

*Efectos de la radiación ultravioleta en la  
movilidad y alimentación de crustáceos  
planctónicos*



**Rodrigo J. Gonçalves**

**Dr. E. Walter Helbling**

*Director*

**Dr. Horacio E. Zagarese**

*Co-Director*

**Trabajo para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas**  
**Centro Regional Universitario Bariloche**  
**Universidad Nacional del Comahue**

**Mayo 2008**

***Miembros del Jurado***

**Dr. E. Balseiro**

**Dr. D. Conde**

**Dra. S. Menu Marque**

---

*Dedicado a la memoria de  
Juan Carlos Villafañe, en  
homenaje a su calidez, alegría,  
sencillez y grandeza.*

## Contenidos

<b>Resumen</b> .....	<i>iv</i>
<b>Abstract</b> .....	<i>v</i>

### Capítulo 1

#### *Generalidades*

Relevancia ecológica del zooplancton.....	<i>1</i>
Movimientos del zooplancton.....	<i>2</i>
Locomoción y apéndices filtradores.....	<i>2</i>
Migración vertical.....	<i>5</i>
Radiación ultravioleta en el medio acuático.....	<i>6</i>
Efectos de la RUV en el zooplancton.....	<i>8</i>
Mortalidad / viabilidad.....	<i>9</i>
Efectos subletales de la RUV en el zooplancton.....	<i>11</i>
Fotorreparación y temperatura.....	<i>12</i>
Reclutamiento de larvas.....	<i>14</i>
Antioxidantes.....	<i>14</i>
Alimentación.....	<i>15</i>
Respiración.....	<i>15</i>
Migración vertical.....	<i>16</i>
<i>Justificación general de la tesis</i> .....	<i>18</i>
<i>Objetivos e hipótesis</i> .....	<i>20</i>
<i>Estructura de la tesis</i> .....	<i>21</i>
<i>Literatura citada</i> .....	<i>22</i>

## Capítulo 2

*Efecto de la radiación solar en el alimento del zooplancton*

***Presión de pastoreo y parámetros físicos en la sucesión de la comunidad de autótrofos de una laguna eutrófica en Patagonia a lo largo de un ciclo anual***

<i>Resumen</i> .....	31
<i>Introducción</i> .....	32
<i>Materiales y métodos</i> .....	34
<i>Resultados</i> .....	41
<i>Discusión</i> .....	58
<i>Literatura citada</i> .....	65

## Capítulo 3

*Efecto de la radiación solar en la movilidad del zooplancton*

***Efectos de la radiación solar en la movilidad de *Daphnia spinulata* durante un ciclo anual en latitudes medias de Patagonia<sup>1</sup>***

<i>Resumen</i> .....	72
<i>Introducción</i> .....	73
<i>Materiales y métodos</i> .....	75
<i>Resultados</i> .....	83
<i>Discusión</i> .....	90
<i>Literatura citada</i> .....	97

---

<sup>1</sup> Capítulo basado en el trabajo de respaldo: Gonçalves RJ, Barbieri ES, Villafañe VE, Helbling EW (2007) Motility of *Daphnia spinulata* as affected by solar radiation throughout an annual cycle in mid-latitudes of Patagonia. *Photochemistry and Photobiology* 83: 824-832

**Capítulo 4**

*Efecto de la radiación solar en la alimentación del  
zooplancton*

***Efectos subletales de la radiación ultravioleta solar la  
alimentación de *Acartia clausi*<sup>2</sup>***

<i>Resumen</i> .....	102
<i>Introducción</i> .....	103
<i>Materiales y métodos</i> .....	104
<i>Resultados</i> .....	110
<i>Discusión</i> .....	114
<i>Literatura citada</i> .....	120

**Capítulo 5**

<i>Conclusiones generales</i> .....	127
-------------------------------------	-----

---

<sup>2</sup> Capítulo basado en el trabajo realizado en el Departamento de Ecología Marina, Universidad de Göteborg (R. J. Gonçalves. 2004. Sub-lethal effects of solar ultraviolet radiation on *Acartia clausi* feeding rates).

## Resumen

La movilidad es un aspecto ecológicamente relevante para distintas actividades del zooplancton (locomoción, alimentación, apareamiento, etc.). Las poblaciones expuestas a la radiación ultravioleta solar (RUV, 280-400 nm) podrían sufrir efectos negativos si dichas actividades se vieran afectadas o disminuidas en los individuos.

El objetivo general de esta Tesis es estudiar de los efectos sub-letales de la RUV solar en el alimento, movilidad y alimentación de crustáceos zooplanctónicos.

Se estudiaron dos especies de crustáceos, ambos representativos de sus ambientes (el cladóceros *Daphnia spinulata* y el copépodo *Acartia clausi*). El enfoque fue experimental, exponiendo los organismos a RUV solar y midiendo variables relacionadas con el alimento, movilidad y alimentación según el caso. Para el cladóceros, se realizaron los estudios a lo largo de un año, complementándolos con datos de su ambiente óptico, composición de especies de alimento, etc.

La RUV fue más importante en la alimentación que en la movilidad. La radiación visible (PAR, 400-700 nm) apareció como un notable factor ambiental, por ejemplo inhibiendo la fotosíntesis del alimento de *D. spinulata*, lo cual junto con la presión de pastoreo provocó una modificación sustancial a lo largo del año de la comunidad de fitoplancton en su hábitat. La radiación solar (PAR) y la biomasa algal, entre otros factores, modificaron la movilidad de *D. spinulata* a lo largo del año, y RUV no mostró efectos significativos con la metodología utilizada. En cambio, en exposiciones a la radiación solar durante el otoño, *A. clausi* mostró mayores tasas de ingestión cuando no había recibido RUV previamente y este efecto podría estar modulado por la historia previa (de luz y alimentación).

La RUV y la presión de pastoreo de los consumidores pueden actuar en conjunto, determinando las especies disponibles en determinado momento y por ende la oferta de alimento para *D. spinulata*. La movilidad del cladóceros es difícil de predecir al estar gobernada por un grupo de variables ambientales que interactúan, por lo cual la RUV como factor único no parece tener gran preponderancia, aunque la luz visible mantiene su importancia en distintos procesos del ecosistema. En cambio, una menor alimentación de los organismos previamente expuestos a la RUV natural (como el caso de *A. clausi* y distintos copépodos superficiales) podría tener implicancias en la población durante la primavera/verano (mayor radiación), si la menor alimentación se traduce en un menor crecimiento o reproducción.

Dado que las respuestas en general fueron muy influenciadas por las variables ambientales, una futura línea de estudio prometedora es la investigación acerca de interacciones entre distintos factores. Un ejemplo, en el marco del cambio climático, sería el efecto combinado de la RUV y la temperatura en el plancton, para lo cual la presente Tesis puede servir como estudio de base.

## Abstract

Motility is an ecologically relevant aspect for zooplankton activities such as locomotion, feeding, mating, etc. Those populations exposed to solar ultraviolet radiation (UVR, 280-400 nm) could be affected if UVR impaired or depressed such activities.

The general objective of this Thesis is to study the sub-lethal effects of UVR on prey, motility and feeding of zooplanktonic crustaceans.

Two crustacean species were investigated, both representatives of their natural environment (the cladoceran *Daphnia spinulata* and the copepod *Acartia clausi*). An experimental approach was taken, exposing the individuals to UVR and measuring variables related to their preys, motility and feeding activity, in different cases. For *D. spinulata*, a time-series was built, complementing data with more observations from their optical environment, prey community composition, etc.

Ultraviolet radiation appeared as more important in feeding than in motility measurements. Visible radiation (PAR, 400-700 nm) acted as a notable environmental factor, e. g., inhibiting photosynthesis of *D. spinulata* preys, which in turn (together with the grazing pressure) produced a remarkable change in phytoplankton community along the year in the habitat lagoon. Solar radiation (PAR) and algae biomass, among other factors, modified the motility variables of *D. spinulata* through the year, and the UVR did not show significant effects with the methods used here. On the contrary, in exposures to solar radiation during autumn, *A. clausi* showed higher ingestion rates when UVR was blocked with filters. This effect might be modulated by the previous history (light and food).

UVR and consumers grazing pressure can act together to determine the phytoplankton species available, and therefore the available food, at any certain moment in their habitat. Motility of *D. spinulata* is difficult to predict, since it seems to be governed by a group of interacting environmental variables, so UVR has little effect as an individual factor (although PAR plays an important role in several processes). On the other hand, the impaired feeding activity of organisms that received natural UVR (e. g., *A. clausi* and other surface-living copepods) could have consequences in the population during spring/summer (i. e., higher radiation) if the decrease in ingestion finally translates in slower growth, lower egg production rates, etc.

Since the observed responses were, in general, highly influenced by environmental variables, an exiting future line of research would be the study of interactions between these variables. One example, in the frame work of global change, is the combined effect of UVR and temperature on plankton, so the present Thesis could serve as a base-line study.



## Capítulo 1

### *Generalidades*

#### *Relevancia ecológica del zooplancton*

La palabra *plancton* se origina en la partícula griega *plankto*, que significa 'errante' y fue utilizada por primera vez por el alemán Victor Hensen (1835-1924) en 1887. A diferencia del fitoplancton (vegetales planctónicos) y bacterioplancton (bacterias planctónicas), el zooplancton comprende a los organismos eucariotas heterótrofos que habitan en la columna de agua. El modo de alimentación de estos animales puede ser herbívoro, carnívoro, omnívoro, o detritívoro. Algunas especies forman parte del zooplancton únicamente durante determinado estadio de su ciclo de vida (especies meroplanctónicas), mientras que otras especies desarrollan su ciclo de vida íntegramente como parte del plancton (especies holoplanctónicas). El rango de tamaños de los organismos zooplanctónicos es enorme: desde micrómetros (nanoplancton, 2-20  $\mu\text{m}$ ) hasta metros (megaplancton, 20-200 cm) (Sieburth *et al.* 1978).

Los crustáceos presentes en el zooplancton, especialmente los copépodos (Crustacea: Copepoda) y cladóceros (Crustacea: Anomopoda), suelen ser muy abundantes y comprenden al menos una gran parte de la biomasa zooplanctónica y por lo tanto una porción significativa de la producción secundaria de los ambientes que habitan, lo cual les confiere una dominancia funcional (Nielsen y Sabatini 1996; Lampert y Sommer 1997; Atkinson 1998; Moss 1998). En términos generales, el rol ecológico de un organismo está mayormente determinado por su posición e importancia en la red trófica. Las características decisivas para ello son: el tamaño corporal, sus tipos de alimento y el modo de alimentación (Lenz 2000). Al considerar el rango de tamaños del zooplancton conjuntamente con sus modos de alimentación y distribución/abundancia, se hace evidente la enorme trascendencia de estos organismos en la transferencia de energía dentro de la red trófica y el flujo de nutrientes en el ecosistema. Por lo tanto, es de suma importancia adquirir conocimientos acerca de los distintos factores que puedan de alguna manera condicionar los aspectos ecológicos de este grupo de organismos. En principio esto ha motivado numerosos estudios ecológicos y la continua investigación sobre el zooplancton

probablemente seguirá contribuyendo al desarrollo de nuevos conceptos y paradigmas (Lampert 1997).

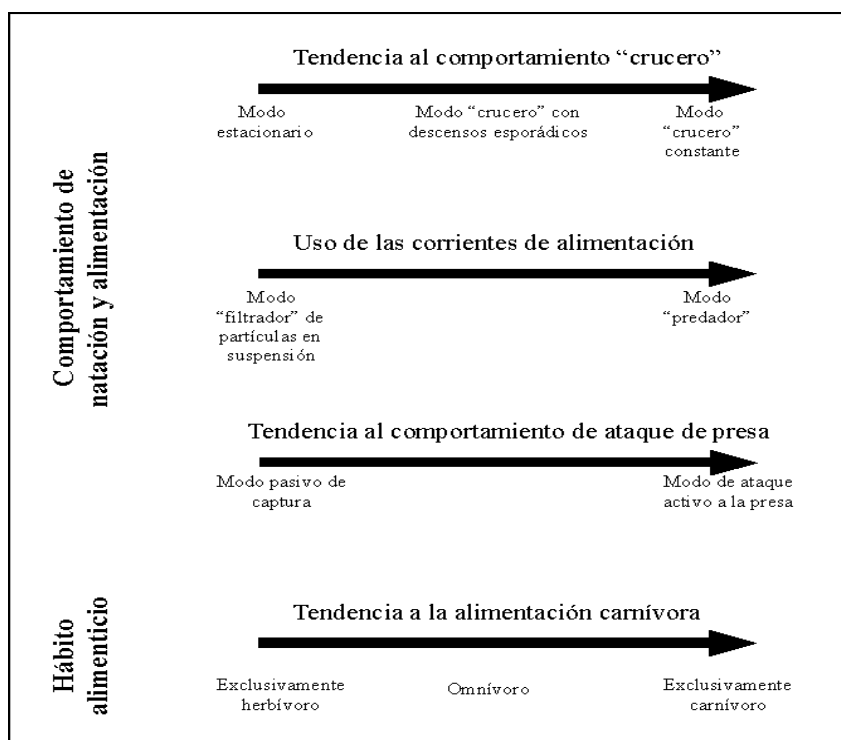
### *Movimiento del zooplancton*

Si bien la etimología del término *plancton* transmite una idea de organismos a la deriva, muchos organismos pertenecientes al zooplancton tales como copépodos y cladóceros tienen la capacidad de moverse activamente en la columna de agua, independientemente de las masas de aguas que habitan (Yamazaki y Squires 1996). A su vez, la capacidad de estos organismos de respirar y alimentarse está estrechamente relacionada con el movimiento de los apéndices filtradores. Estos tipos de movimientos se pueden abarcar con el término general de *movilidad* y suelen estar muy relacionados entre sí. El movimiento individual en una o más de estas formas es una actividad permanente en cladóceros y copépodos, inclusive en muchos estudios se considera muerto a un organismo que no se mueve (Antunes *et al.* 2004).

### *Locomoción y apéndices filtradores*

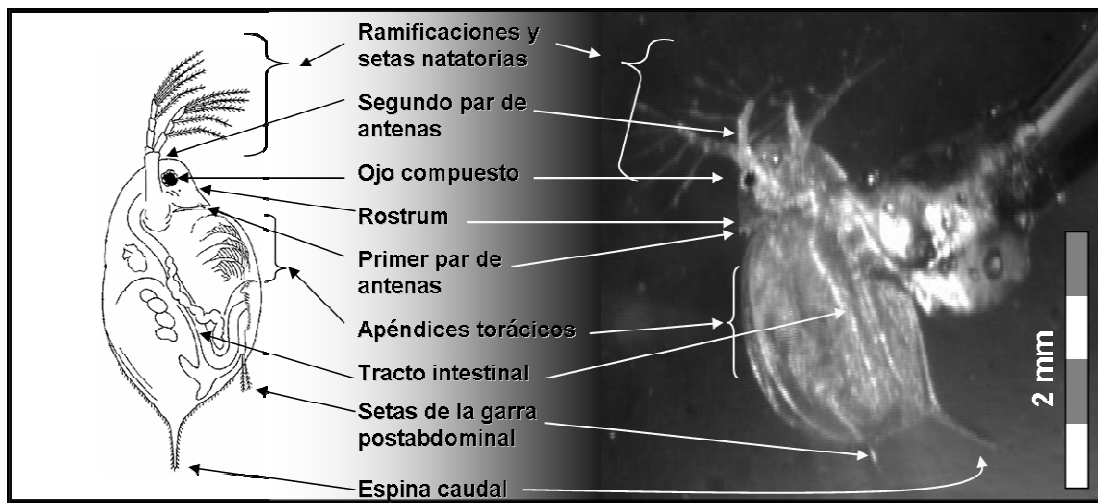
Los movimientos de locomoción del zooplancton comprenden el desplazamiento del individuo en su espacio tridimensional y estos movimientos son activos, realizado a expensas de un gasto energético que proviene de las funciones metabólicas. Usualmente, sobre todo en copépodos y cladóceros, los movimientos de alimentación y de locomoción están estrechamente relacionados (Gill y Poulet 1988). Esto es principalmente debido a que gracias a la utilización de los apéndices torácicos, muchos copépodos son capaces de crear corrientes de agua (*corrientes de alimentación*) en su entorno inmediato (es decir en distancias del mismo orden de magnitud que sus dimensiones corporales) y dichas corrientes actúan con un doble propósito: por un lado, impulsan el centro de masa del individuo provocando su desplazamiento y por otro lado facilitan el acercamiento (y eventual contacto) de las partículas suspendidas en el agua (o presas) con los apéndices bucales (Strickler 1977; Bundy *et al.* 1998; Bundy y Vanderploeg 2002).

Por ejemplo, se ha estudiado que los copépodos pueden tener distintos modos de comportamiento alimentario, de acuerdo al movimiento y tipo de estrategia para el encuentro de la presa. Para dar algunos ejemplos, el copépodo predador *Tortanus discaudatus* se mueve aleatoriamente hasta que por medio de un estímulo táctil detecta a la presa (Ambler y Frost 1974). Estudios realizados con *Skistodiatomus oregonensis* muestran que las corrientes de bajas velocidades que crea el copépodo no sólo aumenta la probabilidad de encuentro con la presa por medio de una mayor tasa de contacto directo, sino que también aumenta la probabilidad de detectar y capturar una presa distante con una capacidad de escape bien desarrollada (Bundy y Vanderploeg 2002). Otros tipos de comportamiento incluyen formas variables que se pueden catalogar dentro de determinados “modos” (figura 1), que van desde el modo “crucero” (natación a velocidad aproximadamente constante, más relacionado con una alimentación de ataque a presas móviles), al modo totalmente estacionario (más relacionado con una alimentación por filtración de las partículas suspendidas en el agua). Se han encontrado tipos de desplazamientos circulares rápidos, que no son muy corrientes y tendrían como objeto barrer un volumen de agua pequeño en un muy corto tiempo (Mazzocchi y Paffenhöfer 1999).



**Figura 1.** Esquema de las categorías de movimientos relacionados con la alimentación en copépodos calanoideos (adaptado de Greene 1988)

En el caso de los cladóceros, tales como *Daphnia* sp. o *Moina* sp., la locomoción no está tan estrechamente ligada a la alimentación, dado que dichas funciones se realizan con apéndices distintos. El desplazamiento en el espacio se realiza a través del segundo par de antenas, mientras que la función “filtradora” está a cargo del resto de los apéndices torácicos (figura 2).



**Figura 2.** Anatomía general de un cladóceros del género *Daphnia* (dibujo esquemático a la izquierda; fotografía de *D. spinulata* a la derecha) mostrando las estructuras más notorias para la locomoción y captura de alimento.

El desplazamiento (generalmente intermitente o bien continuo pero no sostenido por períodos mayores a unos cuantos segundos) se realiza mediante la agitación del segundo par de antenas, que impulsa el cuerpo hacia adelante. Es común que estos organismos presenten el eje mayor del cuerpo en forma vertical, por lo que la propulsión se realiza hacia arriba. Inmediatamente después de este impulso, el individuo se hunde cierta profundidad, hasta que vuelve a subir con otro batido del segundo par de antenas. Este movimiento intermitente de “sube y baja” se asemeja a una serie de “saltos”, lo cual ha dado a muchos cladóceros del género *Daphnia* el nombre popular de “pulga de agua” y posee varias implicancias ecológicas (Gries *et al.* 1999; Kramer y McLaughlin 2001). Al ser tan característico de los cladóceros, este comportamiento sirve para cuantificar en cierta medida la locomoción, por lo cual se utiliza en algunos trabajos que estudian el comportamiento midiendo la tasa de hundimiento, la velocidad de natación y los “saltos” por segundo bajo distintos tratamientos (Gorski y Dodson 1996).

Una de las funciones obvias de la movilidad en el zooplancton es la búsqueda y adquisición de su fuente de energía. En líneas generales, es esperable que cuanto más específico sea el recurso alimenticio requerido por un organismo, más obligado estará éste a habitar en “parches” de dicho alimento, o bien a utilizar su tiempo y energía en la búsqueda y discriminación del alimento entre una mezcla de presas. Este es uno de los costos de la especialización (Begon *et al.* 2006). Sumado a esto, puede argumentarse que si el organismo tiene que moverse para buscar su comida, entonces un factor que afecte su movilidad tiene efectos potenciales también en su alimentación, aunque no necesariamente tenga efectos significativos en los sub-procesos involucrados (tales como detección, adquisición, manipulación, ingestión, digestión, etc.).

### *Migración vertical*

Otro tipo de desplazamiento de importancia ecológica en el zooplancton es el cambio de distribución vertical en la columna de agua, es decir la migración vertical. Es común observar que especies tanto marinas como dulceacuícolas presentan mayores densidades en las capas superficiales durante las horas de la noche y menores densidades durante las horas de mayor radiación solar (Alekseev 2004). Todavía no se ha llegado a un consenso total acerca de la causa principal que provoca esta migración vertical, pero los estudios apuntan a dos factores más importantes: la predación visual y la radiación ultravioleta (Ringelberg y Van Gool 2003).

Durante las horas de luz, los individuos zooplanctónicos que permanezcan en la superficie serán más visibles, lo cual aumenta la probabilidad de ser detectado por un predador visual (como un pez o un ave). Asimismo, durante el día, las capas superficiales del cuerpo de agua están expuestas a la radiación ultravioleta (RUV, ver más abajo), con sus potenciales efectos nocivos (ver más abajo). Por cualquiera de estas dos causas (o por ambas conjuntamente), los individuos de zooplancton que presentan migración vertical, al parecer encuentran protección en las capas más profundas de agua, donde pasan la mayor parte del día. Cabe destacar sin embargo que hay especies que no presentan migración vertical (Irigoién *et al.* 2004), o que presentan una migración “inversa” (organismos que migran hacia aguas superficiales durante las horas de luz y vuelven a capas más profundas durante la noche), presentan patrones mixtos (Young y Watt 1993; Cohen y Forward

2005a; Cohen y Forward 2005b), o bien tienen distintas tendencias dentro de una misma población (King y Miracle 1995; Reede y Ringelberg 1998).

### *Radiación ultravioleta en el medio acuático*

La energía que hace posible la existencia de la vida en la Tierra tal como la conocemos proviene del Sol y se propaga a través del espacio en forma de radiación electromagnética, que comprende un amplio rango de longitudes de onda ( $\lambda$ ). Esta radiación es filtrada por diversos componentes atmosféricos, de manera tal que sólo una fracción de la radiación que llega a las capas superiores de la atmósfera alcanza finalmente la superficie terrestre (Madronich 1993). Dicha radiación puede subdividirse según su longitud de onda y clasificarse en los siguientes rangos: la radiación ultravioleta B (UVB), con valores de  $\lambda$  entre 280 y 320 nanómetros (nm); la radiación ultravioleta A (UVA,  $\lambda$  entre 320 y 400 nm) y la luz visible o radiación fotosintéticamente activa (PAR, sigla en Inglés de *photosynthetic active radiation*), con valores de  $\lambda$  entre 400 y 700 nm. Las longitudes de onda mayores a 700 nm forman parte de la radiación infrarroja, que transmite energía solar en forma de calor.

La radiación PAR es la responsable de la fotosíntesis de los vegetales y rige una gran cantidad de procesos naturales. La radiación UVA incidiendo sobre tejidos biológicos puede inducir la generación de formas reactivas de oxígeno (radicales libres, denominadas colectivamente “ROS” por su nombre inglés, *reactive oxygen species*). Estas ROS a su vez pueden provocar una cadena de reacciones químicas que terminan causando un daño considerable (Friedberg *et al.* 1995; Vincent y Neale 2000). La radiación UVB, dada su corta longitud de onda, tiene la capacidad de poder interactuar con las estructuras moleculares del material genético (ADN) de manera tal que posee, entre otros, efectos mutagénicos potencialmente peligrosos para los seres vivos (Mitchell y Karentz 1993). Esta radiación es filtrada o atenuada por un componente de la atmósfera: el ozono estratosférico. Una vez que la radiación solar atravesó la atmósfera e incide en la superficie del cuerpo de agua considerado, se observa que la columna de agua actúa como un filtro óptico, atenuando diferencialmente la radiación y modificando sustancialmente la penetración de la energía de las distintas longitudes de onda. A su vez, esta atenuación

diferencial está determinada por características ópticas del agua y de los materiales disueltos o suspendidos en ella, tales como materia orgánica disuelta, material particulado, etc. (Kirk 1994; Hargreaves 2003). Las aguas oceánicas extremadamente claras permiten la penetración de la RUV hasta profundidades de decenas de metros, por ejemplo hasta 38 m a 340nm, 46 m a 375 nm, etc. (ver más ejemplos en Tedetti y Sempere 2006). En el otro extremo encontramos las aguas con una mayor carga de materia orgánica disuelta (muchas veces eutróficas) en las que la radiación llega sólo hasta unos pocos centímetros debajo de la superficie (Morris *et al.* 1995; Arts *et al.* 2000; Bracchini *et al.* 2004)

A partir del descubrimiento del fenómeno luego conocido como “agujero de ozono” en la Antártida causado por la actividad humana (Farman *et al.* 1985; Rowland 2006), se aumentó el énfasis internacional en la investigación acerca de los posibles efectos biológicos de la radiación ultravioleta en los ecosistemas, incluso produciéndose reportes periódicos para el Programa de Medioambiente de las Naciones Unidas (UNEP) (ver por ejemplo Häder *et al.* 1998). Estudios posteriores sugirieron que el “agujero” de ozono puede extender su influencia y causar perturbaciones en latitudes medias (Atkinson *et al.* 1989). En el caso de Sudamérica, estas disminuciones de ozono han sido documentadas directamente durante cortos períodos (días) en latitudes de hasta 30°S (Kirchhoff *et al.* 1996) y estimadas a partir del aumento concomitante de UVB en latitudes de hasta casi 38°S (Orce y Helbling 1997).

Cada organismo acuático puede estar expuesto a la RUV durante distintos períodos de tiempo: a lo largo de su ciclo vital completo (como un coral de aguas poco profundas), durante parte de su ciclo diario (por ejemplo un organismo planctónico con migración vertical) o bien durante parte de su desarrollo (por ejemplo una langosta que tiene estadios larvales planctónicos). Entre otros efectos generales, la exposición a la RUV solar puede reducir la productividad, afectar la reproducción y desarrollo e incrementar la tasa de mutación del fitoplancton, macroalgas, huevos y larvas de distintos animales acuáticos (Häder *et al.* 2007). Algunos organismos disponen de un sistema molecular de reparación específico para las mutaciones provocadas por la RUV en el ADN. Este mecanismo utiliza energía de la radiación PAR/UVA para revertir directamente la lesión en el material genético. Este proceso está mediado por una enzima, la fotoliasa y se denomina reparación foto-enzimática o fotorreparación (Mitchell y Karentz 1993; Banaszak 2003). Muchas veces el efecto neto de la RUV depende de la relación RUV/PAR, es decir de la relación

entre la energía que daña vs. la que “repara” el ADN. Esta relación en el medio acuático puede variar no sólo de acuerdo a la nubosidad, sino también dentro de la columna de agua debido a la absorción y propiedades ópticas ya mencionadas y por supuesto a la profundidad.

Mediante el uso de bio-dosímetros, se han medido efectos de la RUV en profundidades considerables como 16 metros (Tedetti y Sempere 2006) y 30 metros (Karentz y Lutze 1990). Hoy en día, se considera que la RUV es un factor de estrés en las comunidades naturales, independientemente del “agujero de ozono” antártico, e incluso los resultados de las investigaciones hasta la fecha señalan a la RUV como un factor más importante de lo que se pensaba anteriormente como un determinante en la estructura de las comunidades acuáticas (ver más referencias en Häder *et al.* 2007). Sumado a esto, los efectos son diferentes según la especie considerada y es difícil hacer extrapolaciones a un sistema natural de poblaciones ya que es necesario estudiar la sensibilidad diferencial de los organismos y los factores que puedan modificar la aclimatación de las especies a la radiación solar (Villafañe *et al.* 2001).

#### *Efectos de la RUV en el zooplancton*

Las radiación ultravioleta natural puede afectar negativamente a los consumidores primarios (Häder *et al.* 1998). Los efectos de la RUV en organismos zooplanctónicos son muy variados y han sido estudiados activamente en las últimas décadas. Probablemente las primeras investigaciones en fotobiología del zooplancton comprenden el estudio de las respuestas más simples de algunos crustáceos pelágicos a la luz (Davenport y Lewis 1899; Clarke 1930; Clarke 1932; Lincoln 1971; Stearns 1975; Luecke y O'Brien 1983). En la mayoría de estos estudios, la radiación podía ser percibida por los sistemas sensoriales del individuo (Young 1974; Stearns 1975). En la actualidad, se reconoce que los efectos de la radiación solar distan mucho de ser cabalmente comprendidos y dependen en gran medida de otros factores ambientales que pueden interactuar con la RUV ya sea del medio externo (temperatura, cubierta de nubes, penetración de la radiación en la columna de agua, etc.) o del medio interno (compuestos protectores, capacidad de fotorreparación, capacidad de detectar la radiación dañina, vulnerabilidad al daño inducido por la RUV etc.). A nivel de comunidades, los efectos subletales de la RUV podrían afectar a la población debido a cambios individuales en procesos biológicos tales como crecimiento, reproducción,



supervivencia de juveniles y la capacidad para hacer frente a alimento de distintas calidades (Zellmer *et al.* 2004). Esto hace que los efectos a largo plazo de la UVB en poblaciones naturales de fitoplancton y zooplancton sean difíciles de predecir (De Lange y Lürling 2003). En términos generales, los estudios indican que la RUV puede afectar a los ecosistemas en un espectro más amplio de condiciones si se compara con los resultados de experimentos de mortalidad solamente (Cooke *et al.* 2006; Fischer *et al.* 2006). A continuación se brindan algunos ejemplos generales en el zooplancton.

#### *Efectos de la RUV en el zooplancton: mortalidad / viabilidad*

Las estrategias posibles disponibles para el zooplancton ante la RUV han sido revisadas por Zagarese y Williamson (1994), quienes básicamente propusieron tres posibles respuestas ante la amenaza de los efectos dañinos de la RUV: 1) la respuesta comportamental (evitar el daño), 2) la utilización de pigmentos fotoprotectores (minimizar el daño) y 3) la reparación de las biomoléculas dañadas (reparación del daño) (Zagarese y Williamson 1994). La mayor parte de los estudios se orientan comúnmente a aspectos “evidentes” tales como la supervivencia del organismo en una o varias de sus fases de desarrollo. De hecho, algunos investigadores sugieren que, de acuerdo a la transparencia del agua, la RUV puede en algunos lagos jugar un papel significativo en la estructuración de las comunidades de zooplancton (Williamson *et al.* 1999; Williamson *et al.* 2001; Marinone *et al.* 2006). En aguas del Golfo de St. Lawrence, Canadá, por ejemplo, se estudió el impacto de la RUV en el copépodo marino *Calanus finmarchicus*, el cual libera sus huevos dentro de la zona eufótica (permaneciendo éstos expuestos 1-3 días a la radiación solar dentro de la capa superficial de mezcla). Experimentos con huevos de dicha especie han demostrado que la RUV natural tiene efectos negativos en el porcentaje de eclosión (Alonso Rodriguez *et al.* 2000a). Browman y otros (2003) cuantificaron el daño al material genético en estadios iniciales de *C. finmarchicus* y del bacalao y encontraron que el daño era mayor en los huevos que recibieron UVB para ambas especies. A la vez, el daño inducido por la RUV fue menor en el material genético de huevos que en el de larvas, lo cual también sugiere una tolerancia diferencial desde el punto de vista ontogenético (Browman *et al.* 2003). Sin embargo, en el mismo ambiente pelágico, las larvas de la langosta *Homarus americanus* (un crustáceo meroplanctónico de importancia económica) no mostraron mortalidad significativa debida a la RUV, aún cuando estuvieron expuestas a condiciones equivalentes a la radiación recibida a 1 m de profundidad durante 2 horas

(cerca al mediodía) en un día de verano (Alonso Rodríguez *et al.* 2000b). Esto demuestra que la sensibilidad a la RUV puede ser distinta para especies que cohabitan el espacio pelágico al menos temporalmente. En el mismo golfo, la UVB solar tiene efectos significativos en la viabilidad de los huevos del bacalao (*Gadus morhua*, pez de importancia para las pesquerías regionales) cuando fueron incubados a 3 cm de profundidad (Browman *et al.* 2000). Aarseth (2002) demostró que en experimentos con radiación artificial que la RUV puede provocar, en unos pocos días, mortalidades del 100% de individuos adultos del copépodo holopelágico *Calanus finmarchicus*, mientras que en el copépodo ectoparásito *Lepeophtheirus salmonis* la tolerancia fue mayor. Ambas especies aumentaron su supervivencia al proveerles radiación PAR, lo cual demuestra que ambos copépodos poseen la capacidad de fotorreparar (Aarseth y Schram 2002). Kane y Pomory (2001) observaron para el copépodo harpaticoideo *Tigriopus californicus* de pozas intermareales, que la mortalidad, al igual que el porcentaje de huevos eclosionados, aumentaba con la creciente dosis de UVB. Dichos autores sugieren que la pigmentación juega un rol muy importante en la tolerancia tanto de los adultos como de los huevos (Kane y Pomory 2001). Puestos en su contexto natural, la mayoría de estos resultados no son catastróficos en términos de mortalidad masiva; sin embargo la influencia indirecta de la RUV (tales como los efectos sub-letales o efectos indirectos a través de una reducción nutricional del alimento) pueden llegar a ser más importantes y queda mucho aún por investigar en este sentido (Browman 2003).

Como ya se mencionó, la atenuación de la radiación en la columna de agua depende, entre otros factores, de los materiales presentes, tales como el carbono orgánico disuelto (COD), la clorofila *a*, etc. En estudios con zooplancton de agua dulce en Sudamérica, se ha encontrado por ejemplo una relación inversa entre la concentración de COD y la mortalidad de los cladóceros expuestos a RUV, mientras que los copépodos pigmentados presentaron mayor tolerancia (de los Ríos 2004; de los Ríos 2005). Resultados similares se obtuvieron al considerar la clorofila *a* (de los Ríos y Soto 2005), lo cual confirma desde el punto de vista biológico que ambos componentes (clorofila *a* y COD) modifican el ambiente óptico y pueden efectivamente interferir en la penetración de la RUV mediante un incremento en el coeficiente de atenuación. Los organismos que tienen la capacidad de migrar verticalmente en la columna de agua, pueden lograr en ciertos casos evadir la RUV, lo cual otorgaría una ventaja a dichas especies. Por ejemplo Siebeck y Bohm (1994) observaron diferencias en la tolerancia a la UVB (en términos de mortalidad) en dos especies de cladóceros, una que no realiza migración vertical (*Daphnia*

*pulex*) y otra que sí la realiza (*Daphnia galeata*). Al estar incubadas en puntos fijos (tanto bajo RUV natural como artificial), se observó el 100% de mortalidad de *D. galeata* en valores de radiación equivalentes a un día despejado de verano. Por el contrario, los individuos de *D. pulex* mostraron mortalidades 10 veces menores (Siebeck y Bohm 1994). Otros investigadores también observaron una tolerancia diferencial, en dos especies de copépodos que realizan migración vertical en lagos de alta montaña (*Cyclops abyssorum tatricus* de un lago alpino de Austria y *Boeckella gracilipes* de un lago andino de Chile). Ambos lagos permitían una notable penetración de la RUV y ambas especies presentaban pigmentación (carotenos). Sin embargo, *C. abyssorum tatricus* mostró una supervivencia en verano y con días despejados. *B. gracilipes* por el contrario fue menos tolerante: la mortalidad se multiplicó por 5 cuando recibió UVB en incubaciones de 72 horas (Tartarotti *et al.* 1999). La misma especie sin embargo mostró una menor tolerancia en otros estudios (Zagarese *et al.* 1997; Tartarotti *et al.* 2000), lo cual aporta evidencias adicionales acerca de las diferencias intra-específicas en la tolerancia a la RUV en distintos ambientes. Zellmer (1998) observó en un lago subantártico que los individuos de *Daphnia pulicaria* incubados a 8 cm de profundidad disminuían notablemente su mortalidad si se excluía la RUV y la cantidad de neonatos aumentaba al excluir la UVB. Finalmente, otras especies como el krill (*Euphausia superba*, eufáusido antártico de enorme importancia económica) también puede presentar mortalidad al ser expuesto a UVB, mientras que la UVA puede causar una disminución de la actividad del individuo (Newman *et al.* 1999).

#### *Efectos subletales de la RUV en el zooplancton*

En los estudios que documentan la mortalidad del individuo al ser expuesto a RUV, se observa muchas veces que las curvas de supervivencia muestran un período de “tolerancia” o baja mortalidad, antes de comenzar a mostrar signos apreciables de mortalidad. Esto significa por un lado que el organismo puede tener una dosis de RUV a partir de la cual la mortalidad comenzará a aumentar rápidamente (valor umbral de dosis), pero también sugiere que cierta cantidad de daño tiene que acumularse en el organismo antes de ser desencadenada la mortalidad. En muchos casos se desconoce qué efectos puede tener ese daño acumulado subletal (Zagarese *et al.* 1998; Cywinska *et al.* 2000; Aarseth y Schram 2002). A medida que se reconocía la importancia de la RUV en las comunidades zooplanctónicas, también se exploró la influencia de factores adicionales (como la temperatura) y los trabajos que estudiaban otras variables (además de la

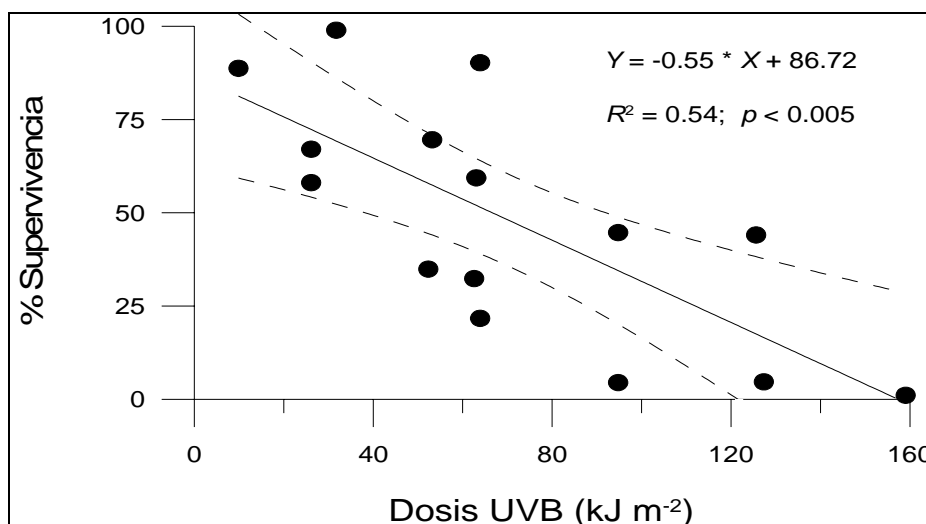
mortalidad) se hicieron más numerosos. A continuación se mencionan algunos ejemplos de efectos subletales de la RUV en el zooplancton.

#### *Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: fotorreparación y temperatura*

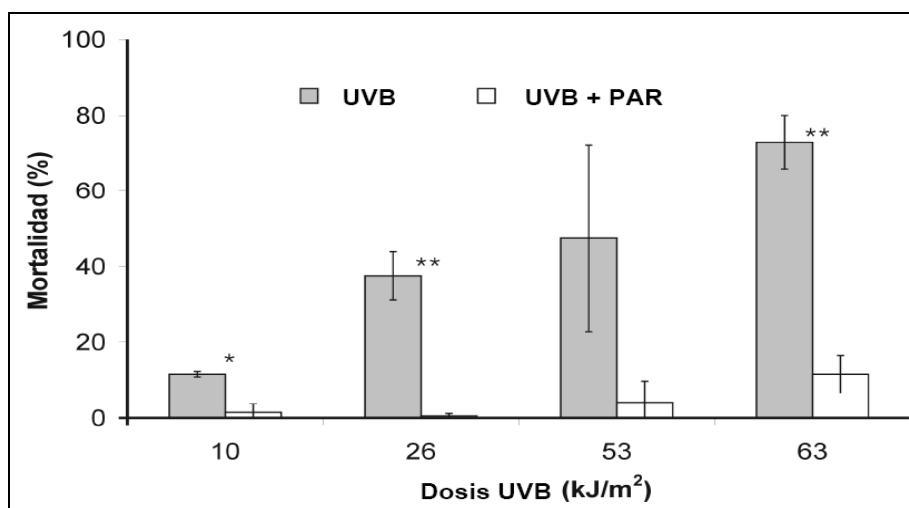
Cuando los organismos poseen los mecanismos de fotorreparación, pueden observarse mayores tasas de supervivencia en individuos expuestos a radiación “reparadora” además de la RUV, en comparación con los tratamientos de UVB solamente. La capacidad de fotorreparar puede aumentar la probabilidad de una producción de descendencia viable en *Daphnia pulicaria* y el rotífero *Asplanchna girodi* (Grad y Williamson 2001). *Glaucoma* sp. y *Cyclidium* sp. (ciliados de agua dulce), mostraron también una mayor supervivencia si se les permitía fotorreparar durante la exposición a UVB, siendo este efecto más acentuado a 20°C para *Glaucoma* sp. que en otras temperaturas (Sanders *et al.* 2005). La temperatura también aparece como un factor determinante en la fotorreparación para *Daphnia pulicaria*. MacFayden y otros (2004) estudiaron la importancia relativa de la temperatura en la fotorreparación de dicho cladóceros, partiendo de la premisa que el sistema enzimático de la fotorreparación es dependiente de la temperatura. Los resultados confirman que a mayor temperatura, el mecanismo de reparación es más eficiente y conlleva una mayor supervivencia. Estos resultados implican que un organismo que depende en gran medida de la fotorreparación, estaría en desventaja ante altos niveles de UVB si vive en ambientes de bajas temperaturas (MacFadyen *et al.* 2004). Sin embargo, otros investigadores habían encontrado que la baja temperatura no afectó significativamente la sensibilidad a la RUV en especies de *Daphnia* (que pueden fotorreparar) de ambientes fríos (poblaciones los Alpes y el Ártico) (Borgeraas y Hessen 2000). La fotorreparación también parece jugar un papel significativo en distintos estadios del copépodo *Sinocalanus tenellus*. En esta especie, la UVB artificial tuvo efectos negativos en la producción de huevos y alimentación, además de provocar mortalidad. Sin embargo con la fotorreparación se observó una considerable recuperación de la supervivencia y eclosión de huevos, siendo el efecto más acentuado para los animales más jóvenes (Lacuna y Uye 2000). Efectos similares fueron observados en el copépodo marino *Acartia omorii*, que también vio afectada negativamente por la UVB sus tasas producción de huevos, reclutamiento y alimentación entre otros parámetros (Lacuna y Uye 2001).

El cladóceros *Daphnia menucoensis* (habitante de uno de los ambientes estudiados en la presente tesis) posee una eficiente fotorreparación como estrategia ante la RUV: al ser expuesta a UVB solamente, esta especie mostró una notable mortalidad (Fig. 3), que se

incrementa con la dosis UVB recibida (por ejemplo, 15% de mortalidad con 10 kJ m<sup>-2</sup> UVB), mientras que en presencia de PAR la mortalidad prácticamente desaparece (Fig. 4). Esto sugiere que *D. menucoensis* estaría adaptada (en términos de supervivencia del individuo) a los valores de RUV que puede recibir normalmente en su ambiente (aprox. 40 kJ m<sup>-2</sup> un día despejado de verano), en gran parte gracias a su capacidad de reparar el daño producido en el ADN por la RUV (Gonçalves *et al.* 2002).



**Figura 3.** Mortalidad de individuos del cladóceros *Daphnia menucoensis* al ser expuestos a dosis crecientes de UVB (modificado de Gonçalves *et al.* 2002).



**Figura 4.** Fotorreparación en *D. menucoensis*. Las barras oscuras indican la mortalidad observada cuando los individuos se irradiaron sólo con UVB, mientras que las barras claras muestran la mortalidad cuando los individuos recibieron también PAR. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$  (Adaptado de Gonçalves *et al.* 2002).

*Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: reclutamiento de larvas*

Otros organismos cuyas larvas permanecen temporalmente en la columna de agua antes de asentarse definitivamente en el sustrato fijo son los corales. En experimentos durante la época estival, Kuffner (2001) demostró que el asentamiento de larvas del coral *Pocillopora damicornis* se vio mermado debido a la RUV solar en la Bahía de Kaneohe (Hawai). Dichos experimentos indican bien que el asentamiento puede ser demorado por las larvas (mediante cambios en el comportamiento) si los niveles de RUV son altos, o bien que la RUV inhibe de alguna manera (mediante mecanismos fisiológicos) el proceso mismo del asentamiento definitivo en el sustrato. En cualquier caso, la mortalidad no fue significativa, por lo cual este es un caso más de efecto subletal en estos organismos (Kuffner 2001). Estudios con otra especie (*Porites astreoides*) demuestran que las larvas pueden detectar y evadir la RUV, por lo que la opción más probable del menor asentamiento sería el efecto del comportamiento en respuesta a la RUV elevada (Gleason *et al.* 2005)

*Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: antioxidantes*

La actividad de una enzima antioxidante (catalasa) en poblaciones alpinas de *Daphnia longispina* mostró una correlación positiva con la absorbancia a 300 nm del agua de cada población, lo cual permite especular que la actividad enzimática provee protección antioxidante contra el peróxido de hidrógeno inducido por la RUV en dichos ambientes (Borgeraas y Hessen 2002). A su vez, ha sido observado que la expresión de la catalasa puede ser distinta en cladóceros y copépodos (Souza *et al.* 2007). Davenport y otros (2004) documentaron en la costa de Irlanda el efecto protector de la pigmentación en el copépodo *Tigriopus brevicornis*, en el cual la astaxantina (pigmento correspondiente al grupo de los carotenos que les confiere el color anaranjado) actuaría como protección (principalmente como antioxidante) no sólo en verano sino durante todo el año. Dicho pigmento es adquirido a través de la dieta (en este caso, *Enteromorpha* sp., fitoplancton y diatomeas bentónicas) y les confiere mayor supervivencia al ser expuestos a RUV. Este es un caso que evidencia los efectos de la bioacumulación de compuestos, necesarios para la fotoprotección, ingeridos a través del alimento (Davenport *et al.* 2004).

### *Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: alimentación*

El alimento puede tener efectos negativos para los consumidores si dicho alimento ha sido expuesto previamente a RUV. Por ejemplo, al ser alimentada con células de *Cryptomonas* sp. incubadas con UVB, *Daphnia magna* disminuye el tamaño de los individuos maduros y produce menos juveniles (que a su vez tienen menor tolerancia a la RUV), mientras que si se alimenta de *Chlamydomonas* (también irradiada con UVB), no muestra ningún efecto significativo (De Lange y van Reeuwijk 2003). Asumiendo que *Daphnia* no selecciona entre estas dos presas (Lampert 1987), esta propagación del efecto de la RUV a través de la dieta provocaría efectos subletales que deprimen parámetros poblacionales del consumidor. Experimentos involucrando más especies (de alimento y de consumidores) demuestran que los resultados pueden ser más complejos y dependientes de cada especie/interacción (De Lange y Lüring 2003). En su hábitat natural, tanto el zooplancton como su alimento están generalmente expuestos a la RUV. En estos casos, también la RUV puede tener efectos directos en los organismos aunque estos no resulten en la muerte del individuo. Por ejemplo, *Daphnia pulex* y *Daphnia longispina* (provenientes de estanques con distintas transparencias a la RUV) puede presentar daño en su tracto digestivo, aún cuando muestran distintas tolerancias en términos de supervivencia. Los efectos de la RUV en el tracto intestinal son más acentuados cuando el alimento también ha sido expuesto a RUV (Zellmer *et al.* 2004). Sumado a esto, en los individuos expuestos a RUV de *D. pulex* las enzimas digestivas (amilasa y celulasa) mostraron una actividad levemente menor, lo cual sugiere que *Daphnia* expuesta a niveles subletales de RUV puede experimentar una condición similar a la poca o nula alimentación (Zellmer *et al.* 2006). Estos resultados dan lugar a la idea de que, al menos en algunas especies de zooplancton, la RUV puede causar un daño en el sistema digestivo mucho antes de que ocurra la mortalidad, que probablemente será en parte el resultado final de la malnutrición (Zellmer *et al.* 2004).

### *Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: respiración*

La respiración es otro proceso metabólico que puede ser afectado por la RUV: en experimentos con radiación artificial, Fischer y otros (2006) observaron que la respiración de *Daphnia catawba* se veía inhibida en aprox. un 70% al ser expuesta sólo a UVB, mientras la respiración aumentaba (aprox. un 30%) si los individuos eran expuestos a UVB + UVA + PAR. Estos autores sugieren que este aumento de la respiración se debe, en parte, a los costos metabólicos de la fotorreparación del daño inducido por la RUV en los

componentes celulares. Una posible consecuencia que se desprende de este estudio es que la disminución de la tasa respiratoria de estos cladóceros podría reducir drásticamente las reservas energéticas disponibles para el crecimiento y la reproducción, en especial cuando estos “costos energéticos” son requeridos repetidas veces por ejemplo durante una serie de días consecutivos de altos niveles de RUV (Fischer *et al.* 2006). Al tratarse de procesos tan fundamentales como el crecimiento y la reproducción, puede especularse que ello tiene potenciales implicancias en la dinámica poblacional. Una evidencia de ello parece darse en lagos y estanques de altas latitudes (>69°N) de Finlandia, en los cuales un estudio reveló que *Daphnia* sólo estaba presente en estanques con el suficiente contenido de materia orgánica disuelta (COD) (en este caso, >5 mg l<sup>-1</sup>) y en los lagos se observó que a mayor COD, menor pigmentación corporal (melanina) tenían los individuos. Nuevamente se desprende la idea de que si la síntesis de pigmentos requiere energía, los recursos disponibles tienen que utilizarse para la protección contra la RUV (por ejemplo la síntesis de melanina) en posible detrimento de la reproducción y crecimiento (Rautio y Korhola 2002). También se han registrado efectos negativos de la UVB en los movimientos respiratorios de larvas del “pez plano” *Pleuronectes platessa* expuesto a hipoxia (Freitag *et al.* 1998) y un mayor consumo de oxígeno y actividad muscular a mayores irradiancias de UVB en juveniles de la “trucha arco iris” (*Oncorhynchus mykiss*) (Alemanni *et al.* 2003).

#### *Efectos subletales de la RUV en el zooplancton: migración vertical*

Con respecto a la orientación espacial de la natación, es sabido que muchas especies de zooplancton pueden alterar su distribución vertical en respuesta a la RUV. Por ejemplo *Daphnia pulicaria* permaneció cerca de la superficie cuando se bloqueaba la RUV, pero nadaba hacia aguas más profundas cuando recibía la radiación solar total (Leech y Williamson 2001). De manera similar, varios organismos zooplanctónicos de un lago de Pensilvania (Estados Unidos) tales como *Daphnia catawba* también evaden la RUV de la superficie del lago, incluso cuando esto los lleva a estar más expuestos a predadores visuales, lo cual significa que la distribución vertical del zooplancton en este caso es la resultante de la RUV y la potencial vulnerabilidad a la predación (Boeing *et al.* 2004). Alonso y otros (2004) realizaron un estudio en tres lagos interconectados, con distintas penetración de la RUV en la columna de agua. En las muestras de los 2 lagos más transparentes, el porcentaje de la población de zooplancton en aguas superficiales disminuyó durante los meses de mayor radiación, mientras que este patrón no fue observado en el lago menos transparente. Dicho comportamiento no tuvo correlación con



otros factores tales como la temperatura, comida o predadores, pero sí con la irradiancia RUV presente en las capas superficiales del lago, lo cual sugiere que este comportamiento es un efecto directo de la RUV (Alonso *et al.* 2004). Estos comportamientos en los que los cladóceros evitan las aguas superficiales altas en RUV están parcialmente de acuerdo con los estudios de Storz y otros (1998), quienes expusieron en el laboratorio al cladócero *Daphnia magna* a RUV monocromática y observaron una respuesta negativa (es decir que los individuos escapaban de la fuente de radiación). Sin embargo, los individuos se acercaban a la fuente de radiación si la radiación era visible (Storz y Paul 1998). En la naturaleza, la RUV y la luz visible están presentes al mismo tiempo, aunque puede variar su proporción relativa.

Si bien esta mención de los trabajos no pretende ser una revisión extensiva, es suficiente para asegurar que hasta hoy existen abundantes evidencias para aseverar que la RUV puede tener efectos subletales en el zooplancton dominante tanto en ecosistemas de agua dulce (por ejemplo los cladóceros) como en los marinos (como los copépodos).

### *Justificación general de la tesis*

La idea de la presente tesis es una extensión natural de mi tesis de licenciatura. En esos experimentos, al evaluar la mortalidad de cladóceros expuestos a la RUV (Gonçalves *et al.* 2002), hubo dos observaciones que actuaron como disparadoras de preguntas: 1) antes de perecer, los cladóceros perdían primero la movilidad en forma más o menos gradual hasta que ya se consideraban muertos (dosis letal de RUV), 2) si se detenía la exposición en el momento oportuno, el individuo podía seguir viviendo (dosis subletal). Por lo tanto, surgieron preguntas inevitables: ¿cuál es la causa inmediata, el mecanismo que precede a la mortalidad? ¿el organismo deja de alimentarse, de respirar? Dado que el movimiento está involucrado en el apareamiento, alimentación, escape de predadores, etc., si la radiación no los mata, ¿puede esa disminución de la movilidad tener algún efecto en la población? ¿se puede cuantificar esa falta de movilidad? Ello llevó a la búsqueda de los efectos subletales de la RUV en la movilidad del zooplancton. A su vez, como se detalló más arriba, la RUV puede tener efectos indirectos en el zooplancton por ejemplo modificando la calidad, cantidad y tamaño del alimento, lo cual configura muchas relaciones interactivas de la RUV con distintos aspectos ecológicos, como la alimentación. En ambientes con grandes variaciones de los factores abióticos es deseable también contar con un panorama no sólo de las respuestas del herbívoro a la RUV, sino también de las variaciones de dichas variables físicas a lo largo de un período considerable de tiempo, con el objetivo de comprender los alcances ecológicos de las observaciones puntuales (Banas *et al.* 2005). Esto supone un enorme trabajo y fue posible en el capítulo 2, para una de las especies de zooplancton consideradas en esta tesis, poniendo énfasis en las respuestas fisiológicas de las especies que conforman el alimento del zooplancton.

Las especies estudiadas en el presente trabajo son el cladóceros de agua dulce *Daphnia spinulata* y el copépodo marino *Acartia clausi*, ambos crustáceos dominantes del zooplancton, al menos en parte del año en sus respectivos ambientes. El cladóceros fue elegido desde el principio, el copépodo se presentó como una oportunidad posterior para ampliar el plan original de tesis. *D. spinulata* se toma en el capítulo 3 como organismo modelo para estudiar la movilidad desde el punto de vista de la velocidad de desplazamiento y de la orientación del individuo. La laguna que comprende su hábitat y algunos factores abióticos son comunes al capítulo 2. Sin embargo, el enfoque es completamente distinto y complementario, por lo cual se presentan eventualmente algunas figuras que son similares pero tienen en cuenta distintos datos o bien presentan datos de

este capítulo y del capítulo anterior a modo de comparación. Hasta donde se sabe, para las especies de zooplankton consideradas aquí, no existen estudios acerca de los efectos subletales de la RUV natural en el movimiento en sentido amplio. Sumado a ello, un punto importante a destacar de cada uno de los capítulos es que se trabajó con radiación natural, lo cual evita todas las complicaciones y limitaciones de extrapolar estudios de laboratorio (con fuentes artificiales de radiación) a la naturaleza.

Otro punto valioso de la presente tesis es la realización de una serie anual de experimentos con la movilidad de un cladóceros dominante en una laguna eutrófica (capítulo 3) y *simultáneamente* el estudio de la respuesta de su propia comunidad fitoplanctónica a los mismos niveles y variaciones de la radiación. Este tipo de serie de datos es poco común y provee información sumamente rica para explicar en su contexto ecológico las respuestas observadas y permite ponderar mejor los factores intervinientes. Adicionalmente, estos experimentos en conjunto permiten disminuir la limitación de los estudios fragmentados en el tiempo, sobre todo en sistemas variables como la laguna estudiada en los capítulos 2 y 3. El gran volumen de información y la presencia de más de una hipótesis, sin embargo, juegan en contra de la claridad cuando se intenta presentar todo el sistema con sus respuestas dentro de la misma sección. Ello ha constituido un motivo convincente para dividir la presentación del trabajo en dos capítulos, con hipótesis distintas. Una vez que se investiga el alimento (capítulo 2) y la movilidad (capítulo 3), es esperable un tercer paso que estudie otro aspecto que involucra la movilidad (a nivel sub-individual): la alimentación. Logísticamente, la realización de una tercera serie temporal simultánea en la Laguna Cacique Chiquichano está más allá del alcance de esta tesis. Sumado a ello, en el año 2004 se presentó la posibilidad de realizar un estudio en latitudes medias del hemisferio norte, pero con un copépodo marino (*A. clausi*). Si bien esta especie no está relacionada con el ambiente de *D. spinulata*, tiene un papel muy importante como consumidor en su ambiente, por lo que pareció una excelente oportunidad para ampliar el enfoque de la tesis, e incluir en la consideración a una especie marina de gran importancia ecológica. Aunque los trabajos no sean comparativos directamente, los estudios de dos especies distintas y de ambientes distintos, dan una idea general del posible alcance de la RUV como factor de estrés subletal y proveer una línea de base para futuros estudios. Los estudios con ambas especies están dentro del alcance del título de la presente tesis: crustáceos planctónicos. De esta forma, la tesis brinda puntos de partida para estudios ecológicos acerca de los efectos subletales de la radiación solar en el zooplankton en movimiento, en su alimento y en su alimentación.

*Objetivos e hipótesis*

De acuerdo a lo expuesto, la presente tesis se propone como objetivo general investigar acerca de los efectos de la RUV en el alimento, movilidad y alimentación de crustáceos zooplanctónicos, mediante un enfoque experimental.

Las hipótesis a evaluar son las siguientes:

- a) la radiación ultravioleta produce una fotoinhibición significativa en el alimento del zooplancton y la respuesta está modulada por la composición de la comunidad de productores primarios (sensibilidad diferencial) (capítulo 2)
- b) la radiación ultravioleta produce una disminución en la movilidad a nivel individual (locomoción, orientación vertical) (capítulo 3)
- c) la radiación ultravioleta afecta negativamente la alimentación (movilidad a nivel sub-individual) de los crustáceos planctónicos expuestos (capítulo 4)

*Estructura de la tesis*

Teniendo en cuenta lo mencionado más arriba, la tesis ha sido estructurada de la siguiente manera: luego del presente **capítulo 1** introductorio, el **capítulo 2** estudia las respuestas del fitoplancton evaluando la hipótesis **a)** para explorar los posibles factores que determinan la variabilidad a lo largo del período de estudio, principalmente desde el punto de vista del alimento disponible para el zooplancton. El **capítulo 3** evalúa la hipótesis **b)** por medio del estudio de las respuestas del cladóceros *D. spinulata* a la RUV, en términos de movilidad grupal e individual (orientación y velocidad de natación). El **capítulo 4** investiga los efectos sub-letales de la RUV evaluando la hipótesis **c)** en el copépodo marino *Acartia clausi* estimado mediante tasas de alimentación (nivel sub-individual). Finalmente, en el **capítulo 5** se exponen las **conclusiones generales** del presente trabajo.

**Literatura citada**

- Aarseth KA, Schram TA (2002) Suceptibility to ultraviolet radiation in *Calanus finmarchicus* and *Lepeophtheirus salmonis* and the adaptive value of external filtering (Crustacea: Copepoda). *Journal of Plankton Research* 24: 661-679
- Alekseev V (2004) Effects of diel vertical migration on ehippia production in *Daphnia*. *Journal of Limnology* 63 (Suppl. 1): 1-6
- Alemanni ME, Lozada M, Zagarese HE (2003) Assessing sublethal effects of ultraviolet radiation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Photochemical and Photobiological Sciences* 2: 867-870
- Alonso C, Zagarese HE, Rocco V, Barriga JP, Battini MA (2004) Surface avoidance by freshwater zooplankton: Field evidence on the role of ultraviolet radiation. *Limnology and Oceanography* 49: 225-232
- Alonso Rodriguez C, Browman HI, Runge JA, St-Pierre JF (2000a) Impact of solar ultraviolet radiation on hatching of a marine copepod, *Calanus finmarchicus*. *Marine Ecology Progress Series* 193: 85-93
- Alonso Rodriguez C, Browman HI, St-Pierre JF (2000b) High survival of neustonic zoea I larvae of American lobster *Homarus americanus* following short-term exposure to ultraviolet radiation (280 to 400 nm). *Marine Ecology Progress Series* 193: 305-309
- Ambler JW, Frost BW (1974) The feeding behavior of a predatory planktonic copepod, *Tortanus discaudatus*. *Limnology and Oceanography* 19: 446-452
- Antunes SC, Castro BB, Gonçalves F (2004) Effect of food level on the acute and chronic responses of daphnids to lindane. *Environmental Pollution* 127: 367-375
- Arts MT, Robarts RD, Kasai F, Waiser MJ, Tumber VP, Plante AJ, Rai H, de Lange HJ (2000) The attenuation of ultraviolet radiation in high dissolved organic carbon waters of wetlands and lakes on the northern Great Plains. *Limnology and Oceanography* 45: 292-299
- Atkinson A (1998) Life cycle strategies of epipelagic copepods in the Southern Ocean. *Journal of Marine Systems* 15: 289-311
- Atkinson RJ, Matthews WA, Newman PA, Plumb RA (1989) Evidence of the mid-latitude impact of Antarctic ozone depletion. *Nature* 340: 290-294
- Banas D, Grillas P, Auby I, Lescuyer F, Coulet E, Moreteau J-C, Millet B (2005) Short time scale changes in underwater irradiance in a wind-exposed lagoon (Vaccarès

- lagoon, France): efficiency of infrequent field measurements of water turbidity or weather data to predict irradiance in the water column. *Hydrobiologia* 551: 3-16
- Banaszak AT (2003) Photoprotective physiological and biochemical responses by marine and freshwater organisms to UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) UV effects in aquatic organisms and ecosystems. The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- Begon M, Townsend CR, Harper JL (2006) Ecology: from individuals to ecosystems. Blackwell Publishing, Malden (USA)
- Boeing WJ, Leech DM, Williamson CE, Cooke S, Torres L (2004) Damaging UV radiation and invertebrate predation: conflicting selective pressures for zooplankton vertical distribution in the water column of low DOC lakes. *Oecologia* 138: 603-612
- Borgeraas J, Hessen DO (2000) UV-B induced mortality and antioxidant enzyme activities in *Daphnia magna* at different oxygen concentrations and temperatures. *Journal of Plankton Research* 22: 1167-1183
- Borgeraas J, Hessen DO (2002) Variations of antioxidant enzymes in *Daphnia* species and populations as related to ambient UV exposure. *Hydrobiologia* 477: 15-30
- Bracchini L, Loïselle S, Dattilo AM, Mazzuoli S, Cozar A, Rossi C (2004) The spatial distribution of optical properties in the ultraviolet and visible in an aquatic ecosystem. *Photochemistry and Photobiology* 80: 139-149
- Browman HI (2003) Assessing the impacts of solar ultraviolet radiation on the early life stages of crustacean zooplankton and ichthyoplankton in marine coastal systems. *Estuaries* 26: 30-39
- Browman HI, Alonso Rodríguez C, Béland F, Cullen JJ, Davis RF, Kouwenberg JHM, Kuhn PS, McArthur BL, Runge JA, St-Pierre JF, Vetter RD (2000) Impact of ultraviolet radiation on marine crustacean zooplankton and ichthyoplankton: a synthesis of results from the estuary and Gulf of St. Lawrence, Canada. *Marine Ecology Progress Series* 199: 293-311
- Browman HI, Vetter RD, Alonso Rodríguez C, Cullen JJ, Davis FR, Lynn E, St-Pierre JF (2003) Ultraviolet (280 - 400 nm) induced DNA damage in the eggs and larvae of *Calanus finmarchicus* G. (Copepoda) and atlantic cod (*Gadus morhua*). *Photochemistry and Photobiology* 77: 2-29
- Bundy MH, Gross TF, Vanderploeg HA, Strickler JR (1998) Perception of inert particles by calanoid copepods: behavioral observations and a numerical model. *Journal of Plankton Research* 20: 2129-2152

- Bundy MH, Vanderploeg HA (2002) Detection and capture of inert particles by calanoid copepods: the role of the feeding current. *Journal of Plankton Research* 24: 215-223
- Clarke GL (1930) Change of phototropic and geotropic signs in *Daphnia* induced by changes of light intensity. *Journal of Experimental Biology* 7: 109-131
- Clarke GL (1932) Quantitative aspects of the change of phototropic sign in *Daphnia*. *Journal of Experimental Biology* 9: 180-211
- Cohen JH, Forward RB, Jr. (2005a) Diel vertical migration of the marine copepod *Calanopia americana*. I. Twilight DVM and its relationship to the diel light cycle. *Marine Biology* 147: 387-398
- Cohen JH, Forward RB, Jr. (2005b) Diel vertical migration of the marine copepod *Calanopia americana*. II. Proximate role of exogenous light cues and endogenous rhythms. *Marine Biology* 147: 399-410
- Cooke SL, Williamson CE, Saros JE (2006) How do temperature, dissolved organic matter and nutrients influence the response of *Leptodiaptomus ashlandi* to UV radiation in a subalpine lake? *Freshwater Biology* 51: 1827-1837
- Cywinska A, Crump D, Lean D (2000) Influence of UV radiation on four freshwater invertebrates. *Photochemistry and Photobiology* 72: 652-659
- Davenport CB, Lewis FT (1899) Phototaxis of *Daphnia*. *Science* 9: 368-368
- Davenport J, Healy A, Casey N, Heffron JJA (2004) Diet-dependent UVAR and UVBR resistance in the high shore harpacticoid copepod *Tigriopus brevicornis*. *Marine Ecology Progress Series* 276: 299-303
- De Lange HJ, Lürling M (2003) Effects of UV-B irradiated algae on zooplankton grazing. *Hydrobiologia* 491: 133-144
- De Lange HJ, van Reeuwijk PL (2003) Negative effects of UVB-irradiated phytoplankton on life history traits and fitness of *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 48: 678-686
- de los Ríos P (2004) Lethal effects of ultraviolet radiation under different concentrations of dissolved organic carbon on *Neobosmina chilensis* (DADAY, 1902) (Cladocera, Bosminidae). *Crustaceana* 77: 989-995
- de los Ríos P (2005) Survival of pigmented freshwater zooplankton, exposed to artificial ultraviolet radiation and two levels of dissolved organic carbon. *Polish Journal of Ecology* 53: 113-116
- de los Ríos P, Soto D (2005) Survival of two species of crustacean zooplankton under two chlorophyll concentrations and protection from or exposure to natural ultraviolet radiation. *Crustaceana* 78: 163-169



- Farman JC, Gardiner BG, Shanklin JD (1985) Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO<sub>x</sub>/NO<sub>x</sub> interaction. *Nature* 315: 207-210
- Fischer JM, Fields PA, Pryzbylkowski PG, Nicolai JL, Neale PJ (2006) Sublethal exposure to UV radiation affects respiration rates of the freshwater cladoceran *Daphnia catawba*. *Photochemistry and Photobiology* 82: 547-550
- Freitag JF, Steeger HU, Storz UC, Paul RJ (1998) Sublethal impairment of respiratory control in plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae induced by UV-B radiation, determined using a novel biocybernetical approach. *Marine Biology* 132: 1-8
- Friedberg EC, Walker GC, Siede W (1995) DNA repair and mutagenesis. American Society of Microbiology Press, Washington, D.C.
- Gill CW, Poulet SA (1988) Impedance traces of copepod appendage movements illustrating sensory feeding behaviour. *Hydrobiologia* 167/168: 303-310
- Gleason DF, Edmunds PJ, Gates RD (2005) Ultraviolet radiation effects on the behavior and recruitment of larvae from the reef coral *Porites astreoides*. *Marine Biology* 148: 503-512
- Gonçalves RJ, Villafañe VE, Helbling EW (2002) Photorepair activity and protective compounds in two freshwater zooplankton species (*Daphnia menucoensis* and *Metacyclops mendocinus*) from Patagonia, Argentina. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 996-1000
- Gorski PR, Dodson SI (1996) Free-swimming *Daphnia pulex* can avoid following Stokes' law. *Limnology and Oceanography* 41: 1815-1821
- Grad G, Williamson CE (2001) Zooplankton survival and reproduction responses to damaging UV radiation: A test of reciprocity and photoenzymatic repair. *Limnology and Oceanography* 46: 584-591
- Greene CH (1988) Foraging tactics and prey-selection patterns of omnivorous and carnivorous calanoid copepods. *Hydrobiologia* 167-168: 295-302
- Gries T, Jöhnk K, Fields D, Strickler JR (1999) Size and structure of "footprints" produced by *Daphnia*: impact of animal size and density gradients. *Journal of Plankton Research* 21: 509-523
- Häder D-P, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (1998) Effects on aquatic ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 53-68
- Häder D-P, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (2007) Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Sciences* 6: 267-285

- Hargreaves BR (2003) Water column optics and penetration of UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) UV effects in aquatic organisms and ecosystems. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 59-105
- Irigoiien X, Conway DVP, Harris RP (2004) Flexible diel vertical migration behaviour of zooplankton in the Irish Sea. *Marine Ecology Progress Series* 267: 85-97
- Kane K, Pomory CM (2001) The effects of UV-B radiation on the reproduction and mortality of *Tigriopus californicus* (Copepoda: Harpacticoida). *Hydrobiologia* 444: 213-215
- Karentz D, Lutze LH (1990) Evaluation of biologically harmful ultraviolet radiation in Antarctica with a biological dosimeter designed for aquatic environments. *Limnology and Oceanography* 35: 549-561
- King CE, Miracle MR (1995) Diel vertical migration by *Daphnia longispina* in a Spanish lake: Genetic sources of distributional variation. *Limnology and Oceanography* 40: 226-231
- Kirchhoff VWJH, Schuch NJ, Pinheiro DK, Harris JM (1996) Evidence for an ozone hole perturbation at 30° South. *Atmospheric Environment* 30: 1481-1484
- Kirk JTO (1994) Optics of UV-B radiation in natural waters. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 43: 1-16
- Kramer DL, McLaughlin RL (2001) The behavioral ecology of intermittent locomotion. *Amer. Zool.* 41: 137-153
- Kuffner IB (2001) Effects of ultraviolet (UV) radiation on larval settlement of the reef coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Ecology Progress Series* 217: 251-261
- Lacuna DG, Uye S-I (2000) Effect of UVB radiation on the survival, feeding, and egg production of the brackish-water copepod, *Sinocalanus tenellus*, with notes on photoreactivation. *Hydrobiologia* 434: 73-79
- Lacuna DG, Uye S-I (2001) Influence of mid-ultraviolet (UVB) radiation on the physiology of the marine planktonic copepod *Acartia omorii* and the potential role of photoreactivation. *Journal of Plankton Research* 23: 143-155
- Lampert W (1987) Feeding and nutrition in *Daphnia*. In: Peters RH, De Bernardi R (eds) *Daphnia*. Memorie Dell'istituto Italiano Di Idrobiologia, Verbania Pallanza, Italy, pp 143-192
- Lampert W (1997) Zooplankton research: the contribution of limnology to general ecological paradigms. *Aquatic Ecology* 31: 19-27

- Lampert W, Sommer U (1997) *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*. Oxford University Press, Inc., New York, NY
- Leech DM, Williamson CE (2001) *In situ* exposure to ultraviolet radiation alters the depth distribution of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 46: 416-420
- Lenz J (2000) Introduction. In: Harris R, Wiebe P, Lenz J, Skjoldal H-R, Huntley M (eds) *ICES Zooplankton Methodology Manual*. Academic Press, San Diego, CA, pp 1-32
- Lincoln RJ (1971) Observations of the effects of changes in hydrostatic pressure and illumination on the behaviour of some planktonic crustaceans. *Journal of Experimental Biology* 54: 677-688
- Luecke C, O'Brien WJ (1983) Photoprotective pigments in a pond morph of *Daphnia middendorffiana*. *Arctic* 36: 365-368
- MacFadyen EJ, Williamson CE, Grad G, Lowery M, Wade JH, Mitchell DL (2004) Molecular response to climate change: temperature dependence of UV-induced DNA damage and repair in the freshwater crustacean *Daphnia pulex*. *Global Change Biology* 10: 408-416
- Madronich S (1993) The atmosphere and UV-B radiation at ground level. In: Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W (eds) *Environmental UV photobiology*. Plenum Press, New York, pp 1-39
- Marinone MC, Menu-Marque S, Añón Suárez DA, Diéguez MC, Pérez P, De los Ríos P, Soto D, Zagarese HE (2006) UV effects on aquatic and coastal ecosystems UV radiation as a potential driving force for zooplankton community structure in Patagonian lakes. *Photochemistry and Photobiology* 82: 962-971
- Mazzocchi MG, Paffenhöfer G-A (1999) Swimming and feeding behaviour of the planktonic copepod *Clausocalanus furcatus*. *Journal of Plankton Research* 21: 1501-1518
- Mitchell DL, Karentz D (1993) The induction and repair of DNA photodamage in the environment. In: Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W (eds) *Environmental UV Photobiology*. Plenum Press, New York, pp 345-377
- Morris DP, Zagarese HE, Williamson CE, Balseiro EG, Hargreaves BR, Modenutti BE, Moeller R, Quemaliños CP (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40: 1381-1391
- Moss B (1998) *Ecology of Fresh Waters - Man and Medium, Past to Future*. Blackwell Science, Oxford

- Newman SJ, Nicol S, Ritz D, Marchant HJ (1999) Susceptibility of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) to ultraviolet radiation. *Polar Biology* 22: 50-55
- Nielsen TG, Sabatini ME (1996) Role of cyclopoid copepods *Oithona* spp. in North Sea plankton communities. *Marine Ecology Progress Series* 139: 79-93
- Orce L, Helbling EW (1997) Latitudinal UVR-PAR measurements in Argentina: extent of the 'ozone hole'. *Global and Planetary Change* 15: 113-121
- Rautio M, Korhola A (2002) UV-induced pigmentation in subarctic *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 47: 295-299
- Reede T, Ringelberg J (1998) Differential life history responses of several pelagic *Daphnia* clones differing in migratory behaviour. *Aquatic Ecology* 32: 245-253
- Ringelberg J, Van Gool E (2003) On the combined analysis of proximate and ultimate aspects in diel vertical migration (DVM) research. *Hydrobiologia* 491: 85-90
- Rowland FS (2006) Stratospheric ozone depletion. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A: Biological Sciences* 361: 769-790
- Sanders RW, Macaluso AL, Sardina TL, Mitchell DL (2005) Photoreactivation in two freshwater ciliates: differential responses to variations in UV-B flux and temperature. *Aquatic Microbial Ecology* 40: 283-292
- Siebeck O, Bohm U (1994) Challenges for an appraisal of UV-B effects upon planktonic crustaceans under natural radiation conditions with a non-migrating (*Daphnia pulex* obtusa) and a migrating cladoceran (*Daphnia galeata*). *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 43: 197-206
- Sieburth JM, Smetacek V, Lenz J (1978) Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography* 23: 1256-1263
- Souza MS, Modenutti BE, Balseiro EG (2007) Antioxidant defences in planktonic crustaceans exposed to different underwater light irradiances in Andean lakes. *Water, Air, and Soil Pollution* 183: 49-57
- Stearns SC (1975) Light responses of *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography* 20: 564-570
- Storz UC, Paul RJ (1998) Phototaxis in water fleas (*Daphnia magna*) is differently influenced by visible and UV light. *Journal of Comparative Physiology A* 183: 709-717
- Strickler JR (1977) Observation of swimming performances of planktonic copepods. *Limnology and Oceanography* 22: 165-170

- Tartarotti B, Cabrera S, Psenner R, Sommaruga R (1999) Survivorship of *Cyclops abyssorum tatricus* (Cyclopoida, Copepoda) and *Boeckella gracilipes* (Calanoida, Copepoda) under ambient levels of solar UVB radiation in two high-mountain lakes. *Journal of Plankton Research* 21: 549-560
- Tartarotti B, Cravero W, Zagarese HE (2000) Biological Weighting Function for the mortality of *Boeckella gracilipes* (Copepoda, Crustacea) derived from experiments with natural solar radiation. *Photochemistry and Photobiology* 72: 314-319
- Tedetti M, Sempere R (2006) Penetration of ultraviolet radiation in the marine environment. A Review. *Photochemistry and Photobiology* 82: 389-397
- Villafañe VE, Helbling EW, Zagarese HE (2001) Solar ultraviolet radiation and its impact on aquatic systems of Patagonia, South America. *AMBIO* 30: 112-117
- Vincent WF, Neale PJ (2000) Mechanisms of UV damage to aquatic organisms. In: de Mora S, Demers S, Vernet M (eds) *The effects of UV radiation on marine ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 149-176
- Williamson CE, Hargreaves BR, Orr PS, Lovera PA (1999) Does UV play a role in changes in predation and zooplankton community structure in acidified lakes? *Limnology and Oceanography* 44: 774-783
- Williamson CE, Olson OG, Lott SE, Walker ND, Engstrom DR, Hargreaves BR (2001) Ultraviolet radiation and zooplankton community structure following deglaciation in Glacier Bay, Alaska. *Ecology* 82: 1748-1760
- Yamazaki H, Squires KD (1996) Comparison of oceanic turbulence and copepod swimming. *Marine Ecology Progress Series* 144: 299-301
- Young S (1974) Directional differences in the colour sensitivity of *Daphnia magna*. *Journal of Experimental Biology* 61: 261-267
- Young S, Watt P (1993) Behavioral mechanisms controlling vertical migration in *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 38: 70-79
- Zagarese HE, Cravero W, González P, Pedrozo F (1998) Copepod mortality induced by fluctuating levels of natural ultraviolet radiation simulating vertical water mixing. *Limnology and Oceanography* 43: 169-174
- Zagarese HE, Feldman M, Williamson CE (1997) UV-B-induced damage and photoreactivation in three species of *Boeckella* (Copepoda, Calanoida). *Journal of Plankton Research* 19: 357-367
- Zagarese HE, Williamson CE (1994) Modeling the impacts of UV-B radiation on ecological interactions in freshwater and marine ecosystems. In: Biggs RH, Joyner

MEB (eds) Stratospheric ozone depletion/UV-B radiation in the biosphere, pp 315-328

Zellmer ID (1998) The effect of solar UVA and UVB on subarctic *Daphnia pulicaria* in its natural habitat. *Hydrobiologia* 379: 55-62

Zellmer ID, Arts MT, Abele D, Humbeck K (2004) Evidence of sublethal damage in *Daphnia* (Cladocera) during exposure to solar UV radiation in Subarctic ponds. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 36: 370-377

Zellmer ID, Arts MT, Šustr V (2006) Food chain effects of sublethal ultraviolet radiation on subarctic *Daphnia pulex* - a field and laboratory study. *Archiv für Hydrobiologie* 167: 515-531

## Capítulo 2

### **Presión de pastoreo y parámetros físicos en la sucesión de la comunidad de autótrofos de una laguna eutrófica en Patagonia a lo largo de un ciclo anual**

#### **Resumen**

Un aspecto ecológicamente relevante del movimiento del zooplancton es la obtención de su alimento y la calidad de éste para el consumidor. En la laguna Cacique Chquichano (Trelew, Argentina), el alimento del cladóceros *Daphnia spinulata* está sometido durante todo el año a grandes rangos de radiación solar y temperatura, lo cual condiciona las especies disponibles para los herbívoros. Con el objetivo de estudiar las variaciones en la comunidad de productores primarios, se realizó una serie de tiempo en la que se evaluaron los efectos de la RUV en parámetros fisiológicos (rendimiento fotosintético) y se evaluó la composición y diversidad de la comunidad de fitoplancton de la laguna en relación con parámetros físicos y biológicos (abundancia de predadores). La comunidad de productores mostró una alternancia de diatomeas y cianobacterias con un patrón estacional (con abundancias dominantes durante otoño-primavera y verano-invierno, respectivamente). La RUV provocó una inhibición del fotosistema II (escala de horas) durante todo el ciclo anual, aunque la mayor inhibición fue causada por PAR. La actividad inicial del fotosistema II sólo pudo ser recuperada en casos aislados. En escalas de tiempo de semanas-meses las variaciones del rendimiento fotosintético a lo largo del año mostraron un comportamiento diferencial según la influencia relativa de cianobacterias o diatomeas/clorófitas. *D. spinulata* y afecta la biomasa, riqueza específica y diversidad del fitoplancton. Las variaciones estacionales observadas son probablemente el resultado de un balance entre la presión de pastoreo de los herbívoros y la radiación solar.

## Introducción

Un aspecto ecológicamente relevantes del movimiento del zooplancton es la obtención de su alimento (Kramer y McLaughlin 2001). Tanto cladóceros como copépodos pueden consumir un amplio rango de tamaños celulares (Gliwicz y Umana 1994; Sommer y Sommer 2006). Al alimentarse, un grupo funcional de zooplancton herbívoro puede ejercer presiones en la comunidad de productores: en escalas temporales, influenciando la estructura de la comunidad en ciclos estacionales (Gołdyn y Kowalczywska-Madura 2008) o diarios (Roman *et al.* 1988); en escalas espaciales, por ejemplo con presión diferencial en distintas profundidades (Kouassi *et al.* 2001; Balseiro *et al.* 2004) y en escalas funcionales, por ejemplo seleccionando distintas especies según características tales como tamaño celular (Peters *et al.* 1984; Meise *et al.* 1985; Jürgens *et al.* 1994; Tóth y Kato 1997; Atienza *et al.* 2006; Sommer y Sommer 2006; Agasild *et al.* 2007), calidad nutricional (Butler *et al.* 1989; Kasprzak y Lathrop 1997), etc. Las presiones diferenciales del herbívoro pueden, a su vez, afectar a sus competidores y con ellos la composición de la comunidad de consumidores (Landry y Lehner-Fournier 1988), modulando el impacto general de los herbívoros en los productores (Cyr y Curtis 1999). Por otra parte, una menor calidad de alimento puede determinar un mayor costo energético del herbívoro invertido en ingestión, digestión, etc. (Richman y Dodson 1983).

El alimento disponible para el zooplancton dependerá no sólo de los factores bióticos como predación y competencia en la comunidad natural, sino de los factores abióticos que modulen su crecimiento, como por ejemplo la temperatura, la radiación solar, etc. La radiación ultravioleta solar (RUV, 280-400 nm), puede ser un factor de estrés en comunidades de fitoplancton (Helbling *et al.* 2005; Häder *et al.* 2007) y la sensibilidad diferencial a la RUV de las distintas especies puede llevar a un cambio en la composición de la comunidad (Worrest *et al.* 1981). Desde la perspectiva del consumidor primario, se pueden mencionar dos vías (que pueden actuar en forma independiente o conjunta) por las que un efecto de la RUV en el productor podría en parte disminuir la transferencia de nutrientes y energía hacia los herbívoros: a) disminuyendo de alguna manera la calidad del alimento disponible para algunos herbívoros (Scott *et al.* 1999; De Lange y Lüring 2003; De Lange y van Reeuwijk 2003; Germ *et al.* 2004; Zellmer *et al.* 2006), b) afectando negativamente la cantidad (biomasa) disponible (Ochs 1997; Häder *et al.* 1998). La RUV puede afectar no sólo el material genético del fitoplancton (Sinha y Häder 2002) sino



también su capacidad fotosintética (Helbling *et al.* 2003; Villafañe *et al.* 2003). Esta fotoinhibición (que también puede ser causada por altos niveles de radiación visible [PAR, 400-700 nm]) puede ser temporal (reversible o dinámica) o irreversible (crónica). En presencia de radiación en exceso, el rendimiento fotosintético del fotosistema II (PS II) disminuye y la energía en exceso es disipada como calor. Las mediciones basadas en la fluorescencia del PS II permiten evaluar el impacto de la radiación en escalas de tiempo relativamente cortas (minutos-horas). En este sentido, la evaluación de la eficiencia fotosintética del PS II puede brindar una medida casi instantánea del estado fisiológico promedio de los productores autótrofos de la comunidad natural. Evaluar el comportamiento fotosintético de las células ante la radiación solar brinda una herramienta para estimar cómo podría ser afectado su crecimiento (en escalas de tiempo mayores) y por ende la disponibilidad y potencialmente la calidad de alimento para el zooplancton.

La comunidad planctónica de la laguna Cacique Chiquichano está expuesta durante el ciclo anual a altas dosis de radiación solar y a un amplio rango de temperaturas e intensidades de viento, lo que la hace especial para estudios en fotobiología (Gonçalves *et al.* 2002; Klisch *et al.* 2005). La atenuación de la radiación solar en la columna de agua dependerá de las variaciones temporales en las propiedades químico-físicas y biológicas del ambiente (Bracchini *et al.* 2004) y por lo tanto es necesario el estudio de dichas propiedades en series temporales que incluyan experimentos con factores relacionados al grupo biológico de interés. El objetivo general de este capítulo es comprender los factores que afectan la variabilidad y capacidad fotosintética del alimento del zooplancton (mayormente microalgas) en el contexto del estudio de la alimentación y/o movilidad del zooplancton (ver capítulos siguientes). Para ello se estudian las variaciones de la comunidad fitoplanctónica a lo largo de un año y durante el mismo período en el que se estudió la movilidad del zooplancton (ver capítulo 3), en términos de a) la respuesta fisiológica (rendimiento fotosintético del PS II) ante la RUV; b) cantidad y composición de la comunidad de productores y c) otras variables físicas (irradiancia en la columna de agua, etc.). En el mismo período de tiempo se realizaron experimentos de movilidad de cladóceros de la misma laguna (ver capítulo 3). Las hipótesis de trabajo son a) la RUV provocará una fotoinhibición significativa de la respuesta fotosintética y b) la comunidad de fitoplancton mostrará distintas respuestas según su composición específica (sensibilidad diferencial).

## **Materiales y métodos**

### *Zona de estudio y variables meteorológicas*

El cuerpo de agua del que se tomaron las muestras es una laguna urbana eutrófica de poca profundidad (Laguna Cacique Chiquichano, 180000 m<sup>2</sup>; profundidad media ~2 m), situada en la ciudad de Trelew (43° 14' S, 65° 18' W) en la costa de Patagonia central, Argentina. La ausencia de árboles y construcciones en las cercanías de las orillas y los característicos cielos despejados de la zona hacen propicio este cuerpo de agua para este tipo de estudios, ya que la superficie del agua puede recibir los valores máximos de radiación solar. Por el mismo motivo, el espejo de agua está expuesto durante todo el año a los vientos predominantes de la zona, con la consiguiente mezcla de la columna de agua (Gonzalez y Tappari 1995). Durante épocas estivales, se han reportado algunos macrófitos junto a las orillas (Rivera 1993). Esta laguna no tiene conexión con el mar y recibe aportes de la capa freática (Maldonado *et al.* 1994); sus aguas salobres (salinidad = 5.8) sostienen la actividad de tres niveles tróficos (fitoplancton y macroalgas como productores, microinvertebrados como consumidores primarios y vertebrados tales como aves acuáticas como consumidores secundarios), en los que los cladóceros utilizados en este estudio forman parte de los consumidores primarios (Gonzalez y Tappari 1995). Las variables meteorológicas (velocidad y dirección del viento, temperatura, etc.) fueron registradas continuamente (aproximadamente 1 dato cada 10 minutos) con una estación meteorológica Oregon Scientific (modelo WMR-918) ubicada en el laboratorio.

### *Muestreo de fitoplancton y agua*

Las muestras fueron obtenidas a lo largo de un ciclo anual, desde Febrero 2005 hasta Enero 2006, cada 2-4 semanas (20 muestreos en total). Las muestras de agua superficial se colectaron en una estación fija la tarde anterior al día de experimentación, con un bidón plástico lavado previamente con HCl 1N. Esta muestra de agua, conteniendo la comunidad natural de fitoplancton, fue utilizada luego en los experimentos (ver más adelante), para la determinación de la composición taxonómica del fitoplancton (a nivel de género), abundancia y concentración de clorofila *a* (cl-*a*). Adicionalmente, se midió la temperatura del agua superficial y se estimó el contenido de materia orgánica cromofórica disuelta (CDOM, del inglés *chromophoric dissolved organic matter*, ver más adelante). Las

muestras de agua fueron llevadas inmediatamente a la Estación de Fotobiología Playa Unión (tiempo de traslado < 40 min) y mantenidas durante la noche en una cámara de cultivo a 18 °C para ser utilizadas el día siguiente para los experimentos.

### *Muestreo de zooplancton*

Para tener un indicador de la presión de pastoreo sobre la comunidad de fitoplancton, se utilizó la abundancia del zooplancton. Conjuntamente con los muestreos de fitoplancton mencionados anteriormente se tomaron muestras de los crustáceos pelágicos presentes en la laguna para determinación de abundancia. Las muestras de zooplancton se obtuvieron con una red (200 µm tamaño de malla) que fue “arrastrada” horizontalmente en los 20 cm superficiales de la columna de agua durante las horas de luz. Los especímenes se transportaron inmediatamente al laboratorio en botellas de policarbonato de 2 l, con aislación lumínica y térmica. La comunidad de zooplancton consta típicamente de cladóceros *Daphnia spinulata* Birabén, 1917 (adultos de hasta 300 µm) y el copépodo ciclopoideo *Metacyclops mendocinus* (Wierzejski, 1892) y se hizo incapié en estas dos especies por ser las que más contribuyen al zooplancton de la Laguna C. Chiquichano en el ciclo anual. Con el tamaño del poro de la red utilizada se colectaron muy pocos rotíferos, pero esto no puede cuantificarse en forma segura, por lo tanto otros grupos como rotíferos y ciliados no fueron incluidos en las consideraciones para el muestreo. Una vez en el laboratorio, se fijaron muestras con formol (concentración final de formaldehído 0.2%) y el resto de los zoopláncteres colectados se utilizó para experimentos de movilidad (capítulo 3). Los conteos de cladóceros y copépodos se realizaron bajo lupa (Bausch & Lomb, modelo HG-121711) para calcular la abundancia de cada grupo. Dado que la comunidad de crustáceos planctónicos estuvo siempre representada por cladóceros y copépodos, los datos se expresan en porcentajes del total (abundancia relativa), individuos por litro (abundancia absoluta).

### *Experimentación: exposición y rendimiento fotosintético*

Los experimentos estuvieron orientados a evaluar el rendimiento fotosintético de las muestras a lo largo de un ciclo diario de exposición a la radiación solar y a su vez medir la capacidad de recuperación una vez que se eliminaba el estrés de radiación. Al día siguiente

de haber sido recolectadas, las muestras de agua fueron filtradas (malla de 100  $\mu$ m) para separar de los invertebrados herbívoros (copépodos, cladóceros, etc.), se agitaron cuidadosamente y se distribuyeron aleatoriamente en tubos de cuarzo (material transparente a la RUV) de 50 ml para la exposición a la radiación solar, que se realizó con los siguientes tres tratamientos:

- a) tratamiento P: muestras que recibieron sólo PAR. Los tubos fueron envueltos con el filtro Ultraphan 395 (UV Opak, Digefra; 50% de transmitancia a 395 nm);
- b) tratamiento PA: muestras que recibieron PAR + UVA. Estos tubos fueron envueltos con Ultraphan 320 (UV Opak, Digefra; 50% de transmitancia a 320 nm);
- c) tratamiento PAB: muestras que recibieron la radiación solar sin filtrar (PAR + UVA + UVB). Estos tubos no se cubrieron con filtro.

Los tubos de cuarzo con las muestras (por duplicado) fueron colocados en un baño de agua circulante ( $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y expuestos a la radiación solar, durante aproximadamente 8 h (las incubaciones comenzando generalmente a las 9 am). Las muestras no fueron previamente aclimatadas a la radiación solar: el experimento comenzó directamente con las mediciones iniciales y la exposición a la radiación natural. Al principio de la incubación ( $t_0$ ) y cada 1 h, cada tubo fue muestreado, utilizando una jeringa plástica que permitió obtener una muestra de 5 ml de agua de cada tubo de 50 ml. Esta muestra se transfirió inmediatamente a una cubeta de cuarzo (5 ml) y el rendimiento fotosintético (*photosynthetic quantum yield*,  $Y$ ) fue medido en esta cubeta utilizando un fluorómetro portátil de pulso de amplitud modulada (PAM, modelo "Water-PAM", Walz, Alemania). La fotoinhibición ( $F$ ) debida a UVA / UVB fue calculada de la siguiente manera:

$$F_{\text{UVA}} = (Y_{\text{P}} - Y_{\text{PA}}) / Y_{\text{P}} * 100$$

$$F_{\text{UVB}} = (Y_{\text{P}} - Y_{\text{PAB}}) - [(Y_{\text{P}} - Y_{\text{PA}})] / Y_{\text{P}} * 100$$

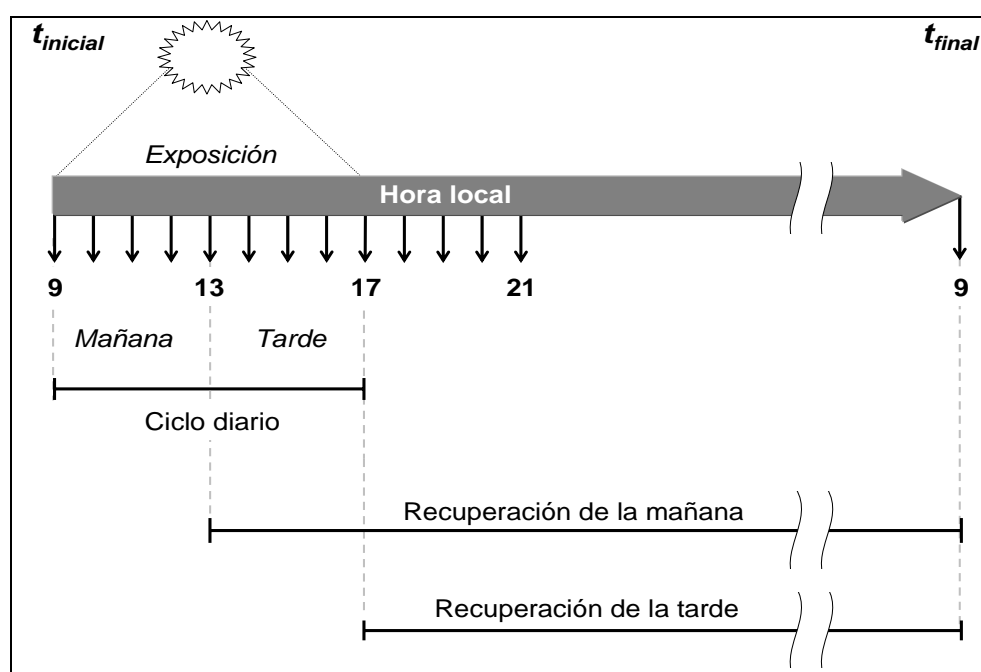
donde  $Y_{\text{P}}$ ,  $Y_{\text{PA}}$  e  $Y_{\text{PAB}}$  son los rendimientos fotosintéticos de las muestras expuestas en los tratamientos P, PA y PAB, respectivamente.

En dos oportunidades a lo largo del experimento (al mediodía y al finalizar la exposición) se separó un grupo de 12 tubos (2 grupos con los 3 tratamientos por duplicados, 2 x 3 x 2) que se quitaron de la radiación solar y se colocaron en oscuridad, para evaluar la

potencial recuperación en ausencia de radiación. El rendimiento fotosintético de estas muestras de “recuperación” se midió de la forma ya descrita, cada 1 h, durante el resto del día hasta aproximadamente las 21:00 hora local y posteriormente a la mañana siguiente. De esta forma, tres grupos de tubos fueron utilizados en cada experimento (según su exposición):

- 1) “Ciclo diario” (tubos expuestos durante el período de radiación solar, aproximadamente de 9:00 a 17:00 y medidos solamente mientras duró la exposición, cada 1 h);
- 2) “Recuperación del mediodía” (tubos expuestos hasta el mediodía y luego colocados en la oscuridad)
- 3) “Recuperación de la tarde” (tubos expuestos conjuntamente con los de “ciclo diario”, pero colocados en oscuridad al finalizar la exposición).

Finalmente, las muestras de los grupos de “recuperación” (del mediodía y de la tarde), fueron medidas una vez más luego de aproximadamente 24 h desde el comienzo de la exposición. El esquema de muestreos y exposición de cada grupo está indicado en la figura 1.



**Figura 1.** Esquema de la exposición y muestreo durante cada experimento. Las flechas descendentes indican un punto de medición de fluorescencia con el PAM. El tiempo transcurrido entre  $t_{inicial}$  y  $t_{final}$  es de aproximadamente 24 horas.

### *Pigmentos fotosintéticos*

La concentración de *chl-a* total ( $chl-a_{total}$ ) fue obtenida filtrando entre 10 y 250 ml de la muestra de agua en filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/F, 25 mm diámetro) y extrayendo los pigmentos fotosintéticos con metanol absoluto (Holm-Hansen y Riemann 1978). La fluorescencia de los extractos metanólicos fue medida con un fluorómetro (Turner Designs, modelo TD700) antes y después de ser acidificada (1N HCl); la  $chl-a_{total}$  fue calculada a partir de dichas mediciones (Holm-Hansen *et al.* 1965). El fluorómetro fue calibrado utilizando *chl-a* purificada de *Anacystis nidulans* (Sigma #C 6144). La *chl-a* de la fracción nanoplantónica ( $chl-a_{nano}$ ) se obtuvo prefiltrando la muestra con una malla de 20  $\mu m$  antes de realizar la extracción y lectura, como se mencionó para la  $chl-a_{total}$ .

### *Composición taxonómica, abundancia y diversidad*

Se tomaron muestras de agua de la laguna y se colocaron en cámaras de sedimentación para su posterior conteo, siguiendo el procedimiento detallado en Villafañe y Reid (1995). La identificación los conteos de células fueron llevados a cabo mediante la examinación de la muestra con un microscopio invertido (Leica DM IL). Dado que la orientación de este estudio no requiere una descripción detallada de las especies, la identificación se hizo a nivel de género. Para cada muestra se registró la riqueza específica ( $S$ , número total de especies presentes). Cada especie fitoplanctónica se asignó a una de las siguientes cuatro clases taxonómicas: Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae y Dinophyceae y la frecuencia relativa de cada clase fue calculada como

$$p_i = N_i / S$$

donde  $N_i$  es el número de especies que pertenecen a la  $i$ -ésima clase (una de las mencionadas arriba) y  $S$  es el número total de especies presentes en la muestra. De esta forma, el valor de  $p_i$  indica también la probabilidad de que una célula pertenezca a determinada clase, dado un cierto número de especies presentes, para la muestra considerada. Utilizando esta frecuencia relativa, se calculó un índice de diversidad ( $H$ , con logaritmo natural), basado en el índice de Shannon (Shannon 1948):

$$H = -\sum p_i \ln (p_i)$$

Finalmente, también se calculó el índice de distribución equitativa de las abundancias ( $Eh$ ), que se obtuvo mediante el índice de diversidad de especies ( $H_{sp}$ , calculado de la manera tradicional, con  $p_i$  como la proporción de la  $i$ -ésima especie), que

considera la diversidad presente en determinado momento con respecto a la máxima diversidad posible para un número de especies:

$$Eh = H_{sp} / \ln (S)$$

#### *Medición de la radiación solar y estimación de su penetración en la columna de agua*

La radiación solar en durante los experimentos fue monitoreada continuamente con un radiómetro de banda ancha ELDONET (Real Time Computer, Möhrendorf, Germany), el cual mide e integra la radiación en los intervalos UVB (280-315 nm), UVA (315-400 nm) y PAR (400-700 nm). Los datos de irradiancia se registran (60 datos min<sup>-1</sup>) con el paquete informático provisto con el equipo (WinDose2000).

El coeficiente de atenuación de la radiación visible en la columna de agua ( $K_{PAR}$ ) puede expresarse como la sumatoria de las contribuciones de los componentes individuales presentes en el agua:

$$K_{PAR} = K_{agua} + K_{Cl-a} + K_{CDOM}$$

donde  $K_{agua}$ ,  $K_{CDOM}$  y  $K_{Cl-a}$  representan la contribución a la atenuación por parte del agua misma, la materia orgánica cromofórica disuelta (CDOM) y los pigmentos del fitoplancton, respectivamente (Hargreaves 2003). La contribución del  $K_{agua}$  con respecto a  $K_{CDOM}$  y  $K_{Cl-a}$  sólo es significativa para aguas muy claras (por ejemplo ultraoligotróficas, con escaso fitoplancton) en las que la radiación penetra varias decenas de metros (Hargreaves *et al.* 2007). Debido a la no disponibilidad del equipamiento apropiado para mediciones subacuáticas de radiación en aguas someras como las de la laguna Cacique Chiquichano, el coeficiente de atenuación de radiación PAR ( $K_{PAR}$ ) se estimó considerando la atenuación debida al fitoplancton (utilizando los valores de  $cl-a$ ) y la atenuación debida a la CDOM (estimada mediante el coeficiente de absorción a 320 nm,  $a_{320}$ , ver más abajo), utilizando las siguientes relaciones y modelos publicados previamente:

$$K_{Cl-a} = 0.22 + 0.008 * cl-a + 0.054 * cl-a^{0.66} \text{ (Thomann } et al. \text{ 1975; Branco y Kremer 2005)}$$

$$K_{CDOM} = (0.1948 * a_{320} - 0.9203 \text{ (Morris } et al. \text{ 1995)})$$

donde el coeficiente de absorción a 320 nm ( $a_{320}$ ) se calculó de la siguiente manera: luego de filtrar el agua para obtener la muestra de  $cl-a$  se determinó la densidad óptica de 10 ml

del agua filtrada, en una cubeta de cuarzo de 5 cm de paso óptico con un espectrofotómetro de arreglo de diodos (Hewlett Packard, modelo HP 8453E). El valor de  $a_{320}$  se calculó de acuerdo a Osburn y Morris (2003) de la siguiente manera:

$$a_{320} (\text{m}^{-1}) = 2.303 DO_{320} \text{ L}^{-1}$$

donde  $DO_{320}$  es la densidad óptica a 320 nm y L es el paso óptico de la cubeta (0.05 m).

Finalmente, el coeficiente de atenuación para radiación PAR en la laguna Cacique Chichichano fue calculado, en base a las relaciones antes descritas, como:

$$K_{\text{PAR}} = K_{\text{Cl-a}} + K_{\text{CDOM}}.$$

Tomando en cuenta la escasa profundidad de la laguna y el viento presente durante todo el año (Helbling *et al.* 2005), se asumió que la columna de agua era homogénea (mezcla completa). Bajo estas condiciones, calculamos la irradiancia media ( $I_m$ ) de PAR en la columna de agua, de acuerdo a Helbling *et al.* (1994) como:

$$I_m = I_0 [1 - e^{(-K_{\text{PAR}} Z)}] / K_{\text{PAR}} Z$$

donde  $I_0$  es la irradiancia máxima en la superficie al mediodía local,  $K_{\text{PAR}}$  es el coeficiente de atenuación y Z la profundidad de la columna de agua (0.8 m) en el punto de muestreo.

### *Nutriente inorgánicos*

Las concentraciones de nutrientes inorgánicos se determinaron en Instituto Argentino de Oceanografía (IADO) utilizando un autoanalizador Technicon AA-II, expandido a cinco canales, aplicando previamente métodos internacionalmente estandarizados: Nitrato (Treguer y Le Corre 1975), Nitrito (Grasshoff 1983), Amonio (Treguer y Le Corre 1975), Fosfato (Eberlein y Kattner 1987) y Silicato (Technicon® 1973).

### *Tratamiento de los datos y análisis estadísticos*

Para las determinaciones del rendimiento fotosintético ( $Y$ ) se utilizó el promedio de



cinco lecturas consecutivas del PAM como representativas de cada muestra. Para comparar las distintas fechas, se extrajeron cuatro valores representativos del comportamiento del  $Y$  de cada experimento: dos indicadores de las variaciones durante la exposición a la radiación y dos indicadores de la recuperación luego de retirar las muestras de la exposición (ver Tabla 1). Los valores de  $Y$  del “ciclo diario” se dividieron en dos grupos: antes y después del máximo de radiación solar (mediodía solar). Estos dos grupos del “ciclo diario” serán mencionados de ahora en adelante como las muestras “de la mañana” y “de la tarde”, respectivamente. Se calculó una regresión entre los valores del  $Y$  y la hora local, de manera tal que se obtuvieron las pendientes de la mañana y de la tarde (las variaciones de  $Y$  en el tiempo, durante la mañana y la tarde). De manera similar, se obtuvo una pendiente para las muestras puestas en oscuridad luego del mediodía (“recuperación de la mañana”) y las muestras puestas en oscuridad al terminar la exposición (“recuperación de la tarde”).

**Tabla 1.** Denominación utilizada para las muestras del ciclo diario y recuperación. La misma será utilizada para las pendientes (ver explicación en el texto).

Período		Muestras medidas
Ciclo diario	Mañana	Células expuestas a radiación solar, considerando desde el comienzo de la exposición hasta el mediodía solar
	Tarde	Células expuestas a radiación solar, considerando desde el mediodía solar hasta el final de la exposición.
Recuperación	Mañana	Células expuestas durante la mañana, que se dejaron en oscuridad a partir del mediodía solar
	Tarde	Células que se expusieron durante todo el ciclo diario completo y luego se dejaron en oscuridad

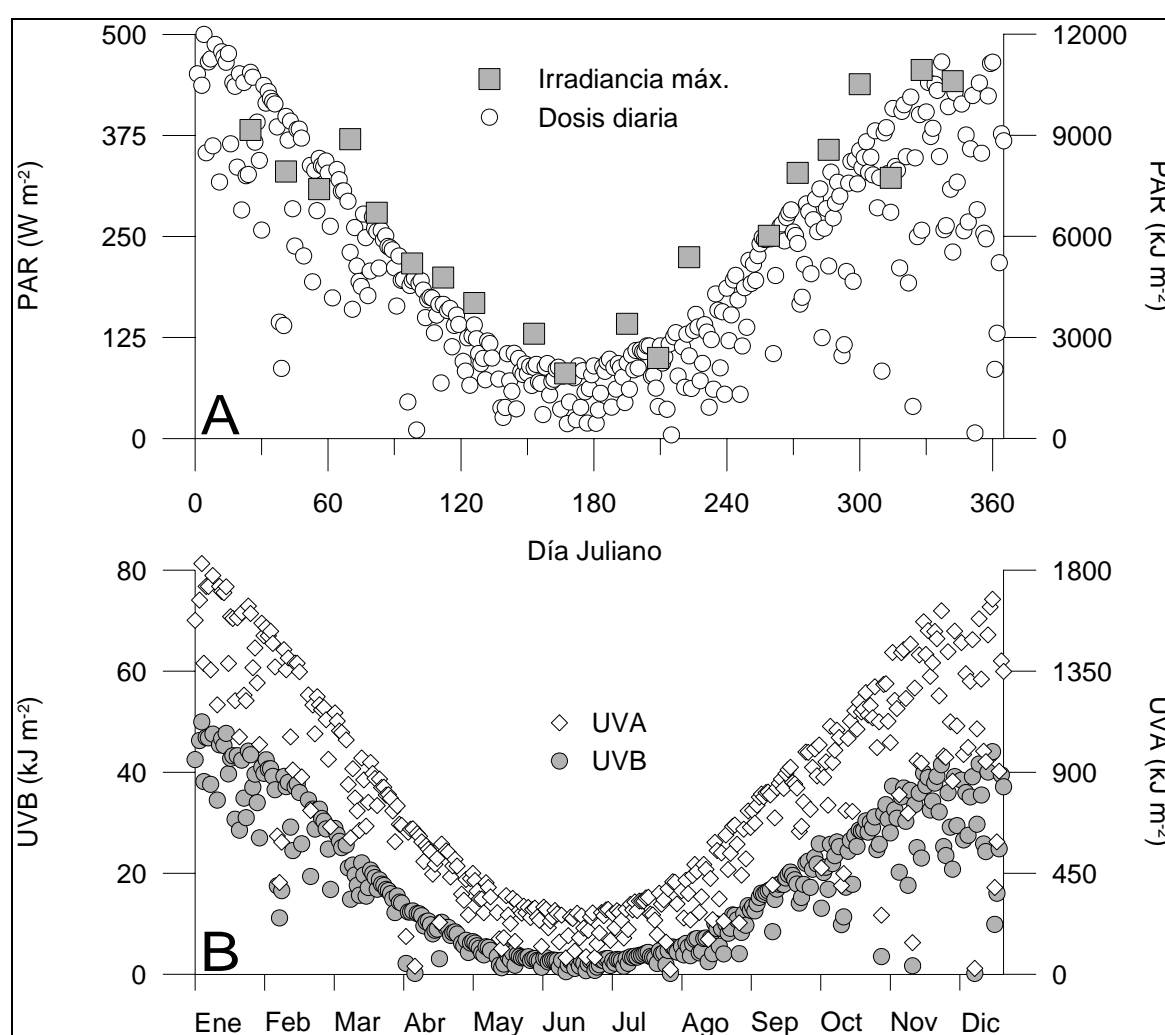
Todos los tratamientos fueron hechos por duplicado y para cada valor se presenta el promedio y la mitad del rango entre ambas réplicas (“half range”). Para evaluar diferencias entre las pendientes de un determinado experimento, se utilizó la prueba de análisis de la varianza (ANOVA) de un factor. Se trabajó con un nivel de significancia de 5%.

## Resultados

### *Características físico-químicas*

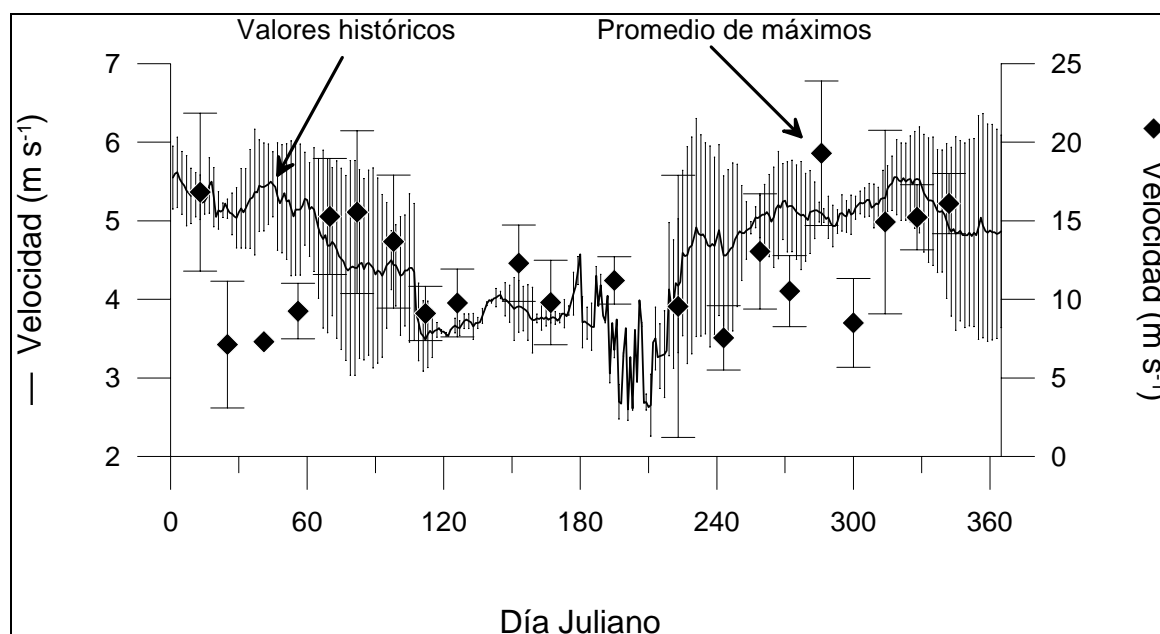
Las características físicas (radiación) sobre la Laguna Cacique Chiquichano se

muestran en la Figura 2. Las dosis diarias y las irradiancias máximas en la superficie variaron a lo largo del año (figura 2A), como resultado del movimiento orbital normal de la Tierra. Las irradiancias máximas PAR concuerdan con los valores del rango típico para la latitud de la zona de estudio, con un valor máximo y mínimo de  $456 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$  y  $80 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectivamente. Las dosis PAR reflejan la variación correspondiente, con valores entre  $104$  y  $11994 \text{ kJ m}^{-2}$ , respectivamente. La radiación UV exhibió la misma tendencia (Figura 2B), con dosis relativamente bajas durante el invierno austral y altas durante el verano. Los valores que se midieron para UVB se encontraron entre  $0.18$  y  $50 \text{ kJ m}^{-2}$ , mientras que para UVA las dosis diarias variaron entre  $21$  y  $1829 \text{ kJ m}^{-2}$ .



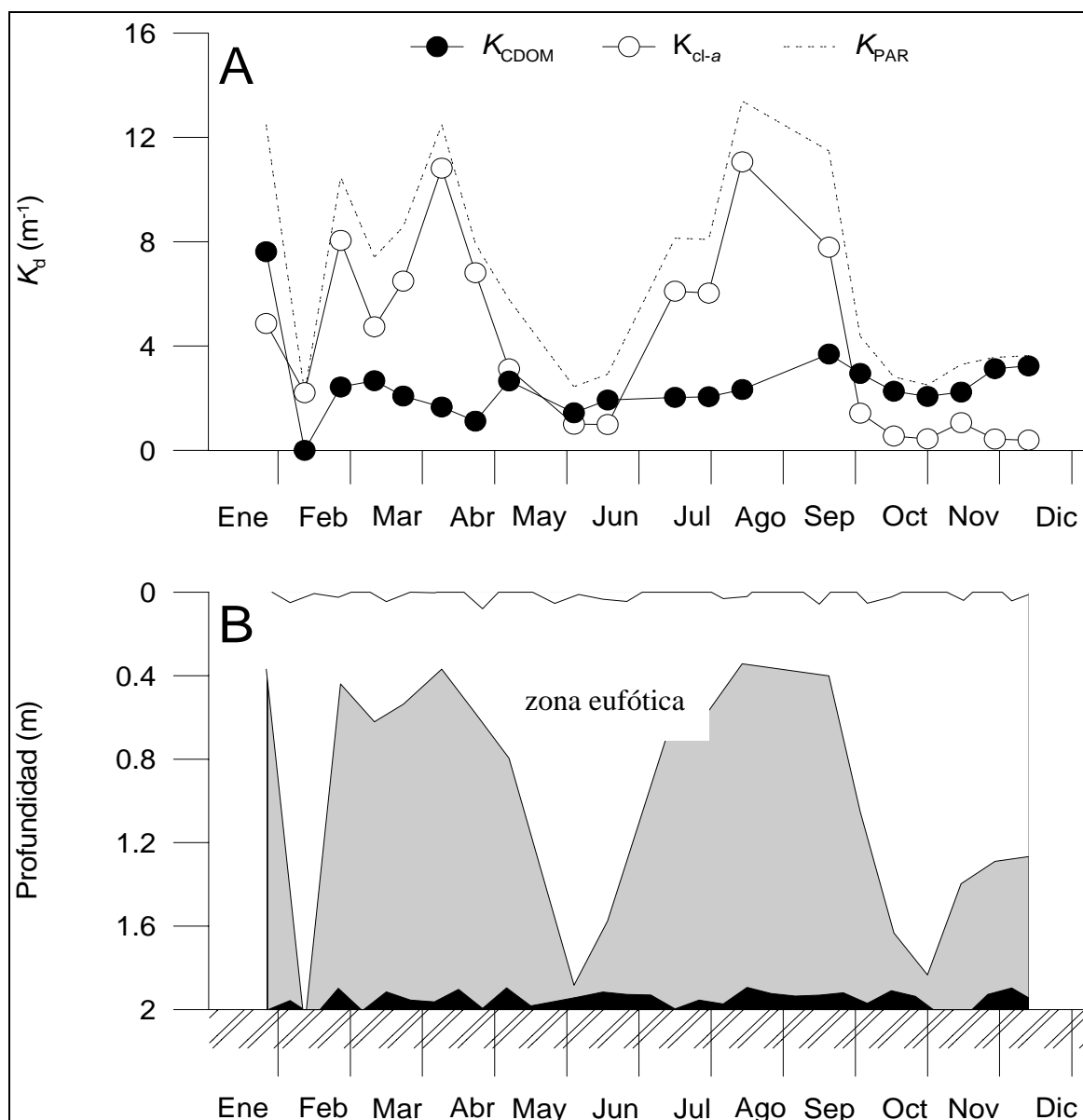
**Figura 2.** Radiación solar en la laguna CaciQue Chiquichano durante el período de estudio: A) Irradiancia máxima (correspondiente al mediodía solar, aproximadamente a las 13:00 hora local) y dosis diarias para PAR; B) dosis diarias de UVB y UVA.

El viento (figura 3) fue muy variable y mostró un patrón estacional, con mayores intensidades y variabilidad durante los meses más cálidos. El promedio de la velocidad máxima del viento para los cuatro días anteriores al muestreo fue superior a la media histórica para la zona. En base a estos datos, es razonable suponer que debido a la intensidad del viento en el área de estudio la laguna se encuentra bien mezclada a lo largo del año.



**Figura 3.** Promedio de intensidad de viento durante los días previos al muestreo (símbolos). A modo comparativo se muestran los valores históricos de viento (línea) para la zona de estudio (Helbling *et al.* 2005). Nótese las distintas escalas para las dos series de datos. Las barras verticales denotan una desviación estándar.

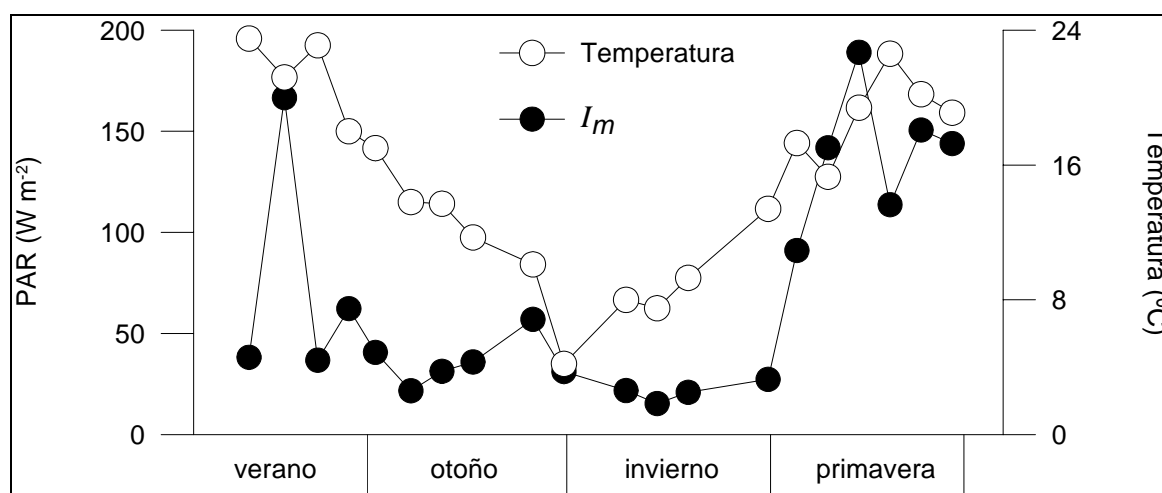
La contribución de CDOM y de *chl-a* al coeficiente de atenuación  $K_{PAR}$  en la laguna C. Chiquichano se muestran en la figura 4A. El coeficiente de atenuación para radiación PAR ( $K_{PAR}$ , estimado en base a los valores de *chl-a* y  $a_{320}$ ) mostró variaciones entre 13 y 2 m<sup>-1</sup> (valor medio para todo el período de muestreo de  $6.7 \text{ m}^{-1} \pm 3.8$ ), con valores máximos en febrero, abril y agosto. La *chl-a* tuvo una mayor influencia relativa en el  $K_{PAR}$  que la CDOM. Los períodos de mayor atenuación de la radiación fueron el otoño y fines de invierno. De acuerdo a estos valores, la zona eufótica (profundidad donde llega el 1% de la irradiancia PAR en superficie) estuvo comprendida entre 0.34 y 2.08 metros dando como resultado que gran parte de la columna de agua se encontraba con poca radiación durante gran parte del año (figura 4B).



**Figura 4.** A) Coeficiente de atenuación difusa para radiación visible ( $K_{PAR}$ ) estimado mediante los valores de  $a_{320}$  y  $cl-a$ . Se muestran las contribuciones de la  $cl-a$  ( $K_{cl-a}$ ) y la CDOM ( $K_{CDOM}$ ) en la Laguna C. Chiquichano a lo largo del año. B) profundidad de la zona eufótica a lo largo del año (la capa superficial en blanco representa profundidades en las que la irradiancia PAR en la columna de agua es  $\geq 1\%$  del valor en superficie).

La temperatura superficial y la irradiancia media PAR estimada en la columna de agua en la laguna se muestran en la figura 5. Para la temperatura se pueden apreciar las variaciones estacionales, con valores desde 4.2 °C en junio (llegando incluso a la formación de hielo superficial durante algunos días) a 23.5 °C en enero. La irradiancia media PAR en la columna de agua ( $I_m$ ) tuvo valores altos normalmente durante la primavera-verano

(irradiancia máxima de  $189 \text{ W m}^{-2}$  en octubre), mientras que durante el invierno y otoño los valores fueron menores (irradiancia mínima de  $15 \text{ W m}^{-2}$  en julio).



**Figura 5.** Parámetros físicos en la columna de agua: temperatura superficial e irradiancia media PAR ( $I_m$ ) estimada para la columna de agua a lo largo del período considerado.

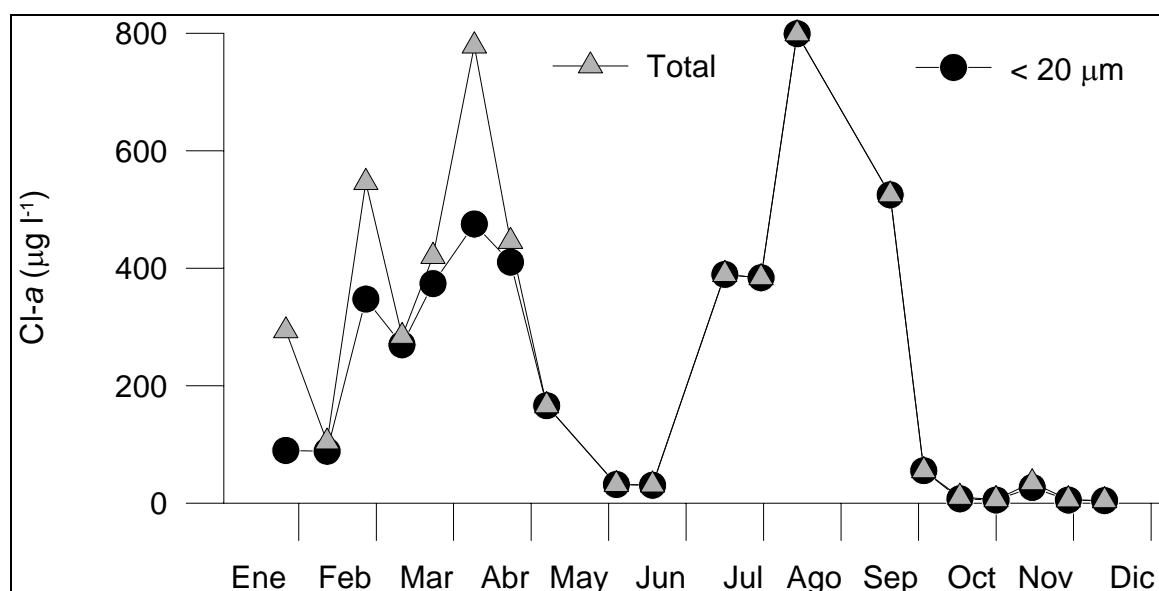
Los valores de nutrientes inorgánicos presentes a lo largo del período de estudio se muestran en la Tabla 2. Las altas concentraciones de nitrógeno, fósforo y sílice hacen suponer que los nutrientes no son un factor limitante para el crecimiento del fitoplancton y sugieren que las variaciones observadas en la concentración de *chl-a* (ver más adelante) pueden estar más relacionadas con otros factores, tales como la radiación solar y el pastoreo por parte del zooplancton.

**Tabla 2.** Concentración ( $\mu\text{M}$ ) de nitrógeno (nitrato  $[\text{NO}_3^-]$  + nitrito  $[\text{NO}_2^-]$ ), fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) y silicato ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) en la laguna Cacique Chiquichano a lo largo del año.

Día Juliano	$(\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-)$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{SiO}_4^{4-}$	Día Juliano	$(\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-)$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{SiO}_4^{4-}$
25	73.3	46.5	113.0	195	265.6	12.6	516.8
41	19.9	30.4	425.6	209	224.1	29.5	486.4
56	1.0	5.1	405.3	223	202.0	37.5	456.0
70	22.4	3.7	126.2	259	196.4	55.4	623.2
82	26.3	5.9	112.5	272	71.9	48.3	506.6
98	12.6	7.7	499.1	286	102.4	62.6	537.0
112	67.8	7.8	608.0	300	19.4	77.8	405.3
126	91.3	4.1	496.5	314	23.4	55.4	395.2
153	138.3	8.8	496.5	328	27.1	160.9	374.9
167	157.7	12.0	420.5	342	22.0	50.1	385.1

### Características y respuesta fotosintética del fitoplancton

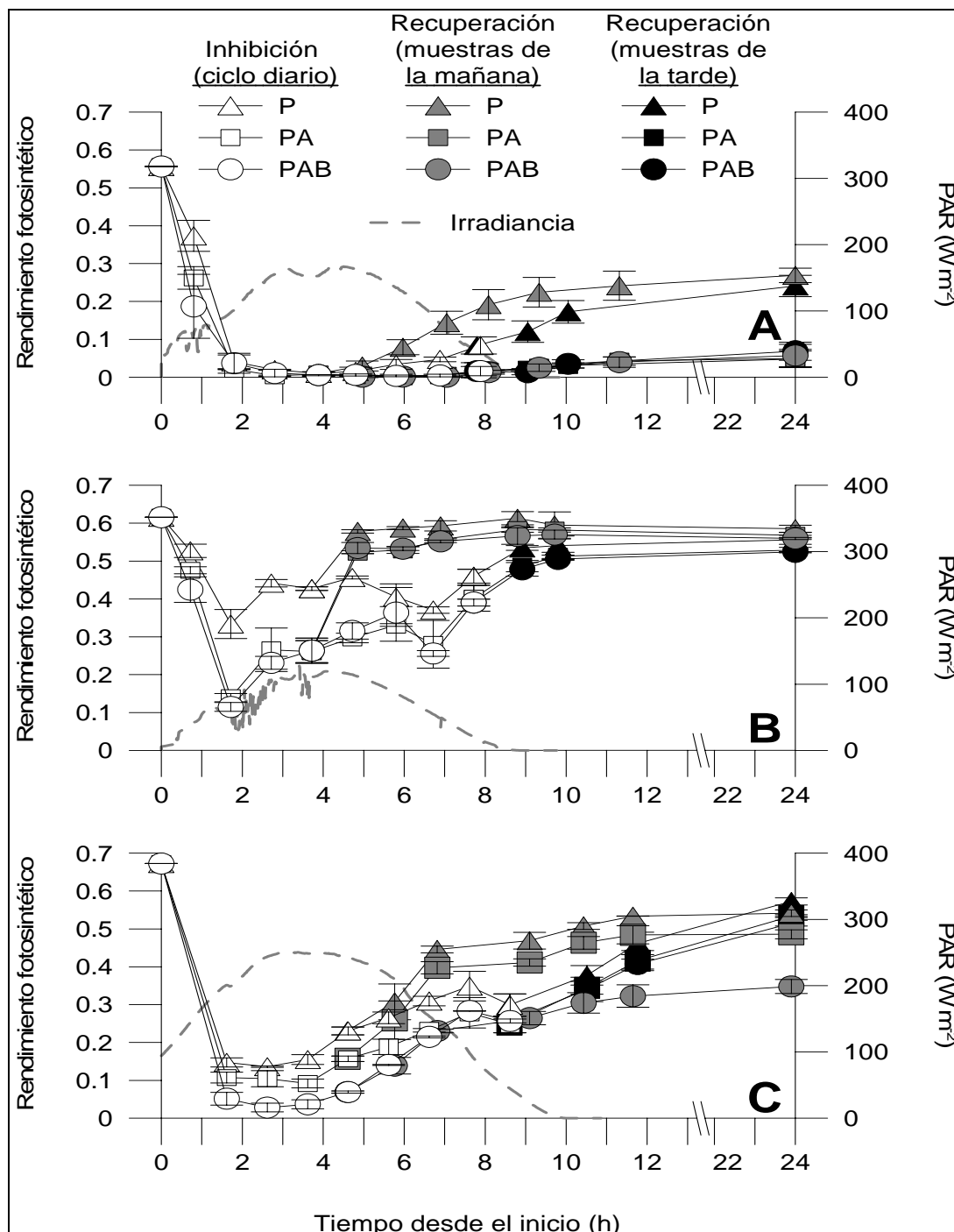
Los valores máximos de clorofila ocurrieron cerca del límite temporal entre las dominancias de diatomeas y cianobacterias (ver más abajo). La concentración de  $chl-a_{total}$  mostró 3 máximos evidentes, durante febrero, abril y agosto (este último con un valor máximo absoluto,  $799 \mu g l^{-1}$ ). Por otra parte, valores comparativamente más bajos se midieron durante junio y entre septiembre y diciembre. La concentración de  $chl-a_{nano}$  fue responsable de casi la totalidad de la  $chl-a_{total}$  durante gran parte del año, excepto durante el período comprendido entre enero y abril, en el cual la  $chl-a_{nano}$  también mostró valores altos pero representó menos del 100% del total.



**Figura 6.** Variaciones en la concentración de  $chl-a$  como estimadora de la biomasa de alimento del zooplancton (se muestra discriminada en fracción total y nanoplanctónica), a lo largo del año.

El rendimiento fotosintético varió durante el año, tanto durante la exposición como durante la recuperación, aunque se observan algunos patrones comunes. En la figura 7 se muestran tres ejemplos de ciclos diarios a modo ilustrativo. En general, el rendimiento fotosintético ( $Y$ ) de todos los tratamientos disminuyó abruptamente al inicio de la exposición, recuperándose en la mayoría de los casos después del máximo de radiación solar. La mayor inhibición de la fotosíntesis fue debida a PAR y las muestras que recibieron RUV (tratamientos PA y PAB) mostraron una inhibición adicional (ver más adelante). Las muestras de “recuperación de la mañana” mostraron una rápida

recuperación, mientras que las de “recuperación de la tarde” tuvieron una recuperación menor. En general, el mínimo rendimiento fotosintético se observó cerca del máximo de radiación solar.

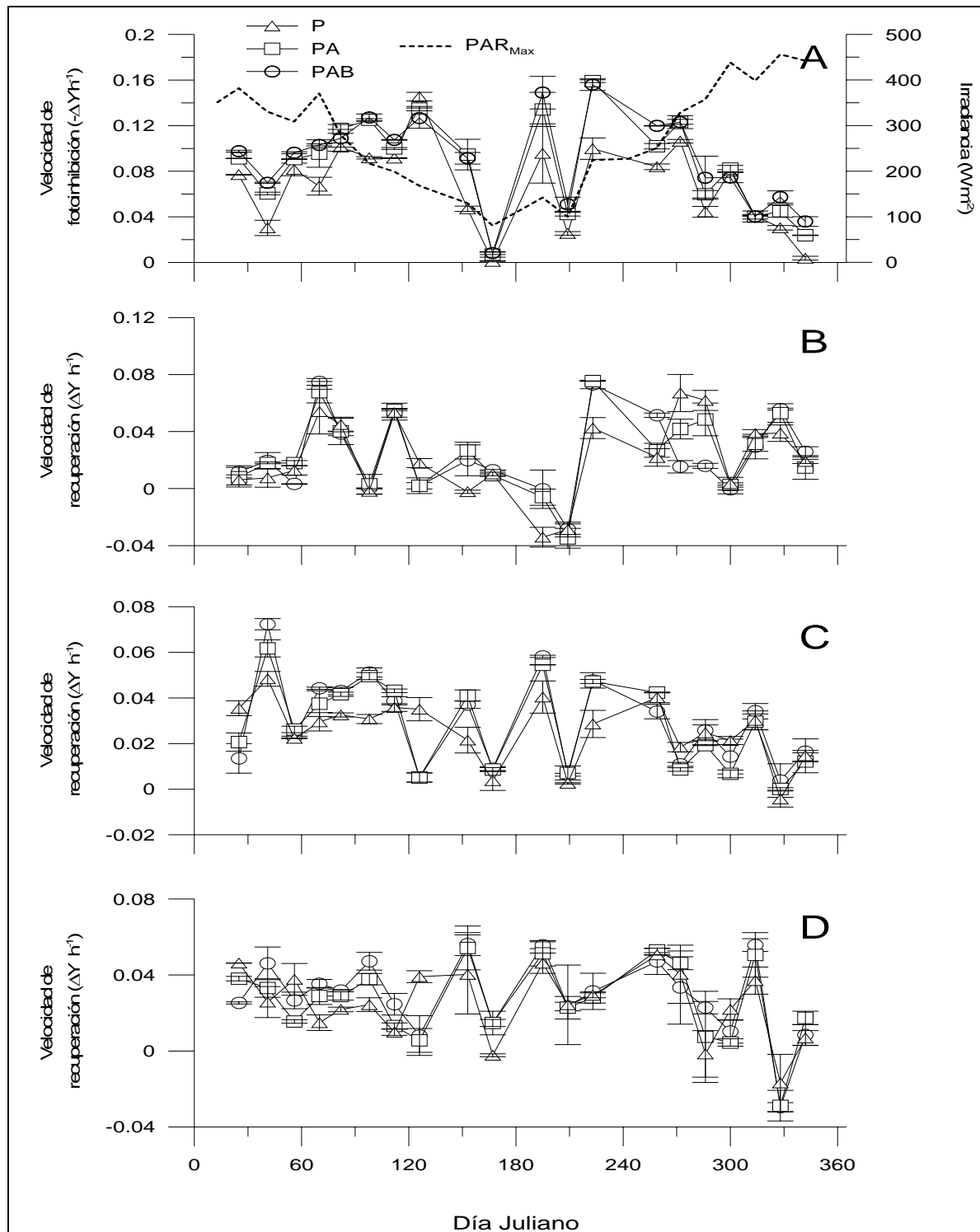


**Figura 7.** Evolución del rendimiento fotosintético a lo largo del experimento para tres fechas seleccionadas (A: 6 mayo, B: 2 junio, C: 16 septiembre). El tiempo se cuenta desde el comienzo de la exposición. Las barras verticales muestran una desviación estándar.

A fin de tener un panorama general de la respuesta fotosintética del fitoplancton, la velocidad de inhibición y recuperación para cada experimento a lo largo del año se muestran en la figura 8 (el resultado del tratamiento estadístico se muestra en la Tabla 3).

La velocidad de fotoinhibición durante la mañana en las células expuestas únicamente a PAR fue menor que las que recibieron adicionalmente RUV, aunque las diferencias no siempre fueron significativas (Tabla 3). Para la gran mayoría de los experimentos, la velocidad de inhibición durante la mañana (figura 8A) fue mayor que la de la tarde (figura 8B) evidenciando una recuperación durante la exposición después del mediodía local. Las muestras de recuperación de la mañana (figura 8C) y de recuperación de la tarde (figura 8D) mostraron patrones similares, siendo la pendiente promedio aproximadamente de  $0.02 \Delta Y h^{-1}$ . Al finalizar la recuperación (24 h del inicio) en el 85% de los experimentos el rendimiento fotosintético no alcanzó los valores iniciales en ninguno de los tratamientos.



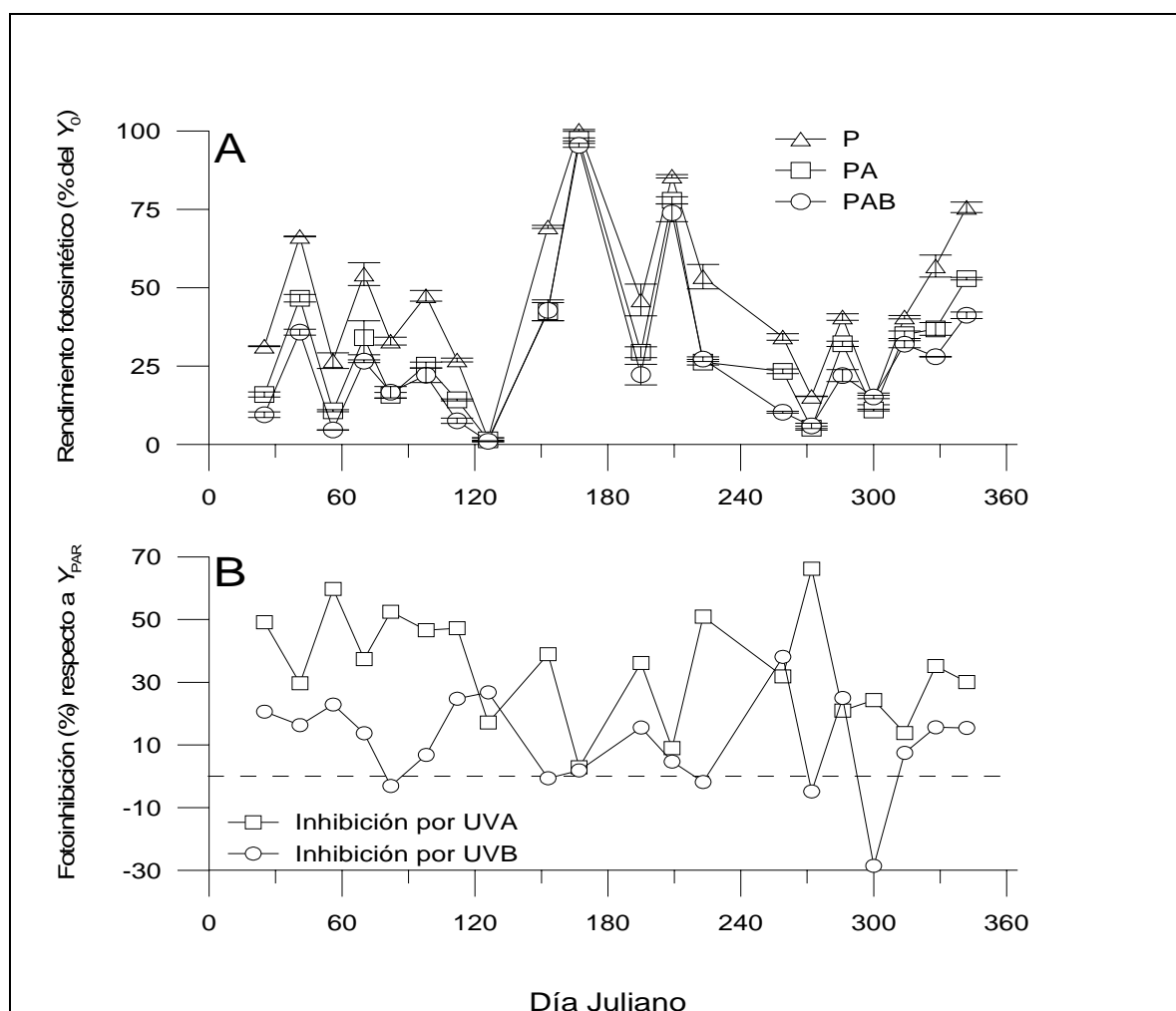


**Figura 8.** Velocidad de fotoinhibición durante la mañana (A) y durante la tarde del ciclo diario (B); velocidades de recuperación de las muestras expuestas durante la mañana y durante todo el ciclo diario (B y C, respectivamente). Una velocidad negativa de recuperación refleja inhibición del rendimiento fotosintético. A modo ilustrativo se muestra en (A) la máxima irradiancia PAR para la fecha correspondiente. Los valores en A muestran la pendiente de regresión multiplicada por -1.

**Tabla 3.** Resultados de las pruebas estadísticas para las velocidades de inhibición y recuperación (pendientes de regresión,  $\Delta Y h^{-1}$ ) del rendimiento fotosintético a lo largo de los experimentos mostrados en la figura 9. Significancia: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; NS  $p \geq 0.05$

Día Juliano	Inhibición (exposición)								Recuperación (oscuridad)							
	Mañana				Tarde				Mañana				Tarde			
	PAB	PA	P	sig	PAB	PA	P	sig	PAB	PA	P	sig	PAB	PA	P	sig
25	—	—	—	***				NS	—	—	—	*	—	—	—	***
41	—	—	—	**				NS	—	—	—	*				NS
56	—	—	—	*	—	—	—	*	—	—	—	*				NS
70	—	—	—	*				NS	—	—	—	NS	—	—	—	*
82				NS				NS	—	—	—	**	—	—	—	*
98	—	—	—	***				NS	—	—	—	**	—	—	—	*
112	—	—	—	***				NS	—	—	—	*				NS
126				NS	—	—	—	*	—	—	—	**	—	—	—	*
153	—	—	—	*				NS	—	—	—	*				NS
167	—	—	—	*				NS				NS	—	—	—	*
195				NS				NS	—	—	—	*				NS
209	—	—	—	*				NS				NS				NS
223	—	—	—	**	—	—	—	**	—	—	—	*				NS
259	—	—	—	***	—	—	—	*				NS				NS
272	—	—	—	*	—	—	—	*	—	—	—	*				NS
286				NS	—	—	—	*				NS				NS
300				NS				NS				NS				NS
314				NS				NS				NS				NS
328	—	—	—	*				NS				NS				NS
342	—	—	—	**				NS				NS				NS

Para tener una idea general del rendimiento fotosintético durante el máximo de radiación con respecto al valor inicial, en la figura 9A se muestra el Y al mediodía como porcentaje del valor inicial ( $Y_{\text{mediodía}}/Y_{\text{inicial}} * 100$ ) a lo largo del año. La contribución relativa de UVB y UVA a la inhibición fotosintética al mediodía con respecto a la inhibición por PAR se muestra en la figura 9B. La inhibición por UVA generalmente fue mayor que la debida a UVB. La presencia de algunos valores negativos indica que en esas oportunidades las células expuestas al total de la radiación mostraron un mayor rendimiento fotosintético que las expuestas en los tratamientos P y PA.



**Figura 9.** A) Inhibición del rendimiento fotosintético al mediodía para los tratamientos P, PA y PAB, con respecto al valor inicial. B) Inhibición de la fotosíntesis por UVA y UVB al mediodía con respecto al tratamiento P. La línea punteada en B muestra el nivel de inhibición cero.

En la Tabla 4 se listan los grupos taxonómicos (al nivel de género) característicos de las muestras de fitoplancton de la laguna C. Chiquichano a lo largo del año. En varias

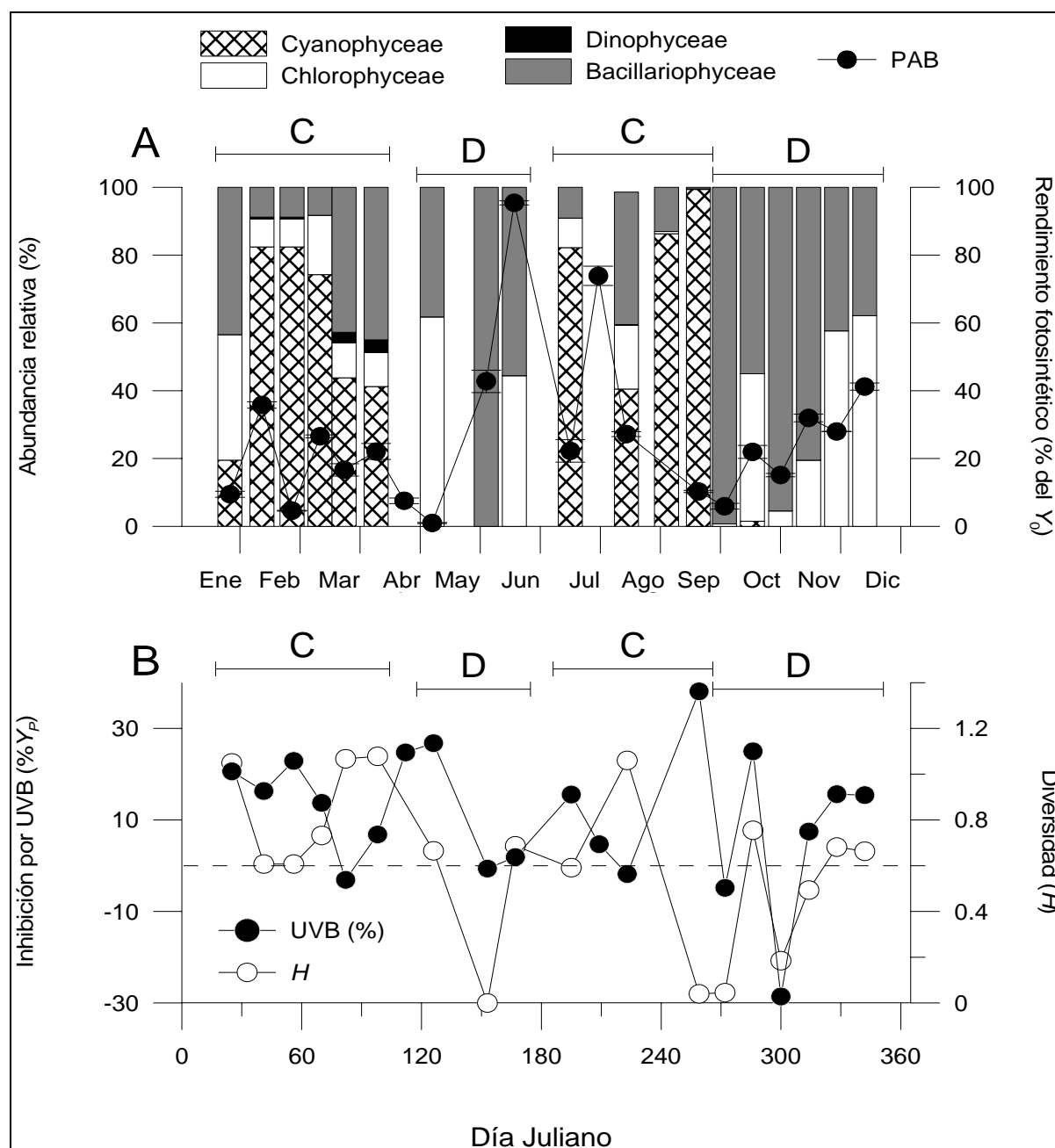
ocasiones se registraron agregados celulares, colonias y en algunas fechas (por ejemplo octubre) se observaron filamentos de cianobacterias. En algunos episodios aislados (3-4 veces durante el año), los cladóceros en la laguna Chiquichano presentaban una capa de color verde adherida a la superficie externa del cuerpo, pero no pudo determinarse si se trató de un parásito o adherencia de agregados de cianobacterias. Durante esos episodios no se realizaron experimentos con el zooplancton. En dos ocasiones (febrero y agosto) se registraron algunas células de Euglenófitas (*Trachellomonas* sp. y *Euglena* sp. respectivamente). En varias oportunidades (por ejemplo durante noviembre) las muestras contenían una alta carga de materia orgánica y detritos y fue usual encontrar algún individuo de nauplius (larvas de copépodos) rotíferos y ciliados. En las fechas dominadas por cianobacterias, fueron comunes las células de *Oocystis* sp. y *Microcystis* sp. así como gran cantidad de agregados celulares. En las épocas dominadas por diatomeas, *Surirella* sp. y otras diatomeas pennadas fueron las más frecuentes. Los representantes de la clase Dinophyceae mostraron una baja abundancia.

**Tabla 4.** Distintas clases de fitoplancton presente en las muestras de agua de la laguna Cacique Chiquichano durante el año. La identificación se hizo a nivel de género.

<b>Cyanophyta</b>	<b>Chlorophyceae</b>	<b>Bacillariophyceae</b>	<b>Dinophyceae</b>
<i>Anabaena</i> sp.	<i>Actinastrum</i> sp.	<i>Achnanthes</i> sp.	<i>Peridinium</i> sp.
<i>Lyngbya</i> sp.	<i>Ankistrodesmus</i> sp.	<i>Cocconeis</i> sp.	
<i>Merismopedia</i> spp.	<i>Botryococcus</i> sp.	<i>Cyclotella</i> sp.	
<i>Microcystis</i> sp.	<i>Closterium</i> spp.	<i>Cymbella</i> sp.	
<i>Oocystis</i> spp.	<i>Coelastrum</i> sp.	<i>Gyrosigma</i> sp.	
<i>Pseudoanabaena</i> sp.	<i>Kirchneriella</i> sp.	<i>Hantzchia</i> sp.	
sp. no identificada (colonial)	<i>Oocystis</i> spp.	<i>Navicula</i> spp.	
	<i>Pediastrum</i> spp.	<i>Nitzschia</i> sp.	
	<i>Scenedesmus</i> spp.	<i>Surirella</i> sp.	
	sp. no identificada (filamentosa)	<i>Synedra</i> sp.	
		<i>Ulnaria</i> sp.	

La abundancia relativa de cada clase taxonómica identificada en las muestras se presenta en la figura 10A. La comunidad fitoplanctónica estuvo dominada en general por dos agrupamientos taxonómicos. Uno de ellos mostró una gran influencia de cianobacterias (de ahora en más “Grupo C”) ya que éstas dominaban en forma casi absoluta o bien coexistiendo con clorófitas y diatomeas en una dominancia compartida. El otro

grupo mostró una escasa o nula influencia de las cianobacterias y en cambio aparecieron como dominantes las diatomeas (“Grupo D”). En este caso, la comunidad estaba dominada en forma absoluta por diatomeas o bien por diatomeas co-dominando con clorófitas. A lo largo del ciclo anual, cada uno de estos grupos fue dominante durante aproximadamente el 50% del tiempo. En particular, las cianobacterias y las diatomeas dominaron la comunidad la mayor parte del tiempo, en forma alternada (correlación negativa,  $r = -0.81$ ,  $p < 0.01$ ). Las diatomeas tienen sus máximos relativos (%) de abundancia en otoño y primavera, mientras que las cianobacterias alcanzan sus máximos relativos durante verano e invierno. En otros periodos del año, las abundancias fueron más balanceadas y estuvieron presentes las cianobacterias, clorófitas y diatomeas en distintas proporciones. La sucesión de la comunidad de fitoplancton tiene un patrón estacional, con la cianobacterias dominando generalmente cuando las condiciones de luz y temperatura son más extremas (invierno y verano), mientras que en otoño y primavera las diatomeas tienen mayor abundancia y junto con las clorófitas dominan la comunidad. En los períodos de mayor concentración de *chl-a* (figura 6) la comunidad estuvo influenciada por dominada por cianobacterias aunque también estuvieron presentes las clorófitas y diatomeas.

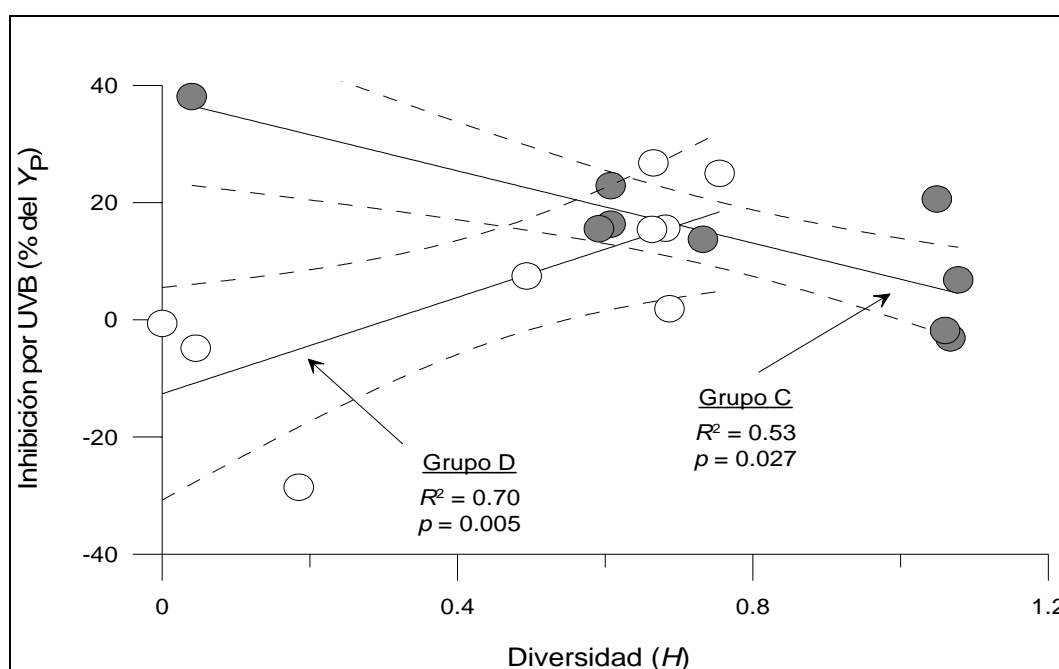


**Figura 10.** A) Abundancia relativa de las distintas clases taxonómicas en el fitoplancton de la laguna Cacique Chiquichano, estimada mediante conteo de células durante el período considerado. A modo comparativo, se muestra el rendimiento fotosintético al mediodía con respecto al inicial para el tratamiento PAB. B) Inhibición por UVB al mediodía (relativo al  $Y_p$ ) y diversidad de la comunidad de fitoplancton. En ambos paneles se indican los períodos con mayores influencias de cianobacterias y diatomeas (grupos C y D, respectivamente).

El rendimiento fotosintético al mediodía (relativo a  $t_0$ ), tuvo a lo largo del año un comportamiento que estuvo relacionado con la composición del fitoplancton (figura 10). De esta forma, cuando en la comunidad fitoplanctónica estaba presente el “grupo C” el

rendimiento fotosintético al mediodía disminuyó, indicando una mayor inhibición de esta comunidad. Por otra parte, cuando estaba presente el “grupo D” la inhibición fue disminuyendo acercándose los valores de  $Y_{\text{mediodía}}$  a los de  $Y_{\text{inicial}}$ , evidenciando una mayor resistencia a la radiación de este grupo D.

Por otro lado, la relación entre la inhibición del rendimiento fotosintético debida a UVB y la diversidad ( $H$ ) de la comunidad de fitoplancton (figura 10B) fue distinta dependiendo de la presencia de los grupos C y D, mencionados previamente: en las comunidades con influencia de las cianobacterias (Grupo C), la diversidad está negativamente relacionada con la inhibición por UVB, mientras que cuando la comunidad tiene mayor influencia de las diatomeas (Grupo D), la inhibición por UVB está relacionada positivamente con la diversidad. Para mayor claridad, estas relaciones se muestran en la figura 11.

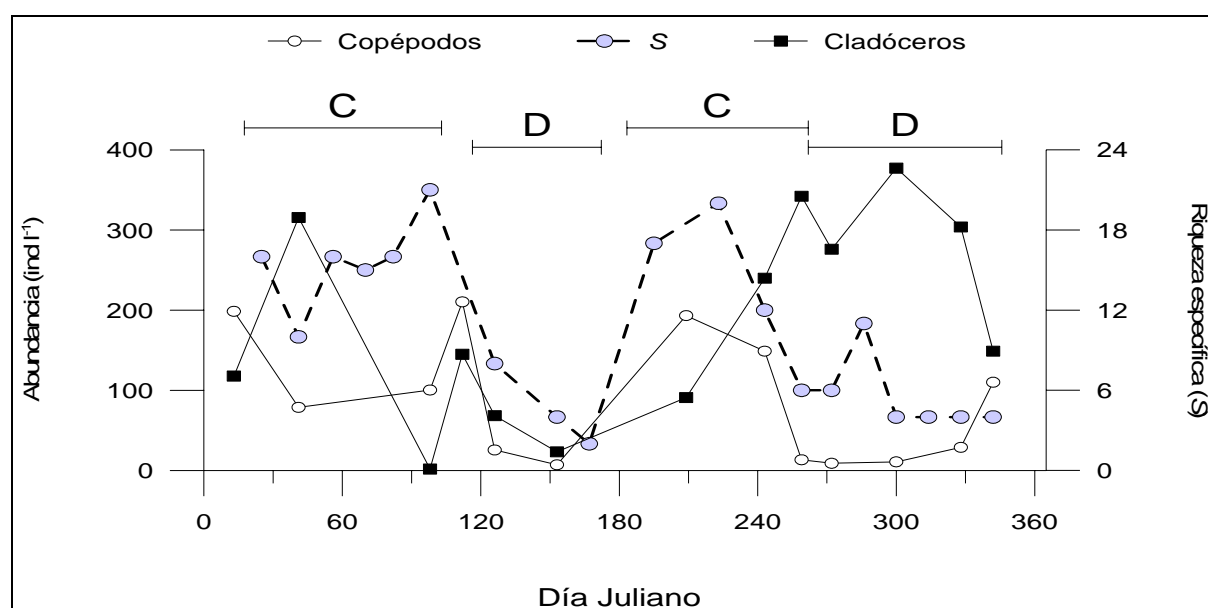


**Figura 11.** Relación entre la inhibición por UVB al mediodía (relativa al  $Y_p$ ) y la diversidad de la comunidad de fitoplancton durante el ciclo anual. Las relaciones están calculadas por separado para los grupos con mayor influencia de cianobacterias y diatomeas (grupos C y D, respectivamente).

#### *Zooplankton, número de especies y equitatividad del fitoplancton*

La abundancia de los consumidores (cladóceros y copépodos) de la laguna C. Chiquichano se muestra en la figura 12. *D. spinulata* y *M. mendocinus* mostraron una dominancia alternada, excepto para el período de menores temperaturas en las cuales las abundancias fueron bajas para ambas especies. *D. spinulata* alcanzó abundancias cercanas

a 400 ind l<sup>-1</sup> mientras que el copépodo *M. mendocinus* llegó a un poco más de 200 ind l<sup>-1</sup> en su máxima abundancia. Ambos crustáceos mostraron sólo unos pocos individuos por litro en los períodos de mínima abundancia (épocas de menor temperatura y baja cl-*a*). La presencia del cladócero *D. spinulata* estuvo fuertemente asociada a una disminución de biomasa algal (correlación negativa entre la abundancia relativa de *D. spinulata* y la concentración de cl-*a*,  $R^2 = 0.48$ ;  $p < 0.05$ ). También exceptuando el período más frío, la riqueza específica del fitoplancton (figura 12) mostró una tendencia a disminuir con la abundancia de *D. spinulata* y aumentar con la presencia de los copéodos. Los valores máximos de la riqueza específica del fitoplancton se observaron en dos de los máximos de cl-*a* (abril,  $S = 22$  y agosto,  $S = 21$ ). El resto del año, el número de especies mostró fluctuaciones, con un mínimo en la época invernal (junio,  $S = 2$ ).

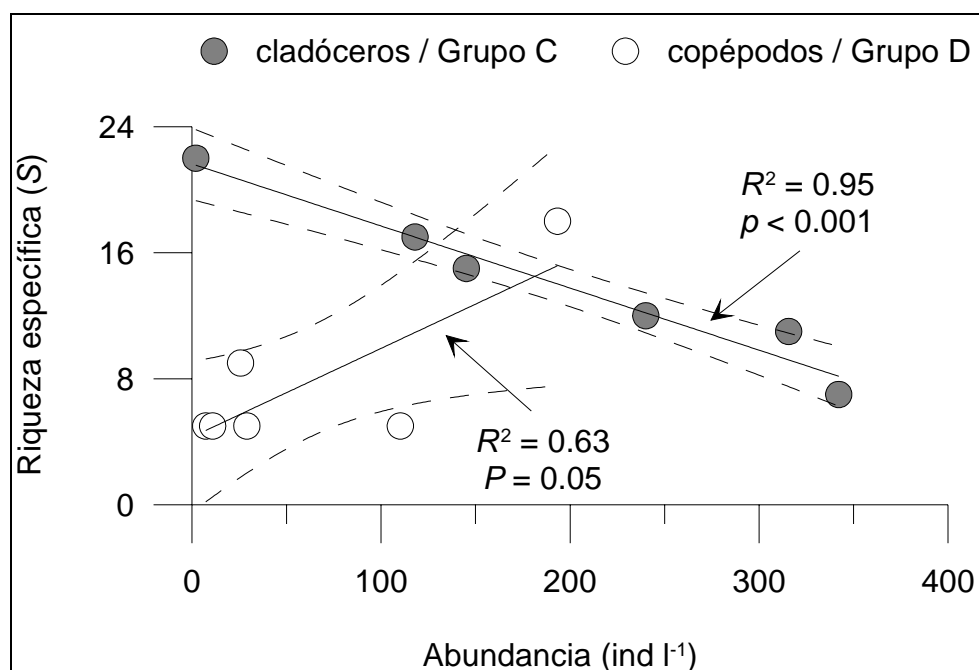


**Figura 12.** Abundancia de los crustáceos cladóceros (*D. spinulata*) y copéodos (*M. mendocinus*) en la laguna Cacique Chiquichano y riqueza específica de la comunidad de fitoplancton a lo largo del período de estudio. A modo de comparación se indican los períodos de dominancia de los grupos C y D.

Al considerar la riqueza específica (S) y la abundancia de consumidores, se observan distintas relaciones según el grupo de algas dominante. Durante el período con mayor influencia de cianobacterias (Grupo C), una mayor abundancia de cladóceros está asociada a un menor número de especies (figura 13), mientras que durante los períodos con mayor dominancia de diatomeas (Grupo D) la abundancia de cladóceros no mostró una

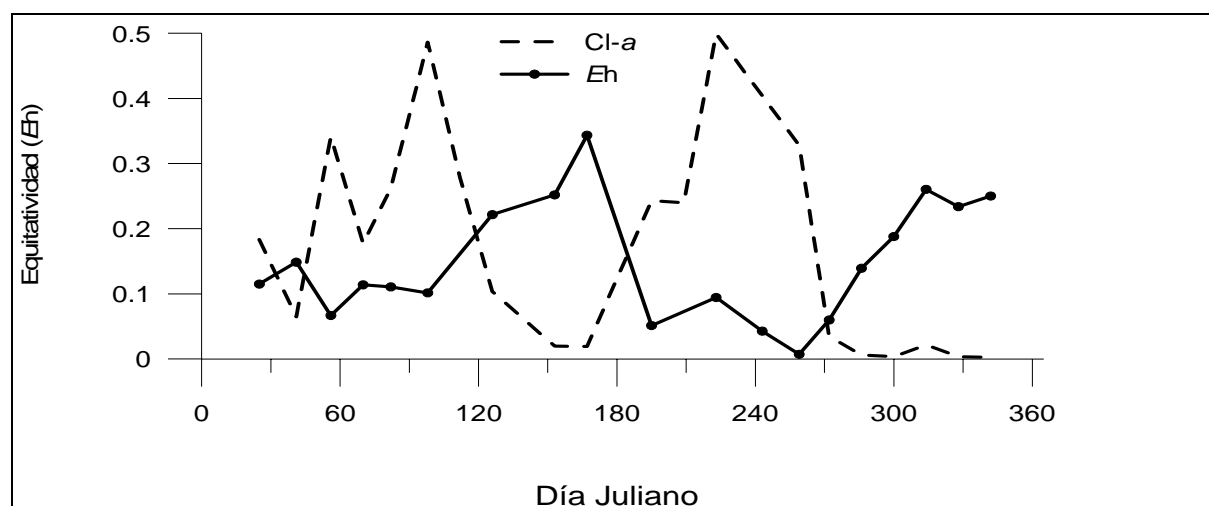


relación significativa con  $S$ . Un patrón opuesto pudo observarse para los copépodos: la abundancia de *M. mendocinus* mostró una relación positiva (aunque marginalmente no significativa) con la riqueza específica (figura 13) durante los períodos con mayor influencia de diatomeas (Grupo D) y no mostró relación alguna durante los períodos del Grupo C.



**Figura 13.** Relación entre la riqueza específica del fitoplancton ( $S$ ) y la abundancia de cladóceros y copépodos en la laguna C. Chiquichano mientras la comunidad tiene gran influencia de las cianobacterias (Grupo C) o diatomeas (Grupo D). Considerando en forma conjunta los períodos dominados por el Grupo D, no se observó una relación para los cladóceros, mientras que lo propio ocurrió para los copépodos durante los períodos del Grupo C.

La equitatividad ( $Eh$ ) de especies de fitoplancton a lo largo del año se muestra en la figura 14, con los valores de  $cl-a$  de la figura 6 a modo de comparación. La  $Eh$  fue máxima durante otoño y primavera, mientras que en verano e invierno los valores fueron relativamente bajos. El menor valor se registró para el día 259 (16 de septiembre). Los valores mínimos de  $Eh$  ocurrieron durante las épocas de mayor biomasa algal.



**Figura 14.** Equitatividad ( $E_h$ ) de la comunidad fitoplanctónica durante el período estudiado. A modo comparativo se exhiben las variaciones en la concentración de clorofila  $a$ .

## Discusión

Está claro que la alimentación del cladóceros *D. spinulata* ejerce una presión de pastoreo en la población fitoplanctónica. Esta presión modifica sustancialmente la biomasa algal (comparar figuras 6 y 12) y la riqueza específica (figura 12). La gran capacidad de este cladóceros para modificar su ambiente (por medio de la eficiente alimentación y una alta tasa de reproducción gracias a la partenogénesis) se ponen en evidencia al explicar el 48% de las variaciones en  $cl-a$  y hasta el 95% de las variaciones de la riqueza específica del fitoplancton (figura 13). Dado que la penetración de la radiación solar en las aguas de la laguna C. Chiquichano está determinada en gran medida por la concentración de  $cl-a$  (figura 4A), *D. spinulata* modifica también el ambiente óptico de su hábitat, induciendo a la llamada “fase de aguas claras”. Durante estas fases, la radiación solar puede penetrar probablemente hasta gran parte de la columna de agua (figura 4B). En la laguna estudiada, la relativamente baja atenuación, característica de las fases de aguas claras (Lampert y Sommer 1997; Williamson *et al.* 2007), ocurre durante períodos tanto de baja radiación (durante el invierno) como de alta radiación solar (verano y primavera, figura 4B). Considerando que la radiación solar (principalmente PAR) produce una inhibición de la fotosíntesis con un grado variable de recuperación (figura 7) y que durante las fases de aguas claras el rendimiento fotosintético se ve disminuido hasta en un 90% (día 300 en la

figura 9A), es posible suponer que al afectar su ambiente óptico, *D. spinulata* facilita una potencial contribución de la radiación solar a la modificación de la comunidad de fitoplancton. El hecho de que durante la fase clara la UVA es responsable de casi un 50% de la inhibición (día 41 en la figura 9B), sugiere que la RUV puede jugar un papel rol al menos durante parte del año en las células en superficie, aunque el efecto estará modulado por la composición de especies (células menos resistentes versus células más tolerantes) y velocidad de mezcla, ambas variables con patrones estacionales (figuras 3 y 10A).

Es útil para las explicaciones ulteriores, exponer primeramente la dominancia alternada entre cianobacterias y diatomeas, común en aguas eutróficas (Watson *et al.* 1997), con las diatomeas dominando principalmente en otoño y primavera (Cushing 1989), mientras que las cianobacterias coloniales parecen explotar mejor las condiciones más extremas de temperatura (verano e invierno, figura 10) (Moreno-Ostos *et al.* 2008; Paerl y Huisman 2008). Sin embargo, los períodos con alta influencia de cianobacterias (períodos marcados con la C en la figura 10, de ahora en más “períodos C”) y de diatomeas/clorófitas (“períodos D”, figura 10) ocurren, ambos, durante condiciones de alta y baja radiación solar, lo cual ofrece una interesante gama de escenarios, para los que cabe preguntarse cuáles son los factores principales que causan la sucesión observada en el alimento disponible para el zooplancton.

En este contexto, a continuación se ensayan brevemente dos simples modelos conceptuales para explicar las variaciones en la comunidad de fitoplancton. El primero corresponde al evidente protagonismo del cladóceros como consumidor, mientras que en segundo lugar se interpretan las variaciones considerando a la RUV como co-factor. Cabe destacar que lejos de ser excluyentes, estos modelos se exponen por separado para su mayor claridad, pero indudablemente actúan en conjunción durante todo el año, aunque su importancia relativa pueda variar. Para finalizar, se discute brevemente el posible efecto de la radiación solar en el fitoplancton como alimento para el zooplancton.

#### *Efecto de D. spinulata en la comunidad fitoplanctónica*

Es sabido que una fuerte “presión de pastoreo”, como la observada en *D. spinulata*, puede modificar tanto la composición de especies de su alimento como la de otros herbívoros presentes (Sanders *et al.* 1989) y dicho impacto puede tener variaciones estacionales (Sanders y Porter 1990). A pesar de estar expuestas a los herbívoros durante todo el año, algunos agregados celulares y filamentos fueron observados durante los

máximos de *chl-a* y mínimos de abundancia de *D. spinulata*, lo cual refleja que la presión efectiva de pastoreo del cladóceros probablemente no es homogénea para todos los componentes del fitoplancton. Esto sugiere que algunas especies de fitoplancton son menos comestibles que otras.

Las especies de fitoplancton “menos comestibles” disminuyen la probabilidad de ser utilizadas como alimento por cladóceros de gran tamaño como *D. spinulata*, gracias a características que interfieren en la ingestión. Esta interferencia puede ser causada por medios químicos (por ejemplo a través de la producción de sustancias tóxicas como es el caso de *Microcystis* sp., *Aphanizomenon* sp., etc.) (Ghadouani *et al.* 2004) o directamente por una interferencia mecánica, por ejemplo el desarrollo de agregados celulares o filamentos difíciles de manipular / ingerir (Webster y Peters 1978; Richman y Dodson 1983; DeMott *et al.* 2003). Estos obstáculos para la ingestión del fitoplancton pueden explicar en parte la disminución de la población de cladóceros (por ejemplo durante los máximos de clorofila durante abril y agosto) al no tener suficiente “alimento efectivo” disponible, aunque la biomasa de algas sea alta (Deng *et al.* 2008). De hecho, la gran capacidad filtradora de los cladóceros del género *Daphnia* hace que por medio de la ingestión diferencial de las especies comestibles se facilite un rápido aumento de biomasa de las especies de fitoplancton menos comestibles, siempre que los nutrientes no sean limitantes (Kasprzak y Lathrop 1997). Esto deja lugar a otros consumidores (aumenta la población de *M. mendocinus*, ver figura 12) que se alimentan bien de las especies de algas no consumidas por los cladóceros o, por ejemplo, *M. mendocinus* predando sobre rotíferos y ciliados, que probablemente aumentaron su abundancia durante la ausencia del copépodo (Andersson *et al.* 2006). Los copépodos del orden de *M. mendocinus* (CYCLOPOIDA, según Martin y Davis 2001) son generalmente considerados omnívoros / carnívoros. Esta complementariedad de los espectros alimenticios de copépodos y cladóceros promueve una coexistencia y/o dominancia alternada en el zooplancton (figura 12) (Cyr y Curtis 1999; Sommer *et al.* 2001; Modenutti *et al.* 2003; Sommer *et al.* 2003; Barnett y Beisner 2007).

Cabe preguntarse entonces cuáles son estas especies menos comestibles para *D. spinulata* en la laguna C. Chiquichano. Para ello podemos suponer que cuando *D. spinulata* sea más abundante encontraremos una menor biomasa de las especies “preferidas” de fitoplancton, mientras que dichas algas serán más abundantes cuando los cladóceros ejerzan una mínima presión de pastoreo. En este sentido, durante los períodos de máxima *chl-a*, muchas formas coloniales y filamentosas de cianobacterias (en general de baja calidad

nutricional Matveev y Balseiro 1990) aumentaron su abundancia, mientras que durante los períodos de menor abundancia de *D. spinulata*, proliferaron las diatomeas (*Cyclotella* sp., *Surirella* sp., etc.) y clorófitas (*Scenedesmus* sp. y *Oocystis* sp.). Esto brinda una idea cualitativa de cuáles grupos de algas son más efectivos para sostener la población de cladóceros (por ejemplo *Scenedesmus* sp es utilizada usualmente como alimento para cultivos de *Daphnia*). De esta forma, es posible que *D. spinulata* haya provocado un aumento de dichas formas no comestibles al alimentarse en primer lugar de las especies disponibles más comestibles (Work y Havens 2003). La alimentación de *D. spinulata* provoca entonces una disminución de la cantidad de especies presentes (figura 12), siendo esta relación más fuerte durante los períodos de mayor influencia de cianobacterias (figura 14). Esta idea se ve apoyada por la baja equitatividad de las especies en períodos de alta *chl-a* (figura 14), lo que sugiere que, aunque el número de especies está en sus valores máximos (comparar figuras 12 y 14), sus contribuciones relativas son heterogéneas (probablemente pocas especies sean las responsables de gran parte de la biomasa).

#### *Efecto de la radiación solar en el fitoplancton*

Al considerar los grupos C y D de algas por separado e identificar las tendencias de distintas variables durante los períodos correspondientes, emerge un patrón que puede ayudar a explicar la sucesión: durante los períodos C disminuye la tolerancia de las algas a la radiación solar, principalmente PAR (aumenta la velocidad de fotoinhibición, figura 8A; disminuye la inhibición al mediodía, figura 9A), mientras que durante los períodos D la comunidad es progresivamente más tolerante (baja la velocidad de inhibición, aumenta la inhibición al mediodía). La fotoinhibición es causada por la RUV y altas intensidades de PAR y en general se espera encontrar efectos distintos según la especie (Arts y Rai 1997), por lo tanto es esperable que varíen también en comunidades naturales (Helbling *et al.* 1992; Gao *et al.* 2007), e incluso dentro de la misma especie, dependiendo del medio y nutrientes (Cullen y Lesser 1991). Tomando como ejemplo un período C, se puede interpretar que a medida que transcurren las semanas-meses, la composición de la comunidad se modifica gradualmente, aumentando la importancia de diatomeas y disminuyendo las cianobacterias (figura 10). Este cambio gradual se refleja en un aumento en la sensibilidad a la radiación solar a medida que las especies son reemplazadas por otras más sensibles. Las grandes fluctuaciones de *H* observadas dentro de cada período (generalmente una disminución seguida de un aumento, figura 10B) podrían apoyar esta

idea de reemplazo de especies. Una vez finalizado el período C, la situación se revierte al comenzar el período D: ahora la comunidad está formada por especies relativamente sensibles (mayor influencia de diatomeas y clorófitas) y al transcurrir las semanas-meses, las especies van siendo reemplazadas por otras más resistentes a la radiación (probablemente cianobacterias). Al finalizar el segundo período D, comienza el ciclo nuevamente. Con estos resultados, la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica puede tener una relación con la respuesta fotosintética a la radiación solar, lo cual se manifiesta en escalas temporales de semanas-meses. En tiempos más cortos (horas, durante los ciclos diarios como los de la figura 7), sin embargo, es más difícil hablar de una respuesta diferencial según la composición de la comunidad algal.

Si se compara con la radiación PAR, la RUV no parece ser la causa principal de la inhibición del rendimiento fotosintético en este estudio, por lo que los datos no sustentan la hipótesis de una fotoinhibición significativa por RUV. No obstante, es interesante considerar la asociación diferencial entre la inhibición por UVB y la diversidad del fitoplancton en períodos C o D (figuras 10 y 11). Es difícil distinguir causa de efecto: ¿la inhibición por UVB modifica diversidad? ¿o los cambios en la inhibición por UVB están reflejando los cambios en la diversidad?. La fotoinhibición debida a PAR es muy importante en la laguna estudiada, pero algunos ensambles de algas (durante períodos D) fueron capaces de utilizar parte de la RUV para fotosintetizar (valores negativos de inhibición en la figura 11), por lo tanto se puede especular que la baja diversidad durante períodos D está en parte determinada por las pocas especies más tolerantes a la RUV. Durante los períodos C, una mayor diversidad muestra un resultado más “esperable”: mayor cantidad de especies con sus biomazas mejor distribuidas resultarán en una “dilución” de los efectos de la UVB. En este sentido, la hipótesis sensibilidad diferencial del fitoplancton a la RUV está apoyada parcialmente dado el grado de complejidad de las respuestas de la comunidad.

Es difícil ponderar la causas del reemplazo de las especies es (por ejemplo la fotoinhibición por radiación solar *versus* la modificación de la comunidad por la alimentación de los herbívoros). Ambos factores parecen tener una fuerte incidencia en la comunidad fitoplanctónica, lo cual está evidenciado por las relaciones entre la abundancia de zooplancton y la riqueza específica (figuras 12 y 13) por un lado y la inhibición debida a UVB con la diversidad del fitoplancton por otro lado (figuras 10B y 11).

*Efectos de la RUV en el alimento de D. spinulata*

Ya se ha mencionado que la mayor inhibición fue debida a la radiación visible. Sin embargo, independientemente de la composición de la comunidad fitoplanctónica, en la mayoría de las mediciones el rendimiento fotosintético de las células expuestas a RUV fue menor y se recuperó menos (ver los ejemplos de la figura 7). Con esto en mente, puede especularse que el daño podría alcanzar no sólo a la re-síntesis de proteína D1 y reactivación del PS II, sino a otras vías metabólicas de la célula involucradas en la síntesis de proteínas, polisacáridos y lípidos (Arts y Rai 1997). Existe la posibilidad de que, al ser ingeridas por el herbívoro, estas células sean de distinto contenido energético, propagando así un efecto de la RUV al consumidor. Por ejemplo, estudios previos han demostrado que la RUV puede producir efectos negativos en la transferencia de energía a *Daphnia magna* desde su alimento, principalmente a través de la disminución de la calidad nutritiva del fitoplancton (De Lange y van Reeuwijk 2003). Sin embargo, la RUV no siempre disminuye la calidad nutricional de las algas e incluso puede aumentarla (Xenopoulos *et al.* 2002) o afectar el crecimiento del un alga sin afectar su calidad como alimento (Leu *et al.* 2007).

Combinando la calidad nutricional y rendimiento fotosintético del fitoplancton, pueden encontrarse respuestas complejas. Por ejemplo, en un estudio anterior la RUV redujo el crecimiento de la clorófito *Selenastrum capricornutum* (mediado probablemente por una disminución del rendimiento fotosintético, medida también con un fluorómetro PAM), pero la calidad nutricional (en términos tanto de ácidos grasos como de carbono, nitrógeno, fósforo) del fitoplancton no se vio afectada. En ese mismo estudio, *Daphnia magna* no mostró efectos significativos al ser alimentada con *S. capricornutum* expuesta previamente a RUV (Leu *et al.* 2006). Sin embargo, la misma especie de cladóceros (*D. magna*) y la misma especie de alga como alimento (*S. capricornutum*), muestra aún más respuestas alternativas: la RUV influye, no en la calidad, sino en la proporción de células ingeridas por el cladóceros, mediante una disminución del tamaño celular del fitoplancton expuesto a altas dosis de UVB (Germ *et al.* 2004). En las comunidades naturales, el alimento de *D. spinulata* mostrará respuestas dispares al estar compuesto por distintas especies de fitoplancton con diferentes sensibilidades y respuestas a la RUV desde el punto de vista no sólo fotosintético, sino metabólico y de biosíntesis. Por lo tanto, puede

especularse con la posibilidad de que la RUV tenga un efecto indirecto para los herbívoros que ingieran células irradiadas en el corto plazo (minutos-horas).



**Literatura citada**

- Agasild H, Zingel P, Tõnno I, Haberman J, Nõges T (2007) Contribution of different zooplankton groups in grazing on phytoplankton in shallow eutrophic Lake Võrtsjärv (Estonia). *Hydrobiologia* 584: 167-177
- Andersson A, Samuelsson K, Haecky P, Albertsson J (2006) Changes in the pelagic microbial food web due to artificial eutrophication. *Aquatic Ecology* 40: 299-313
- Arts MT, Rai H (1997) Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on the production of lipid, polysaccharide and protein in three freshwater algal species. *Freshwater Biology* 38: 597-610
- Atienza D, Saiz E, Calbet A (2006) Feeding ecology of the marine cladoceran *Penilia avirostris*: natural diet, prey selectivity and daily ration. *Marine Ecology Progress Series* 315: 211-220
- Balseiro EG, Queimaliños CP, Modenutti BE (2004) Grazing impact on autotrophic picoplankton in two south Andean lakes (Patagonia, Argentina) with different light:nutrient ratios. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 73-85
- Barnett A, Beisner BE (2007) Zooplankton biodiversity and lake trophic state: explanations invoking resource abundance and distribution. *Ecology* 88: 1675-1686
- Bracchini L, Loiselle S, Dattilo AM, Mazzuoli S, Cozar A, Rossi C (2004) The spatial distribution of optical properties in the ultraviolet and visible in an aquatic ecosystem. *Photochemistry and Photobiology* 80: 139-149
- Branco AB, Kremer J (2005) The relative importance of chlorophyll and colored dissolved organic matter (CDOM) to the prediction of the diffuse attenuation coefficient in shallow estuaries. *Estuaries* 28: 643-652
- Butler NM, Suttle CA, Neill WE (1989) Discrimination by freshwater zooplankton between single algal cells differing in nutritional status. *Oecologia* 78: 368-372
- Cullen JJ, Lesser MP (1991) Inhibition of photosynthesis by ultraviolet radiation as a function of dose and dosage rate: Results for a marine diatom. *Marine Biology* 111: 183-190
- Cushing DH (1989) A difference in structure between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are only weakly stratified. *Journal of Plankton Research* 11: 1-13
- Cyr S, Curtis JM (1999) Zooplankton community size structure and taxonomic composition affects size-selective grazing in natural communities. *Oecologia* 118: 306-315

- De Lange HJ, Lürling M (2003) Effects of UV-B irradiated algae on zooplankton grazing. *Hydrobiologia* 491: 133-144
- De Lange HJ, van Reeuwijk PL (2003) Negative effects of UVB-irradiated phytoplankton on life history traits and fitness of *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 48: 678-686
- DeMott WR, Gulati RD, Van Donk E (2003) *Daphnia* food limitation in three hypereutrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria. *Limnology and Oceanography* 46: 2054-2060
- Deng D, Xie P, Zhou Q, Yang H, Guo L, Geng H (2008) Field and experimental studies on the combined impacts of cyanobacterial blooms and small algae on crustacean zooplankton in a large, eutrophic, subtropical, Chinese lake. *Limnology* 9: 1-11
- Eberlein A, Kattner E (1987) Automatic method for the determination of ortho-phosphate and total dissolved phosphorus in the marine environment. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 326: 354-357
- Gao K, Li G, Helbling EW, Villafañe VE (2007) Variability of UVR effects on photosynthesis of summer phytoplankton assemblages from a tropical coastal area of the South China Sea. *Photochemistry and Photobiology* 83: 802-809
- Germ M, Simcic T, Gaberscik A, Breznik B, Hrastel M (2004) UV-B treated algae exhibiting different responses as a food source for *Daphnia magna*. *Journal of Plankton Research* 26: 1219-1228
- Ghadouani A, Pinell-Alloul B, Plath K, Codd GA, Lampert W (2004) Effects of *Microcystis aeruginosa* and purified microcystin-LR on the feeding behavior of *Daphnia pulicaria*. *Limnology and Oceanography* 49: 666-679
- Gliwicz MZ, Umana G (1994) Cladoceran body size and vulnerability to copepod predation. *Limnology and Oceanography* 39: 419-424
- Gołdyn R, Kowalczywska-Madura K (2008) Interactions between phytoplankton and zooplankton in the hypertrophic Swarzędzkie Lake in western Poland. *Journal of Plankton Research* 30: 33-42
- Gonçalves RJ, Villafañe VE, Helbling EW (2002) Photorepair activity and protective compounds in two freshwater zooplankton species (*Daphnia menucoensis* and *Metacyclops mendocinus*) from Patagonia, Argentina. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 996-1000

- Gonzalez C, Tappari F (1995) Características geológicas, biológicas y ambientales de la zona de la laguna Cacique Chiquichano de Trelew. Informe de trabajo práctico de integración, Trelew, Chubut, Argentina
- Grasshoff K (1983) A multiple channel system for nutrient analysis in seawater with analog and digital record. In: Grasshoff K, Erhardt M, Kremling K (eds) *Methods in seawater analysis*. Verlag-Chemie, pp 134-137
- Häder D-P, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (1998) Effects on aquatic ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 53-68
- Häder D-P, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (2007) Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Sciences* 6: 267-285
- Hargreaves BR (2003) Water column optics and penetration of UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV effects in aquatic organisms and ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 59-105
- Hargreaves BR, Girdner SF, Buktenica MW, Collier RW, Urbach E, Larson GL (2007) Ultraviolet radiation and bio-optics in Crater Lake, Oregon. *Hydrobiologia* 574: 107-140
- Helbling EW, Barbieri ES, Marcoval MA, Gonçalves RJ, Villafañe VE (2005) Impact of solar ultraviolet radiation on marine phytoplankton of Patagonia, Argentina. *Photochemistry and Photobiology* 81: 807-818
- Helbling EW, Gao K, Gonçalves RJ, Wu H, Villafañe VE (2003) Utilization of solar UV radiation by coastal phytoplankton assemblages off SE China when exposed to fast mixing. *Marine Ecology Progress Series* 259: 59-66
- Helbling EW, Villafañe VE, Ferrario ME, Holm-Hansen O (1992) Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Marine Ecology Progress Series* 80: 89-100
- Helbling EW, Villafañe VE, Holm-Hansen O (1994) Effects of ultraviolet radiation on antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. *Antarctic Research Series* 62: 207-227
- Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH (1965) Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du Conseil permanent International pour l'Exploration de la Mer* 30: 3-15

- Holm-Hansen O, Riemann B (1978) Chlorophyll *a* determination: improvements in methodology. *Oikos* 30: 438-447
- Jürgens K, Arndt H, Rothhaupt KO (1994) Zooplankton-mediated changes of bacterial community structure. *Microbial Ecology* 27: 27-42
- Kasprzak PH, Lathrop RC (1997) Influence of two *Daphnia* species on summer phytoplankton assemblages from eutrophic lakes. *Journal of Plankton Research* 19: 1025-1044
- Klisch M, Rajeshwar PS, Helbling EW, H., der D-P (2005) Induction of thymine dimers by solar radiation in natural freshwater phytoplankton assemblages in Patagonia, Argentina. *Aquatic Sciences* 67: 72-78
- Kouassi E, Pagano M, Saint-Jean L, Arfi R, Bouvy M (2001) Vertical migrations and feeding rhythms of *Acartia clausi* and *Pseudodiaptomus hessei* (Copepoda: Calanoida) in a tropical lagoon (Ebrié, Côte d'Ivoire). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52 715-728
- Kramer DL, McLaughlin RL (2001) The behavioral ecology of intermittent locomotion. *Amer. Zool.* 41: 137-153
- Lampert W, Sommer U (1997) Limnoecology: The ecology of lakes and streams. Oxford University Press, Inc., New York, NY
- Landry MR, Lehner-Fournier JM (1988) Grazing rates and behaviors of *Neocalanus plumchrus*: implications for phytoplankton control in the subarctic Pacific. *Hydrobiologia* 167/168: 9-19
- Leu E, Færøvig PJ, Hessen DO (2006) UV effects on stoichiometry and PUFAs of *Selenastrum capricornutum* and their consequences for the grazer *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 51: 2296-2308
- Leu E, Falk-Petersen S, Hessen DO (2007) Ultraviolet radiation negatively affects growth but not food quality of arctic diatoms. *Limnology and Oceanography* 52: 787-797
- Maldonado AM, Vallés M, Cochia P, Vallejo M (1994) Laguna Cacique Chiquichano. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Trelew, Chubut (Argentina)
- Martin JW, Davis GE (2001) An updated classification of the recent Crustacea. Natural History Museum of Los Angeles County, Los Angeles, USA
- Matveev VF, Balseiro EG (1990) Contrasting responses of two cladocerans to changes in the nutritional value of nanoplankton. *Freshwater Biology* 23: 197-204

- Meise CJ, Munns Jr WR, Hairston NG, Jr (1985) An analysis of the feeding behavior of *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography* 30: 862-870
- Modenutti BE, Queimaliños C, Balseiro EG, Reissig M (2003) Impact of different zooplankton structures on the microbial food web of a South Andean oligotrophic lake. *Acta Oecologica* 24: S289-S298
- Moreno-Ostos E, Cruz-Pizarro L, Basanta A, George DG (2008) The spatial distribution of different phytoplankton functional groups in a Mediterranean reservoir. *Aquatic Ecology* 42: 115-128
- Morris DP, Zagarese HE, Williamson CE, Balseiro EG, Hargreaves BR, Modenutti BE, Moeller R, Quemaliños CP (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40: 1381-1391
- Ochs CA (1997) Effects of UV radiation on grazing by two marine heterotrophic nanoflagellates on autotrophic picoplankton. *Journal of Plankton Research* 19: 1517-1536
- Osburn CL, Morris DP (2003) Photochemistry of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 185-217
- Paerl HW, Huisman J (2008) Blooms like it hot. *Science* 320: 57-58
- Peters RH, Downing JA, Rigler FH (1984) Methods for the study of feeding, grazing and assimilation by zooplankton A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. Blackwell Scientific Publications, pp 336-412
- Richman S, Dodson SI (1983) The effect of food quality on feeding and respiration by *Daphnia* and *Diaptomus*. *Limnology and Oceanography* 28: 948-956
- Rivera SG (1993) Variación espacio-temporal en la estructura comunitaria del fitoplancton de la laguna Cacique Chiquichano (Trelew - Chubut - Patagonia Argentina). Licenciatura, Trelew, Chubut, Argentina
- Roman MR, Ashton KA, Gauzens AL (1988) Day/night differences in the grazing impact of marine copepods. *Hydrobiologia* 167/168: 21-30
- Sanders RW, Porter KG (1990) Bacterivorous flagellates as food resources for the freshwater crustacean zooplankter *Daphnia ambigua* *Limnology and Oceanography* 35: 188-191

- Sanders RW, Porter KG, Bennet SJ, DeBiase AE (1989) Seasonal patterns of bacterivory by flagellates, ciliates, rotifers, and cladocerans in a freshwater planktonic community. *Limnology and Oceanography* 34: 673-687
- Scott JD, Chalker-Scott L, Foreman AE, D'Angelo M (1999) *Daphnia pulex* fed UVB-irradiated *Chlamydomonas reinhardtii* show decreased survival and fecundity. *Photochemistry and Photobiology* 70: 308-313
- Shannon CE (1948) A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27: 379-423, 623-656
- Sinha RP, Häder D-P (2002) UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1 225 -236
- Sommer U, Sommer F (2006) Cladocerans versus copepods: the cause of contrasting top-down controls on freshwater and marine phytoplankton. *Oecologia* 147: 183-194
- Sommer U, Sommer F, Santer B, Jamieson C, Boersma M, Becker C, Hansen T (2001) Complementary impact of copepods and cladocerans on phytoplankton. *Ecology Letters* 4: 545-550
- Sommer U, Sommer F, Santer B, Zöllner E, Jürgens K, Jamieson C, Boersma M, Gocke K (2003) *Daphnia* versus copepod impact on summer phytoplankton: functional compensation at both trophic levels. *Oecologia* 135: 639-647
- Technicon® (1973) Industrial Method N°186 - 72 W/B
- Thomann RV, Ditoro DM, Winfield RP, O'Connor DJ (1975) Mathematical modeling of phytoplankton in Lake Ontario. I. Model development and verification. US Environmental Protection Agency - National Environmental Research Center, Office of Research and Development, Corvallis, Oregon
- Tóth LG, Kato K (1997) Size-selective grazing of bacteria by *Bosmina longirostris* - an image-analysis study. *Journal of Plankton Research* 19: 1477-1493
- Treguer P, Le Corre P (1975) Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Univ. Bretagne Occidentale
- Villafañe VE, Reid FMH (1995) Métodos de microscopía para la cuantificación del fitoplancton. In: Alveal K, Ferrario ME, Oliveira EC, Sar E (eds) Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Concepción (Chile), pp 169-185
- Villafañe VE, Sundbäck K, Figueroa FL, Helbling EW (2003) Photosynthesis in the aquatic environment as affected by UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) UV effects in aquatic organisms and ecosystems. Royal Society of Chemistry, pp 357-397

- Watson SB, McCauley E, Downing JA (1997) Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of differing nutrient status. *Limnology and Oceanography* 42: 487-495
- Webster KE, Peters RH (1978) Some size-dependent inhibitions of larger cladoceran filterers in filamentous suspensions. *Limnology and Oceanography* 23: 1238-1245
- Williamson CE, De Lange HJ, Leech DM (2007) Do zooplankton contribute to an ultraviolet clear-water phase in lakes? *Limnology and Oceanography* 52: 662-667
- Work KA, Havens KE (2003) Zooplankton grazing on bacteria and cyanobacteria in a eutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 25: 1301-1307
- Worrest RC, Wolniakowski KU, Scott JD, Brooker DL, Thomson BE, Van Dyke H (1981) Sensitivity of marine phytoplankton to ecosystem UV-B radiation: Impact upon a model. *Photochemistry and Photobiology* 33: 223-227
- Xenopoulos MA, Frost PC, Elser JJ (2002) Joint effects of UV radiation and phosphorus supply on algal growth rate and elemental composition. *Ecology* 83: 423-435
- Zellmer ID, Arts MT, Šustr V (2006) Food chain effects of sublethal ultraviolet radiation on subarctic *Daphnia pulex* - a field and laboratory study. *Archiv für Hydrobiologie* 167: 515-531

## Capítulo 3

### Efectos de la radiación solar en la movilidad de *Daphnia spinulata* durante un ciclo anual en latitudes medias de Patagonia<sup>1</sup>

#### Resumen

El cladócero *Daphnia spinulata* fue expuesto a la radiación solar en Patagonia, Argentina, durante un ciclo anual para evaluar la respuesta en términos de movilidad (velocidad de natación y orientación vertical). Los valores de estas variables fueron medidos para cada individuo de una comunidad natural de zooplankton por medio de video filmaciones y análisis de imágenes en diferentes momentos a lo largo de la exposición. La velocidad inicial varió a lo largo del año y los cambios en dicha velocidad durante los experimentos no estuvieron relacionados con el tratamiento de radiación (PAB, 280-700 nm; PA, 320-700 nm y P, 400–700 nm). En general, se observó un desplazamiento descendente de los individuos durante todo el año, independientemente de la cantidad y calidad de radiación recibida. Las variaciones observadas en la movilidad no son satisfactoriamente explicadas por variables en forma individual; la mayor proporción de las variaciones son mejor explicadas por interacciones multifactoriales en que incluyen no sólo la radiación solar, sino otros factores físicos (viento previo, irradiancia en la columna de agua) y biológicos (cantidad de alimento, presencia de predadores/competidores y congéneres). Los resultados indican que la dinámica del plancton en este estudio está determinada por una suma de factores que deben considerarse al evaluar los efectos de la radiación solar en los ecosistemas acuáticos. Al no encontrar efectos significativos de la RUV en los parámetros de movilidad individual, los resultados de esta serie de tiempo puede ser tomada como información de base para futuros estudios.

---

<sup>1</sup> Parte de este capítulo se basó en el trabajo de respaldo: Gonçalves RJ, Barbieri ES, Villafañe VE, Helbling EW (2007) Motility of *Daphnia spinulata* as affected by solar radiation throughout an annual cycle in mid-latitudes of Patagonia. *Photochemistry and Photobiology* 83: 824-832



## Introducción

Los cladóceros del género *Daphnia* son frecuentemente dominantes en las comunidades zooplanctónicas de agua dulce y suelen ser responsables de una parte significativa de la biomasa y producción secundaria (Moss 1998). En la columna de agua, estos organismos del plancton están expuestos a la radiación solar, tanto PAR como RUV. Durante las últimas décadas y como consecuencia del descubrimiento del “agujero de ozono” en la Antártida y el concomitante aumento de la UVB (Blumthaler *et al.* 2003), los efectos de la RUV en los organismos y ecosistemas acuáticos han sido objeto de investigación (de Mora *et al.* 2000; Helbling y Zagarese 2003). Los resultados de estas investigaciones han demostrado que la RUV puede afectar negativamente a los organismos mediante el daño directo a la molécula de ADN, o bien a otros componente celulares tales como las proteínas y / o membranas (Sinha y Häder 2002).

Estudios previos indican que el zooplancton también puede ser en muchos casos afectado por la RUV (Hessen 2002; Marinone *et al.* 2006). Aunque hemos aprendido mucho acerca de los efectos e impactos potenciales de la RUV en el zooplancton, todavía queda mucho por investigar acerca de los llamados “efectos sub-letales” (efectos más sutiles que se registran aunque no causen una mortalidad significativa de los organismos). Estos efectos son más sutiles y difíciles de observar en muchos casos, e incluyen entre otras variables los cambios comportamentales o de movilidad. Por ejemplo, se ha observado en estudios de laboratorio que el cladócero *Daphnia magna* se aleja de la luz y cambia su conducta cuando es expuesto a radiación UV monocromática (especialmente dentro del rango UVA, con una máximo de respuesta a 340 nm), mientras que la reacción opuesta se observa cuando los individuos se exponen a radiación visible (Storz y Paul 1998). Otros estudios muestran que *Daphnia pulex* muestra distintas velocidades según la temperatura y la historia previa (velocidad de natación entre 4.62 y 7 mm s<sup>-1</sup>, siendo mayor a 25 °C que a 5 °C) (Gorski y Dodson 1996). En un lago eutrófico con grandes variaciones de temperaturas, *Daphnia pulicaria* mostró velocidades de natación variables a lo largo del año (valores medios entre 5 y 8 mm s<sup>-1</sup>), pero las variaciones no estuvieron asociadas la temperatura del agua (Ryan y Dodson 1998). Esto da una idea de que la movilidad “basal” no es algo estático y dependerá de la historia previa.

La movilidad individual del zooplancton está involucrada en numerosas actividades que colectivamente son fundamentales para la próxima generación, tales como el escape de predadores (Weber y van Noordwijk 2002), encuentro hembra-macho, movimiento de los apéndices filtradores, etc. (Alcaraz and Strickler 1988; Nihongi et al. 2004; O'keefe et al. 1998; Strickler 1977; Suchman 2000). La movilidad también puede ser evaluada en términos de la tendencia de los individuos a desplazarse hacia o escapar de la superficie del cuerpo de agua que habitan (migración vertical), lo cual produce un cambio en la radiación total a la que está expuesto el organismo. En este sentido, se ha demostrado que varias especies de *Daphnia* (*D. cucullata*, *D. rosea* y *D. pulex*, individuos pigmentados y no pigmentados) evitan las capas de superficiales de agua, en las cuales estarían expuestas a RUV (Rhode et al. 2001). Otros estudios de migración vertical mostraron que *Daphnia pulicaria* muestra una migración hacia el fondo cuando la RUV natural está presente, mientras que los individuos tendieron a permanecer cerca de la superficie cuando en los tratamientos que bloqueaban la RUV, aún corriendo el riesgo de quedar expuestos a predadores visuales (Leech y Williamson 2001).

Predadores visuales tales como *Chaoborus* pueden a su vez interactuar con la RUV para hacer aún más compleja la migración vertical, como es el caso de *Daphnia catawba* (Boeing et al. 2004). Sumado a ello, los individuos de *D. catawba* expuestos a RUV natural mostraron una preferencia por aguas más profundas en su distribución vertical cuando la RUV estaba presente (Fischer et al. 2006). De esta manera, es esperable que un cambio en la movilidad individual se convierta en una fuente de potencial de variación en la comunidad zooplanctónica.

El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto de la exposición solar reciente en la movilidad (en términos de velocidad de natación y orientación) del cladócero *D. spinulata* Birabén, 1917, habitante de un cuerpo de agua dulce de la provincia de Chubut, Argentina. Las hipótesis de trabajo son a) la RUV disminuye la movilidad del cladócero en términos de velocidad de desplazamiento y b) la RUV provoca un movimiento vertical neto en contra de la gravedad. Este estudio complementa las investigaciones de base acerca de fotobiología del zooplancton en la zona de la Patagonia Argentina, donde se han efectuado previamente estudios para evaluar la supervivencia, migración hacia aguas más profundas, fotorreactivación, producción y presencia de compuestos que absorben RUV, etc. (Alonso

et al. 2004; De Los Ríos and Soto 2005; Gonçalves et al. 2002; Modenutti et al. 2005; Tartarotti et al. 2004; Tartarotti et al. 2000).

## **Materiales y métodos**

### *Zona de estudio y colección de muestras*

Este estudio se realizó con muestras de la Laguna Cacique Chiquichano (43°14'S 65°18'W), situada en la costa atlántica de Patagonia central, en la ciudad de Trelew (Chubut, Argentina). Esta laguna es el mayor cuerpo de agua (0.18 km<sup>2</sup>) dentro de la zona urbana, con una profundidad media de aproximada de 2 m. Está localizada dentro de un área poblada, lo cual la hace un lugar ideal para un estudio dado su accesibilidad. La ausencia de árboles o edificios en sus alrededores permite no sólo que la radiación solar incida a pleno en la superficie, sino también que el espejo de agua esté expuesto permanentemente a los vientos durante todo el año (Rivera 1993) y la consiguiente mezcla de la columna de agua (Gonzalez y Tappari 1995). Sumado a ello, el área está periódicamente bajo la influencia de masas de aire con concentración disminuida de ozono (durante octubre - noviembre), fenómeno asociado probablemente al vértice polar (Orce y Helbling 1997). Se han efectuado algunos estudios previos en esta laguna con zooplancton (Gonçalves *et al.* 2002) y fitoplancton (Klisch *et al.* 2005).

El muestreo y experimentación fueron llevados a cabo a lo largo de un ciclo anual, desde febrero 2005 hasta enero 2006, con una frecuencia de un muestreo cada 2-4 semanas. Las muestras de zooplancton se obtuvieron con una red (200 µm tamaño de malla) que fue "arrastrada" horizontalmente en los 20 cm superficiales de la columna de agua. Los especímenes se transportaron inmediatamente al laboratorio de la Estación de Fotobiología Playa Unión (EFPU, aproximadamente a 40 min de viaje) en botellas de policarbonato de 2 L dentro de un contenedor con aislación lumínica y térmica. Una vez en el laboratorio, el zooplancton fue colocado en una cámara de cultivo a 18 °C durante la noche, hasta el día siguiente cuando se realizaron los experimentos de movilidad (ver más abajo).

Cabe destacar que en estudios previos (y también en los datos presentados aquí), encontramos las máximas densidades de *D. spinulata* a 18 °C, por lo tanto esta fue la temperatura seleccionada para utilizar en la experimentación a lo largo de todo el año. El enfoque utilizado aquí está orientado a comparar las respuestas a la radiación solar en los organismos ya aclimatados a una misma temperatura, en distintos momentos del año. Al hacer esto, se está descartando la influencia de la temperatura del agua de la laguna (temperatura *in situ*) en los procesos metabólicos y alguna potencial recuperación diferencial a lo largo del año debido a este factor. Por lo tanto, los experimentos aquí presentados se concentraron en los efectos subletales de la RUV en *D. spinulata* cuando otras variables (historia lumínica previa, cantidad y calidad del alimento, presencia de otros organismos zooplanctónicos, etc.) también cambiaban a lo largo del año.

Adicionalmente se colectaron muestras de agua superficial con un botellón plástico (prelavado con HCl 1N) para la determinación de otros parámetros, tales como abundancia de fitoplancton, materia cromofórica orgánica disuelta (CDOM) y la concentración de clorofila *a*.

#### *Exposición y video filmación del zooplancton*

Antes de la experimentación, los individuos moribundos y muertos se descartaron de la muestra original con una pipeta. Se consideró moribundo a aquellos individuos que no exhibían ninguna reacción locomotora cuando se los disturbaba, aún cuando mostraran otros signos de movimiento (apéndices filtradores). Los experimentos se realizaron con la comunidad completa de zooplancton de la muestra, que consistió típicamente en especímenes del cladóceros *D. spinulata* y el copépodo ciclopoideo *Metacyclops mendocinus* (Wierzejski, 1892). En este estudio se presenta la movilidad de *D. spinulata* de dicha comunidad.

Los individuos de zooplancton se dividieron cuidadosamente y se distribuyeron aleatoriamente en ocho cámaras de policarbonato transparente a la RUV (Plexyglas® XT - Röhm GmbH & Co. KG, Darmstadt, Alemania) llenadas con agua filtrada (100 µm de malla, para remover las partículas o suciedad que puedan interferir en la video filmación)

de la laguna. Las dimensiones de cada cámara de policarbonato son 23 x 16 x 3 cm (largo, ancho, profundo) y fueron especialmente confeccionadas para filmar a los individuos con libertad de movimiento, al la vez que se mantiene una profundidad focal relativamente pequeña (3 cm) para no perder los organismos del foco de la lente. Esto es importante para que el paquete informático de análisis de imágenes pueda detectar correctamente a un organismo, diferenciando los bordes de su cuerpo y el fondo filmado. Durante la exposición, las muestras estuvieron contenidas en un recipiente de 3 cm de profundidad (tomando la profundidad como una distancia vertical).

Se implementaron tres tratamientos de radiación (por duplicado) por medio del uso de filtros colocados los recipientes en los que se expusieron los organismos:

- 1) tratamiento P (organismos que recibieron sólo PAR, 400-700 nm): cámaras de exposición cubiertas con Ultraphan 395 (UV Opak, Digefra; 50% transmitancia a 395 nm),
- 2) tratamiento PA (organismos que recibieron PAR + UV-A, 315-400 nm): cámaras cubiertas con Ultraphan 320,
- 3) tratamiento PAB (organismos que recibieron PAR + UVA + UV-B, 280-700 nm): cámaras desprovistas de filtro.

Adicionalmente, un cuarto grupo (también por duplicado) fue envuelto en papel aluminio y sirvió como un control en oscuridad. Todas las cámaras fueron colocadas en un baño de circulación de agua a temperatura controlada ( $18 \pm 2$  °C) y expuestas horizontalmente a la radiación solar (a “cielo abierto”, sin sombras, etc.) durante 8 h. La exposición comenzaba a las 9 am hora local. Al inicio de la exposición y luego cada 2 horas (a las 2, 4, 6 y 8 hs de exposición) las cámaras se tomaban de a una por vez, se rotaban suavemente 90° y se colocaban verticalmente en una estructura semicerrada que la protegía de la luz ambiente (para evitar los movimientos artificiales de fototaxis de los individuos), con un fondo difuso para filmar los patrones de movimientos del zooplancton (por lo tanto la filmación y la exposición no se realizaron simultáneamente).

Con la rotación del recipiente (cámara) donde estaban siendo expuestos los organismos, se pudo encuadrar con la video-filmadora toda la superficie que estaba expuesta a la radiación solar (23 x 16 cm) y *D. spinulata* podía libremente nadar hacia arriba o hacia abajo distancias mayores que durante la exposición (es decir, durante la

filmación la profundidad del agua era de 16 cm mientras que durante la exposición era de 3 cm). De esta forma, cada individuo puede ser visualizado en todo momento en cualquier punto de la cámara. La manipulación de la cámara fue muy cuidadosa y suficientemente suave para evitar modificar el patrón de natación de los individuos con perturbaciones mecánicas que resultarían de la agitación y movimiento interno del agua de la cámara. Tan pronto como la cámara alcanzó la “posición de filmación” (menos de 60 s desde que se quitó la cámara del baño de agua para exposición), la movilidad del zooplancton fue filmada durante 120 s con una video-filmadora (JVC modelo GR-AX4) y la cámara fue devuelta a la exposición (el procedimiento completo duró < 5 min); cada experimento fue grabado y almacenado en cintas tipo VHSC. Una escala de referencia de 1 cm fue incluida en la parte frontal de cada cámara, de manera tal que pudiera ser visualizada durante toda la filmación. Inicialmente se dividió cada filmación en secuencias de 30 s pero no se encontraron diferencias en los parámetros medidos en cada intervalo (los primeros 30 s con los últimos 30 s, etc.), por lo cual se utilizó la filmación completa para cada muestreo de movilidad en nuestros análisis.

### *Análisis de imágenes*

Las video filmaciones fueron analizadas utilizando un paquete informático de análisis de imágenes (WinTrack2000, Real Time Computers, Inc., Alemania) (Lebert y Häder 1999). Además de la velocidad y orientación de cada individuo detectado, el programa asigna a cada objeto un “factor de forma” (un parámetro para distinguir los objetos redondos de los objetos alargados), el cual permitió separar los datos de cladóceros (forma más bien oval) por un lado y copépodos (forma más bien alargada) por otra parte. El factor de forma (F, adimensional) se calcula como  $F = L^2 / (A 4\pi)$ , donde L es el perímetro (por ejemplo en mm) del objeto detectado y A es su área (por ejemplo en mm<sup>2</sup>). Mediante pruebas preliminares en las cuales se filmaron y analizaron muestras de *D. spinulata* y *M. mendocinus* por separado, se determinó un factor de forma característico para cada una de estas dos especies. El intervalo del factor de forma para *M. mendocinus* varía entre 1.23 y 1.77 (media  $\pm$  3 desviaciones estándar), mientras que *D. spinulata* mostró un intervalo que va desde 2.21 a 2.48 (media  $\pm$  3 desviaciones estándar). Para separar estos intervalos sistemáticamente en el análisis de los datos, se asignó un límite de factor de

forma de 1.92. Valores por encima de ese valor correspondieron a *M. mendocinus*, mientras que los valores menores a dicho límite indican un objeto de las características de *D. spinulata*. Este límite seleccionado permitió separar completamente los datos de ambas especies, lo cual fue reconfirmado durante el estudio con las muestras en las cuales una de las dos especies dominaba por completo o era la única presente.

El ángulo de desplazamiento (dirección, en grados) asociado con cada vector de velocidad es  $0^\circ$  para individuos moviéndose hacia la superficie (arriba) y  $180^\circ$  para los individuos moviéndose hacia el fondo (abajo). Así, todos los movimientos verticales se dividieron en “natación ascendente” (ángulos  $>270^\circ$  ó  $<90^\circ$ ) y “natación descendente” (ángulos entre  $90^\circ$  y  $270^\circ$ ). En base a esto, se definió un parámetro “dirección de natación”, que toma en cuenta el número de individuos que se mueven en forma ascendente o descendente. Este parámetro “dirección de natación” para cada muestra se calculó como  $([N/N_t] \cdot 100)$ , donde  $N$  denota el número de individuos nadando en forma ascendente o descendente y  $N_t$  es el número total de individuos registrados en el film.  $N$  se consideró negativo para los movimientos descendentes y positivo para los ascendentes. El programa también calculó algunos valores ( $<5\%$  de los casos) como movimientos netamente horizontales (dirección de natación exactamente iguales a  $90^\circ$  ó  $180^\circ$ ), los cuales no fueron considerados en los cálculos. Debido a que los individuos de la misma población de *Daphnia* pueden tener distintas tendencias migratorias (King y Miracle 1995) se calculó una resultante de la dirección de natación (dirección neta), para obtener una medida de la orientación neta de todo el grupo de organismos considerados en la muestra. Por ejemplo, si el 40% de los individuos nadaban hacia la superficie mientras que el 55% nadaban hacia el fondo, la dirección neta era de -15 (resultado de restarle 55 a 40). La dirección neta no varió significativamente a lo largo de los experimentos ( $p > 0.05$ , ANOVA de medidas repetidas), por lo cual se utilizó un valor promedio para cada tratamiento, calculado desde el inicio del experimento hasta las 13:00 (hora local, máxima irradiancia solar) como representativo de todo el experimento de ese día.

#### *Abundancia de zooplancton, pigmentos fotosintéticos y CDOM*

Para la determinación de abundancia se fijaron muestras representativas de la comunidad natural de zooplancton bien con formaldehído (2%) o con etanol (96%) y se

examinaron bajo lupa (40x). La concentración de clorofila-*a* total ( $cl-a_{total}$ ) y de las células nanoplanctónicas ( $cl-a_{nano}$ ) se determinaron siguiendo los procedimientos estándar detallados en el capítulo anterior (Holm-Hansen *et al.* 1965; Holm-Hansen y Riemann 1978). La materia orgánica cromofórica disuelta (CDOM) fue estimada de acuerdo a Osburn y Morris como se explicó en el Capítulo 2 (Osburn y Morris 2003).

#### *Radiación solar y otros parámetros atmosféricos*

La radiación solar incidente se monitoreó continuamente con un sensor de banda ancha ELDONET tal como está explicado en el capítulo previo. Durante el período de estudio, la velocidad e intensidad del viento se monitorearon cada 10 min con una estación meteorológica (Oregon Scientific, modelo WMR-918). La velocidad del viento utilizada en el modelo predictivo (ver más adelante) representa el promedio de los 3 días anteriores al muestreo (viento en el día Juliano 13 no disponible debido a inconvenientes técnicos). Los datos de concentración de ozono se obtuvieron de la base de datos de la NASA (<http://jwocky.gsfc.nasa.gov>) y están expresados en Unidades Dobson (UD).

#### *Estimación de la radiación en la columna de agua*

Debido a la imposibilidad técnica de medir la irradiancia subacuática en la laguna Cacique Chiquichano, se estimó el coeficiente de atenuación para la radiación descendente para PAR ( $K_{PAR}$ ) a partir de modelos previamente publicados (Morris *et al.* 1995; Branco y Kremer 2005) con la siguiente fórmula:

$$K_{PAR} = (0.22 + 0.008 * cl-a + 0.054 * cl-a^{0.66}) + (0.1948 * a_{320} - 0.9203)$$

en la cual el primer término del miembro derecho representa la relación del  $K_{PAR}$  con la  $cl-a$  y el segundo la relación con la CDOM. El primer término es del tipo  $K_0 + 0.008 (cl) + 0.054 (cl)^{2.3}$  y ha sido utilizado para predecir el  $K_{PAR}$  en varios lagos eutróficos y mesotróficos (Branco y Kremer 2005). Dado que no se contaba con datos para la atenuación de base ( $K_0$ ), en el presente estudio se adoptó el valor de 0.22 para las aguas mesotróficas del Lago Ontario, tal como fuera utilizado por Thomann *et al.* (1975), citado



en Branco y Kremer (Branco y Kremer 2005). Para el segundo término, se utilizaron datos publicados por Morris et al. (Morris *et al.* 1995) para un grupo de lagos de Alaska con alta concentración de carbono orgánico disuelto y relativamente baja  $chl-a$ , que presentaban coeficientes de absorción ( $a_{320}$ ) similares a los de la laguna Cacique Chiquichano. Con estos datos se realizó una regresión entre el  $K_{PAR}$  y el  $a_{320}$  ( $R^2 = 0.74$ ,  $n = 13$ ). Con la ecuación resultante de esta regresión, se estimaron los valores de  $K_{PAR}$  a partir del  $a_{320}$  obtenido en las muestras de la laguna del presente estudio. Aunque la precisión de este modelo no fue determinada (particularmente por la incertidumbre de  $K_0$ ), es pertinente para una buena descripción cualitativa de la atenuación de la radiación PAR en la laguna.

Teniendo en cuenta el  $K_{PAR}$ , la poca profundidad y mezcla en la laguna, se calculó la irradiancia media en la columna de agua ( $I_m$ ) de acuerdo tal como se detalló en el capítulo previo (Helbling *et al.* 1994).

#### *Tratamiento estadístico y modelos*

Todos los tratamientos se realizaron por duplicado y se registraron rutinariamente entre 100 y 200 individuos por cámara para obtener una media y una desviación estándar para cada tratamiento de radiación. En varias ocasiones, cuando la concentración de *D. spinulata* fue muy baja, se registraron menos individuos, pero nunca menos de 10 simultáneamente. Cada cámara fue considerada como la unidad experimental (muestra estadística). Se realizaron dos tipos de análisis de la varianza (ANOVA) en diferentes escalas de tiempo: dentro de cada día de experimentación se utilizó una prueba ANOVA de medidas repetidas, mientras que en una escala más amplia se utilizó una prueba ANOVA de dos factores para evaluar diferencias entre los tratamientos de radiación y entre las distintas fechas a lo largo del año. El nivel de significancia fue predefinido en 0.05 para todos los análisis.

Para comparar los resultados obtenidos antes y después del mediodía solar, se utilizó una prueba t para muestras pareadas. En los casos efectuados de regresiones lineales, se reporta el mejor ajuste y los intervalos de confianza del 95% junto con los valores  $R^2$  y la probabilidad de que la pendiente sea igual a cero (p). Para las regresiones, no se utilizó ninguno de los métodos “stepwise forward” ni “backward” para incluir las

distintas variables, sino que las variables independientes fueron ingresadas al modelo en un solo paso. Se modeló la velocidad inicial de *D. spinulata* a lo largo del año a partir de su abundancia, la concentración de cl-*a* total y la intensidad del viento durante los 3 -4 días previos. La razón para incluir el viento en dicho modelo es que los movimientos del agua generados por la mezcla (provocada por el viento en la superficie) podrían afectar la movilidad del zooplankton de la laguna Caci que Chiquichano. La regresión lineal múltiple obtenida ( $R^2 = 0.83$ ;  $p = 0.002$ ) permitió estimar la velocidad inicial con la siguiente fórmula:

$$S_m = 3.199 + 0.003 (\text{cl-}a) - 0.574 (W) + 0.007 (D)$$

donde  $S_m$  es la velocidad inicial ( $\text{mm s}^{-1}$ ) del modelo, cl-*a* es la concentración de clorofila-*a* total en la muestra ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ),  $W$  es la velocidad promedio del viento ( $\text{m s}^{-1}$ ) previo y  $D$  es la abundancia absoluta de *D. spinulata* ( $\text{ind l}^{-1}$ ). De manera similar, se estimó la aceleración de *D. spinulata* a lo largo del experimento utilizando una regresión lineal múltiple, con la velocidad inicial de natación y el contenido relativo de nanoplancton como variables independientes, obteniendo la siguiente relación ( $R^2 = 0.89$ ;  $p < 0.001$ ):

$$A = -0.623 + 0.11 (N) - 0.115 (S_0)$$

donde  $A$  es la aceleración predicha por el modelo ( $\mu\text{m s}^{-2}$ ),  $N$  es la abundancia relativa de nanoplancton (datos mostrados en el capítulo 2) y  $S_0$  es la velocidad inicial de natación ( $\text{mm s}^{-1}$ ) medida antes de la exposición a la radiación solar.

La orientación de natación fue explicada por un modelo basado en diversos parámetros: los coeficientes ajustados en la regresión lineal múltiple indican que un incremento en la abundancia del copépodo *M. mendocinus*, intensidad previa del viento e intensidad de la irradiancia en la columna de agua están relacionados con una natación descendente (dirección neta negativa) más pronunciada ( $R^2 = 0.85$ ,  $p = 0.001$ ), según:

$$G = 29.519 - 0.181 (I_m) - 0.145 (C_p) - 5.979 (W)$$

donde  $G$  es la dirección neta de los individuos nadando en forma vertical,  $I_m$  es la irradiancia media ( $\text{W m}^{-2}$ ) estimada para la columna de agua,  $C_p$  es la abundancia absoluta de copépodos (*M. mendocinus*,  $\text{ind l}^{-1}$ ) y  $W$  es la intensidad del viento ( $\text{m s}^{-1}$ ) previo al

experimento. El criterio para la selección de las variables en los tres modelos presentados fue encontrar los factores biológicamente relevantes que mejor expliquen las variaciones observadas.

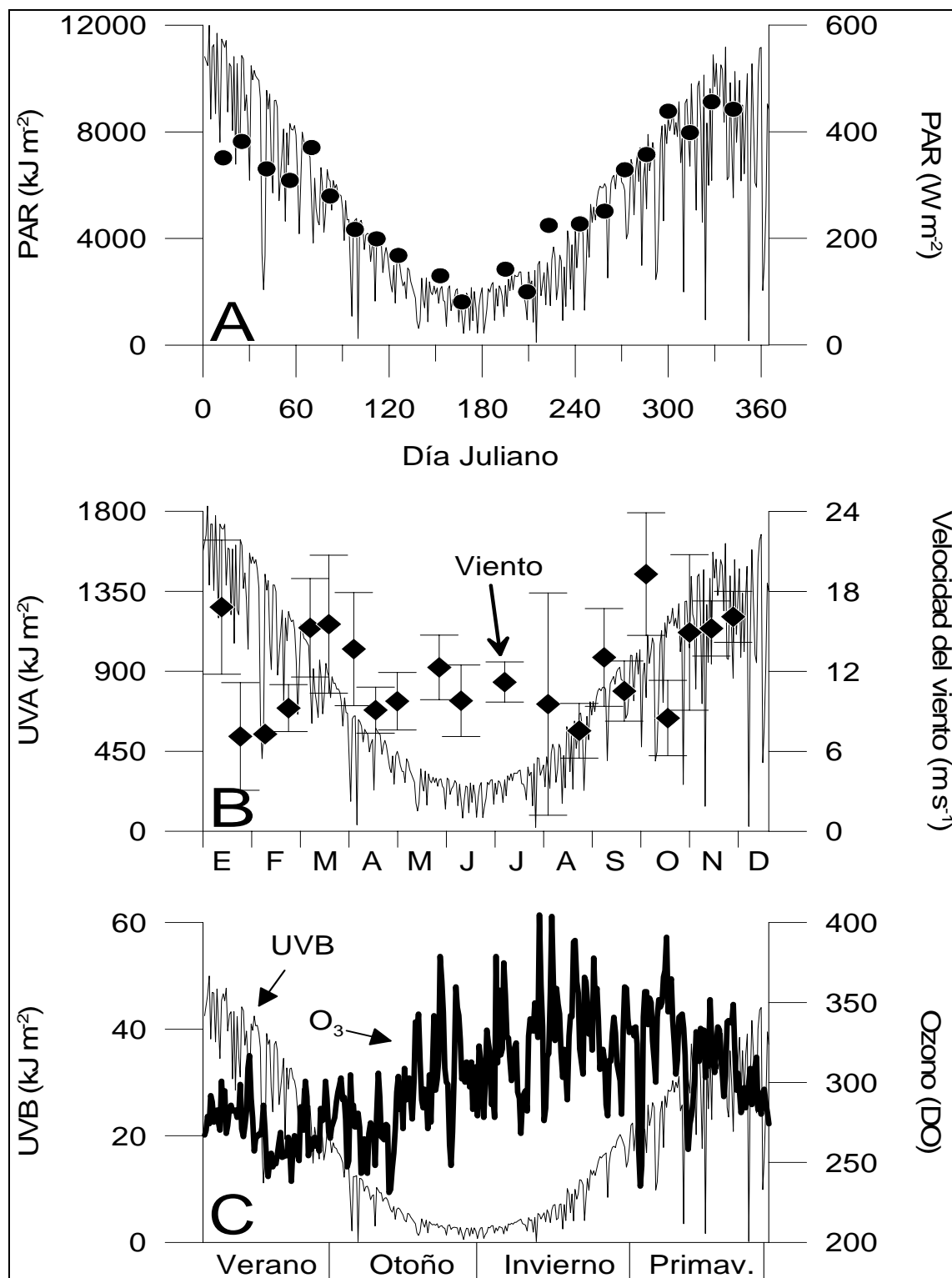
## Resultados

La radiación solar incidente y la concentración de ozono sobre la laguna Cacique Chiquichano durante el año 2005 se muestran en la figura 1. Los patrones de radiación sobre la superficie en términos de dosis diarias (figura 1A, B y C) están de acuerdo con la distribución típica de latitudes medias (valores altos durante el verano y bajos durante los meses de invierno) debido al cambio gradual de proximidad y orientación de la Tierra con respecto al Sol. La irradiancia PAR al mediodía solar y las dosis diarias (figura 1A) mostraron un patrón similar a lo largo del año, con valores máximos de aprox.  $450 \text{ W m}^{-2}$  y  $12000 \text{ kJ m}^{-2}$  durante el día Juliano 328 y el 4 respectivamente. Las dosis diarias de UVA y UVB siguieron una tendencia similar a la de PAR: las dosis diarias máximas fueron medidas en verano ( $1830$  y  $50 \text{ kJ m}^{-2}$  para UVA y UVB respectivamente), mientras que los valores mínimos se observaron en invierno ( $21$  y  $0.2 \text{ kJ m}^{-2}$  para UVA y UVB respectivamente) (figura 1B y C). La variabilidad diaria observada en los patrones de PAR y RUV estuvo principalmente causada por la cubierta de nubes. La concentración de ozono sobre el área de la laguna Cacique Chiquichano (figura 1C) varió también a lo largo del año, con valores relativamente bajos en verano y altos durante el invierno y la primavera. La concentración máxima ocurrió durante el invierno ( $405 \text{ UD}$  en el día Juliano 217), mientras que el valor mínimo ( $231 \text{ UD}$ ) está registrado para el día Juliano 120. Durante el período estudiado, la velocidad del viento varió entre  $0$  y  $5.8 \text{ m s}^{-1}$ , con un valor máximo de  $15 \text{ m s}^{-1}$  (datos no graficados); el viento más intenso ocurrió normalmente durante el otoño y la primavera.

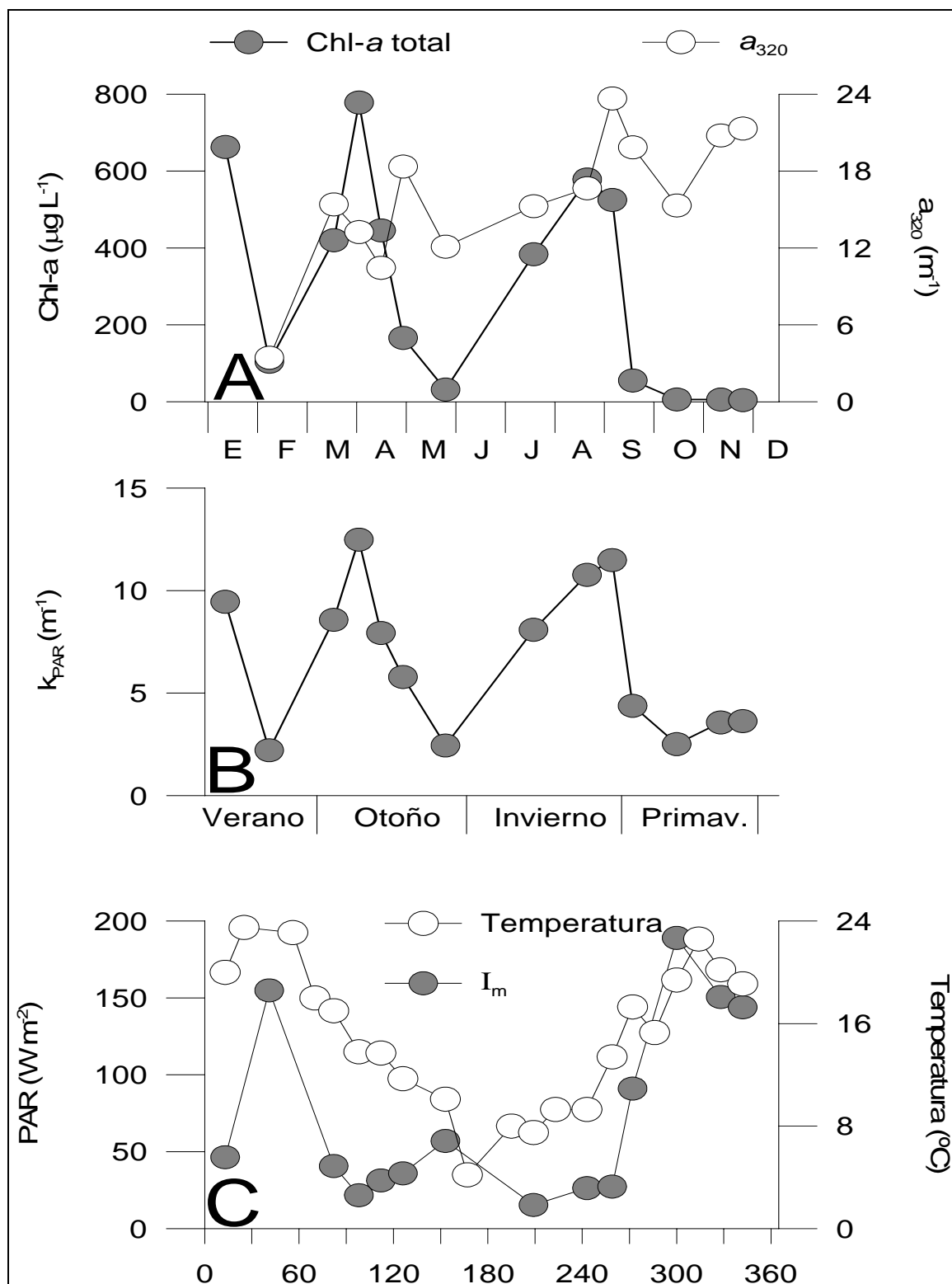
Algunas características biológicas y físicas del cuerpo de agua muestreado se muestran en la figura 2. La concentración de *chl-a* total varió significativamente a lo largo del año (figura 2A) con valores altos en verano (enero,  $663.7 \mu\text{g l}^{-1}$ ), otoño (abril,  $778.4 \mu\text{g l}^{-1}$ ) e invierno (agosto,  $578 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Concentraciones relativamente menores fueron determinadas en puntos alternados, con valores tan bajos como  $31.7 \mu\text{g l}^{-1}$  en invierno (junio) y  $4.2 \mu\text{g l}^{-1}$  en verano (diciembre). El coeficiente de absorción ( $a_{320}$ ), utilizado

como un estimador de la CDOM (figura 2A) mostró relativamente menos variabilidad que la concentración de *chl-a* total, con una tendencia incremental a lo largo del año. El mínimo valor de  $a_{320}$  ( $3.4 \text{ m}^{-1}$ ) se determinó en verano (febrero), mientras que el máximo ( $23.6 \text{ m}^{-1}$ ) se observó a finales del invierno (septiembre). El coeficiente de atenuación para la radiación PAR ( $K_{\text{PAR}}$ ) varió entre 2.2 y  $12.5 \text{ m}^{-1}$  (figura 2B). De acuerdo al modelo utilizado en este estudio, valores bajos de *chl-a* total y  $a_{320}$  resultaron en bajos valores de  $K_{\text{PAR}}$  (por ejemplo día Julianos 41, 153 y 300); el mayor valor de  $K_{\text{PAR}}$  fue estimado para verano, otoño y finales del invierno (meses de enero, abril y septiembre, respectivamente) y se asocian con altos niveles de *chl-a* total. La irradiancia media estimada en la columna de agua ( $I_m$ ) permaneció relativamente baja durante invierno y otoño (día Juliano 82 a 259) con valores menores que  $57 \text{ W m}^{-2}$ . Durante el verano y la primavera, sin embargo,  $I_m$  se incrementó, alcanzando valores de 155 y  $189 \text{ W m}^{-2}$  (día Juliano 41 y 300, respectivamente). Finalmente, la temperatura del agua en la laguna Cacique Chiquichano (figura 2C) mostró un amplio rango a lo largo del año, variando entre  $>23.5 \text{ }^\circ\text{C}$  durante el verano a  $4.2 \text{ }^\circ\text{C}$  en invierno, aún con la formación de hielo en la capa superficial durante algunas mañanas.

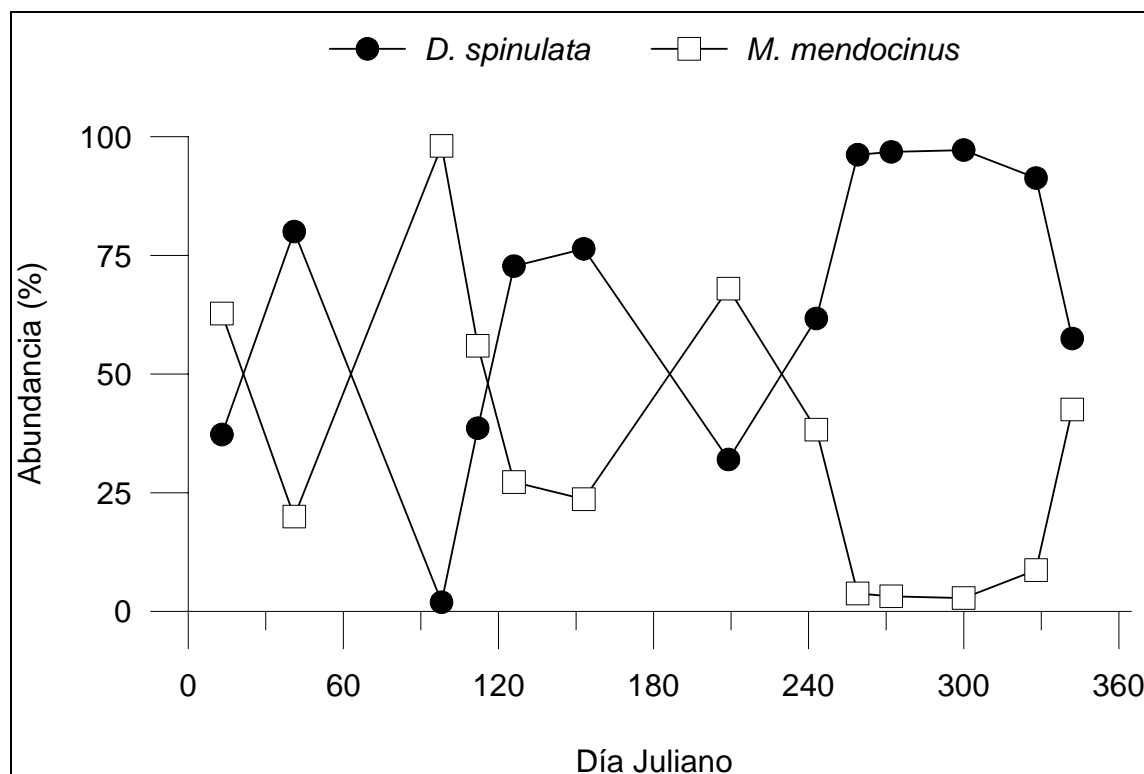
La abundancia relativa de las dos especies representativas de zooplancton (en términos de cantidad y biomasa) se presentan en la figura 3. Los cladóceros herbívoros (representados casi exclusivamente por *D. spinulata*) y el copépodo omnívoro *M. mendocinus* mostraron dominancias alternadas durante el año (figura 3). Los cladóceros fueron claramente dominantes durante febrero (verano), de mayo a junio (otoño) y de septiembre a noviembre (primavera), períodos en los cuales representaron más del 75% de la biomasa y llegaron a su máxima abundancia durante septiembre ( $377 \text{ ind l}^{-1}$ ).



**Figura 1.** Parámetros atmosféricos sobre la laguna Cacique Chiquichano en función del tiempo. A) dosis diarias (línea continua, en  $\text{kJ m}^{-2}$ ) e irradiancia (círculos, en  $\text{W m}^{-2}$ ); B) dosis diarias de UVA (315-400 nm) e intensidad promedio del viento de los días anteriores al muestreo; C) dosis diarias de UVB (280-315 nm) (línea delgada, en  $\text{kJ m}^{-2}$ ) en la superficie y concentración de ozono sobre el sitio (línea gruesa, en UD). Los datos de ozono se obtuvieron de <http://jwocky.gsfc.nasa.gov>. Para mayor claridad, se muestra el eje X como día Juliano, meses y estaciones en A), B) y C) respectivamente.



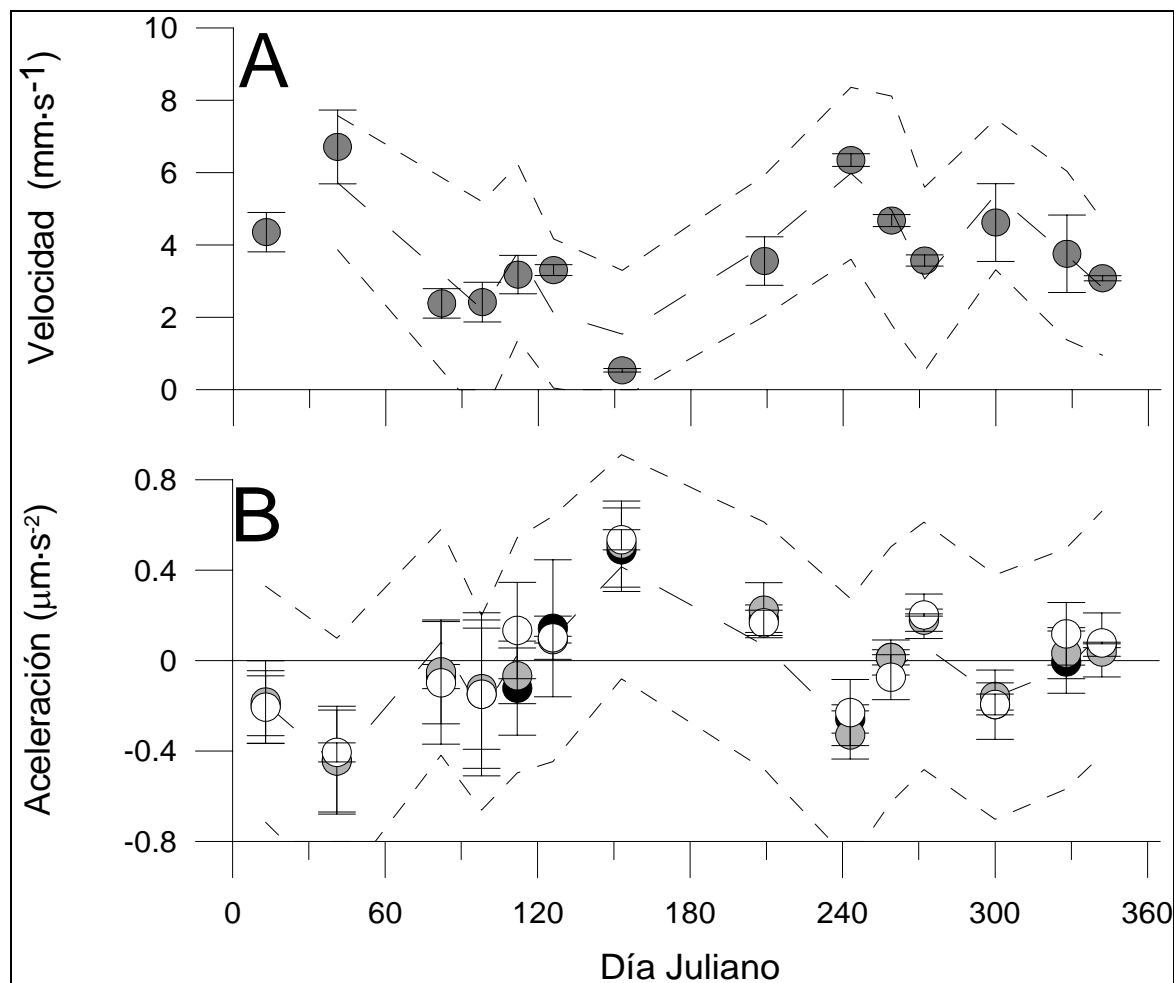
**Figura 2.** Parámetros biológicos y físicos en la laguna Cacique Chiquichano a lo largo del ciclo anual. A) abundancia fitoplanctónica estimada mediante la concentración de cl-a (círculos oscuros, en  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y materia orgánica cromofórica disuelta (CDOM) estimada a partir de la absorbancia a 320 nm (círculos blancos, en  $\text{m}^{-1}$ ). B) Estimaciones del Coeficiente de atenuación de PAR (en  $\text{m}^{-1}$ ). C) Irradiancia media en la columna de agua  $I_m$  (círculos oscuros, en  $\text{W m}^{-2}$ ) y temperatura del agua (círculos claros, en  $^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 3.** Abundancia relativa (%) del cladócero *Daphnia spinulata* y el copépodo *Metacyclops mendocinus* durante el período de estudio.

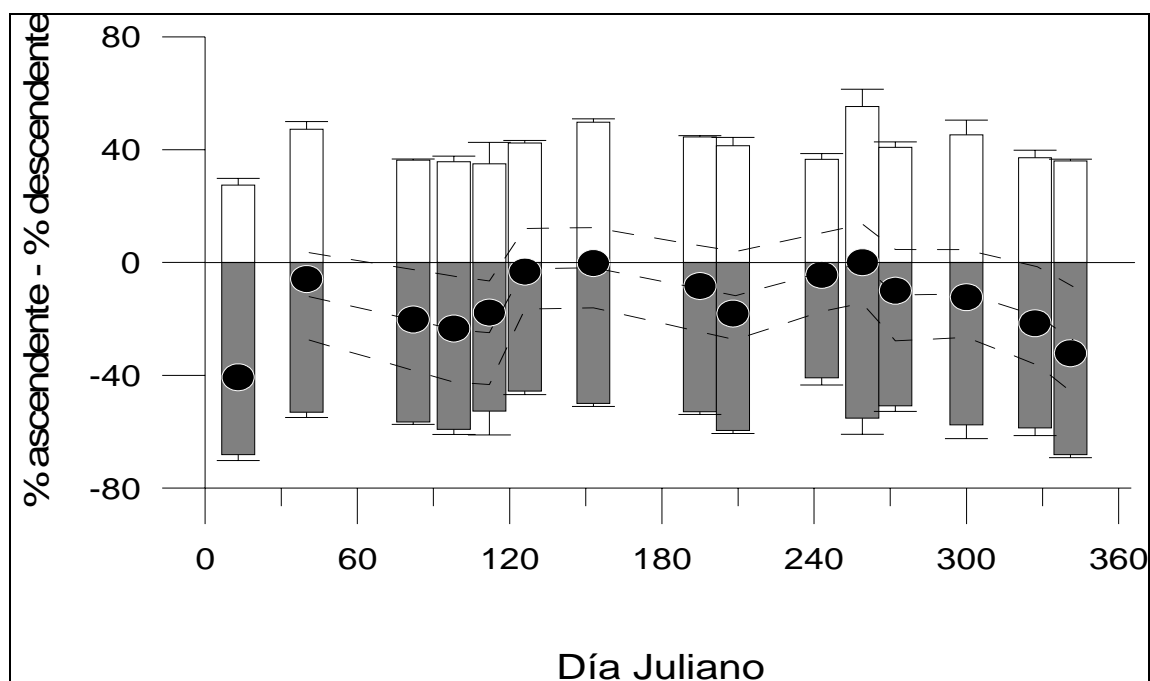
Los patrones de movilidad de *D. spinulata* se muestran en la figura 4 y figura 5. En ambas figuras se muestra también el resultado del modelo utilizado para estimar la movilidad (ver la sección materiales y métodos). La velocidad inicial de natación (antes de comenzar la exposición) varió considerablemente a lo largo del año y tomó valores comprendidos entre  $0.5 \pm 0.05 \text{ mm s}^{-1}$  (en muestras de junio) y  $6.7 \pm 1.01 \text{ mm s}^{-1}$  (en muestras obtenidas durante febrero) (figura 4A).

Para cada día de experimentación, hubo cambios significativos en la velocidad de natación al ser comparada con los valores iniciales (al comenzar la exposición) (ANOVA de medidas repetidas,  $p < 0.05$  para todos los casos). Estos cambios en la velocidad de natación (en adelante, la aceleración) de *D. spinulata* se muestran en la figura 4B. La aceleración tomó distintos valores a lo largo del año ( $F_{12,42} = 11.53$ ,  $p < 0.01$ ), con valores positivos (incremento de la velocidad de natación) durante finales de otoño / principios de invierno y valores negativos (una disminución de la velocidad de natación) durante el resto del año. No hubo efectos significativos del tratamiento de radiación ( $F_{2,42} = 0.56$ ,  $p = 0.57$ ) en la aceleración de *D. spinulata*, mostrando los organismos que recibieron UVB valores similares a los que recibieron sólo PAR.



**Figura 4.** Parámetros de movilidad de *D. spinulata*: A) Velocidad inicial de natación (círculos, en  $\text{mm s}^{-1}$ ) medida durante el período de estudio. Las barras de error indican una desviación estándar. El modelo ajustado y una desviación estándar se muestran con las líneas punteadas; B) cambios en la velocidad de natación (aceleración) de *D. spinulata* (círculos, en  $\mu\text{m s}^{-2}$ ) calculadas a partir de los datos experimentales (desde el comienzo de la exposición hasta las 13:00 hora local). Los círculos negros representan muestras expuestas a la radiación solar sin filtrar (280-700 nm); los círculos grises denotan muestras que recibieron PAR + UVA (tratamiento PA, 320-700 nm) y los círculos blancos son muestras que recibieron sólo radiación visible (tratamiento P, 400-700 nm). Las líneas discontinuas muestran la aceleración predicha por el modelo ajustado y una desviación estándar.





**Figura 5.** Dirección neta de natación (círculos negros) obtenida como la suma del porcentaje de individuos nadando hacia arriba (columnas blancas, valores positivos) y el porcentaje de individuos moviéndose hacia abajo (columnas oscuras, valores negativos). Las barras de error indican una desviación estándar.

En cualquier experimento dado, algunos individuos de *D. spinulata* nadaron ascendentemente, mientras que otros se movieron en hacia abajo (figura 5). Los valores promediados de la exposición antes del mediodía (hasta las 13:00 hora local) fueron estadísticamente similares ( $T_{14} = 1.76$ ,  $p > 0.9$ ) a los de pasado el mediodía, por lo tanto los valores del primer período son presentados aquí como representativos del experimento. No hubo diferencias significativas en la proporción de individuos moviéndose hacia arriba o descendiendo si se comparan los distintos tratamientos de radiación ( $p = 0.17$ ), por lo tanto los datos se agruparon para los cálculos subsiguientes. La proporción de individuos nadando hacia arriba o hacia abajo varió a lo largo del período estudiado (columnas en la figura 5) pero para la mayoría de los experimentos se observó una predominancia general de una tendencia a nadar hacia el fondo del recipiente (máximo de 68%), si se compara con la tendencia a nadar en forma ascendente (máximo de 55%). La dirección neta (círculos en la figura 5) fue hacia abajo, con un valor extremo de 41. Sin embargo, a finales de otoño / invierno, la dirección neta fue significativamente diferente ( $p = 0.002$ ), con una menor proporción de individuos nadando hacia abajo que la observada para primavera / verano, cuando la dirección neta fue mayoritariamente el alejamiento de la superficie.

## Discusión

La región de Patagonia está periódicamente sujeta a la influencia de masas de aire con bajo contenido de ozono, las cuales han sido detectadas en Argentina a latitudes de hasta 38 °S (Orce y Helbling 1997). Por lo tanto, los efectos de la RUV, especialmente UVB en ecosistemas acuáticos han recibido una atención creciente y se han venido efectuando varios estudios en el área (Villafañe *et al.* 2001). Se ha estudiado que la movilidad del zooplancton en sentido amplio es afectada por varios factores relativamente simples de medir. Por ejemplo se ha observado una mayor movilidad de *Daphnia pulex* a mayor temperatura dependiendo de la historia previa de aclimatación (Gorski y Dodson 1996), mientras que varias especies de *Daphnia* mostraron cambios proporcionales a la variación de temperatura, modificando su desplazamiento vertical en la columna de agua (Gerritsen 1982; Gorski y Dodson 1996). Varios autores han observado conductas de escape provocadas por la RUV (Storz y Paul 1998; Leech y Williamson 2001; Rhode *et al.* 2001; Boeing *et al.* 2004); a su vez, la mayor viscosidad del agua produjo disminuciones en el movimiento sub-individual en *Daphnia galeata* (Loiterton *et al.* 2004). Con respecto a la migración vertical, otros factores físicos como la concentración de oxígeno pueden tener gran importancia (Ramos-Jiliberto y Zúñiga 2001). En distintos estudios se ha intentado relacionar la conducta de natación con factores únicos o un pequeño grupo de ellos (como luz, comida, temperatura, predadores), obteniendo una amplia gama de respuestas. Por ejemplo, Dodson y otros (1997) observaron que diferentes especies de *Daphnia* exhiben distintos comportamientos en su natación cuando son expuestas a distintas condiciones de luz y alimento y que esa respuesta puede estar relacionada con el hábitat original de cada especie (Dodson *et al.* 1997); Weber y van Noordwijk (2002) encontraron que la presencia de un predador afecta la movilidad (velocidad de natación, largo de la trayectoria total y distribución vertical) en clones de *Daphnia galeata* (Weber y van Noordwijk 2002). Los datos presentados aquí indican que el patrón de natación, aceleración y movimientos verticales de *D. spinulata* a lo largo del año no son explicados satisfactoriamente por relaciones uni-factoriales. Esto concuerda con estudios previos (Ryan y Dodson 1998) en los cuales la velocidad de natación de *D. pulicaria* varió a lo largo del año y no estaba relacionada únicamente con la concentración de alimento. En la presente tesis, sin embargo, la mayor parte de la variabilidad en la velocidad inicial de *D. spinulata* estuvo relacionada con la concentración de cl-a, con la intensidad del viento y la abundancia de *D. spinulata*. Esto podría estar reflejando la importancia de mecanismos de aclimatación a la

historia previa (viento de los días anteriores) como con respuestas comportamentales a factores biológicos (la concentración de alimento y presencia de congéneres). A continuación se discuten estos aspectos.

### *Velocidad de natación*

Uno de los objetivos de este capítulo fue determinar si *D. spinulata* cambiaba su velocidad diferencialmente luego de haber sido expuesta a radiación solar. Contrariamente a lo esperado, no se encontraron efectos de la RUV en esta variable, lo cual sugiere que *D. spinulata* fue capaz de hacer frente a esta banda de radiación y sobrellevar cualquier impacto potencial de la RUV. Estudios de laboratorio previos con una especie relacionada (*D. menucoensis*, ver algunos antecedentes en el capítulo 1) colectada en la misma laguna de estudio mostró por ejemplo un mecanismo de reparación de ADN (dependiente de la luz, fotorreparación) altamente eficiente (Gonçalves *et al.* 2002). Sin embargo, no se pueden descartar otras posibilidades tales como que las especies de *Daphnia* en la laguna Cacique Chiquichano carezcan de respuestas sensoriales a la RUV o que dichas respuestas fueron demasiado leves para ser detectadas por nuestro enfoque experimental. De esta manera, los resultados no apoyan la hipótesis de efectos de la RUV en la velocidad de natación.

Otra potencial fuente de variabilidad en los parámetros de movilidad podría estar en las diferencias entre la temperatura *in situ* y la utilizada en los experimentos. De hecho, en el presente trabajo se utilizó una sola temperatura experimental a lo largo del año para que fuera posible comparar el impacto de otras variables en las distintas estaciones. Cabe destacar que de esta forma se descartan los efectos de los cambios naturales de la temperatura del agua, a los que *D. spinulata* está expuesta normalmente tanto a lo largo del año como a lo largo del día (debido a la pronunciada amplitud térmica estacional y diaria en la región). La abundancia relativa de *D. spinulata* a lo largo del año (figura 3A) muestra un patrón en el que esta especie es dominante en períodos (febrero y septiembre-noviembre) en los cuales la temperatura del agua era similar a la utilizada en los experimentos (18 °C), de manera tal que los datos presentados aquí pueden estar efectivamente relacionados con las respuestas *in situ*. Durante el otoño, sin embargo, un corto período de dominancia de *D. spinulata* fue observado y durante ese tiempo la temperatura experimental se desvió claramente de la medida *in situ*.

Si se asume que debería haber una respuesta en la movilidad de los organismos que sean sensibles al daño, una posible razón de la ausencia de efectos de la RUV podría ser la temperatura constante (a lo largo del año) utilizada en los experimentos que se presentan aquí ya que *D. spinulata* podría haber tenido una mayor tasa de reparación del ADN que la que hubiera exhibido a temperaturas *in situ*. De hecho, otros estudios con fitoplancton de la laguna Cacique Chiquichano (Barbieri *et al.* 2006) indican que los organismos fueron más sensibles a la RUV durante el invierno. La diferencia entre la temperatura *in situ* y experimental podrían estar implicadas en la ausencia de efectos de RUV, considerando que el sistema enzimático que repara las lesiones inducidas por la RUV en el ADN es dependiente de la temperatura. Algunas investigaciones realizadas con zooplancton de agua dulce (Williamson *et al.* 2002) mostraron una alta tolerancia de *D. catawba* (especie que depende principalmente de la fotorreparación para su tolerancia a la RUV) a la RUV a temperaturas elevadas. Otros autores, también trabajando con especies de *Daphnia* en lagos templados, encontraron un mayor daño en el ADN a bajas temperaturas, lo cual provee evidencia molecular adicional de la dependencia de la temperatura del daño al ADN inducido por la RUV (MacFadyen *et al.* 2004). Las temperaturas elegidas para dichos estudios (entre 5 y 25 °C) están dentro del rango de temperaturas *in situ* medidas en la laguna Cacique Chiquichano (figura 2C). En este contexto, se puede especular si experimentos con temperaturas *in situ* hubieran arrojado diferentes resultados en invierno, aunque hay que considerar también las bajas irradiancias (figura 2C) en dicho momento del año.

La relación modelada entre la velocidad inicial y la *cl-a* predice una baja movilidad de *D. spinulata* en presencia de bajas concentraciones de alimento en la laguna. Esto puede parecer contrario a lo esperado (menor movilidad ante mayor concentración de comida), pero quizás refleje una serie de factores más complejos, por ejemplo el hecho de que una mayor *cl-a* no signifique necesariamente mayor cantidad de presas para *D. spinulata*, sino probablemente una mayor cantidad de células no comestibles (ver capítulo 2). De hecho, las respuestas en términos de velocidad de natación son dispares según la especie (Ryan y Dodson 1998). Por otra parte, una relación negativa de la movilidad con el viento (menor velocidad de natación cuando el viento previo ha sido más intenso) podría estar asociada a una estrategia para minimizar costos: una alta movilidad podría no ser necesaria si la probabilidad de encontrar alimento es alta (debido a la turbulencia en una columna de agua muy mezclada) (Rothschild y Osborn 1988). De manera similar, en un estudio previo los

datos de velocidad del viento de las 48 horas previas sirvieron para explicar la variabilidad en la irradiancia de la columna de agua en una laguna de aguas poco profundas y con intensidades de vientos similares (Banas *et al.* 2005). Finalmente, un incremento en la velocidad de natación de *D. spinulata* podría reflejar efectos denso-dependientes: de hecho otros autores han encontrado que las tasas de alimentación de *Daphnia pulex* se reducen en un medio densamente poblado, siendo esta reducción mediada por sustancias químicas liberadas por individuos del mismo género y / ó de la misma especie (Lüring *et al.* 2003) o bien en por interferencia mecánica directa con individuos adyacentes (Ban *et al.* 2008). Así, puede ser hipotetizado que una alta concentración de individuos de *D. spinulata* estimula el incremento de la velocidad de natación, con el fin de maximizar su alimentación.

Aún cuando en el presente estudio no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos de radiación, la RUV no puede ser excluida como parte de una señal ambiental, especialmente cuando se considera a la migración vertical. La dirección descendente de *D. spinulata* observada a lo largo del año es una resultante, pero es interesante notar que la población podría estar compuesta por más de un clon, con distintas tendencias en sus movimientos verticales (en el presente caso, todo movimiento posible cayó siempre dentro de la categoría “ascendente” o “descendente”, figura 5), tal como se lo ha observado en otros estudio (King y Miracle 1995) en el cual la misma población de *Daphnia* resultó estar dividida en clones con distintos patrones de migración. De esta manera, es esperable que la población de *D. spinulata* no tenga una clara respuesta de movimientos verticales como un todo. Estudios previos (Leech *et al.* 2005a) mostraron que la RUV influencia la distribución vertical y la partición de hábitat en algunos grupos de zooplancton en lagos con una alta penetración de la RUV en la columna de agua (“lagos de alta UV”), mientras que en los “lagos de baja UV” otros factores serían más importantes (predación, limitación del alimento, etc.). En este sentido, la laguna Cacique Chiquichano podría ser considerada como “de baja UV”, lo cual es sugerido por su alto coeficiente de atenuación PAR (figura 2B) y su consiguiente baja irradiancia UV en la columna de agua.

#### *Patrones en la aceleración*

En el presente estudio, los factores ecológicos tales como la abundancia relativa de nanoplancton (ver capítulo 2) parecen jugar un papel importante en los patrones de

aceleración observados (figura 4B). Similarmente al efecto de la concentración de cl-a en la velocidad inicial de natación, la alta proporción de nanoplancton en el agua parece inducir la aceleración de los individuos de *D. spinulata*, lo cual está de acuerdo con otros estudios que han demostrado que la concentración de alimento tiene respuestas específicas para distintas especies de *Daphnia* (Dodson *et al.* 1997). *D. spinulata* podría mostrar un comportamiento diferencial ante diferentes composiciones del alimento (Meise *et al.* 1985; Martinez y Montecino 2000) y el alimento con células pequeñas podría tener un mayor valor energético relativo, por lo cual el organismo responde de la misma manera que un aumento en la concentración de alimento: incrementar su movilidad para adquirir mayores cantidades. Sumado a esto, tanto los individuos recién eclosionados como los adultos tuvieron que hacer frente a la presencia del copépodo omnívoro *M. mendocinus*, que podría preñar sobre ellos, similarmente a lo que ocurre en otros ambientes (Gliwicz y Lampert 1994; Gliwicz y Umana 1994; Brandl 1998; Chang y Hanazato 2005) Si este fuera el caso, es esperable una conducta de escape por parte de *D. spinulata* tendiente a evitar la presencia de copépodos. Los resultados presentados aquí muestran que la dirección de natación de los cladóceros estuvo negativamente afectada por la concentración de *M. mendocinus* y que los individuos tienden a nadar hacia el fondo. Aún cuando la natación hacia el fondo no sea activa, algunos cladóceros, en presencia de su predador, en vez de escapar simplemente se dejan llevar por la gravedad (tienen flotabilidad negativa), deteniendo su movimiento para evitar ser detectado por el cyclopoideo predador y hundiéndose hasta escapar del radio de acción del copépodo (Kerfoot 1978).

Sin embargo, otras variables también explicaron parte de la variabilidad de los movimientos verticales, tales como la irradiancia media PAR en la columna de agua (estando una alta irradiancia asociada a un mayor número de individuos de *D. spinulata* nadando hacia abajo, figura 2C y figura 5). Cada una de las variables utilizadas en los modelos fueron obtenidas independientemente y estuvieron relacionadas a la historia previa (velocidad inicial de natación), radiación en la columna de agua ( $I_m$ ) y parámetros biológicos (la presencia del predador / competidor *M. mendocinus*).

### *Orientación y tiempo de respuesta*

Varios estudios han observado respuestas evasivas de *Daphnia* en términos de la orientación al ser expuesta a longitudes de onda del rango de la RUV (Storz y Paul 1998;

Leech y Williamson 2001; Rhode *et al.* 2001; Alonso *et al.* 2004; Boeing *et al.* 2004; Leech *et al.* 2005b). Sin embargo, en la literatura no siempre es claro cuán rápido responde *Daphnia* inmediatamente después de haber sido a RUV solar. Por ejemplo, las respuestas se registraron luego de varias horas (Rhode *et al.* 2001), o luego de 10-15 min (Leech y Williamson 2001; Leech *et al.* 2005b). En los experimentos presentados aquí, la manipulación de las cámaras en la que se expuso a *D. spinulata* fue muy rápida (cada cámara estuvo fuera de la bandeja de exposición un tiempo < 5 min y la filmación en video comenzó a más tardar 60 s luego de que fueran quitadas de dicha bandeja).

Se podría hipotetizar que la ausencia de efectos de la RUV en la movilidad es debida a que la filmación y la exposición no fueron simultáneas. Sin embargo, no se conoce cuán rápido *Daphnia* responde a un cambio de iluminación fuerte a suave / difusa (o directamente oscuridad), aunque Storz y Paul (1998) encontraron una respuesta relativamente rápida a los cambios en radiación monocromática (Storz y Paul 1998). Por lo tanto, la ausencia de diferencias entre los tratamientos de radiación podría indicar bien que no hay efectos de la RUV en la dirección vertical de movimientos o bien que este movimiento existió mientras la cámara estaba expuesta y se disipó muy rápidamente cuando los organismos fueron transferidos a la semi-oscuridad para ser filmados. Otra alternativa sería que los efectos sólo puedan ser observados en períodos > 60 s, pero sin embargo no se encontraron diferencias entre los primeros y últimos 30 s de cada sesión de filmación de 120 s. Finalmente, se podría pensar que los efectos duran más que el tiempo utilizado para filmar a los individuos y que las grabaciones en video son representativas de los parámetros de movilidad promedio para *D. spinulata* en ese momento. Para tomar una posición conservadora, se expresará aquí que no hubo efecto significativo de la “exposición reciente” a la RUV en la movilidad, con lo cual la hipótesis de efecto de la RUV en la orientación de *D. spinulata* no se ve apoyada por los datos presentados.

Se ha demostrado que *D. magna* exhibe respuestas fototácticas negativas y positivas ante la RUV y PAR, respectivamente (Storz y Paul 1998). En su ambiente natural, sin embargo, los crustáceos pelágicos están sujetos no sólo a distintas longitudes de onda (deletéreas + reparadoras) a la vez y en proporciones variables, sino también a cambios en otras variables tales como predadores y alimento. Un grupo de factores ambientales parece ser más importante que la RUV reciente al considerar la conducta de natación de *D. spinulata*. Esto parece ser lo esperable, dado que *D. spinulata* está expuesta a condiciones ambientales con enormes variaciones físicas, químicas y biológicas en la laguna Cacique

Chiquichano a lo largo del año. En particular, los datos aquí presentados indican que el viento es un factor muy importante que podría estar controlando el sistema que condiciona la conducta natatoria y movilidad de esta especie. La velocidad del viento es posiblemente un factor de estrés en esta región, aunque no es frecuentemente tomada en cuenta al estudiar la respuesta del zooplancton.

En líneas generales, este estudio sugiere que hay una combinación de parámetros que explica la mayor parte de la variabilidad observada en la movilidad de *D. spinulata* y que el impacto de la RUV solar es poco importante al nivel de efectos sub-letales. Sin embargo, las influencias directas de la RUV solar en el fitoplancton de la laguna Cacique Chiquichano podrían tener un importante efecto en la movilidad de *D. spinulata* a través de la selección de diferentes tamaños / especies que constituyen el alimento para estos cladóceros.



**Literatura citada**

- Alonso C, Zagarese HE, Rocco V, Barriga JP, Battini MA (2004) Surface avoidance by freshwater zooplankton: Field evidence on the role of ultraviolet radiation. *Limnology and Oceanography* 49: 225-232
- Ban S, Ohnishi T, Mori T, Lee H-W (2008) Is the negative effect of crowding on ingestion rate in *Daphnia pulex* induced physically or chemically? *Limnology* 9: 13-18
- Banas D, Grillas P, Auby I, Lescuyer F, Coulet E, Moreteau J-C, Millet B (2005) Short time scale changes in underwater irradiance in a wind-exposed lagoon (Vaccarès lagoon, France): efficiency of infrequent field measurements of water turbidity or weather data to predict irradiance in the water column. *Hydrobiologia* 551: 3-16
- Barbieri ES, Gonçalves RJ, Villafañe VE, Helbling EW (2006) Phytoplankton dynamics throughout a yearly cycle in a freshwater lagoon of Patagonia: Physiological responses to solar radiation. 33rd Meeting of the American Society of Photobiology, Río Grande, Puerto Rico
- Blumthaler M, Webb AR, Helbling EW, Zagarese HE (2003) UVR climatology UV effects in aquatic organisms and ecosystems. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 21-58
- Boeing WJ, Leech DM, Williamson CE, Cooke S, Torres L (2004) Damaging UV radiation and invertebrate predation: conflicting selective pressures for zooplankton vertical distribution in the water column of low DOC lakes. *Oecologia* 138: 603-612
- Branco AB, Kremer J (2005) The relative importance of chlorophyll and colored dissolved organic matter (CDOM) to the prediction of the diffuse attenuation coefficient in shallow estuaries. *Estuaries* 28: 643-652
- Brandl Z (1998) Feeding strategies of planktonic cyclopoids in lacustrine ecosystems. *Journal of Marine Systems* 15: 87-95
- Chang K-H, Hanazato T (2005) Prey handling time and ingestion probability for *Mesocyclops* sp. predation on small cladoceran species *Bosmina longirostris*, *Bosminopsis deitersi*, and *Scapholeberis mucronata*. *Limnology* 6: 39-44
- de Mora S, Demers S, Vernet M (2000) The effect of UV radiation in the marine environment. Cambridge University Press, Cambridge
- Dodson SI, Ryan S, Tollrian R, Lampert W (1997) Individual swimming behavior of *Daphnia*: effects of food, light and container size in four clones. *Journal of Plankton Research* 19: 1537-1552

- Fischer JM, Nicolai JL, Williamson CE, Persaud AD, Lockwood RS (2006) Effects of ultraviolet radiation on diel vertical migration of crustacean zooplankton: an in situ mesocosm experiment. *Hydrobiologia* 536: 217-224
- Gerritsen J (1982) Behavioral response of *Daphnia* to rate of temperature change: Possible enhancement of vertical migration. *Limnology and Oceanography* 27 254 - 261
- Gliwicz MZ, Lampert W (1994) Clutch-size variability in *Daphnia*: Body-size related effects of egg predation by cyclopoid copepods. *Limnology and Oceanography* 39: 479-485
- Gliwicz MZ, Umana G (1994) Cladoceran body size and vulnerability to copepod predation. *Limnology and Oceanography* 39: 419-424
- Gonçalves RJ, Villafañe VE, Helbling EW (2002) Photorepair activity and protective compounds in two freshwater zooplankton species (*Daphnia menucoensis* and *Metacyclops mendocinus*) from Patagonia, Argentina. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 996-1000
- Gonzalez C, Tappari F (1995) Características geológicas, biológicas y ambientales de la zona de la laguna Cacique Chiquichano de Trelew. Informe de trabajo práctico de integración, Trelew, Chubut, Argentina
- Gorski PR, Dodson SI (1996) Free-swimming *Daphnia pulex* can avoid following Stokes' law. *Limnology and Oceanography* 41: 1815-1821
- Helbling EW, Villafañe VE, Holm-Hansen O (1994) Effects of ultraviolet radiation on antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. *Antarctic Research Series* 62: 207-227
- Helbling EW, Zagarese HE (2003) UV effects in aquatic organisms and ecosystems. The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- Hessen DO (2002) UV radiation and Arctic ecosystems. Springer-Verlag, New York
- Holm-Hansen O, Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH (1965) Fluorometric determination of chlorophyll. *Journal du Conseil permanent International pour l'Exploration de la Mer* 30: 3-15
- Holm-Hansen O, Riemann B (1978) Chlorophyll *a* determination: improvements in methodology. *Oikos* 30: 438-447
- Kerfoot WC (1978) Combat between predatory copepods and their prey: *Cyclops*, *Epischura*, and *Bosmina*. *Limnology and Oceanography* 23: 1089-1102

- King CE, Miracle MR (1995) Diel vertical migration by *Daphnia longispina* in a Spanish lake: Genetic sources of distributional variation. *Limnology and Oceanography* 40: 226-231
- Klisch M, Rajeshwar PS, Helbling EW, Häder D-P (2005) Induction of thymine dimers by solar radiation in natural freshwater phytoplankton assemblages in Patagonia, Argentina. *Aquatic Sciences* 67: 72-78
- Lebert M, Häder D-P (1999) Image analysis: A versatile tool for numerous applications. *G.I.T. Special edition Imaging Microscopy* 1: 5-6
- Leech DM, Padeletti A, Williamson CE (2005a) Zooplankton behavioral responses to solar UV radiation vary within and among lakes. *Journal of Plankton Research* 27: 461-471
- Leech DM, Williamson CE (2001) *In situ* exposure to ultraviolet radiation alters the depth distribution of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 46: 416-420
- Leech DM, Williamson CE, Moeller RE, Hargreaves BR (2005b) Effects of ultraviolet radiation on the seasonal vertical distribution of zooplankton: a database analysis. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 162: 445-464
- Loiterton B, Sundbom M, Vrede T (2004) Separating physical and physiological effects of temperature on zooplankton feeding rate. *Aquatic Sciences* 66: 123-129
- Lürling M, Roozen F, Van Donk E, Goser B (2003) Response of *Daphnia* to substances released from crowded congeners and conspecifics. *Journal of Plankton Research* 25: 967-978
- MacFadyen EJ, Williamson CE, Grad G, Lowery M, Wade JH, Mitchell DL (2004) Molecular response to climate change: temperature dependence of UV-induced DNA damage and repair in the freshwater crustacean *Daphnia pulex*. *Global Change Biology* 10: 408-416
- Marinone MC, Menu-Marque S, Añón Suárez DA, Diéguez MC, Pérez P, De los Ríos P, Soto D, Zagarese HE (2006) UV effects on aquatic and coastal ecosystems UV radiation as a potential driving force for zooplankton community structure in Patagonian lakes. *Photochemistry and Photobiology* 82: 962-971
- Martinez G, Montecino V (2000) Competition in Cladocera: implications of the trophic resources use overlap. *Revista Chilena de Historia Natural* 73: 787-795
- Meise CJ, Munns Jr WR, Hairston NG, Jr (1985) An analysis of the feeding behavior of *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography* 30: 862-870

- Morris DP, Zagarese HE, Williamson CE, Balseiro EG, Hargreaves BR, Modenutti BE, Moeller R, Quemaliños CP (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40: 1381-1391
- Moss B (1998) *Ecology of Fresh Waters - Man and Medium, Past to Future*. Blackwell Science, Oxford
- Orce L, Helbling EW (1997) Latitudinal UVR-PAR measurements in Argentina: extent of the 'ozone hole'. *Global and Planetary Change* 15: 113-121
- Osburn CL, Morris DP (2003) Photochemistry of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 185-217
- Ramos-Jiliberto R, Zúñiga LR (2001) Depth-selection patterns and diel vertical migration of *Daphnia ambigua* (Crustacea: Cladocera) in lake El Plateado. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 573-585
- Rhode SC, Pawlowski M, Tollrian R (2001) The impact of ultraviolet radiation on the vertical distribution of zooplankton of the genus *Daphnia*. *Nature* 412: 69-72
- Rivera SG (1993) Variación espacio-temporal en la estructura comunitaria del fitoplancton de la laguna Cacique Chiquichano (Trelew - Chubut - Patagonia Argentina). Licenciatura, Trelew, Chubut, Argentina
- Rothschild BJ, Osborn TR (1988) Small-scale turbulence and plankton contact rates. *Journal of Plankton Research* 10: 465-474
- Ryan SM, Dodson SI (1998) Seasonal analysis of *Daphnia pulicaria* swimming behavior. *Hydrobiologia* 384: 111-118
- Sinha RP, Häder D-P (2002) UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1 225 -236
- Storz UC, Paul RJ (1998) Phototaxis in water fleas (*Daphnia magna*) is differently influenced by visible and UV light. *Journal of Comparative Physiology A* 183: 709-717
- Thomann RV, Ditoro DM, Winfield RP, O'Connor DJ (1975) Mathematical modeling of phytoplankton in Lake Ontario. I. Model development and verification. US Environmental Protection Agency - National Environmental Research Center, Office of Research and Development, Corvallis, Oregon

- Villafañe VE, Helbling EW, Zagarese HE (2001) Solar ultraviolet radiation and Its impact on aquatic systems of Patagonia, South America. *AMBIO* 30: 112-117
- Weber A, van Noordwijk A (2002) Swimming behaviour of *Daphnia* clones: differentiation through predator infochemicals. *Journal of Plankton Research* 24: 1335-1348
- Williamson CE, Grad G, De Lange HJ, Gilroy S (2002) Temperature-dependent ultraviolet responses in zooplankton: Implications of climate change. *Limnology and Oceanography* 47: 1844-1848

## Capítulo 4

### Efectos sub-letales de la radiación ultravioleta solar en la alimentación de *Acartia clausi*

#### Resumen

La radiación ultravioleta (RUV, 280-400 nm) puede afectar negativamente a los organismos que habitan las aguas superficiales. Se sabe que la RUV puede afectar negativamente la movilidad del zooplancton y el crecimiento y otros parámetros del fitoplancton. Pocos estudios sin embargo han evaluado las respuestas de la alimentación del zooplancton expuesto a dosis subletales de RUV natural. El zooplancton de aguas superficiales en la zona de estudio está expuesto al menos durante parte del año a considerables dosis de RUV y cantidad de horas de luz. En el presente estudio se evaluó el efecto de dosis subletales de RUV en la alimentación del copépodo *Acartia clausi*. Se utilizó un enfoque experimental, con individuos colectados del campo, radiación natural y cultivos de la diatomea marina *Thalassiosira weissflogii* como alimento para el copépodo. Hembras adultas de *Acartia clausi* fueron inicialmente expuestas a la luz solar, en agua filtrada, durante 2.5 h, con y sin RUV. Sólo los copépodos fueron expuestos a la radiación. La tasa de filtración e ingestión de los individuos que recibieron dosis sub-letales de RUV ( $\sim 2 \text{ kJ m}^{-2} \text{ UVB}$ ) fueron significativamente menores que las de los copépodos que recibieron solamente PAR. Por lo tanto la radiación ultravioleta disminuye velocidad con la que *A. clausi* ingiere las células de *T. weissflogii*. La historia previa (luminosidad y estado alimenticio) podrían tener un papel importante modulando los efectos observados.

## Introducción

El descubrimiento del “agujero de ozono” ha estimulado en las últimas dos décadas numerosas investigaciones científicas acerca de los efectos de la radiación ultravioleta (RUV, 280-400 nm) en distintos organismos (Young *et al.* 1993) y ambientes acuáticos (Häder *et al.* 1998) y la mayor parte de ellos son aún difíciles de comprender en forma acabada, especialmente a nivel de ecosistema (Bothwell *et al.* 1994; de Mora *et al.* 2000). En particular, la radiación ultravioleta B (UVB, 280-320 nm) es la más porción más energética que alcanza la superficie del planeta y puede producir daños en distintos componentes celulares y nucleares, tales como el ADN, lípidos, membranas y proteínas (Murphy 1983; Beer *et al.* 1993; Sinha y Häder 2002; Sinha *et al.* 2003). Efectos comunes en los organismos productores son disminución de la productividad, fotosíntesis y crecimiento (Holm-Hansen *et al.* 1993) y muchas veces los efectos dependen de la especie y la escala temporal considerada (Villafañe *et al.* 1995).

Aunque se ha dado mayor importancia relativa a la disminución de ozono en el hemisferio sur (Farman *et al.* 1985; Atkinson *et al.* 1989), se reconoce ampliamente que la misma es un fenómeno de alcances globales (Crutzen 1992; Madronich 1993; Madronich y Grujil 1994) y existen evidencias de masas de aire con relativamente baja concentración de ozono en determinados eventos en el hemisferio norte durante los últimos años (Kerr y McElroy 1993; Manney *et al.* 1996; Björn *et al.* 1998; Hendricks *et al.* 2001; Goutail *et al.* 2005; Robinson *et al.* 2005; Keil *et al.* 2007). A causa de ello, los estudios acerca de los efectos de la RUV también han sido incrementados en los ecosistemas de la región del Ártico (Hessen 2002; Vincent y Belzile 2003). La predominancia de los copépodos en el ambiente pelágico no se restringe al hemisferio norte, sino que comprende la gran mayoría de las aguas oceánicas, en las que forman un importante nivel en la red trófica planctónica y dan cuenta de la mayor parte de la productividad secundaria (Mauchline 1998). De hecho, los copépodos de menor tamaño como los del género *Acartia* probablemente forman el grupo más numeroso de metazoos de la tierra (Turner 2004). En particular, el copépodo calanoideo *Acartia clausi* Giesbrecht es una especie dominante en muchos ambientes costeros y estuarios del hemisferio norte (Bowman 1961; Lee y McAlice 1979; Halsband y Hirche 2001), por lo tanto ocupa un importante rol en el flujo de carbono al menos durante los períodos de altas abundancias. Se ha demostrado que la RUV puede tener efectos perjudiciales en el zooplankton (Cywinska *et al.* 2000; Hessen 2003). Desde hace varias décadas, se sabe que la RUV artificial puede afectar la supervivencia y capacidad

reproductiva de *A. clausi* (Karanas *et al.* 1979; Karanas *et al.* 1981), siendo los efectos principalmente debido a la UVB. Otros investigadores han encontrado también efectos deletéreos en otra especie de gran importancia ecológica en el hemisferio norte (*Calanus finmarchicus*), la cual es afectada negativamente en términos eclosión de huevos, daño al ADN, supervivencia de adultos y larvas (Browman *et al.* 2000; Browman *et al.* 2003a; Browman *et al.* 2003b). Sin embargo, nuestro conocimiento acerca de los potenciales efectos sub-letales de la RUV solar en otros procesos ecológicamente relevantes, tales como la alimentación o la movilidad, son todavía insuficientes. El flujo de carbono desde los productores primarios hacia los consumidores primarios comienza con la ingestión del alimento por parte del zooplancton herbívoro. La alimentación del zooplancton es un proceso complejo, en el cual toman lugar una serie de sub-procesos (filtración, manipulación del alimento, asimilación, ingestión, etc.), cuya resultante determinará la cantidad de carbono y energía que estará disponible para el próximo nivel trófico (Jeschke *et al.* 2002). Estudios previos han investigado la influencia de varios factores en la alimentación de copépodos, tales como la temperatura, disponibilidad y calidad de alimento, turbulencia, etc. (Frost 1975; Dagg y Grill 1980; Kiørboe *et al.* 1982; Irigoien *et al.* 2000). Otros investigadores han documentado que la UVB artificial causa una menor tasa de alimentación en el copépodo de aguas salobres *Sinocalanus tenellus* (Lacuna y Uye 2000) y resultados similares fueron observados en una especie de *Acartia* (*A. omorii*), acentuándose los efectos con dosis crecientes de UVB (Lacuna y Uye 2001). Sin embargo, comparativamente pocos estudios han evaluado los efectos subletales de la RUV natural en copépodos marinos.

El objetivo de este capítulo es estudiar la respuesta del copépodo marino *Acartia clausi* a la RUV en términos de alimentación. La hipótesis a evaluar es que la RUV afectará negativamente la tasa de alimentación de *A. clausi* con respecto a los individuos que no recibieron RUV. Para desarrollar este objetivo se eligió un enfoque experimental, utilizando radiación solar del ambiente original del organismo y un cultivo de la diatomea *Thalassiosira weissflogii* como alimento.

## **Materiales y Métodos**

El esquema general consistió en una exposición de los copépodos (sin el alimento) a la radiación solar, seguida de una incubación con el alimento (no expuesto) durante el



experimento de alimentación. El cultivo de fitoplancton utilizado como alimento no fue expuesto a radiación solar.

#### *Zona de estudio y muestreos*

Las mediciones de radiación solar y experimentos de alimentación fueron llevados a cabo en la estación de investigación marina Kristineberg (58° 15'N 11° 25'E), en el fiordo Gullmar (costa oeste de Suecia), a principios de otoño (Septiembre) de 2004. El fiordo tiene 30 km de largo y 3 km de ancho, con una profundidad máxima de 120 m. Las aguas están normalmente estratificadas, siendo la capa superficial (20 m) de relativamente baja salinidad (18-30). Entre mayo y septiembre se observa la termoclina está a una profundidad de 15 a 20 m (Croot 2003). El zooplancton fue colectado durante las horas de luz en las aguas adyacentes a la Estación Kristineberg (500-1000 m desde la costa), desde una embarcación y utilizando una red de plancton (200  $\mu$ m). Luego de dos "arrastres" de 5 min (a ~5 m profundidad), el contenido del extremo colector de la red fue cuidadosamente vertido en baldes plásticos, los cuales se mantuvieron dentro del laboratorio con luz y temperatura ambiente (18 °C) y con burbujeo constante hasta que fueran utilizados en los experimentos. El muestreo fue realizado dentro de las 20 h previas al comienzo de cada experimento. Los valores de clorofila *a* (cl-*a*) fueron cedidos por personal permanente en Kristineberg (Dr. O. Lindahl).

#### *Mediciones de radiación*

La radiación solar fue medida utilizando un espectrorradiómetro de barrido OL-754 (Optronic Laboratories, Inc., Orlando, Florida, USA). Este instrumento está basado en un diseño de doble monocromador y emplea un detector tipo fotomultiplicador con temperatura controlada y mide irradiancia espectral. La precisión en las longitudes de onda y la ganancia óptica fueron corroboradas con una calibración dual y utilizando un módulo de evaluación de la ganancia de la fuente. La irradiancia espectral se midió cada 1 nm desde 280 a 700 nm y se integró en el espectro y en el tiempo para obtener irradiancias y dosis para las bandas ultravioleta B (UVB, 280-320 nm), ultravioleta A (UVA A, 320-400 nm) y radiación visible (PAR, 400-700 nm).

Debido a la disponibilidad del espectrorradiómetro durante un tiempo limitado, se puso énfasis en hacer una medición muy detallada (durante las horas de mayor irradiancia y con una resolución de 1nm de ancho de banda) de la radiación solar incidente en el lugar. Dichas mediciones de radiación fueron efectuadas el 25 de septiembre durante un día de cielo totalmente despejado, el cual se tomó como representativo de las condiciones de exposición durante los experimentos. Todos los experimentos se realizaron en condiciones de cielo despejado, por lo tanto durante los días de experimentación en que no se midió radiación (no se disponía del espectrorradiómetro) los datos de irradiancia se obtuvieron usando un modelo de transferencia atmosférica “DayLight” (Booker y Fiscus 1995) teniendo en cuenta el ángulo cenital, la concentración de ozono, etc. y afectando estos resultados a las mediciones de radiación obtenida previamente a fin de tener una estimación de las dosis para los días de los experimentos. Por otra parte, la radiación solar podría haberse visto afectada aún cuando los tres días de experimentación tuvieron cielos despejados: una reducción local de ozono resultará en un aumento de la proporción UVB/PAR en la exposición de los copépodos (modificando la proporción daño/reparación). Para explorar esta posibilidad, se utilizaron los datos de O<sub>3</sub> estratosférico estimados por la NASA (<http://jwocky.gsfc.nasa.gov>) para calcular los valores de radiación para cada fecha de experimentación, utilizando el modelo mencionado

#### *Experimentos de alimentación*

Tres experimentos independientes fueron realizados: 23, 29 y 30 de septiembre. Cada uno de estos experimentos consistió en exponer los copépodos primeramente a diferentes calidades de radiación solar (con y sin RUV) y seguidamente administrarles un alimento que consistió en un cultivo de fitoplancton no expuesto a RUV.

#### *Exposición del zooplancton a la RUV*

Varias hembras adultas de *A. clausi* fueron separadas bajo lupa, tomando la precaución de elegir sólo individuos que nadaran activamente para asegurar un buen estado general del organismo. Los copépodos fueron colocados en grupos de 10 individuos en cajas Petri (5 cm diámetro) con agua de mar filtrada (0.2 µm de tamaño de poro). Cada exposición consistió en tres tratamientos: 1) cajas Petri descubiertas (tratamiento RUV), 2)

cajas Petri cubiertas con un filtro óptico (Ultraphan 395) (tratamiento PAR) y 3) cajas Petri envueltas en papel de aluminio (tratamiento OSC). El filtro óptico Ultraphan 395 (UV Opak, Digepra, Munich, Alemania; 50% de transmitancia a 395 nm) sólo permite la transmisión de longitudes de onda superiores a 395 nm (sólo luz visible) y es utilizado comúnmente en experimentos de fotobiología (Helbling y Zagarese 2003). En suma, esta configuración permitió, tener al mismo tiempo, copépodos recibiendo: 1) radiación solar plena (PAR + RUV), 2) sólo PAR y 3) oscuridad (sin radiación), respectivamente.

Las cajas Petri de todos los tratamientos fueron transportadas al exterior del edificio, donde fueron expuestas a la radiación solar desde las 12:45 hasta las 15:15. Para evitar el incremento de temperatura con la evaporación y pérdida de agua concomitantes, las cajas Petri fueron inmersas en un baño de agua circulante. Durante el período de exposición, las muestras fueron constantemente supervisadas para evitar disturbios de aves marinas, viento, etc., así como para asegurarse de que en todo momento las condiciones del cielo (nubes, etc.) fueran similares a las del día en que se realizó la medición de la radiación solar. Luego de 2.5 h de exposición, los copépodos fueron retornados al interior del laboratorio, donde se realizaron las incubaciones (experimentos de alimentación).

#### *Incubación con fitoplancton*

Las incubaciones para los experimentos de alimentación fueron iniciadas inmediatamente después de la exposición a la radiación solar. En esta etapa, 5 individuos en buenas condiciones (individuos que desplegaran una activa natación) de cada caja Petri fueron colocados en frascos de 20 ml. Los copépodos fueron incubados con una mezcla de agua de mar filtrada y un cultivo de la diatomea *Thalassiosira weissiflogii* proveniente del stock de la Universidad de Göteborg, de manera tal que cada frasco de incubación contenía 5 hembras adultas de *A. clausi* y 20 ml de con *T. weissiflogii* como alimento.

La concentración de fitoplancton fue medida utilizando un contador electrónico de partículas (Coulter Counter, Elzone). La concentración nominal de células al principio de cada incubación era de 1000 cél ml<sup>-1</sup>. Los frascos fueron cubiertos con sus respectivas tapas plásticas, e incubados a temperatura ambiente (18 °C) durante 2.5 h. Cada 25 min, los frascos fueron cuidadosamente invertidos y vuelta a su posición, para evitar la sedimentación del fitoplancton en el fondo del recipiente.

Cada uno de los tratamientos de radiación (PAR + RUV, PAR y OSC), consistió en 4 réplicas, es decir., 4 tubos de incubación conteniendo 5 copépodos. Adicionalmente, un grupo de frascos sin copépodos fue utilizado en la incubación de alimentación para tener en cuenta el crecimiento, o mortalidad natural de las algas en los cálculos de alimentación. En total, 4 grupos de frascos (3 tratamientos + 1 control de incubación), cada uno con 4 réplicas, resultó en 16 frascos utilizados para la incubación en cada uno de los tres experimentos.

Luego de la incubación, todos los animales se extrajeron de los frascos con una pipeta de vidrio y se colocaron en cajas Petri para observar si había mortalidad o cualquier signo de daño. No se detectó mortalidad durante los períodos de exposición ni incubación y se corroboró que los copépodos permanecieran vivos al menos 24 h luego del final de cada experimento.

La concentración de fitoplancton fue medida antes y después de cada incubación. Las tasas de filtración (*clearance rate*) e ingestión se calcularon utilizando la concentración de fitoplancton antes y después de la incubación, según Kiørboe y otros (1982). La tasa de filtración ( $F$ ) está dada por

$$F = \frac{V}{N \cdot t} \ln \left( \frac{C_1' \cdot C_2}{C_1 \cdot C_2'} \right)$$

donde  $V$  es el volumen del frasco de incubación,  $N$  es el número de copépodos en cada frasco,  $t$  es el tiempo de incubación,  $C_1'$  y  $C_2'$  son las concentraciones de fitoplancton al principio y al final de la incubación, respectivamente y  $C_1$  y  $C_2$  son las concentraciones de fitoplancton en los controles (frascos sin copépodos) antes y después de la incubación, respectivamente. Dado que la concentración inicial fue la misma tanto para el control como para los frascos de los tratamientos ( $C_1' = C_1$ ), la ecuación fue simplificada y calculada como:

$$F = \frac{V}{N \cdot t} \ln \left( \frac{C_2}{C_2'} \right)$$

La concentración promedio de fitoplancton en los frascos de los tratamientos ( $C$ ) fue calculada como:

$$C = (C'_2 - C'_1) \ln\left(\frac{C'_2}{C'_1}\right)$$

mientras que la tasa de ingestión ( $I$ ) fue estimada como la concentración promedio multiplicada por la tasa de filtración:

$$I = C \cdot F$$

### *Análisis y presentación de los datos*

Para poner énfasis en el cambio de condiciones lumínicas de la incubación con fitoplancton con respecto a aquellas durante la exposición, se indica en las figuras correspondientes el cambio de condiciones experimentado por los copépodos. Por ejemplo, los copépodos expuestos al sol (es decir recibiendo PAR + RUV) y luego incubados en el laboratorio (PAR) experimentaron un cambio de radiación PAR + RUV hacia PAR. Dicho cambio se explicita con la simbología PAR + UV  $\rightarrow$  PAR.

Para evaluar las posibles diferencias entre las tasas de filtración de los distintos tratamientos, se utilizó un análisis de la varianza de un factor (one way ANOVA) para cada día por separado. La homogeneidad de varianzas se evaluó con la prueba de Levene y los datos fueron transformados con la raíz cuadrada cuando fue necesario. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los niveles del factor del ANOVA, se realizaron múltiples comparaciones *post-hoc* (Bonferroni) para determinar cuáles pares de medias eran estadísticamente distintas. Se fijó un nivel de significación del 5%.

En uno de los experimentos (23 de septiembre) se obtuvieron algunos valores negativos de  $F$ , debido a que el cálculo involucra el logaritmo natural de un número menor que 1 (cuando la concentración de fitoplancton en el frasco *control* era levemente inferior a la del frasco del *tratamiento*). En este caso, la prueba estadística fue efectuada tanto incluyendo los valores negativos como excluyendo dichos valores, para confirmar que la significancia final se mantuviera sin cambio, independientemente de esos valores.

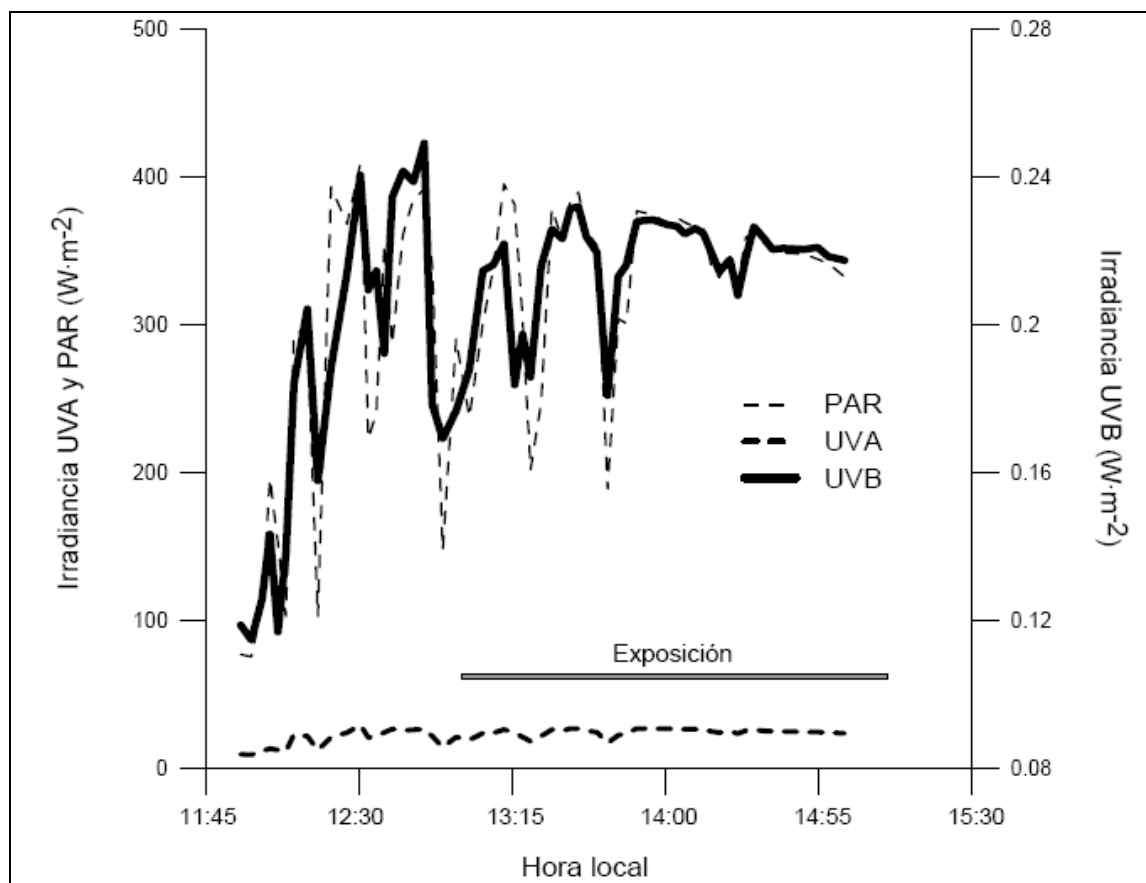
## Resultados

### Radiación

Las condiciones lumínicas naturales en la Estación de Investigación Marina Kristineberg exhiben algunas variaciones, debido a pequeñas nubes pasajeras sobre el punto de medición (figura 1). Estas variaciones ocurren constantemente en la naturaleza y afectan la intensidad de la radiación tanto visible como en la región UV, aún durante días de cielos despejados. Las dosis e irradiancias para UVB, UVA y PAR durante el período de exposición (12:45 a 15:15 hora local) están listadas en la Tabla 1. Los valores medidos concuerdan con aquellos de otros autores que midieron irradiancias solares en puntos geográficos adyacentes en condiciones similares (Sundbäck *et al.* 1997; Anesio y Granéli 2003).

**Tabla 1.** Dosis e irradiancias máxima medidas durante el período de exposición (25 septiembre 2004) en Kristineberg, desde las 12:45 a las 15:15 (hora local).

	Dosis ( $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ )	Irradiancia máx. ( $\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ )
PAR	2858.47	409.57
UVA	209.60	29.78
UVB	1.84	0.25

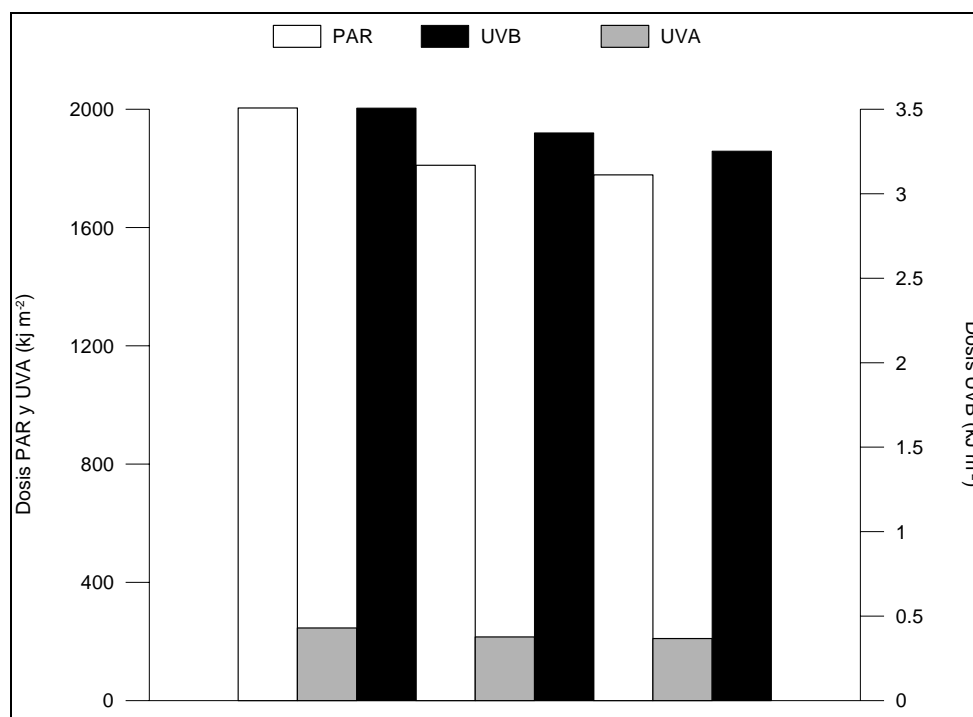


**Figura 1.** Radiación solar para los rangos PAR, UVA y UVB, valores representativo de las condiciones experimentales. Se indica el período de exposición de los experimentos (12:45 a 15:15)

Para cotejar las mediciones, los datos de radiación obtenidos mediante el modelo de transferencia (considerando los datos de  $O_3$ ) se muestran en la Tabla 2 y figura 2. Puede observarse que la relación RUV/PAR es similar para los tres experimentos.

**Tabla 2.** Dosis de radiación ( $kJ m^{-2}$ ) estimadas mediante el modelo de radiación considerando los valores de ozono estratosférico ( $O_3$ , en unidades Dobson) de la NASA. Dosis integrada en el período 12:30 - 15:30 hora local.

	23 Sep	25 Sep	29 Sep	30 Sep
PAR	2004.49	1940.02	1810.67	1778.30
UVA	245.62	234.95	215.28	210.11
UVB	3.51	3.20	3.36	3.25
$O_3$	292	296	258	257
RUV / PAR	0.124	0.123	0.121	0.120



**Figura 2.** Dosis de radiación solar estimadas mediante el uso del modelo atmosférico con los datos de ozono estratosféricos obtenidos de la NASA.

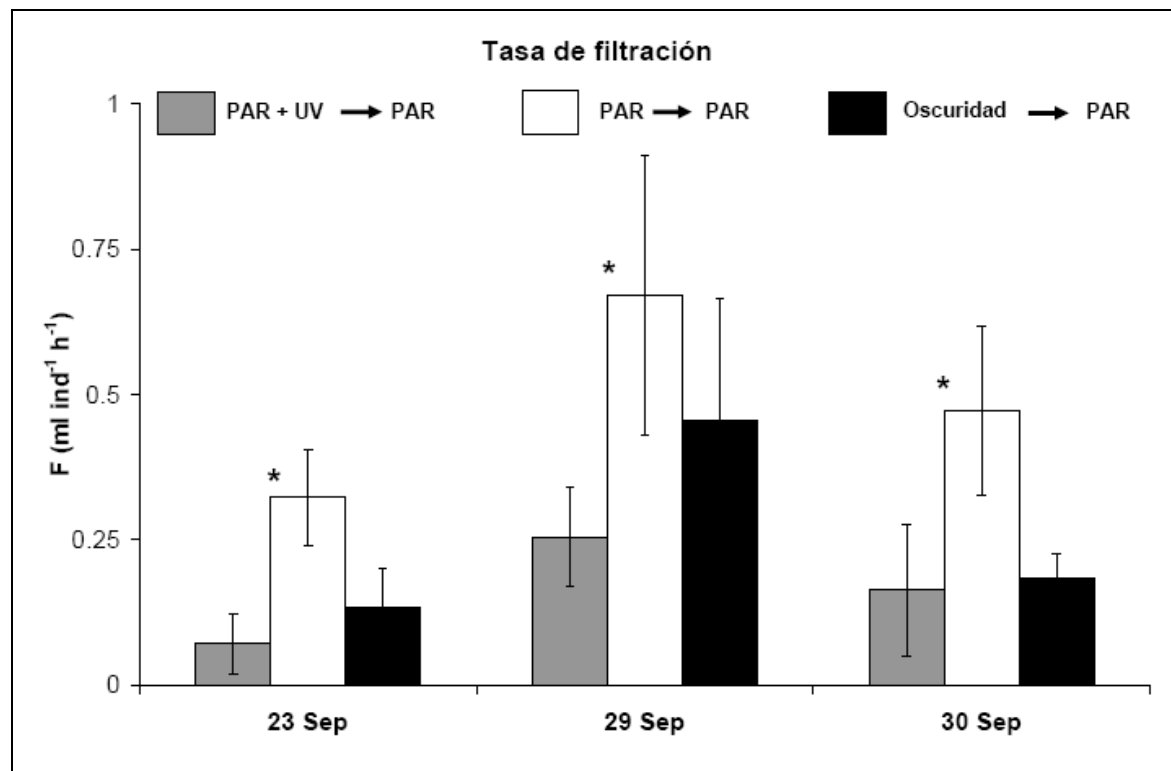
### Alimentación

En todos los experimentos, las tasas de filtración de los individuos expuestos a la RUV fue significativamente menor que la de los organismos expuestos únicamente a PAR (figura 3). Mediante las pruebas estadísticas se obtuvieron las probabilidades asociadas (valor  $p$ ) de 0.005, 0.033 y 0.01 para el 23, 29 y 30 de septiembre, respectivamente. Un patrón general fue observado en cada uno de los tres experimentos: cuando los copépodos recibieron RUV, las tasas de filtración fueron entre un 22 y un 37% de los valores obtenidos cuando los animales recibieron sólo PAR (proporciones  $F_{\text{PAR+RUV}}:F_{\text{PAR}}$  de 0.22, 0.37 y 0.34 para el 23, 29 y 30 de septiembre, respectivamente). Adicionalmente, las diferencias entre los tratamientos RUV y OSC no fueron estadísticamente significativas (los valores  $p$  fueron  $> 0.9$ , 0.38 y  $> 0.9$  para el 23, 29 y 30 de septiembre, respectivamente).

Los resultados del experimento del 29 de septiembre mostraron valores levemente mayores tanto para los 3 tratamientos, comparados con los resultados de los días 23 y 30 de

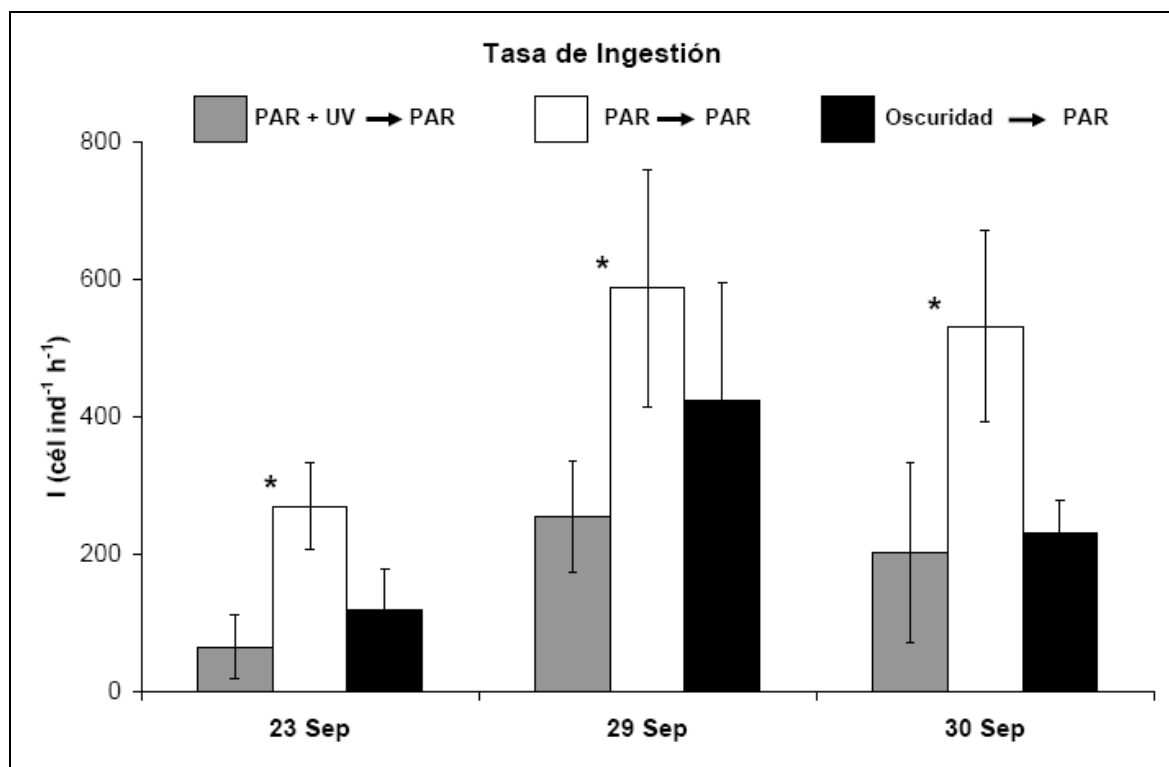


septiembre. En este segundo experimento, las tasas de filtración del tratamiento OSC son también relativamente altas en proporción con el tratamiento RUV, comparado con el 29 de septiembre.



**Figura 3.** Tasa promedio de filtración ( $F$ , clearance rate) para cada experimento. Las leyendas arriba denotan el cambio en las condiciones lumínicas sufridas por *A. clausi* en cada tratamiento (exposición → incubación). Los asteriscos denotan una diferencia significativa entre los tratamientos de radiación. Las barras sobre las columnas indican una desviación estándar ( $n = 4$ ).

Con respecto a las tasas de ingestión ( $I$ ), se encontró un patrón similar (figura 4), en el cual la tasa de ingestión de los copéodos que recibieron RUV fueron significativamente menores que las de el tratamiento PAR (valores  $p$  de 0.008, 0.034 y 0.008 para el 23, 29 y 30 de septiembre, respectivamente). La tasa de ingestión del tratamiento RUV alcanzó como máximo el 43% de las del tratamiento PAR. Las tasas de ingestión de los copéodos que recibieron RUV fueron estadísticamente similares a las del tratamiento OSC (valores  $p$  de  $>0.9$ , 0.421 y  $>0.9$  para el 23, 29 y 30 de septiembre, respectivamente). Como era de esperar considerando el patrón de las tasas de filtración, también aparecieron los valores del día 29 levemente mayores que los de los días 23 y 30 de septiembre.



**Figura 4.** Tasas promedio de ingestión ( $I$ ) para cada experimento, calculadas a partir de las tasas de filtración y la concentración de fitoplancton. Los asteriscos denotan una diferencia significativa entre los tratamientos de radiación. Las barras sobre las columnas indican una desviación estándar ( $n = 4$ ).

Finalmente, la  $chl-a$  en las aguas donde fueron colectados los copépodos para los días 21 y 30 de septiembre mostró valores de 4.66 y 1.41  $\mu\text{g l}^{-1}$ , respectivamente (O. Lindhal, *com. pers.*).

## Discusión

La alimentación del zooplancton es un proceso complejo, en el cual tienen lugar distintos aspectos tales como la movilidad de los apéndices filtradores, selectividad, patrones conducta para la natación y alimentación, actividad enzimática, estado fisiológico, etc. (Mullin y Fuglister 1975; O'Connors *et al.* 1976; Kiørboe *et al.* 1982; Paffenhöfer 1984; Mazzocchi y Paffenhöfer 1999; Hwang y Strickler 2001; Jeschke *et al.* 2002). Por lo tanto, la alimentación está probablemente influenciada por una multitud de factores que pueden afectar cada uno de estos aspectos del proceso. Son escasos los trabajos que estudian cómo la RUV natural podría afectar las tasas de alimentación en copépodos planctónicos. Sin embargo, algunos trabajos han sido llevados a cabo, exponiendo el

alimento de los copépodos. Por ejemplo Tönnesson (1997) suministró a *Acartia tonsa* un cultivo de *Thalassiosira weissflogii* que había sido previamente expuesta a UVB artificial y encontró que el crecimiento de los copépodos se redujo significativamente cuando se alimentaban del alga expuesta a alta UVB. Es interesante notar que los resultados de esta autora también muestran una ingestión mayor cuando *A. tonsa* era provista de alimento expuesto a alta UVB (Tönnesson 1997). Estos resultados están en concordancia con los de otros autores, quienes trabajaron con cladóceros del género *Daphnia* alimentados con algas irradiadas (Germ *et al.* 2004). En este caso, *Daphnia* también ingirió más células cuando se alimentaba de *Scenedesmus quadricauda* irradiada con alta UVB, aunque la biomasa ingerida no fue significativamente mayor. Por otra parte, otros autores han encontrado una disminución de la calidad alimenticia cuando el fitoplancton se expone a RUV artificial Scott 1999 (Scott *et al.* 1999; De Lange y van Reeuwijk 2003). Sin embargo, también se han encontrado resultados más complejos o contradictorios. Por ejemplo, en escalas cortas de tiempo, la UVB puede provocar un aumento de la tasa de alimentación de algunos cladóceros, pero una disminución en otras especies (De Lange y Lürling 2003). A su vez, el fitoplancton puede verse afectado negativamente en términos de crecimiento, pero no en su calidad nutricional (Leu *et al.* 2007); incluso esta puede aumentar con la exposición a RUV, aunque no se detectaron efectos en los consumidores (Leu *et al.* 2006). En la naturaleza, sin embargo, tanto el fitoplancton como el zooplancton superficiales están expuestos y la habilidad del zooplancton para detectar y evitar la RUV no está claramente establecidas para muchas especies de zooplancton, debido a que todavía hay controversia acerca de la causa principal de los movimientos de migración vertical diaria (Han y Straskraba 2001). Hasta hoy, el presente es uno de los primeros estudios de alimentación realizado con copépodos superficiales colectados en el campo y expuestos a radiación solar natural.

Los resultados muestran que las tasas de alimentación de *A. clausi* son afectadas negativamente por la radiación ultravioleta solar, con dosis subletales de aprox.  $2 \text{ kJ m}^{-2}$ . Esto está de acuerdo con estudios previos, en los que individuos de *Acartia omorii*, expuestos a UVB artificial, también disminuyeron su alimentación, medida como fluorescencia del tracto intestinal (Lacuna y Uye 2001). Un estudio con el copépodo *Sinocalanus* mostró resultados similares (Lacuna y Uye 2000). La dosis UVB documentada para observar el 50% de mortalidad ( $\text{LD}_{50}$ ) en *Acartia clausi* es de  $2\text{-}12 \text{ kJ m}^{-2}$  (Karanas *et al.* 1979) y  $3\text{-}22 \text{ kJ m}^{-2}$  para *Acartia omorii* (Lacuna y Uye 2001). Las dosis medidas en el

presente trabajo sugieren que *A. clausi* podría experimentar algún grado de mortalidad de recibir mayores dosis de RUV. Por lo tanto puede pensarse que este estudio se sitúa en el “límite superior” de la dosis subletal capaz de ser tolerada por *A. clausi*.

Con la metodología utilizada, los copépodos fueron expuestos niveles máximos de radiación ambiental, como una manera de reproducir el “caso más adverso” al que se podrían enfrentar estos organismos en su hábitat natural durante principios de otoño. Esto es especialmente cierto considerando que muchos crustáceos tienen la capacidad para utilizar las radiaciones con longitudes de onda mayores (UVA y PAR) para reparar el daño inducido por la UVB en el material genético, mediante un mecanismo conocido como “fotorreparación” (Zagarese *et al.* 1997; Lacuna y Uye 2000; Grad y Williamson 2001; Gonçalves *et al.* 2002). En este estudio, los copépodos tuvieron la oportunidad de utilizar la radiación para reparar cualquier potencial daño causado por la UVB, por lo cual los resultados observados pueden ser considerados como “efectos netos”, es decir, un balance entre el daño inducido por la RUV y los mecanismos de reparación. Sumado a esto, *A. clausi* es considerada una especie superficial, lo cual la convierte en un buen indicador ya que tiene que hacer frente a los niveles de radiación que se observan en la superficie en su hábitat natural (Sundbäck *et al.* 1997; Anesio y Granéli 2003).

Debe tenerse en cuenta que los niveles de radiación *in situ* podrían ser menores debido a la atenuación vertical en la columna de agua y también a la nubosidad (Lubin y Jensen 1995). Por otra parte, también es razonable argumentar que los altos niveles de irradiancia y dosis pueden tener efectos aún más pronunciados que los observados en este estudio, por ejemplo durante verano, cuando la heliofanía puede ser de hasta 16 h en el área de estudio (Anesio y Granéli 2003). El estudio presentado en esta tesis es un aporte a las investigaciones tendientes a evaluar un efecto de la radiación UV natural en el proceso global de alimentación de *Acartia* sp. La concentración de fitoplancton puede afectar la penetración de la radiación en la columna de agua y durante el período de estudio el color del agua fue altamente variable. Esto significa que los organismos planctónicos están sujetos a cambios relativamente rápidos en la radiación *in situ* en escalas de tiempo de días. Un curso de acción interesante sería efectuar estudios de este tipo en verano y con incubaciones *in situ* para obtener mayor información acerca del fenómeno exponiendo así los copépodos a la radiación que reciben a distintas profundidades y con distintas concentraciones de fitoplancton.

Los efectos de la radiación UVB no pueden ser discriminados de los de la UVA en la metodología utilizada. Aunque se acepta generalmente que las longitudes de onda potencialmente más dañinas son las pertenecientes al rango UVB (Siebeck y Bohm 1994; Nielsen *et al.* 1995; Tönnesson 1997, Häder, 1998 #293; Wängberg *et al.* 1998; Tartarotti *et al.* 2000; Lacuna y Uye 2001; Rozema *et al.* 2002; Sinha y Häder 2002), muchos trabajos han documentado efectos marcados de la UVA en el zooplancton (Zellmer 1998) y en otros organismos en los cuales provoca daños en membranas y otros componentes celulares (Murphy 1983; Beer *et al.* 1993; Sinha *et al.* 2003), además de la producción de radicales libres (Vincent y Neale 2000; Souza *et al.* 2007).

Los resultados del 29 de septiembre muestran tasas de filtración relativamente más altas que las de los días 23 y 30 de septiembre ( $p < 0.01$ ). Esto podría estar relacionado a dos factores distintos (o una combinación de ellos): el estado fisiológico de los animales y la proporción UVB/PAR recibida por los organismos. Por un lado, el estado fisiológico de los copépodos dependerá en gran parte de las condiciones previas, tales como la cantidad de alimento ingerido, estado energético, etc. La concentración de *chl-a* para el 30 de septiembre fue menor que la del 21 de septiembre. Esto permite especular que los copépodos colectados el día 22 de septiembre tenían un mejor estado nutricional que los individuos colectados el 28 y 29 de septiembre. (figuras 3 y 4). Al estar más “hambreados”, los copépodos de los dos últimos experimentos se alimentaron más activamente al ser expuestos a la misma concentración de alimento que los copépodos del primer experimento. Por ejemplo, *Acartia tonsa* disminuye su movilidad luego de 24 hs de estar en presencia de alimento insuficiente (Tiselius 1992). Sin embargo, esto no puede cuantificarse dado que el diseño experimental no estaba orientado a evaluar la alimentación con distintas concentraciones de *chl-a*. Independientemente de las variaciones entre experimentos, los datos muestran claramente que los copépodos ingirieron menos alimento luego de ser expuestos a la RUV, lo que apoya la hipótesis propuesta. El próximo paso sería tratar de encontrar la causa inmediata de la menor filtración: ¿están los copépodos tratando de escapar de la UVB por lo cual no pasan tanto tiempo creando las corrientes de alimentación gracias a las cuales obtienen las partículas de alimento del agua? ¿Produce la RUV un daño directo en el cuerpo (ADN, tejidos musculares, etc.) lo cual impide la normal movilidad de las partes afectadas durante el proceso de filtración/ingestión? ¿Afecta la RUV algún mecanismo sensorial del copépodo, de forma tal que fallan al detectar el alimento presente y por lo tanto se alimentan menos? Las explicaciones podrían estar

relacionadas tanto con causas comportamentales como con daño directo en algún punto del organismo.

Además del daño producido por la RUV en los copépodos del tratamiento PAR + RUV, no puede descartarse la historia lumínica inmediata, que podría en parte contribuir a explicar la mayor alimentación en copépodos expuestos sólo a PAR: en los tratamientos (PAR + RUV) y PAR, los copépodos estuvieron sujetos a la radiación PAR natural del ambiente durante la exposición, mientras que los copépodos en el control estuvieron en oscuridad. Los tres grupos sin embargo fueron luego transferidos al laboratorio (iluminación PAR) para la etapa de alimentación, es decir que durante la incubación con el alimento, todos los tratamientos estuvieron bajo una nueva intensidad de PAR (PAR + RUV) → PAR; PAR → PAR; Oscuridad → PAR. Por lo tanto, es posible que las condiciones lumínicas durante la etapa de alimentación y exposición hayan sido más similares en el tratamiento PAR, mientras que en el tratamiento (PAR + RUV) y el control en oscuridad las condiciones lumínicas durante la alimentación fueron distintas de las condiciones lumínicas durante la exposición. Por lo tanto, la alta tasa de alimentación en el tratamiento PAR podría deberse a que los copépodos estaban aclimatados a dicha radiación a diferencia de los copépodos que habían estado recibiendo una radiación distinta (tratamiento PAR + RUV) y los individuos que no habían recibido ningún tipo de radiación (control en oscuridad). Es notable que los copépodos en el tratamiento OSC (en oscuridad durante la exposición) mostraron una menor ingestión que aquellos que recibieron sólo luz visible. Esto está en desacuerdo con la idea general de que *Acartia* sp. se alimenta más activamente durante las horas nocturnas (Kouassi *et al.* 2001). En este estudio, se utilizaron controles sin radiación para asegurar que los animales estuvieran en buenas condiciones al final de la exposición y luego del experimento, teniendo así una idea de la mortalidad “basal”, si existiera, que hubiera sido causada por las condiciones de incubación, agua filtrada, etc. y que de otra manera podría haber sido atribuida erróneamente a la RUV. En suma, las diferencias más importantes son aquellas entre los tratamientos RUV y PAR, sin embargo aún no está clara la causa principal de la baja ingestión observada en los controles. Se podría especular que la mayor alimentación observada por Kouassi y otros (2001) durante la noche en *A. clausi* no está determinado únicamente por una reducción en la irradiancia, sino que está modulado también por ritmos endógenos, como fue observado para la misma especie (Calbet *et al.* 1999). Obviamente no es posible ir más allá de esta especulación utilizando radiación natural, pero se podrían

repetir los experimentos exponiendo a los copépodos a una fuente artificial de RUV durante las horas más cercanas a la noche, momento en el cual los ritmos endógenos determinarían una mayor alimentación en el tratamiento de oscuridad. Otra alternativa podría ser que las cajas de Petri durante la exposición hubieran estado insuficientemente cubiertas con papel aluminio, de manera tal que los copépodos pudieran detectar algún haz de luz durante la exposición. Al moverse en el agua, el copépodo experimentaría condiciones de luz y sombra, lo cual puede provocar vigorosas y rápidas reacciones de escape en *Acartia tonsa*, que probablemente está adaptada a escapar de esta forma a algún potencial predador (Buskey y Hartline 2003). Si este fuera el caso, los copépodos del tratamiento de oscuridad llegarían a la fase de incubación con fitoplancton con un estado energético deteriorado con respecto a los individuos de los otros tratamientos.

En la naturaleza, tanto los copépodos como el resto de la comunidad planctónica superficial están expuestos a la RUV y a cambios en los niveles de radiación. Las muestras de plancton superficial en Kristineberg son muy diversas y abundantes, lo cual significa que existen numerosas taxa que proliferan bajo los niveles actuales de RUV. Una generalización de los resultados obtenidos en este estudio es difícil ya que generalmente los efectos de la RUV son dependientes de la especie (Siebeck y Bohm 1994; Zagarese *et al.* 1997; Tartarotti *et al.* 1999; Browman *et al.* 2000; Williamson *et al.* 2001). Resultados más complejos esperados podrían obtenerse al exponer a la vez el consumidor y el alimento (Bothwell *et al.* 1994).

**Literatura citada**

- Anesio AM, Granéli W (2003) Increased photoreactivity of DOC by acidification: Implications for the carbon cycle in humic lakes. *Limnology and Oceanography* 48: 735-744
- Atkinson RJ, Matthews WA, Newman PA, Plumb RA (1989) Evidence of the mid-latitude impact of Antarctic ozone depletion. *Nature* 340: 290-294
- Beer JZ, Olvey KM, Miller SA, Thomas DP, Godar DE (1993) Non-nuclear damage and cell lysis are induced by UVA, but not UVB or UVC, radiation in three strains of L5178Y cells. *Photochemistry and Photobiology* 58: 676-681
- Björn LO, Callaghan TV, Gehrke C, Johanson U, Sonesson M, Gwynn-Jones D (1998) The problem of ozone depletion in northern Europe. *Ambio* 27: 275-279
- Booker FL, Fiscus EL (1995) Measurement and modeling of ultraviolet-B irradiance. In: Peng S, Ingram KT, Neue HU, Ziska LH (eds) *Climate Change and Rice*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp 147-157
- Bothwell ML, Sherbot DMJ, Pollock CM (1994) Ecosystem response to solar ultraviolet-B radiation: Influence of trophic levels interactions. *Science* 265: 97-100
- Bowman T (1961) The copepod genus *Acartia* in Chesapeake Bay. *Estuaries and Coasts* 2: 206-207
- Browman HI, Alonso Rodríguez C, Béland F, Cullen JJ, Davis RF, Kouwenberg JHM, Kuhn PS, McArthur BL, Runge JA, St-Pierre JF, Vetter RD (2000) Impact of ultraviolet radiation on marine crustacean zooplankton and ichthyoplankton: a synthesis of results from the estuary and Gulf of St. Lawrence, Canada. *Marine Ecology Progress Series* 199: 293-311
- Browman HI, St-Pierre JF, Kuhn P (2003a) Dose and dose-rate dependency in the mortality response of *Calanus finmarchicus* embryos exposed to ultraviolet radiation. *Marine Ecology Progress Series* 247: 297-302
- Browman HI, Vetter RD, Alonso Rodríguez C, Cullen JJ, Davis FR, Lynn E, St-Pierre JF (2003b) Ultraviolet (280 - 400 nm) induced DNA damage in the eggs and larvae of *Calanus finmarchicus* G. (Copepoda) and atlantic cod (*Gadus morhua*). *Photochemistry and Photobiology* 77: 2-29
- Buskey EJ, Hartline DK (2003) High-speed video analysis of the escape responses of the copepod *Acartia tonsa* to shadows. *Biological Bulletin* 204: 28-37



- Calbet A, Saiz E, Irigoien X, Alcaraz M, Trepát I (1999) Food availability and diel feeding rhythms in the marine copepods *Acartia grani* and *Centropages typicus*. *Journal of Plankton Research* 21: 1009-1015
- Croot PL (2003) Seasonal cycle of copper speciation in Gullmar Fjord, Sweden. *Limnology and Oceanography* 48: 764-776
- Crutzen PJ (1992) Ultraviolet on the increase. *Nature* 356: 104-105
- Cywinska A, Crump D, Lean D (2000) Influence of UV radiation on four freshwater invertebrates. *Photochemistry and Photobiology* 72: 652-659
- Dagg MJ, Grill DW (1980) Natural feeding, rates of *Centropages typicus* females in the New York Bight. *Limnology and Oceanography* 25: 597-609
- De Lange HJ, Lürling M (2003) Effects of UV-B irradiated algae on zooplankton grazing. *Hydrobiologia* 491: 133-144
- De Lange HJ, van Reeuwijk PL (2003) Negative effects of UVB-irradiated phytoplankton on life history traits and fitness of *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 48: 678-686
- de Mora S, Demers S, Vernet M (2000) The effect of UV radiation in the marine environment. Cambridge University Press, Cambridge
- Farman JC, Gardiner BG, Shanklin JD (1985) Large losses of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO<sub>x</sub>/NO<sub>x</sub> interaction. *Nature* 315: 207-210
- Frost B (1975) A threshold feeding behavior in *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography* 20: 263-267
- Germ M, Simcic T, Gaberscik A, Breznik B, Hrastel M (2004) UV-B treated algae exhibiting different responses as a food source for *Daphnia magna*. *Journal of Plankton Research* 26: 1219-1228
- Gonçalves RJ, Villafaña VE, Helbling EW (2002) Photorepair activity and protective compounds in two freshwater zooplankton species (*Daphnia menucoensis* and *Metacyclops mendocinus*) from Patagonia, Argentina. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 996-1000
- Goutail F, Pommereau JP, Lefèvre F, van Roozendaal M, Andersen SB, Kåstad Høiskar B-A, Dorokhov V, Kyrö E, Chipperfield MP, Feng W (2005) Early unusual ozone loss during the Arctic winter 2002/2003 compared to other winters. *Atmospheric Chemistry and Physics* 5: 665-677
- Grad G, Williamson CE (2001) Zooplankton survival and reproduction responses to damaging UV radiation: A test of reciprocity and photoenzymatic repair. *Limnology and Oceanography* 46: 584-591

- Häder D-P, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC (1998) Effects on aquatic ecosystems. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 46: 53-68
- Halsband C, Hirche H-J (2001) Reproductive cycles of dominant calanoid copepods in the North Sea. *Marine Ecology Progress Series* 209: 219-229
- Han B-P, Straskraba M (2001) Control mechanisms of diel vertical migration: Theoretical assumptions. *Journal of theoretical Biology* 210: 305-318
- Hendricks J, Baier F, Günther G, Krüger BC, Ebel A (2001) Stratospheric ozone depletion during the 1995-1996 Arctic winter: 3-D simulations on the potential role of different PSC types. *Annales Geophysicae* 19: 1163-1181
- Hessen DO (2002) UV radiation and Arctic ecosystems. Springer-Verlag, New York
- Hessen DO (2003) UVR and pelagic metazoans. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV effects in aquatic organisms and ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp 1-575
- Holm-Hansen O, Lubin D, Helbling EW (1993) Ultraviolet radiation and its effects on organisms in aquatic environments. In: Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W (eds) *Environmental UV Photobiology*. Plenum Press, New York, pp 379-425
- Hwang JS, Strickler JR (2001) Can copepods differentiate prey from predator hydromechanically? *Zoological Studies* 40: 1-6
- Irigoien X, Harris RP, Head RN (2000) Does turbulence play a role in feeding and reproduction of *Calanus finmarchicus*? *Journal of Plankton Research* 22: 399-407
- Jeschke JM, Kopp M, Tollrian R (2002) Predator functional responses: discriminating between handling and digesting prey. *Ecological Monographs* 72: 95-112
- Karanas JJ, Van Dyke H, Worrest RC (1979) Midultraviolet (UV-B) sensitivity of *Acartia clausii* Giesbrecht (Copepoda). *Limnology and Oceanography* 24: 1104-1116
- Karanas JJ, Worrest RC, Van Dyke H (1981) Impact of UV-B radiation on the fecundity of the copepod *Acartia clausii*. *Marine Biology* 65: 125-133
- Keil M, Jackson DR, Hort MC (2007) The January 2006 low ozone event over the UK. *Atmospheric Chemistry and Physics* 7: 961-972
- Kerr JB, McElroy CT (1993) Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion. *Science* 262: 1032-1034
- Kjørboe T, Møhlenberg F, Nicolajsen H (1982) Ingestion rate and gut clearance in the planktonic copepod *Centropages hamatus* (Lilljeborg) in relation to food concentration and temperature. *Ophelia* 21: 181-194

- Kouassi E, Pagano M, Saint-Jean L, Arfi R, Bouvy M (2001) Vertical migrations and feeding rhythms of *Acartia clausi* and *Pseudodiaptomus hessei* (Copepoda: Calanoida) in a tropical lagoon (Ebrié, Côte d'Ivoire). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52: 715-728
- Lacuna DG, Uye S-I (2000) Effect of UVB radiation on the survival, feeding, and egg production of the brackish-water copepod, *Sinocalanus tenellus*, with notes on photoreactivation. *Hydrobiologia* 434: 73-79
- Lacuna DG, Uye S-I (2001) Influence of mid-ultraviolet (UVB) radiation on the physiology of the marine planktonic copepod *Acartia omorii* and the potential role of photoreactivation. *Journal of Plankton Research* 23: 143-155
- Lee YW, McAlice BJ (1979) Seasonal succession and breeding cycles of three species of *Acartia* (Copepoda: Calanoida) in a Maine estuary. *Estuaries and Coasts* 2: 228-235
- Leu E, Færøvig PJ, Hessen DO (2006) UV effects on stoichiometry and PUFAs of *Selenastrum capricornutum* and their consequences for the grazer *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 51: 2296-2308
- Leu E, Falk-Petersen S, Hessen DO (2007) Ultraviolet radiation negatively affects growth but not food quality of arctic diatoms. *Limnology and Oceanography* 52: 787-797
- Lubin D, Jensen EH (1995) Effects of clouds and stratospheric ozone depletion on ultraviolet radiation trends. *Nature* 377: 710-713
- Madronich S (1993) The atmosphere and UV-B radiation at ground level. In: Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W (eds) *Environmental UV photobiology*. Plenum Press, New York, pp 1-39
- Madronich S, Gruijl FRd (1994) Stratospheric ozone depletion between 1979 and 1992: Implications for biologically active ultraviolet-B radiation and non-melanoma skin cancer incidence. *Photochemistry and Photobiology* 59: 541-546
- Manney GL, Santee ML, Froidevaux L, Waters JW, Zurek RW (1996) Polar vortex conditions during the 1995-96 Arctic winter: Meteorology and MLS ozone. *Geophysical Research Letters* 23: 3203-3206
- Mauchline J (1998) The biology of calanoid copepods. *Advances in Marine Biology* 33: 1-701
- Mazzocchi MG, Paffenhöfer G-A (1999) Swimming and feeding behaviour of the planktonic copepod *Clausocalanus furcatus*. *Journal of Plankton Research* 21: 1501-1518

- Mullin MM, Fuglister FJ (1975) Ingestion by planktonic grazers as a function of concentration of food. *Limnology and Oceanography* 20: 259-263
- Murphy TM (1983) Membranes as targets of ultraviolet radiation. *Physiologia Plantarum* 58: 381-388
- Nielsen T, Björn LO, Ekelund NGA (1995) Impact of natural and artificial UVB radiation on motility and growth rate of marine dinoflagellates. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 27 73-79
- O'Connors HB, Small LF, Donaghay PL (1976) Particle-size modification by two size classes of the estuarine copepod *Acartia clausi*. *Limnology and Oceanography* 21 300-309
- Paffenhöfer G-A (1984) Does *Paracalanus* feed with a leaky sieve? *Limnology and Oceanography* 29: 155-160
- Robinson AD, Millard GA, Danis F, Guirlet M, Harris NRP, Lee AM, McIntyre JD, Pyle JA, Arvelius J, Dagnesjo S, Kirkwood S, Nilsson H, Toohey DW, Deshler T, Goutail F, Pommereau JP, Elkins JW, Moore F, Ray E, Schmidt U, Engel A, Müller M (2005) Ozone loss derived from balloon-borne tracer measurements in the 1999/2000 Arctic winter. *Atmospheric Chemistry and Physics* 5: 1423-1436
- Rozema J, Björn LO, Bornman JF, Gaberščik A, Häder D-P, Trošt T, Germ M, Klisck M, Gröniger A, Sinha RP, Lebert M, He YY, Buffoni-Hall R, de Bakker NVJ, van de Staaij J, Meijkamp BB (2002) The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 66: 2-12
- Scott JD, Chalker-Scott L, Foreman AE, D'Angelo M (1999) *Daphnia pulex* fed UVB-irradiated *Chlamydomonas reinhardtii* show decreased survival and fecundity. *Photochemistry and Photobiology* 70: 308-313
- Siebeck O, Bohm U (1994) Challenges for an appraisal of UV-B effects upon planktonic crustaceans under natural radiation conditions with a non-migrating (*Daphnia pulex obtusa*) and a migrating cladoceran (*Daphnia galeata*). *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* 43: 197-206
- Sinha RP, Barbieri ES, Lebert M, Helbling EW, Häder D-P (2003) Effects of solar radiation on phycobiliproteins of marine red algae. *Trends in Photochemistry and Photobiology* 10: 149-157

- Sinha RP, Häder D-P (2002) UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical and Photobiological Sciences* 1: 225-236
- Souza MS, Modenutti BE, Balseiro EG (2007) Antioxidant defences in planktonic crustaceans exposed to different underwater light irradiances in Andean lakes. *Water, Air, and Soil Pollution* 183: 49-57
- Sundbäck K, Odmark S, Wulff A, Nilsson C, Wängberg S-Å (1997) Effects of enhanced UVB radiation on a marine benthic diatom mat. *Marine Biology* 128: 171-179
- Tartarotti B, Cabrera S, Psenner R, Sommaruga R (1999) Survivorship of *Cyclops abyssorum tatricus* (Cyclopoida, Copepoda) and *Boeckella gracilipes* (Calanoida, Copepoda) under ambient levels of solar UVB radiation in two high-mountain lakes. *Journal of Plankton Research* 21: 549-560
- Tartarotti B, Cravero W, Zagarese HE (2000) Biological Weighting Function for the mortality of *Boeckella gracilipes* (Copepoda, Crustacea) derived from experiments with natural solar radiation. *Photochemistry and Photobiology* 72: 314-319
- Tiselius P (1992) Behavior of *Acartia tonsa* in patchy food environments. *Limnology and Oceanography* 37: 1640-1651
- Tönnesson K (1997) Effects of UV-B exposure on the diatom *Thalassiosira weissflogii*: Changes in food quality for the copepod *Acartia tonsa*
- Turner JT (2004) The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. *Zoological Studies* 43: 255-266
- Villafañe VE, Helbling EW, Holm-Hansen O, Chalker BE (1995) Acclimatization of Antarctic natural phytoplankton assemblages when exposed to solar ultraviolet radiation. *Journal of Plankton Research* 17: 2295-2306
- Vincent WF, Belzile C (2003) Biological UV exposure in the polar oceans: Arctic-Antarctic comparisons. In: Huiskes AHL, Gieskes WW, Rozema J, Schorno RML, van der Vies SM, Wolff WJ (eds) *Antarctic Biology in a Global Context*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands, pp 176-181
- Vincent WF, Neale PJ (2000) Mechanisms of UV damage to aquatic organisms. In: de Mora S, Demers S, Vernet M (eds) *The effects of UV radiation on marine ecosystems*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 149-176
- Wängberg S-Å, Selmer J-S, Gustavson K (1998) Effects of UV-B radiation on carbon and nutrient dynamics in marine plankton communities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 45: 19-24

- Williamson CE, Olson OG, Lott SE, Walker ND, Engstrom DR, Hargreaves BR (2001) Ultraviolet radiation and zooplankton community structure following deglaciation in Glacier Bay, Alaska. *Ecology* 82: 1748-1760
- Young AR, Björn LO, Moan J, Nultsch W (1993) *Environmental UV Photobiology*. Plenum Press
- Zagarese HE, Feldman M, Williamson CE (1997) UV-B-induced damage and photoreactivation in three species of *Boeckella* (Copepoda, Calanoida). *Journal of Plankton Research* 19: 357-367
- Zellmer ID (1998) The effect of solar UVA and UVB on subarctic *Daphnia pulex* in its natural habitat. *Hydrobiologia* 379: 55-62

## Conclusiones generales

- Las variaciones de *D. spinulata* a lo largo del año en su hábitat natural están determinadas por la disponibilidad de su alimento. La radiación ultravioleta (RUV) produce una fotoinhibición significativa del rendimiento fotosintético durante todo el año, aunque ésta es pequeña comparada con la causada por la radiación visible (PAR). En el plazo de semanas-meses, se observaron respuestas diferenciales a la radiación solar dependiendo del grupo dominante en la comunidad de fitoplancton. Los efectos de la RUV a en estos plazos son variables y están asociados a una modificación en la oferta de alimento disponible para los consumidores, aunque esta relación puede no ser la causal.
- La exposición a RUV no afectó la movilidad individual del cladócero de agua dulce *D. spinulata*. La velocidad de natación a lo largo del año estuvo fuertemente ligada a otros factores ambientales y condiciones previas (presencia de otros individuos, mezcla en la columna de agua, alimento, etc.)
- La exposición previa a RUV no afectó la orientación de la natación de los individuos de *D. spinulata*. Dicha dirección del movimiento también estuvo mejor explicada por otros factores ambientales.
- El copépodo marino *A. clausi*, ingirió una menor cantidad de células de *Thalassiosira weissflogii* cuando los individuos del crustáceo estuvieron previamente expuesto a dosis sub-letales de RUV natural. Es decir que la RUV afectó negativamente la alimentación del copépodo.
- Los resultados sugieren que las dosis subletales de RUV pueden ser un factor más importante en la movilidad a nivel sub-individual (en la alimentación) y en la disponibilidad de alimento (por una inhibición de las células fitoplanctónicas más tolerantes) que en la movilidad individual (velocidad de natación) de crustáceos planctónicos dominantes de agua dulce y marinos bajo niveles naturales de radiación solar.