderse y permanecer en la zona eufótica por más tiempo. Las diatomeas intervienen en el ciclo biogeoquímico del sílice ya que requieren de sílice para su crecimiento y al morir sus frústulos constituyen un aporte de sílice inorgánico al sistema (Le quére *et al.* 2005). Los individuos de éste grupo son comunes en aguas costeras poco profundas y en surgencias de bajas y medias latitudes (Reynolds 2006). Son organismos que si bien pueden alcanzar grandes biomásas en general no significan una amenaza para los usos de los sistemas acuáticos ni para el hombre (Reynolds 2006).

### **Grupo A: aerótopos**

En este grupo se encontraron los organismos con aerótopos y una relación S/V alta, principalmente cianobacterias filamentosas. La posesión de aerótopos y alta relación S/V (por su forma filamentosas), les confiere una gran resistencia al hundimiento y el fácil acceso a la luz y

nutrientes (Ferber *et al.* 2004, Kruk *et al.* 2010). Por otro lado, el gran tamaño y la potencial capacidad para producir toxinas puede hacerlos resistentes a la depredación (Dow & Swoboda 2000). Es un grupo que causa floraciones potencialmente tóxicas y aunque se han registrado casi exclusivamente en ambientes límnicos, existen registros para sistemas salobres (Chomérat *et al.* 2007). No se considera un grupo problemático en el ambiente marino salvo por algunas excepciones como *Trichodesmium erythraeum*, que no es tóxica pero la alta biomasa que alcanza puede producir mortalidad de peces (Hallegraeff *et al.* 2003, Reynolds 2006), y *Nodularia spumigena* que es tóxica y puede producir floraciones en ambientes costeros y marinos (Hallegraeff *et al.* 2003, Mazur & Plinski 2002, Pérez *et al.* 1999).

### **Grupo F: flagelados**

Este grupo se caracterizó por tener flagelo, volumen pequeño a medio y una S/V alta. Dentro de este grupo se hallan organismos de cuatro clases taxonómicas diferentes. Todos fueron de modo de vida unicelular, pero a diferencia del Grupo T sin poseer teca. La relación S/V alta los hace buenos en la adquisición de nutrientes y luz a través de una mayor área de intercambio en comparación con su tamaño (Morabito *et al.* 2007). Además, la presencia de flagelo les confiere las ventajas ya antes mencionadas. Sin embargo, el pequeño tamaño los hace susceptibles a las pérdidas por depredación (Smayda 1997). Muchos de éstos organismos se distribuyen en ambientes costeros y su presencia ha sido asociada a alta contaminación orgánica en el ambiente (Jeffrey *et al.* 1997). También pueden formar floraciones y debido a esto han causado problemas a la industria pesquera y el turismo (Olli *et al.* 1996, Lee *et al.* 2000, Bravo-Sierra 2004). Este es un grupo comparable al grupo Tipo I para dinoflagelados marinos de Smayda & Reynolds (2001) tanto en la morfología de los organismos que lo componen como por el hecho de que ambos grupos son característicos de habitar aguas costeras enriquecidas por nutrientes.

### **Grupo R: restantes**

Se caracterizó por no poseer ninguno de los atributos por los que fueron separados los grupos anteriores (teca, flagelo, aerótopos) y tener S/V alta. Fue el grupo más diverso en cuanto a

rasgos ya que en él encontramos organismos con mucílago, y sílice. Asimismo incluyó desde clorofitas unicelulares y con un MLD de 10  $\mu\text{m}$  hasta diatomeas céntricas coloniales con un MLD de 180  $\mu\text{m}$  (ej. *Thalassionema sp.* y *Thalassiosira sp.*). Dado que este grupo no fue significativamente distinto en ninguno de los rasgos morfológicos y no alcanzó altas biomásas en ninguna de las estaciones, se espera que al aumentar el rango salino de las muestras las especies que componen este grupo se reorganicen en otros.

## **Relación de los grupos morfológicos con las variables ambientales**

La salinidad es una variable clave en un estuario (Nagy *et al.* 1998). Esto es debido a que el propio gradiente salino determina gradientes ambientales opuestos de luz y nutrientes. La zona más interna por lo general es más turbia y con mayor sólidos en suspensión (y nutrientes) que la externa. Esto es debido a que con el aumento de la salinidad aumenta la fuerza iónica del agua haciendo que las partículas en suspensión floculen y sedimenten. Debido a la menor suspensión de partículas en el agua la disponibilidad de luz incrementa. Es por esto que las zonas más externas de un estuario se caracterizan por contener mayor disponibilidad de luz y menor concentración de nutrientes (Calliari *et al.* 2005, Sharp *et al.* 1984).

Sin embargo, las características morfológicas (Fla, S/V alta y unicelular) de los grupos dominantes (F y T) en la zona exterior del RP concuerdan con las de organismos de tipo C o colonizadores (Reynolds 1988) y con los dinoflagelados Tipo I y II en la clasificación de Smayda & Reynolds (2001). Según esta clasificación los organismos con estas características están adaptados a vivir en ambientes con altos nutrientes y disponibilidad de luz. Por lo tanto, si nos guiamos solo por la morfología dominante lo que puede estar sucediendo es que el sitio muestreado corresponda al frente fértil luego del frente de turbidez donde la disponibilidad de luz y nutrientes no constituyen un límite para el crecimiento fitoplanctónico (Calliari *et al.* 2005). Sin embargo, según el análisis RDA todos los grupos estuvieron asociados negativamente a los nutrientes  $\text{NH}_4$  y  $\text{SiO}_3$ . Esto no es esperable para su morfología debido a que estos dominan en aguas con elevadas concentración de nutrientes. No fueron considerados el resto de los grupos en esta parte de la discusión debido a no estar incluido en el análisis RDA (S) o estar representado con muy baja biomasa en el estudio (A) o no ser significativamente diferente del resto de los grupos en los rasgos morfológicos (R). El grupo T, que fue uno de los más representados en

términos de biomasa, estuvo asociado a bajas temperaturas debido a que la mayor biomasa la alcanzó en los muestreos de invierno y primavera. Esto implica que este grupo es capaz de sobrevivir y proliferar en ambientes templados cuando la temperatura del agua llega a los 10°C.

## **Conclusiones**

Este trabajo aporta nueva información sobre la comunidad fitoplanctónica del Río de la Plata, así como una herramienta metodológica innovadora que permite analizar a la comunidad desde un punto de vista que se desliga de lo netamente taxonómico y se relaciona con la adecuación biológica de los organismos pudiendo reflejar los procesos ecológicos en que estos individuos están involucrados.

## **Perspectivas**

Se propone ampliar el rango de muestras en el RP para tener un mayor registro de los organismos que se encuentran en este ambiente. Dado que es un sistema muy heterogéneo, se espera que aparezcan nuevas especies conforme nos movemos en el gradiente salino y que como consecuencia los grupos puedan sufrir modificaciones. Por ejemplo, si se agregan más estaciones en donde aparecen nuevas especies de diatomeas quizá el rasgo sílice cobre más importancia en el análisis y sea tomado en cuenta por éste. Sería deseable construir una nueva clasificación con un tamaño de muestra mayor para saber si los rasgos seleccionados en la clasificación son los mismos y por lo tanto los grupos morfológicos se conservan. Una vez validada la clasificación, se podría hacer una caracterización fisiológica de los grupos con tasas de crecimiento, hundimiento, adquisición de nutrientes, entre otras. Luego se puede analizar la predictibilidad de los grupos para luego usarlos en modelos matemáticos como herramienta para predecir floraciones u otros procesos ecológicos relevantes para el fitoplancton.

## Bibliografía

- Abrams, P. 1987 Alternative models of character displacement and niche shift. I. Adaptive shifts in resource use when there is competition for nutritionally nonsubstitutable resources. *Evolution* 41, 651–661.
- Agusti S. 1991. Allometric scaling of light absorption and scattering by phytoplankton cells. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48: 763-767.
- Anderson D, Gilbert P, Burkholder JM. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient source, composition, and consequences. *Estuaries* 25: 704-726.
- Balech E. 1985. The genus *Alexandrium* or *Gonyaulax* of the tamarensis group. . Pages 33-38 in White A, Banden, eds. *Toxic Dinoflagellates*. North Holland: Elsevier.
- Balech E. 1995. The genus *Alexandrium* halim (Dinoflagellata). Marine Station, Ireland: Sherkin Island.
- Bianchi T. 2007. Biogeochemistry of estuaries. Department of Oceanography, Texas A&M University: Oxford University Press.
- Bonilla S. 2002. Estructura y productividad de la comunidad de microalgas del ambiente pelágico en la Laguna de Rocha. Tesis de Doctorado. PEDECIBA-Biología, Facultad de Ciencias, Montevideo.
- Boschi E. 1989. El ecosistema estuarial del Río de la Plata. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero Mar del Plata: 1 - 5.
- Bowler C, Karl D, Colwell R. 2009. Microbial oceanography in a sea of opportunity. *Nature* 459: 180-184.
- Bravo-Sierra E. 2004. Fitoflagelados potencialmente tóxicos y nocivos de costas del Pacífico mexicano. *Revista de Biología Tropical* 52: 5-16.
- Breiman E, Friedman F, Olshen T, Stone. 1984. *Classification and Regression Trees*. Belmont, California: Wadsworth International.
- Burone F, Bayssé C. 1984. Diatomeas de la Bahía de Maldonado (Uruguay). I. Lithodesmiaceae y Eupodisceae. Montevideo: Contribuciones del Departamento de Oceanografía (F.H.C). Report no.
- Calliari D, Gomez M, Gomez N. 2005. Biomass and composition of the phytoplankton in the Río de la Plata: large-scale distribution and relationship with environmental variables during a spring cruise. *Continental Shelf Research* 25: 197 - 210.
- Calliari D, Defeo O, Cerveto O, Gomez M, Gimenez L, Scarabino F, Brazeiro A, Norbis W. 2003. Marine life of Uruguay: critical updates and priorities for future research. *Gayana* 67: 341-370.
- Carbonell J, Pascual A. 1925. Una *Melosira* nueva para el Río de la Plata. *Physis* 8: 106-107.
- Microcystis aeruginosa* CARP-SHIN-SOMA. 1990. Fitoplancton del Río de la Plata: Biomasa y composición. Pages 372-400. Estudio para la Evaluación de la Contaminación en el Río de la Plata, Informe de Avance, vol. 1.
- Chesson, P. 2000 Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31: 343–366.
- Cloern J. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223–253.
- Costa L, Huszar V, Ovalle A. 2009. Phytoplankton Functional Groups in a Tropical Estuary: Hydrological Control and Nutrient Limitation. *Estuaries and Coasts* 32: 508-521.
- Cullen J. 1985. Diel vertical migration by dinoflagellates: roles of carbohydrate metabolism and behavioral flexibility. *Contribution in Marine Science* 27: 135-152.

- Chomérat N, Garnier R, Bertrand C, Cazaubon A. 2007. Seasonal succession of cyanoprokaryotes in a hypereutrophic oligo-mesohaline lagoon from the South of France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72, : 591-602.
- Day J, Hall C, Kemp M, Yañez-Arabancibia A. 1989. *Estuarine Ecology*. USA: Wiley-Interscience publication.
- De León L, Yunes J. 2001. First report of a toxic bloom in La Plata River. *Environmental Toxicology and Water Quality* 16: 110-112.
- Dokulil & Teubner (2003). Steady-state phytoplankton assemblages during thermal stratification in deep alpine lakes: do they occur? *Hydrobiologia*, 502, 65–72.
- Dow C, Swoboda U. 2000. Cyanotoxins. Pages 613-632 in Whitton BA, Potts M, eds. *Ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*. The Netherlands.
- Falkowski P. 2001. Biogeochemical cycles. *Encyclopedia of Biodiversity*. S.A. Levin, ed. San Diego, Academic Press, pp. 437–453.
- Falkowski P, Katz M, Knoll A, Quigg A, Raven J, Schofield O, Taylor F. 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305: 354-360.
- Falkowski P, Knoll A. 2007. *Evolution of primary producers in the sea*. London: Elsevier Academic Press.
- Ferber L, Levine S, Lini A, Livingston G. 2004. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? *Freshwater Biology* 49: 690-708.
- Ferrari G. 2008. *Fitoplancton del estuario del Río de la Plata y frente oceánico* Facultad de Ciencias Universidad de la República, Uruguay.
- Ferrari G, Mendez S. 2000. Report of phytoplankton species producing coastal water discoloration in Uruguay. *Iheringia Série Botânica* 54: 3-18.
- Ferrari G, Pérez M. 2002. Fitoplancton de la costa platense y atlántica de Uruguay, 1993-1994. *Iheringia Série Botânica* 57: 263-278.
- Ferrari G, Vidal L. 2006. Fitoplancton de la zona costera uruguaya: Río de la Plata y Océano Atlántico. Pages 45-56 in Menafrá R, Rodríguez-Gallego L, Scarabino F, Conde D, eds. *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. Uruguay: Vida Silvestre.
- Field C, Behrenfeld M, Randerson J, Falkowski P. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237-240.
- Figueroa F, Niell F, Figueiras F, Villarino M. 1998. Diel migration of phytoplankton and spectral light field in the Ría de Vigo (NW Spain). *Marine Biology* 130: 491-499.
- Finkel Z. 2001. Light absorption and size scaling of light-limited metabolism in marine diatoms. *Limnology & Oceanography* 46: 86-94.
- Fogg G. 1965. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. Madison: The University of Wisconsin Press.
- Geider R, Platt T, Raven J. 1986. Size dependence of growth and photosynthesis in diatoms: A synthesis. *Marine Ecology Progress Series* 30.
- Gleason H. 1926. The individualistic concept of the plant association. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 53: 7-26.
- Gómez-Erache M, De León L. 2000. Binomio Habitat-Fauna. Invertebrados acuáticos: Plancton. Pages 6–14. in Laborde L, Perdomo J, eds. *Diagnóstico Ambiental y Socio-Demográfico de la Zona Costera Uruguaya del Río de la Plata*. Proyecto EcoPlata., vol. 2.
- Gomez M, Rodrigues A, Sierra M, Cortelezzi A, Hualde P, Paggi C, Bauer D, Tangorra M, Licursi M. 2002. *Fitoplancton y Bentos de la campaña de Prospección Ambiental del Río de la Plata*. Proyecto RLA/99/631 Convenio PNUD/GEF-ILPLA (FCNyM-UNLP).
- Goodman D. 1987. Dinoflagellate cysts in ancient and modern sediments. Pages 785 in Taylor F, ed. *The biology of dinoflagellates*. British Columbia: Blackwell Scientific publications.

- Graham L, Wilcox L. 2000. *Algae*. Upper Saddle River: Prentice-Hall.
- Grime J. 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* 3: 1169 -1194.
- Guerrero R, Acha E, Framiñan M, Lasta C. 1997. Physical oceanography of the Rio de la Plata Estuary, Argentina. *Continental Shelf Research* 17: 727 - 742.
- Hallegraeff G, Anderson D, Cembella A. 2003. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. France: Unesco publishing.
- Hammer O, Harper D, Ryan P. 2001. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis: *Paleontologia Electrónica* 4(1):9 pp.
- Hillebrand H, Dürselen C, Kirschtel D, Zohary T, Pollinger U. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424.
- Howarth R. 1998. An assessment of human influences on inputs of nitrogen to the estuaries and continental shelves of the North Atlantic Ocean. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 52: 213-223.
- Iglesias-Rodríguez D, Brown C, Scott C, Doney C, Kleypas J, Kolber D, Kolber Z, Hayes P, Falkowski P. 2002. Representing key phytoplankton functional groups in ocean carbon cycle models: Coccolithophorids. *Global biogeochemical cycles* 16 1100.
- Jeffrey S, Mantoura R, Wright S, eds. 1997. *Phytoplankton pigments in oceanography* Paris: SCOR UNESCO.
- Joint I, Pomory A. 1988. Allometric estimation of the productivity of phytoplankton assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 47: 161-168.
- Koroleff F. 1970. Direct determination of ammonia in natural water as indophenol-blue. Pages 19-22. *International Conference in the Exploration of the Sea. C.M. 1969/C9. ICES. Information on techniques and methods for sea water analysis.: Interlaboratory Reports.*
- Kruk C, Mazzeo N, Lacerot G, Reynolds C. 2002. Classification schemes for phytoplankton: a local validation of a functional approach to the analysis of species temporal replacement. *Journal of Plankton Research* 24: 901-912.
- Kruk C, Huszar V, Peeters E, Bonilla S, Costa L, Lurling M, Reynolds C, Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614 - 627.
- Kruk C, Peeters E, Van Nes E, Huszar V, Costa L, Scheffer M. 2011. Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology & Oceanography* 56: 110 - 118.
- Lau R, Kwok A, Chan W, Zhang T, Wong J. 2007. Mechanical characterization of cellulosic thecal plates in dinoflagellates by nanoindentation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 7: 452-457.
- Le Quéré C, Harrison S, Prentice C, Buitenhuis E, Amount O, Bopp L, Claustre H, Cotrim DaCunha L, Geider R, Giraud X, Trevor Platt R, Rivkin R, Sathyendranath S, Uitz J, Watson A, Gladrow D, 2005. Ecosystem dynamics based on plankton functional types for global ocean biogeochemistry models. *Global Change Biology* 11: 2016–2040.
- Lee S, Kim Y, Kim H. 2000. Algalytic activity of alpha-mannosidase on harmful marine microalgae. *Journal of Applied Phycology* 12: 191-193.
- Lewis W. 1976. Surface/Volume Ratio: Implications for Phytoplankton Morphology. *Science* 192: 885-887.
- Lewis R. 2000. An Introduction to Classification and Regression Tree (CART) Analysis. Paper presented at Annual Meeting of the Society for Academic Emergency Medicine in San Francisco, California.

- Litchman E, Klausmeier C, Schofield O, Falkowski P. 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecol Lett* 10: 1170-1181.
- Lund J, Kipling C, Le Cren E. 1958. The Inverted Microscope Method of Estimating Algal Numbers and the Statistical Basis of Estimations by Counting. Pages 28 in Association FB, ed. Ambleside
- MacArthur R, Wilson E. 1967. The theory of island biogeography. Princeton, N.J.: Princeton Univ. Press.
- Mackereth F, Heron J, Talling J. 1989. Water analysis. Pages 121. Freshwater Biological Association: Ferry House
- Margalef R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta* 1: 493-509.
- Margalef R, Estrada M, Blasco D. 1979. Functional morphology of organisms involved in red tides, as adapted to decaying turbulence in Taylor DL, Seliger HH, eds. Toxic Dinoflagellates Blooms. Amsterdam: Elsevier-North Holland.
- Mazur H, Plinski M. 2002. *Nodularia spumigena* blooms and the occurrence of hepatotoxin in the Gulf of Gdańsk. *Oceanologia* 45: 305-316.
- Medina D, Inocente G, López C. 1993. PSP in Bivalves along the Uruguayan coast. Pages 425-428 in Smayda T, Shimizu Y, eds. Toxic Phytoplankton bloom Blooms in the Sea Elsevier Science Publishers.
- Mendez S, Gomez M, Ferrari G. 1997. Plankton studies in the Rio de la Plata and its oceanic front. in University D, ed. The Río de la Plata, an environmental overview. An EcoPlata Project Background Report. Halifax.
- Morabito G, Oggioni, A, Caravati, E, Panzani P. 2007. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). *Hydrobiologia* 578: 47-57.
- Müllin J, Riley J. 1955. The spectrophotometric determination of silicate-silicon in natural waters with special reference to sea water. *Analytical Chemical Acta* 12: 162-170.
- Murphy J, Riley J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemical Acta* 27: 31-36.
- Nagy G, Lopez Laborde J, Anastasia L. 1987. Caracterización de ambientes en el Río de la Plata Exterior (salinidad y turbiedad óptica). *Investigaciones Oceanológicas* 1: 31 - 56.
- Nagy G, Gomez-Erache M, López C, Perdomo A. 2002. Distribution patterns of nutrients and symptoms of eutrophication in the Rio de la Plata River Estuary System. *Hydrobiologia* 475/476: 125 -139.
- Nagy G, Martinez C, Caffera R, Pedragosa G, Forbes E, Perdomo A, López Laborde J. 1998. Marco hidrológico y climático del Río de la Plata. Pages 18 - 70 in Wells PG, Daborn GR, eds. El Río de la Plata Una revisión ambiental, Universidad de Dalhousie.
- Nakazima M. 1965. Studies on the source of shellfish poison in Lake Hamana. I. Relation of the abundance of a species of dinoflagellate *Prorocentrum sp.* to shellfish toxicity. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 31: 198-203.
- Naselli-Flores L, Padisák J, Albay M. 2007. Shape and size in phytoplankton ecology: do they matter? *Hydrobiologia* 578: 157-161.
- Negri R, Benavides H, Carreto J. 1988. Algunas características del florecimiento del fitoplancton en el frente del Río de la Plata. II: Las asociaciones fitolancónicas. *Publicaciones de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo* 4: 151-161.
- Nixon S. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41: 199-219.
- Nybakken J. 1993. Marine Biology: An ecological approach. New York: Harper Collins.



- Oliver R, Ganf G. 2000. Freshwater blooms in Whiton B, Potts M, eds. The Ecology of Cyanobacteria. Dordrecht: Kluwer Academic Press.
- Olli K, Heiskanen A, Seppala J. 1996. Development and fate of an *Eutreptiella gymnastica* bloom in nutrient-enriched enclosures in the coastal Baltic Sea. Journal of Plankton Research 18: 1587-1604.
- Padisák J, Crossetti L, Naselli-Flores L. 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. Hydrobiologia 621: 1-19.
- Parrieti M. 1985. Estudio de algunas características ecológicas del fitoplancton de superficie de la plataforma continental uruguaya (verano de 1984) Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad de la República, Montevideo.
- Pérez M, Bonilla S, De León L, Smarda J, Komárek J. 1999. A bloom of *Nodularia baltica-spumigena* group (Cyanobacteria) in a shallow coastal lagoon of Uruguay, South America. Algological Studies 93: 91-101.
- Pritchard D. 1967. Observations of circulation in coastal plain estuaries. Pages 37-44 in Lauff G, ed. Estuaries, vol. 83. Washington, D.C: American Association for the Advancement of Science.
- R Development Core Team. 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Reynolds C. 1980. Phytoplankton associations and their periodicity in stratifying lake systems. Holartic Ecology 3: 141-159.
- Reynolds C. 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press.
- Reynolds C. 1988. Functional morphology and the adaptive strategies of freshwater phytoplankton. Pages 388-433 in Sandgren CD, ed. Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. New York: Cambridge University Press.
- Reynolds C. 2007. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. Hydrobiologia 578: 37-45.
- Reynolds C. 1997. Vegetation Process in the pelagic: a model for ecosystem theory: Excellence in Ecology. Ecology Institute
- Reynolds C, 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.
- Reynolds C, Oliver R, Walsby A. 1987. Cyanobacterial dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 21: 379-399.
- Rhyther J. 1969. Photosynthesis and fish production in the sea. Science 166: 72 - 76.
- Ripley, B. 1996. Pattern recognition and neural networks. Cambridge: Cambridge University Press.
- Salmaso N, Padisák J. 2007. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). Hydrobiologia 578: 97-112.
- Segura A, Calliari C, Kruk C, Conde D, Bonilla S, Fort H. 2011. Emergent neutrality drives phytoplankton species coexistence. Proceedings of the Royal Society B: Biological Science 278: 2355-2361.
- Sharp J, Pennock J, Church T, Tramontano J, Cifuentes L. 1984. The estuarine interaction of nutrients, organics and metals: a case study in the Delaware estuary. University of Delaware, Delaware.
- Sherr E, Sherr B. 1991. Planktonic Microbes: Tiny Cells at the Base of the Ocean's Food Webs. Trends in Ecology & Evolution 6: 50-54.

- Smayda T. 1997. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology & Oceanography* 42: 1137-1153.
- Smayda T, Reynolds C. 2001. Community assembly in marine phytoplankton: application of recent models to harmful dinoflagellate blooms. *Journal of Plankton Research* 23: 447-461.
- Smith R, Kalff J. 1981. The effect of phosphorus limitation on algal growth rates: Evidence from alkaline phosphatase. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 1421-1427.
- StatSoft I. 2007. STATISTICA (data analysis software system) versión 8.0 [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)
- Pages Stearns SC. 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften* 87: 476-486.
- Steidinger K, Tangen K. 1996. Pages pp. 387-598. in Tomas CR, ed. *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. New York: Academic Press.
- Stoecker D. 2007. Mixotrophy among Dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 397-401.
- Strickland J, Parsons T. 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada 167:310.
- Tang E. 1995. The allometry of algal growth rates. *Journal of Plankton Research* 17: 303-315.
- ter Braak C, Smilauer P. 1998. *CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination*. New York: Microcomputer Power.
- Timofeev R. 2004. *Classification and Regression Trees (CART) Theory and Applications* Humboldt University, Berlin.
- Tomas C. 1997. *Identifying marine phytoplankton*. San Diego: Academic Press.
- Utermöhl H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt int.ver. Limnol.* 9: 1-38.
- Vaz Ferreira R. 1943. Sobre algunas especies del género *Ceratium* (Schrank) de aguas uruguayas. *Servicio de Oceanología y Pesca*: 1 -23.
- Vergnon R, Dulvy N, Freckleton R. 2009 Niche versus neutrality: uncovering the drivers of diversity in a species-rich community. *Ecol. Lett.* 12:1079-1090.
- Villarino M, Figueiras F, Jones K. 1995. Evidence of in situ diel vertical migration of a red-tide microplankton species in Ria de Vigo (NW Spain). *Marine Biology* 123: 607-617.
- Violle C, Navas M, Vile D, Kazakou E, Fortunel C, Hummel I. & Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882-892.
- Webb C, Ackerly D, McPeck A, Donoghue M. (2002) Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33, 475-505.