



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE BIOLOGÍA

Biodiversidad de macroalgas continentales y evaluación de la calidad ecológica en aguas de transición. El caso del marjal de Pego-Oliva (E de la península Ibérica)

MARÍA EUGENIA GARCÍA FERNÁNDEZ

2014

Directoras:

Marina Aboal Sanjurjo

Antonia Dolores Asencio Martínez

Agradecimientos

Después de este largo camino parece que por fin se ve el final. Durante este tiempo han sido muchas las personas que me han ayudado, enseñado, apoyado y acompañado y a las que me gustaría agradecer.

En primer lugar agradecer a mis directoras su tiempo invertido en esta tesis y por darme la posibilidad de embarcarme en esta aventura. Gracias por transmitirme vuestros conocimientos, por iniciarme en el mundo de la ficología y sobre todo por vuestro apoyo y ayuda.

Esta tesis no hubiese sido posible sin la financiación de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (Proyecto PEPLAN 2007-2011) que cubrió gran parte del trabajo, ni sin la beca para estancias en el extranjero que recibí de la Fundación Esteban Romero. Por ello quiero agradecerles esta oportunidad que me han dado para formarme e investigar.

Quiero darle las gracias a Jose Antonio Palazón y Jose Francisco Calvo por introducirme en el mundo del análisis estadístico y del software libre. Gracias por vuestra plena disposición a resolver dudas y problemas.

A mi compañera de laboratorio por hacerme pasar buenos momentos en esas largas horas de trabajo, experimentos y campo.

Gracias a la técnico del área de Botánica, Angelita, por su ayuda en los experimentos y en el herbario.

Me gustaría darle las gracias a la profesora Morgan Vis y a Daryl Lam de la Universidad de Ohio por acogerme en su laboratorio y de los que pude aprender mucho durante mi estancia allí. Mis compañeros de laboratorio fueron excepcionales y su ayuda fue inestimable. Fue una aventura muy enriquecedora tanto científica como culturalmente.

A la Sociedad Española de Ficología (SEF) por otorgarme una beca de participación en el congreso internacional “Use of Algae for Monitorig Rivers”, tal y como estaba el panorama no habría asistido sin esta ayuda.

Gracias a mis amigos que a pesar de su repetitiva pregunta “¿cómo vas con la tesis?” en esta última etapa me han dado muchos ánimos y me han sacado a la calle.

A mi familia por toda su comprensión y cariño, especialmente a mis sobris por alegrarme los días con su presencia.

Y como no, a Carlos, esta tesis es mitad tuya, nunca lo habría logrado sin ti.

ÍNDICE

1. Summary (Resumen).....	1
2. Introducción general	6
2.1 Las aguas de transición.....	6
2.1.1 Las aguas de transición: definición, tipología e importancia	6
2.1.2 Marjales mediterráneos	6
2.2 Biodiversidad y conservación de macroalgas continentales	8
2.2.1 Biodiversidad de macroalgas en Europa.....	8
2.2.2 Biodiversidad de macroalgas en la península Ibérica	8
2.2.3 Taxonomía y filogenia de rodofíceas.....	11
2.2.4 Conservación de macroalgas continentales.....	12
2.3 Evaluación de la calidad ecológica acuática mediante el uso de macroalgas	16
2.3.1 Las macroalgas como indicadoras de la calidad acuática	16
2.3.2 Biomonitordeo de macroalgas	16
2.3.3 Macroalgas en la implantación de la Directiva Marco del Agua (DMA)	17
2.3.4 El uso de las macroalgas como bioindicadoras de las aguas de transición	17
2.4. Objetivos	18
2.5. Área de estudio: el marjal de Pegó-Oliva	18
2.5.1 Características generales y localización	18
2.5.2 Geología y geomorfología	19
2.5.3 Hidrología.....	20
2.5.4 Climatología.....	20
2.5.5 Formaciones vegetales.....	21
2.5.6 Fauna.....	22
2.5.7 Estaciones de muestreo	23
2.5.8 Caracterización de los ambientes del marjal de Pegó-Oliva.....	26
2.5.9. Identificación molecular, filogenia y distribución de las especies.....	50
2.5.10 Impactos	56
2.6 Referencias.....	59
3. General conclusions (Conclusiones generales)	72

4. Publicaciones.....	74
5. Capítulos.....	76
5.1 García ME, Aboal M, 2014. Environmental gradients and macroalgae in Mediterranean marshes: the case of Pego-Oliva marsh (East Iberian Peninsula). <i>Science of the Total Environment</i> 475: 216-224.....	77
5.2. Lam WD, García-Fernández ME, Aboal M, Vis LM, 2013. <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater habitats in North America and Europe is confirmed as conspecific with marine collections. <i>Phycologia</i> 52(2): 156-160.....	78
5.3. García-Fernández ME, Vis M, Aboal M, 2014. <i>Kumanoa mahlacensis</i> S. Kumano & W.A. Bowden-Kerby (Batrachospermales, Rhodophyta) in a mediterranean wetland, a new species for the European continental algal flora. <i>Anales del Jardín Botánico de Madrid</i> (aceptado).....	79
6. Anexos.....	81
6.1 García-Fernández ME, Sánchez-Lorencio MI, Aboal M, 2011. Algas aerofíticas del Marjal de Pego-Oliva, este de la península Ibérica. <i>Acta Botanica Malacitana</i> 36: 169-174.....	82
6.2 García-Fernández ME, Aboal M, 2011. <i>Cyanidium caldarium</i> (Tilden) Geitler (Cyanidiaceae, Cyanidiophyceae) nueva cita para la flora algal continental española. <i>Acta Botanica Malacitana</i> 36: 164-169. ...	88
6.3 García-Fernández ME, Seguí-Chapuis I, Aboal M, 2012. <i>Kyliniella latvica</i> Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae) un rodófito indicador de buena calidad del agua. <i>Limnetica</i> 31(2): 341-348.	95
6.4 Aboal M, García-Fernández ME, Roldán M, Whitton BA, 2014. Ecology, morphology and physiology of <i>Chroothoece richteriana</i> (Rhodophyta, Stylonematophyceae) in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain. <i>European Journal of Phycology</i> 49(1): 83-96.....	103
6.5 Flora de macroalgas del marjal de Pego-Oliva	118
6.6 Muestras herborizadas del marjal de Pego-Oliva	121
6.6.1 Muestras preservadas en formaldehído al 4%	131
6.6.2 Pliegos de herbario.....	133

Lista de figuras

Figura 1. Precipitación y temperatura media anual de la estación meteorológica Pego Convento desde 1982 hasta 2013.	21
Figura 2. <i>Ludwigia grandiflora</i> (a) y <i>Egeria densa</i> (b) formando grandes masas en los azarbes.	22
Figura 3. Localización del área de estudio y puntos de muestreo en el marjal de Pego-Oliva (■: Ullales, ★: Nacimientos de agua salada, ●: Río Bullent, ♦: Río Racons, ▲: Azarbes, ✚: Arrozales).	24
Figura 4. Ambientes muestreados en el marjal de Pego-Oliva: a) ullal (U2), b) Font Salada (FS), c) Bassa Sineu (BS), d) azarbe (AN), e) río Racons en su tramo medio (R2), f) río Bullent cerca de su nacimiento (B2), g) río Bullent en su tramo medio (B3), h) arrozal (AE).	25
Figura 5. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Calothrix parietina</i> (Calpar), <i>Chaetophora tuberculosa</i> (Chatub), <i>Draparnaldia mutabilis</i> (Dramut), <i>Hildenbrandia angolensis</i> (Hilang), <i>Homoeothrix juliana</i> (Homjul), <i>Leptolyngbya angustissima</i> (Lepang) y <i>Sheathia arcuata</i> (Shearc).	28
Figura 6. Macroalgas características y variables ambientales de los ullales del marjal de Pego-Oliva.	30
Figura 7. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y ortofosfato para <i>Calothrix pulvinata</i> (Calpul), <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Compsopogon coeruleus</i> (Comcoe), <i>Phormidium tergestinum</i> (Photer), <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Polsub), <i>Tapinothrix violacea</i> (Tapvio), <i>Thorea violacea</i> (Thovio) y <i>Ulva intestinalis</i> (Ulvint).	32
Figura 8. Macroalgas características y variables ambientales de las surgencias de agua salada del marjal de Pego-Oliva.	34
Figura 9. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Chaetophora elegans</i> (Chaele), <i>Hildenbrandia angolensis</i> (Hilang), <i>Homoeothrix juliana</i> (Homjul), <i>Phormidium formosum</i> (Phofor), <i>Schizothrix fasciculata</i> (Schfas), <i>Sheathia arcuata</i> (Shearc) y <i>Tapinothrix crustacea</i> (Tapcru).	36
Figura 10. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Chaetophora lobata</i> (Chalob), <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Compsopogon coeruleus</i> (Comcoe), <i>Draparnaldia glomerata</i> (Draglo), <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Polsub), <i>Thorea hispida</i> (Thohis) y <i>Ulva flexuosa</i> (Ulvfle).	37
Figura 11. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Compsopogon coeruleus</i> (Comcoe), <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Polsub) y <i>Ulva flexuosa</i> (Ulvfle).	39
Figura 12. Macroalgas características y variables ambientales del río Bullent.	40
Figura 13. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Compsopogon coeruleus</i> (Comcoe), <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Polsub) y <i>Ulva flexuosa</i> (Ulvfle).	42
Figura 14. Macroalgas características y variables ambientales del río Racons.	43
Figura 15. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y amonio para <i>Batrachospermum</i> cf. <i>gelatinosum</i> (Batgel), <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Compsopogon coeruleus</i> (Comcoe), <i>Kumanoa mahlacensis</i> (Kummah), <i>Microcoleus autumnalis</i> (Micaut) y <i>Ulva flexuosa</i> (Ulvfle).	45
Figura 16. Macroalgas características y variables ambientales de los azarbes.	46

Figura 17. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para <i>Chara braunii</i> (Chabra), <i>Chara globularis</i> (Chaglo), <i>Cladophora glomerata</i> (Claglo), <i>Hydrodictyon reticulatum</i> (Hydret), <i>Pithophora roettleri</i> (Pitroe), <i>Sphaeroplea annulina</i> (Sphann) y <i>Ulva flexuosa</i> (Ulvfle).	48
Figura 18. Macroalgas características y variables ambientales de los arrozales.	49
Figura 19. <i>Kumanoa mahlacensis</i> : a) Azarbe del marjal de Pego-Oliva donde se recolectó <i>Kumanoa mahlacensis</i> junto con <i>Nymphaea alba</i> , b) y c) Ejes principales con verticilos piriformes y un único carposporófito en la parte central, d) y e) Ramas carpogoniales curvadas que emergen de las células periaxiales, tricógina elipsoidal o claviforme más o menos pedunculada con espermacios adheridos, f) Espermacios esféricos en la parte terminal de los fascículos. Escala= 20 µm.	52
Figura 20. <i>Polysiphonia subtilissima</i> : a) Filamentos de <i>P. subtilissima</i> creciendo sobre roca, b) Filamento con rizoides que crecen a partir de las células pericentrales, c) Tricoblastos apicales ramificados, d) Vista longitudinal del eje con cuatro células pericentrales, e) Pared celular y las cuatro células pericentrales, f) Sección transversal, célula central rodeada de cuatro células pericentrales. Escala a)= 3 cm. Escala b), c), d), e), f)= 20 µm.	54
Figura 21. a) Filamentos de <i>Calothrix parietina</i> . b) <i>C. pulvinata</i> , detalle del heterocito basal. c-d: <i>Homoeothrix juliana</i> . c) Ápices de los tricomas atenuados. d) Filamentos dispuestos de forma radial. e) <i>Leptolyngbya angustissima</i> . f) <i>Microcoleus autumnalis</i> . g) <i>Phormidium formosum</i> . h) <i>P. tergestinum</i>	121
Figura 22. a-b: <i>Schizothrix fasciculata</i> . a) Aspecto macroscópico. b) Filamento con varios tricomas. c) Tapete de <i>Tapinothrix crustacea</i> . d) <i>T. violacea</i> . e-h: <i>Batrachospermum</i> cf. <i>gelatinosum</i> e) Aspecto macroscópico de <i>B. cf. gelatinosum</i> . f) Rama carpogonial con tricógina claviforme. g) Verticilos esféricos. h) Espermacios apicales. ...	122
Figura 23. a-d: <i>Compsopogon coeruleus</i> . a) Aspecto macroscópico junto con <i>Ulva intestinalis</i> . b) Pliego de herbario. c) Células corticales del eje principal. d) Ramas apicales. e) Ullal con cueva con <i>Hildenbrandia angolensis</i> epilítica. f) Aspecto macroscópico de <i>H. angolensis</i>	123
Figura 24. a) <i>Polysiphonia subtilissima</i> en la Font Salada. b-f: <i>Sheathia arcuata</i> . b) Aspecto macroscópico. c) Carposporófito con forma esférica. d) Espermacios. e) Verticilos confluentes. f) Rama carpogonial con tricóginas claviformes.	124
Figura 25. a-b: <i>Thorea hispida</i> . a) Aspecto macroscópico. b) Detalle de los filamentos asimiladores. c-d: <i>T. violacea</i> . c) Aspecto macroscópico. d) Monosporangios. e-f: <i>Chaetophora elegans</i> . e) Aspecto macroscópico. f) Ramificación.	125
Figura 26. a-b: <i>Chaetophora lobata</i> . a) Aspecto macroscópico. b) Ramificación. c-d: <i>C. tuberculosa</i> . c) Aspecto macroscópico. d) Detalle de la ramificación. e-g: <i>Cladophora glomerata</i> . e) Aspecto macroscópico. f) Masa de filamentos en el río Racons. g) Ramificación.	126
Figura 27. a-b: <i>Draparnaldia glomerata</i> a) Aspecto macroscópico. b) Detalle de un filamento. c-d: <i>D. mutabilis</i> c) Aspecto macroscópico. d) Detalle de un filamento. e) <i>Hydrodictyon reticulatum</i> . f) Filamento de <i>Pithophora roettleri</i> con acinetos.	127
Figura 28. a) Detalle de las oósporas de <i>Sphaeroplea annulina</i> . b-c: <i>Stigeoclonium subsecundum</i> . b) Aspecto macroscópico. c) Ramificación. d-f: <i>Ulva flexuosa</i> . d) <i>U. flexuosa</i> en arrozal tradicional. e) <i>U. flexuosa</i> en el tramo medio del río Racons. f) Detalle de la ordenación celular. g) Aspecto macroscópico de <i>U. intestinalis</i>	128
Figura 29. a-b: <i>Chara baltica</i> . a) Aspecto macroscópico. b) Pliego de herbario. c-d: <i>C. braunii</i> . c) <i>C. braunii</i> en el medio. d) Pliego de herbario. e) Pliego de herbario de <i>C. globularis</i> . f) Pliego de herbario de <i>C. hispida</i> . g) Detalle del talo de <i>Coleochaete scutata</i> . h) <i>Nitella confervacea</i> en un azarbe.	129
Figura 30. a) Ramificación de <i>Nitella hyalina</i> con anteridios en distintos grados de maduración. b) Aspecto macroscópico de <i>Botrydium granulatum</i> . c) <i>Vaucheria compacta</i> con oogonios. d) Aspecto macroscópico de <i>V.</i>	

dichotoma en el tramo medio del río Bullent. e) Detalle del oogonio y anteridio de *V. dillwynii*. f-g: *Chlorosaccus fluidus*. f) Aspecto macroscópico sobre *Ludwigia grandiflora*. g) Detalle de las células.130

Lista de tablas

Tabla 1. Número de especies de macroalgas por división taxonómica de las principales floras europeas.	8
Tabla 2. Adenda a la lista de rodofíceas continentales de la península Ibérica e Islas Baleares en Chapuis et al. (2014). CAN= Cantabria, CEUS= Costa de Euskadi, CGAL=Costa de Galicia, EBR=Cuenca del Ebro, CCAD= Costa de Cadiz, CHUE= Costa de Huelva, GUA= Cuenca del Guadalquivir, JUC= Cuenca del Júcar, SEG= Cuenca del Segura.	10
Tabla 3. Comparación de distintas clasificaciones taxonómicas que incluyen algas rojas continentales (Sheath, 1984; Cole & Sheath, 1990; Saunders & Hommersand, 2004; Yoon et al., 2006).	11
Tabla 4. Resumen de la actual clasificación taxonómica del orden Batrachospermales (Entwistle et al., 2009; Salomaki et al., 2014) en comparación con clasificaciones anteriores (*= Incertae Sedis) (Vis et al., 1998).	12
Tabla 5. Lista roja de macroalgas amenazadas de la Región de Murcia (García-Fernández et al., 2010).	13
Tabla 6. Rodofíceas amenazadas incluidas en las listas rojas de Alemania, Bulgaria y Polonia aceptadas taxonómicamente en la actualidad (Ludwig & Schnittler, 1996; Siemińska, 2006; Temniskova et al., 2008).	14
Tabla 7. Figuras de protección del marjal de Pegó-Oliva.	19
Tabla 8. Especies amenazadas de la fauna del marjal de Pegó-Oliva según el Catálogo Valenciano de Especies Amenazadas de Fauna y el Catálogo Español de Especies Amenazadas (Decreto 32/2004, 2004; R.D. 139/2011, 2011).	22
Tabla 9. Geolocalización de los puntos de muestreo intensivo en el marjal de Pegó-Oliva.	23
Tabla 10. Variables físicas y químicas de los hábitats donde se recolectó <i>Compsopogon coeruleus</i> para su secuenciación molecular en Necchi et al., (2013).	51
Tabla 11. Comparación de las variables físicas y químicas de las localidades donde se ha recolectado <i>Kumanoa mahlacensis</i> (Traichaiyaporn et al., 2004; Vis et al., 2012; García-Fernández et al., 2014).	51
Tabla 12. Comparación de las variables físicas y químicas de las localidades de agua dulce donde se ha recolectado <i>Polysiphonia subtilissima</i> (Sheath & Cole, 1990; Sheath et al., 1993; Lam et al., 2013).	53
Tabla 13. Matriz de distancias <i>p</i> no corregidas (diagonal posterior) y cambios totales de nucleótidos (diagonal superior) en el gen <i>rbcL</i> para los ejemplares de <i>P. subtilissima</i> y <i>P. scopulorum</i> var. <i>villum</i> (<i>P. scop.</i>).	53
Tabla 14. Matriz de distancias <i>p</i> no corregidas (diagonal posterior) y cambios totales de nucleótidos (diagonal superior) en el gen COI para los ejemplares de <i>P. subtilissima</i> y <i>P. scopulorum</i> var. <i>villum</i> (<i>P. scop.</i>).	55

1. Summary (Resumen)

Transitional waters are highly diverse, dynamic, and productive systems ecologically important on a global scale. Although they have been influenced by human activity since ancient times, these waters provide a wide variety of services to society. According to the Water Framework Directive (WFD), transitional waters are bodies of surface water in the vicinity of river mouths which are partly saline in character as a result of their proximity to coastal waters but which are substantially influenced by freshwater flows.

Marshes are transitional waters located between terrestrial and aquatic systems frequently or continually inundated. They are flat and swamp areas with a salinity gradient, abundant nutrients, vegetation adapted to saturated soil conditions, and with fluvial, tidal or groundwater supplies. The Mediterranean basin is rich in marshes of great ecological, social and economic value whose surfaces have been reduced by human influence. They are threatened systems, very interesting from the biodiversity conservation point of view because they harbour a high species richness, some of which are very rare in a European context. However, many of these wetlands are still relatively unknown from the phycological point of view. Several international agreements and laws (WFD, the Ramsar Convention on Wetlands, the Habitats Directive 92/43EC, and the Directive 2009/147/EC on the Conservation of Wild Birds) have addressed the protection and conservation of marshes.

The term macroalgae refers to filamentous algae or algae which form macroscopic aggregates. Macroalgae permit an accurate estimation of changes in aquatic environments because they have a high number of species with different sensitivity to a wide range of environmental conditions, and their long and sometimes complex life cycle may help to detect long-term environmental changes.

The WFD proposes the use of abundance and composition of phytoplankton, macroalgae, angiosperms, benthic invertebrate, and fish fauna to assess the ecological quality of transitional waters in an attempt to reach a good ecological status of water bodies in the European Community. Although the WFD establishes macroalgal composition and abundance as an indicator for monitoring transitional waters, in most indices developed for these systems macroalgae are almost always neglected.

The objectives of this thesis are to analyze the main factors that affect the composition and distribution of macroalgal species of the Pego-Oliva marsh, to study ecological ranges and indicator values of macroalgal species, to test the feasibility of using macroalgae for monitoring Mediterranean marshes, and to perform a taxonomic and phylogenetic study of the main macroalgal species, especially red algae, to assess the interest of the marsh in a Spanish, European and global context.

The Pego-Oliva marsh covers an area of 14 km², is fed mainly by groundwater, and is located between the towns of Pego and Oliva (Valencia-Alicante, Spain), in a depressed area surrounded by mountain ranges. The average annual rainfall and temperature are 905 mm and 18 °C, respectively. The marsh was formed by spit accretion, which closed a subsiding bay. When the bay was isolated from the sea, it experienced a slow process of silting by accumulation of alluvial sediments. The oldest geological materials are limestone and dolomite, which form the sides of the mountains surrounding the basin, while in the marsh, marls and fluvial sediments dominate. Different kinds of water bodies are present in the marsh: rivers, fresh and saltwater springs, irrigation ditches and rice fields. Historically, all the area has been threatened by tourist developments and urban and agricultural pressures.

Summary (Resumen)

Twenty three sites were visited over a period of two years (2008-2010): 5 sampling points for each of the 2 studied rivers (Racons and Bullent Rivers), 5 freshwater and 2 saltwater springs, 4 irrigation ditches and 2 rice fields. Four seasonal intensive samplings per year were performed in the different habitats. Extensive samplings were also carried out in distinct locations to better cover the whole marsh area. 570 samples of macroalgae and benthic microalgae were collected, fixed with formaldehyde, and deposited in the Herbarium of the University of Murcia (MUB-ALGAE). Water temperature, pH, conductivity, dissolved oxygen, photosynthetic active radiation (PAR) at surface and at depth of 50 cm, and current velocity were measured. Water samples were analyzed for NO_3^- -N, NO_2^- -N, NH_4^+ -N, PO_4^{3-} -P, TN, and TP. A Generalized Linear Model (GLM) was applied to predict significant relationships between macroalgal taxa and environmental variables, and Canonical Correspondence Analysis (CCA) was used to evaluate the variability in the community structure in relation to the environmental variables. The potential use of the taxa sampled as an indicator of different groups of habitats was examined with the indicator species analysis (Indval).

According to the CCA and the GLM, the main factors explaining the distribution of macroalgal assemblages in the Pego-Oliva marsh were conductivity and dissolved oxygen, and, with a lower weight, the ammonium concentration. The Chl b/Chl a and Chl c/Chl a ratios showed that green algae were the dominant algal group in benthic mats of freshwater habitats (springs, rivers, and irrigation ditches), while diatoms were clearly dominant in saltwater springs. No significant correlation was observed between nitrogen or phosphorus and epiphytic biomass, as is the case in other similar wetlands.

Freshwater springs are characterized by crystalline and shallow water with conductivity (500-1700 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and concentration of nutrients (dissolved inorganic nitrogen= 9-36 mg/L, orthophosphate= 0.01-0.04 mg/L) lower than those found in other environments of the study area and high concentration of dissolved oxygen (7.0-13.5 mg/L). Conductivity and dissolved oxygen are the main factors responsible for the distribution of macroalgal assemblages in this environment. According to the indicator species analysis (Indval), *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis* and *Leptolyngbya angustissima* are good indicators of freshwater springs, being *Calothrix parietina* and *Leptolyngbya angustissima* exclusive to these habitats. *Homoeothrix juliana* and *Sheathia arcuata* (= *Batrachospermum arcuatum*) are good indicators of both freshwater springs and the source of Bullent River. *Hildenbrandia angolensis* also grows here in a narrow and relatively low nutrient concentration and temperature range, and in a narrow but high dissolved oxygen range. The main features of saltwater springs are high levels of conductivity (2200-12290 $\mu\text{S}/\text{cm}$), temperature (16-28 °C) and concentrations of dissolved inorganic nitrogen (17.32-64.15 mg/L) and orthophosphate (0.01-0.10 mg/L), and low levels of oxygen (5.5-8.1 mg/L). The conductivity and the concentration of orthophosphate are the main parameters responsible for the distribution of macroalgae in this environment. *Calothrix pulvinata*, *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea* (= *Homoeothrix violacea*), *Thorea violacea*, and *Ulva intestinalis* are good indicators of saltwater springs, but *Phormidium tergestinum* and *Ulva intestinalis* are exclusive to these habitats. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus* and *Polysiphonia subtilissima* are the main accompanying species.

Conductivity and dissolved oxygen concentration are essential factors in the composition of macroalgal assemblages in Bullent River. The ecological conditions of the source of Bullent River are very similar to freshwater springs: shallow and clear water with conductivity (1066-2380 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and concentration of nutrients (dissolved inorganic nitrogen= 16.5-21.1 mg/L, total phosphorus= 0.07-0.09 mg/L) lower than those found in other habitats of the marsh, and high oxygen levels (8.6-10.2 mg/L). Algal assemblages are also very similar. *Chaetophora elegans*, *Phormidium formosum*, *Schizothrix fasciculata*, and *Tapinothrix crustacea* (= *Homoeothrix crustacea*) are good

indicators of the source of Bullent River, but *Phormidium formosum* and *Tapinothrix crustacea* are exclusive of this habitat. The environmental conditions change in the middle stretch of the river, where conductivity (941-2700 $\mu\text{S}/\text{cm}$) and the concentration of nutrients increase (dissolved inorganic nitrogen= 14.4-27.4 mg/L, total phosphorus= 0.07-0.14 mg/L). *Chaetophora lobata* and *Draparnaldia glomerata* are the indicator species of this stretch of the river. *Thorea hispida* has also been collected here, but its presence is not permanent and its ecological requirements remain unclear. *Compsopogon coeruleus*, *Cladophora glomerata*, and *Ulva flexuosa* are the main accompanying species. The final stretch of Bullent River is a eutrophic environment with turbid water and high conductivity (2970-8630 $\mu\text{S}/\text{cm}$). None of the species growing in it are good indicators, as they have a wide distribution in the marsh.

Racons River is characterized by the high level of eutrophication due both to problems with the nearby water treatment plant, whose wastewater is sometimes dumped directly to the river without any treatment, and the irrigation water from rice and citrus tree fields, which is also poured directly into the river. Conductivity is the main factor responsible for the distribution of macroalgal assemblages. Environmental conditions and macroalgal species are very homogeneous throughout the river. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima*, and *Ulva flexuosa* grow here, being the most widespread species and having the broadest ecological ranges in the marsh.

Irrigation ditches are habitats with high concentrations of ammonium (0.05-0.69 mg/L), where the dissolved oxygen reaches low values (2.6 mg/L), and the high turbidity of which is probably caused by the nature of its peaty soils, rich in organic matter. Conductivity and ammonium concentration are important parameters for the composition of species in irrigation ditches. *Kumanoa mahlacensis*, *Microcoleus autumnalis*, and *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* are good indicators of this habitat, but the last two seem to be specific of it. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus* and *Ulva flexuosa* are the main accompanying species.

Rice fields have a role in the maintenance of nutrient recycling, trophic structures balance, and water recharge, and, most importantly, they harbour diverse algal assemblages. The temperature (18.5-31.7 °C) and concentration of dissolved inorganic nitrogen (23.83-125.21 mg/L) are high, and the range of oxygen is very variable (4.0-15.6 mg/L). In rice fields grow species like *Chara braunii*, *Pithophora roettleri*, or *Sphaeroplea annulina*, which are infrequently cited in Spain, probably due to their seasonal and ephemeral character.

Composopogon coeruleus is common and widely distributed throughout the marsh, showing a remarkable morphological variability and tolerance to salinity and pollution. The genus has been collected from several locations around the world, but mostly in tropical and subtropical regions. Recent studies have concluded that it is a monospecific genus (previously up to nine species had been described) with worldwide distribution and including *C. coeruleus* as its only species. This genus presents very low genetic variation. The *rbcL* gene sequences obtained from the marsh presented 100% similarity with other specimens of *C. coeruleus* from tropical areas. *Kumanoa mahlacensis* has been collected only in an irrigation ditch of the marsh. It is rare here and in a worldwide context. It is the first record for Europe, and its identity has been corroborated by molecular analyses (*rbcL* gen). It was firstly described from a tropical area, but it probably has a cosmopolitan distribution. *Polysiphonia subtilissima* is a common species in saline and freshwaters of the marsh. Considered a marine species collected from coasts of all continents except Antarctica, surprisingly it has not been reported in the European Atlantic Ocean or the Spanish Mediterranean coasts. Its presence in freshwater habitats seems to be uncommon, and this is the third freshwater record in the world for the taxon and the first in Europe. The conspecificity of marine and freshwater

Summary (Resumen)

material was corroborated with *rbcL* and COI markers. *Thorea hispida* may develop very long filaments in the middle stretch of the Bullent River, with moderate conductivity and moderate concentration of nutrients; however, it is not common. The sequences of *rbcL* obtained from the marsh material confirmed its identity. *T. violacea* has been mainly reported from tropical/subtropical freshwaters, but in the marsh it seems to prefer mesohaline waters with high nutrient concentration and temperature. The specimens must be sequenced to verify the identity. *Hildenbrandia angolensis* grows profusely in the less disturbed habitats of the marsh under low light intensity. It is considered a tropical or subtropical species linked to oligotrophic conditions and it is quite common in caves. Preliminary molecular studies showed that the two freshwater species of the genus should be maintained even when morphological characters of both species (*H. rivularis* and *H. angolensis*) usually overlap. *Sheathia arcuata* (= *Batrachospermum arcuatum*) is frequent here and related with freshwater springs (*ullales*). It has a worldwide distribution and is common in Europe, showing a considerable morphological plasticity. In Spain, it has been scarcely cited, probably because of the confusion with the widely distributed *Batrachospermum gelatinosum*. Both species are morphologically very similar and are mainly differentiated by their monoecious or dioecious character, which is not a discriminant taxonomic character in the genus according to genomic data. The *rbcL* gene sequences obtained from specimens collected in the source of Bullent River and freshwater springs in the marsh presented 100% similarity to each other and with other specimens of *S. arcuata* from remote locations.

Despite the fact that the Pego-Oliva marsh has been historically affected by various types of perturbations, including the agricultural and touristic developments, the species richness in this wetland keeps fairly stable. The presence of several species which have a very restricted distribution in Europe or worldwide, as *Kumanoa mahlacensis*, *Hildenbrandia angolensis*, *Polysiphonia subtilissima*, *Thorea hispida*, or *Thorea violacea*, increases the interest in the conservation of the marsh. The results obtained confirm that macroalgal assemblages can be used to evaluate water quality and to predict changes in transitional systems.

Chapters

Chapter 1: Environmental gradients and macroalgae in Mediterranean marshes: the case of Pego-Oliva marsh (East Iberian Peninsula). *Science of the Total Environment* 475: 216-224, 2014.

Although Mediterranean marshes have historically suffered high anthropogenic pressure, they have maintained their remarkable biodiversity. They are severely threatened but remain comparatively unexplored systems from the algological point of view. For example, most of the indexes proposed for monitoring ecological quality are based on diatoms and very few have explored the use of macroalgae. The Pego-Oliva marsh is located in the east of the Iberian Peninsula close to the Mediterranean coast with warm annual temperature and fairly high precipitation. The aims of this study were to ascertain the ecological variables that explained macroalgal distribution in the Pego-Oliva marsh and to assess their indicator value. Macroalgal biodiversity was seen to be high (50 taxa) despite the high nitrogen concentration of the marsh. All the environmental variables studied had a broad range of variation throughout the marsh, especially conductivity (500-12290 $\mu\text{S}/\text{cm}$), temperature (14.3-31.7 °C), nitrate (9.49-64.11 mg/L) and ammonium (0.004-0.814 mg/L). A clear gradient of conductivity and dissolved oxygen was observed from fresh to saltwater. *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis*, *Hildenbrandia angolensis*, *Leptolyngbya angustissima* and *Sheathia arcuata* (= *Batrachospermum arcuatum*) were seen to act as indicators of low conductivity and dissolved inorganic nitrogen, and high dissolved oxygen, while *Calothrix pulvinata*, *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea* (= *Homoeothrix violacea*), *Thorea violacea* and *Ulva intestinalis* were indicators of high conductivity and orthophosphate habitats. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon*

coeruleus, *Polysiphonia subtilissima* and *Ulva flexuosa* are the most widespread species and have a broad ecological range. Irrigation ditches have high ammonium and low dissolved oxygen concentrations and host infrequently reported species like *Kumanoa mahlacensis*. The data presented confirm the usefulness of macroalgae for the ecological monitoring of marshes, while increasing our knowledge of the distribution and ecological range of some species. However, more experimental work is needed to know the tolerance range of species living in dynamic systems like Mediterranean marshes.

Chapter 2: *Polysiphonia subtilissima* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater habitats in North America and Europe is confirmed as conspecific with marine collections. Phycologia 52(2): 156-160, 2013.

Polysiphonia subtilissima has a global marine distribution and has been reported from coastlines of every continent except Antarctica. Here, we report *P. subtilissima* from a freshwater habitat in Pego-Oliva Natural Park, Spain, which is only the third freshwater record for the genus and the first from Europe. This species was previously identified based on morphology from Juniper Creek (Florida, USA), 140 km from marine tidal influence, as well as from a stream on the island of Jamaica. Two molecular markers, 5' cytochrome *c* oxidase subunit I barcode (COI) and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) large subunit gen (*rbcL*) were sequenced for the freshwater collections from Spain and Florida. DNA sequences from the freshwater specimens were identical for each marker and were identical or highly similar to previously published *P. subtilissima* sequences. Both the freshwater samples were collected from alkaline waters (pH 7.6-8.8 and 7.7, respectively) with high conductivity (1900-2700 and 1840 μScm^{-1} , respectively) for a freshwater ecosystem, suggesting a high concentration of total dissolved solids within these habitats. The high conductivity may have alleviated some of the osmolaric stress to the freshwater *P. subtilissima* populations.

Chapter 3: *Kumanoa mahlacensis* S. Kumano & W.A. Bowden-Kerby (Batrachospermales, Rhodophyta) in a mediterranean wetland, a new species for the European continental algal flora. Anales del Jardín Botánico de Madrid (aceptado, 2014).

Morphological characters and molecular sequence data of the plastid-encoded ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) large subunit gen (*rbcL*) confirmed the first record of *Kumanoa mahlacensis* (S. Kumano & W. A. Bowden-Kerby) Entwistle, M. L. Vis, W. B. Chiasson, Necchi & A. R. Sherwood in Europe from a Spanish Mediterranean coastal wetland. The genus *Kumanoa* has a worldwide distribution and inhabits in both lotic and lentic habitats, but information about the ecological requirements of species is scarce. In this study, the morphology and ecology of Spanish material is described in order to gain a broader insight of the distribution of species from Mediterranean areas.

2. Introducción general

2.1 Las aguas de transición

2.1.1 Las aguas de transición: definición, tipología e importancia

Desde el punto de vista ecológico, las aguas de transición son ecotonos entre ecosistemas terrestres de agua dulce y marinos y se caracterizan por una alta heterogeneidad espacial y una alta variabilidad temporal (Basset et al., 2006). La Directiva Marco del Agua (DMA) incluye en este apartado las aguas superficiales próximas a las desembocaduras de los ríos, parcialmente salinas por su proximidad a la costa pero con una notable influencia de agua dulce (Directiva 2000/60/EC, 2000). Estos sistemas se forman principalmente como consecuencia de la dinámica litoral, por la acción de erosión y sedimentación del mar y las mareas con la intervención de la dinámica fluvial (Lindén et al., 2012). Los bienes y servicios suministrados por los ecosistemas de agua de transición se pueden agrupar en seis grandes grupos: conservación de la biodiversidad acuática; protección de los ambientes costeros frente a las perturbaciones físicas por inundaciones y a las perturbaciones químicas por contaminación de cuencas hidrográficas; acuicultura; recreación y turismo; mantenimiento de los valores del patrimonio cultural e histórico costero; y facilitación de información para la investigación en medio ambiente, educación y sensibilización pública (Lindén et al., 2012).

El territorio europeo contiene un amplio rango de hábitats y tipologías de aguas de transición: los estuarios, los fiordos, los “fjard”, los deltas, las desembocaduras de los ríos, las rías, las lagunas lénticas no mareales o micromareales y las plumas costeras (Tagliapietra & Ghirardini, 2006; McLusky & Elliott, 2007). Para la implementación de la DMA y la consecución del buen estado ecológico en las aguas de transición europeas es necesario desarrollar herramientas de evaluación específicas que tomen en consideración su vulnerabilidad frente a perturbaciones como la carga de nutrientes, la contaminación o la explotación de recursos (Giordani et al., 2009). Hasta el momento la mayor parte de los estudios en aguas de transición se han centrado en estuarios y lagunas costeras salinas. Sin embargo, los sistemas litorales con mayor influencia de las aguas continentales han sido poco investigados.

2.1.2 Marjales mediterráneos

Los marjales se desarrollan por un proceso de sedimentación aluvial litoral sometido a las mareas o a las inundaciones estacionales de agua de mar (Rodrigo et al., 2001). Son terrenos llanos, pantanosos, con masas de agua someras, un gradiente de salinidad, abundantes nutrientes, vegetación adaptada a las condiciones de saturación del suelo y con importantes aportes fluviales, subterráneos o de las mareas. Se incluyen dentro del grupo denominado lagunas lénticas no mareales o micromareales, de acuerdo con la tipología establecida por McLusky & Elliott (2007). Los distintos tipos de marjales se pueden definir por el grado de salinidad, estacionalidad y por su carácter abierto a flujos hidrológicos que dependen de factores como la elevación, aportes de escorrentías, influencia fluvial o drenaje del suelo. Se pueden encontrar desde marjales salinos mareales hasta los de agua dulce, que a su vez pueden ser estacionales, permanentes o semipermanentes. Algunos marjales están completamente cubiertos por vegetación emergente, mientras que en otros la vegetación rodea extensiones de aguas abiertas (Burger, 1985).

La cuenca Mediterránea es rica en marjales de un gran valor ecológico, económico y social que han visto reducida su superficie por la elevada influencia humana. Los cambios en el nivel del mar de la zona debido a los ciclos estacionales o anuales y a las precipitaciones, muy variables en espacio y tiempo, suelen influir notablemente en la productividad de los sistemas ya que las mareas no suelen jugar un papel importante. El nivel mínimo del mar suele registrarse en invierno o verano sobre todo bajo las altas presiones atmosféricas y el nivel máximo en otoño o primavera coincidiendo con las máximas precipitaciones (Ibáñez et al., 2002). Los productores primarios se componen principalmente por helófitos y macrófitos sumergidos así como macro y microalgas, aunque éstas últimas están más escasamente documentadas (Geertz-Hansen et al., 2011). Sin embargo, existe escasa información sobre el balance metabólico en estos sistemas.

Los marjales mediterráneos que reciben aportes de agua dulce son relativamente escasos, están asociados a surgencias de agua dulce subterránea en zonas kársticas o a áreas que reciben el agua de riego de zonas agrícolas y pueden ser altamente productivos (Ibáñez et al., 2002). En un principio, estos marjales costeros formaban ambientes semejantes a los pantanos dulceacuícolas relacionados con el ámbito fluvial pero con aguas saladas, para cambiar posteriormente de forma gradual a marjales filocontinentales. Históricamente los marjales fueron transformados en campos de arrozales poco profundos, temporales y altamente productivos, aunque en la segunda mitad del siglo XX muchos fueron desecados con el fin de erradicar focos de enfermedades como el paludismo (Ballesteros et al., 2007).

La albufera de Valencia es quizá el marjal mejor estudiado de nuestro país. Los trabajos más antiguos abordaron los efectos de la contaminación sobre la flora y la fauna de la laguna (Blanco, 1974); también se profundizó en la diversidad de comunidades de fitoplancton (Romo, 1991) y de zooplancton (Oltra, 1993) y se investigó el conjunto de los sistemas acuáticos de este Parque Natural como parte de una tesis doctoral (Soria, 1997). Los estudios más recientes se centran en la evaluación de problemas de contaminación (Del Barrio Fernández et al., 2012), gestión sostenible de los recursos hídricos (Usaquén Perilla et al., 2012) o restauración de las comunidades de carófitos (Rodrigo & Alonso Guillen, 2013). Los marjales y la laguna costera del Mar Menor han sido objeto de diversas investigaciones, cabe mencionar el estudio del fitoplancton (Ros & Miracle, 1984), de los suelos (Álvarez-Rogel et al., 2001), de la toxicidad provocada por el lavado de los terrenos mineros de La Unión (Marín-Guirao et al., 2007), de las comunidades de fauna bentónica (Lloret & Marín, 2011), de los macrófitos acuáticos incluidas algas (García-Sánchez et al., 2012) y sus comunidades de epífitos (Belando et al., 2012) o de los modelos hidrodinámicos de circulación de la laguna (De Pascalis et al., 2012). En los marjales de l'Empordá (NE peninsular) se han investigado las comunidades de invertebrados acuáticos (Moreno-Amich et al., 1998), la composición y biodiversidad de fitoplancton (Quintana & Moreno-Amich, 2002), la dinámica de nutrientes y contaminación (López-Flores et al., 2003), las comunidades de diatomeas (Trobajo et al., 2004) y su etnobotánica (Parada et al., 2009).

Dentro del ámbito europeo estos ambientes han recibido escasa atención, con algunas excepciones como en Italia o en Francia. En los marjales de la laguna de Venecia se han investigado las comunidades bentónicas (Tagliapietra et al., 2000) y planctónicas (Bianchi et al., 2003) y se ha evaluado la calidad ambiental del agua (Micheletti et al., 2011); aunque la mayoría de los trabajos se centran en la morfodinámica y subsidencia de la laguna (Francalanci et al., 2013). Al oeste de Italia, en el marjal de Massaciucoli se ha analizado la influencia humana y el patrón de distribución de aves (Puglisi et al., 2005) y en el marjal de la reserva Duna Feniglia se ha examinado la relación entre gradientes químicos y la presencia de comunidades vegetales (Angiolini et al., 2013). En los marjales del sureste de Italia los investigadores han profundizado en estudios paleoambientales en la

llanura del Tavoliere (Di Rita et al., 2011) y en la distribución, ecología y composición de plantas vasculares en la región de Apulia (Sciandrello & Tomasell, 2014).

Los marjales de la costa francesa mediterránea han sido estudiados desde el punto de vista florístico y ecológico, especialmente se han analizado los requerimientos ecológicos de las especies de plantas vasculares que allí se desarrollan y su tolerancia a la salinidad (Mauchamp & Mésleard, 2001; Baumberger et al, 2012). Pero destacan sobre todo los trabajos relativos al Parque Nacional de la Camarga declarado Reserva de la Biosfera. Estas marismas han sido objeto de diversos análisis en los que se aborda la distribución de macrófitos acuáticos (incluidas caráceas) en relación a variables ambientales (Grillas, 1990), la problemática del cultivo tradicional de arroz frente al ecológico y la importancia de los organismos que allí habitan (Mouret et al., 2004), la bioacumulación de pesticidas y metales pesados (Oliveira-Ribero et al., 2005), la composición de plantas y aves acuáticas (Gayet et al., 2012), las fluctuaciones del régimen hidrogeológico (Torres-Rondon et al., 2013) y las consecuencias del avance de las especies exóticas como el cangrejo rojo americano (Rodríguez-Pérez et al., 2014).

2.2 Biodiversidad y conservación de macroalgas continentales

2.2.1 Biodiversidad de macroalgas en Europa

En los estudios de evaluación ecológica se suele utilizar un concepto amplio del término macroalga que incluye no solo a las algas filamentosas sino a las que forman agregados macroscópicos (Whitton & Buckmaster, 1970). El grado de conocimiento florístico de las algas continentales, incluidas las macroalgas, es muy desigual dentro del continente europeo. Mientras algunos países poseen información bastante detallada otros carecen prácticamente de datos. Polonia (Flora Slodkowodna Polski), los países centroeuropeos (Süßwasserflora von Mitteleuropa) y el Reino Unido han completado y publicado sus floras (Tabla 1).

División	Nº especies de macroalgas Polonia	Nº especies de macroalgas Europa Central	Nº especies de macroalgas Gran Bretaña	Nº especies de macroalgas España
Cyanophyta	276	395	209	353
Rhodophyta	22	64	23	31
Chlorophyta	377	489	202	213
Streptophyta	203	317	151	226
Heterokontophyta	49	78	37	97

Tabla 1. Número de especies de macroalgas por división taxonómica de las principales floras europeas.

En Polonia se reconocen alrededor de 3.000 especies de algas de las que 927 se pueden considerar macroalgas, que incluyen 276 especies de la división Cyanophyta (Starmach, 1966), 22 Rhodophyta (Siemińska &

Wolowski, 2003), 377 Chlorophyta (Mrozinska, 1969; Starmach 1972), 203 Streptophyta (Damska, 1964; Kadlubowska, 1972) y 49 Heterokontophyta (Starmach 1968a, b, 1977) (Tabla 1). La flora del centro de Europa (Süßwasserflora von Mitteleuropa) incluye 3.500 especies con 1.343 macroalgas: 395 especies de Cyanophyta (Komárek & Anagnostidis, 2005; Komárek, 2013), 64 Rhodophyta (Eloranta et al., 2011), 489 Chlorophyta (Mrozinska, 1985; Ettl & Gärtner, 1988), 317 Streptophyta (Kadlubowska, 1984; Krause, 1997) y 78 Heterokontophyta (Rieth, 1980; Kristiansen & Preisig, 2007; Eloranta et al., 2011). La flora algal de Gran Bretaña (John et al., 2002) incluye un total de 1.880 especies de algas (exceptuando las diatomeas representadas por 2.275 especies) de las cuales 622 son macroalgas: 209 especies de Cyanophyta, 23 Rhodophyta, 202 Chlorophyta, 151 Streptophyta y 37 Heterokontophyta.

2.2.2 Biodiversidad de macroalgas en la península Ibérica

El conjunto de aguas continentales de la península Ibérica contiene un gran número de ambientes húmedos de naturaleza muy distinta con características ecológicas diversas y probablemente una gran biodiversidad de especies (Cirujano et al., 2008). Mientras la vegetación vascular ha sido estudiada más o menos intensamente en estos sistemas, el conocimiento de sus algas es todavía bastante incompleto. Los primeros datos sobre macroalgas en la península Ibérica proceden de los trabajos de González Guerrero (1927, 1942, 1945) y, sobre todo, de los de Margalef (1944a, b, 1946, 1947a, b, 1949, 1950, 1952a, b, 1953a, b, 1955a, b, 1956a, b). En conjunto recogen un total de 390 especies de macroalgas en las diversas regiones españolas: 148 Cyanophyta, 94 Chlorophyta, 86 Streptophyta, 54 Heterokontophyta y 8 Rhodophyta. Posteriormente se fueron publicando catálogos de algas continentales para el territorio español (Álvarez-Cobelas, 1984, 1988; Llimona et al., 1985; Álvarez-Cobelas & Gallardo, 1988; Cambra et al., 1998; Aboal et al., 2003b; Chapuis et al., 2014) que en total incluyen 920 especies de macroalgas de las que 353 son Cyanophyta, 31 Rhodophyta, 213 Chlorophyta, 226 Streptophyta y 97 Heterokontophyta (Tabla 1).

El grado de conocimiento de la flora ficológica española continúa siendo limitado debido principalmente a que muchas áreas han sido insuficientemente prospectadas y de otras sólo se conocen datos muy parciales, la mayoría de las veces bastante antiguos (Sánchez Castillo et al., 2009). Con el proyecto denominado Flora Ibérica de Algas Continentales se inició un muestreo extensivo para el estudio en profundidad de las algas de los diferentes tipos de masas de agua de las cuencas hidrográficas de la península Ibérica e islas Baleares. Como resultado de la primera fase del proyecto en 2003 se publicó una monografía de la familia Characeae (Cirujano et al., 2008).

En la actualidad se está desarrollando la segunda fase en la que se propone el estudio de los taxones de estructura filamentosa (Sánchez Castillo et al., 2009). Dentro de ese contexto se puede enmarcar este trabajo, con un especial énfasis en las rodofíceas, ya que a pesar de su importancia en los ecosistemas acuáticos, y como bioindicadoras, los estudios de taxonomía de algas rojas de agua dulce en la península son escasos. Hasta la fecha se han citado 68 taxones de rodofíceas en la península Ibérica: 38 en Portugal y 31 en España (Chapuis et al., 2014). De los 38 taxones reconocidos en Portugal, 37 fueron citados por Reis (Chapuis et al., 2014) y 1 por González Guerrero (1949). Muchos de los taxones recolectados por Reis y conservados en el Herbario de la Universidad de Coimbra fueron sinonimizados después del estudio morfológico del material herborizado (Vis et al., 1995; Necchi et al., 2010b; Necchi & Vis, 2012). Sin embargo, sería recomendable, en la medida de lo posible, realizar una confirmación de las sinonimias mediante métodos moleculares.

Tabla 2. Adenda a la lista de rodofíceas continentales de la península Ibérica e Islas Baleares en Chapuis et al. (2014). CAN= Cantabria, CEUS= Costa de Euskadi, CGAL=Costa de Galicia, CCAD= Costa de Cadiz, CHUE= Costa de Huelva, GUA= Cuenca del Guadalquivir, JUC= Cuenca del Júcar, SEG= Cuenca del Segura.

Clase	Taxón	CAN	CEUS	CGAL	CCAD	CHUE	GUA	JUC	SEG	Referencias
Cyanidiophyceae	<i>Galdieria</i> sp.						▲			Moreira et al., 1994
	<i>Galdieria</i> sp.								▲	Aboal (en elaboración)
Florideophyceae	<i>Bostrychia scorpioides</i> (Hudson) Montagne		▲							Sauvageau, 1897
		▲								Miranda, 1931
				▲						Miranda, 1934
				▲						Ardre, 1957
		▲								Fischer-Piette & Seoane Camba, 1962
					▲					Seoane-Camba, 1965
		▲								Fernández & Niell, 1982
				▲						Pérez-Cirera, 1989
				▲						Granja et al., 1992
					▲					Flores-Moya et al., 1994
				▲						Bárbara et al., 1995
				▲						Bárbara & Cremades, 1996
					▲	▲				Conde et al., 1996
				▲						Calvo et al., 1999
				▲						Calvo & Bárbara, 2002
			▲							Gorostiaga et al., 2004
				▲						Bárbara et al., 2005
		▲								Martínez-Gil et al., 2007
					▲					Mercado et al., 2009
		▲								Cires Rodríguez & Cuesta Moliner, 2010
					▲					Hernández et al., 2010
	<i>Kumanoa mahlacensis</i> (Kumano & W. A. Bowden-Kerby) M. L. Vis, Necchi, W. B. Chiasson & Entwisle							▲		García-Fernández et al., 2014
Stylonematophyceae	<i>Chroothoece richteriana</i> Hansgirg								▲	Aboal et al., 2003a
									▲	Aboal et al., 2014

La riqueza de rodofíceas registrada en la península Ibérica es elevada cuando se compara con la de otros países europeos. La riqueza de la región Ibero-Balear en comparación con el centro y norte de Europa podría atribuirse a su localización geográfica ya que esta zona actuó como refugio de los taxones boreales del norte y centro de Europa y de los de las regiones tropicales de África (Chapuis et al., 2014). Es muy probable que el número de especies de rodófitos reconocidos en la península Ibérica varíe en los próximos años ya que los primeros resultados de las investigaciones moleculares indican una gran variabilidad en algunos géneros. Desde que se publicó la última recopilación bibliográfica se han recolectado *Kumanoa mahlacensis* (Kumano & W. A. Bowden-Kerby) M. L. Vis, Necchi, W. B. Chiasson & Entwisle que es nueva cita para la península Ibérica y Europa (Tabla 2) (García-Fernández et al., 2014) y *Galdieria* sp. que ha sido recogida por primera vez en cuevas en la península Ibérica (Aboal, en elaboración). *Galdieria* es un género característico de ambientes extremos citado anteriormente en la península en río Tinto a un pH muy ácido y a altas concentraciones de metales en disolución (Moreira et al., 1994), por lo que es necesario secuenciar el material recolectado en cuevas para confirmar si se trata de la misma especie. *Bostrychia scorpioides* (Hudson) Montagne recolectada en zonas de transición y costas del norte (Asturias, Cantabria, Galicia y País Vasco) y sur de España (Huelva y Cádiz) no fue incluida en el listado peninsular de rodofíceas (Tabla 2), así como tampoco se incluyeron las citas de *Chroothoe richteriana* Hansgirg para el sureste peninsular (Aboal et al., 2003a; Aboal et al., 2014).

2.2.3 Taxonomía y filogenia de rodofíceas.

Tradicionalmente la división Rhodophyta se dividía en dos clases Bangiophyceae y Florideophyceae (o se reconocía una clase con dos subclases). Sin embargo, diversos estudios filogenéticos han permitido comprobar que la clase Florideophyceae forma un grupo monofilético junto con el orden Bangiales de la clase Bangiophyceae (Saunders & Hommersand, 2004). Además, parece que el orden Porphyridiales, en un principio dentro de la clase Bangiophyceae, es un grupo parafilético y comprende al menos tres linajes independientes (West et al., 2005). Recientemente se ha propuesto un nuevo esquema taxonómico de algas rojas que reconoce dos nuevas subdivisiones: Cyanidiophytina y Rhodophytina y se han diferenciado hasta 7 clases (Tabla 3), 6 en Rhodophytina y 1 en Cyanidiophytina, siendo el orden Cyanidiales el que muestra la divergencia más temprana (Yoon et al., 2006).

Sheath, 1984	Cole & Sheath, 1990	Saunders & Hommersand, 2004	Yoon et al., 2006
Bangiophyceae Porphyridiales Bangiales Florideophyceae Batrachospermales Hildenbrandiales	Rhodophyceae Porphyridiales Compsopogonales Bangiales Achrochaetiales Hildenbrandiales Batrachospermales	Rhodophyta Bangiophyceae Bangiales Compsopogonophyceae Compsopogonales Florideophyceae Hildenbrandiales Achrochaetiales Balbianiales Batrachospermales Thoreales Rhodellophyceae Porphyridiales Stylonematales Cyanidiophyta Cyanidiophyceae Cyanidiales	Rhodophytina Bangiophyceae Bangiales Compsopogonophyceae Compsopogonales Florideophyceae Hildenbrandiales Achrochaetiales Balbianiales Batrachospermales Thoreales Porphyridiophyceae Porphyridiales Stylonematophyceae Stylonematales Cyanidiophytina Cyanidiophyceae Cyanidiales

Tabla 3. Comparación de distintas clasificaciones taxonómicas que incluyen algas rojas continentales (Sheath, 1984; Cole & Sheath, 1990; Saunders & Hommersand, 2004; Yoon et al., 2006).

De todos los órdenes de algas rojas el que comprende mayor número de especies ibéricas es el orden Batrachospermales, que incluye los géneros *Batrachospermum* y *Lemanea*. Entwisle et al. (2009) señalan la necesidad de realizar una revisión de este orden tras las modificaciones acontecidas en las últimas décadas (Tabla 4). El género *Batrachospermum* ha sufrido bastantes cambios (Entwisle et al., 2009): el subgénero *Acarposporophytum* ha sido considerado como sección, se han creado las secciones *Gonimopropagulum* y *Macrospora*, y las secciones *Contorta*, *Hybrida* y *Helminthoidea* han sido elevadas al nivel de género (*Kumanoa* para las dos primeras secciones y *Sheathia* para la tercera) (Salomaki et al., 2014). Los subgéneros *Lemanea* y *Paralemanea* del género *Lemanea* fueron elevados al nivel de género (Vis & Sheath, 1992). Las familias Lemaneaceae (géneros *Lemanea* y *Paralemanea*) y Psilosiphonaceae (género *Psilosiphon*) del orden Batrachospermales han sido incluidas ahora en la familia Batrachospermaceae (Entwisle et al., 2009).

Vis et al., 1998	Entwisle et al., 2009 Salomaki et al., 2014
Batrachospermales Lemaneaceae <i>Lemanea</i> <i>Paralemanea</i> Psilosiphonaceae <i>Psilosiphon</i> Batrachospermaceae <i>Batrachospermum</i> Sección <i>Aristata</i> Sección <i>Batrachospermum</i> Sección <i>Contorta</i> Sección <i>Hybrida</i> Sección <i>Setacea</i> Sección <i>Virescencia</i> Sección <i>Turfosa</i> <i>Nothocladus</i> <i>Tuomeya</i> <i>Sirodotia</i> *Thoreaceae <i>*Thorea</i>	Batrachospermales Batrachospermaceae (= Lemaneaceae, Psilosiphonaceae) <i>Batrachospermum</i> Sección <i>Acarposporophytum</i> Sección <i>Aristata</i> Sección <i>Batrachospermum</i> Sección <i>Gonimopropagulum</i> Sección <i>Macrospora</i> Sección <i>Setacea</i> Sección <i>Turfosa</i> Sección <i>Virescencia</i> <i>Kumanoa</i> <i>Lemanea</i> <i>Nothocladus</i> <i>Paralemanea</i> <i>Petrohua</i> <i>Psilosiphon</i> <i>Sheathia</i> <i>Sirodotia</i> <i>Tuomeya</i>

Tabla 4. Resumen de la actual clasificación taxonómica del orden Batrachospermales (Entwisle et al., 2009; Salomaki et al., 2014) en comparación con clasificaciones anteriores (*= Incertae Sedis) (Vis et al., 1998).

2.2.4 Conservación de macroalgas continentales

Aunque las herramientas diseñadas para evaluar la biodiversidad pueden utilizar como unidad tanto las especies como taxones infraespecíficos (UICN, 2012a), en general se tiende a utilizar como unidad la especie. Así, las áreas de elevada biodiversidad para la conservación se seleccionan en función de las especies presentes. Las listas rojas se crean a partir de especies en peligro y de los factores que las amenazan y las políticas de conservación se centran en la preservación de especies (Agapow et al., 2004). Sin embargo, a veces es necesario recurrir a la conservación de taxones infraespecíficos porque recogen una amplia variabilidad genética. A menudo las escasas diferencias morfológicas entre taxones dificultan su caracterización e identificación. La diversidad críptica constituye un problema evolutivo ya que pone de manifiesto linajes donde la especiación es reciente, o todavía incompleta, o linajes en los que la evolución morfológica queda en un segundo plano, o es mucho más lenta (Nosil et al, 2009). Bajo este contexto, la aplicación de análisis moleculares puede ayudar a resolver

problemas taxonómicos, evolutivos o biogeográficos. Las técnicas de biología molecular han contribuido significativamente a la comprensión de los procesos históricos y contemporáneos que afectan a los linajes y han sido las responsables de cambios taxonómicos con grandes implicaciones sistemáticas (Agapow et al., 2004).

Lista Roja	Categoría	Taxones	División
Región de Murcia	Extinto	<i>Batrachospermum atrum</i> (Hudson) Harvey	Rhodophyta
	Extinto	<i>Lamprothamnium papulosum</i> (Wallroth) J. Groves	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Nostoc flagelliforme</i> Berkeley & Curtis	Cyanophyta
	En Peligro Crítico	<i>Scytonematopsis crustacea</i> (Thuret ex Bornet & Flahault) Koválik & Komárek	Cyanophyta
	En Peligro Crítico	<i>Batrachospermum gelatinosum</i> (Linnaeus) De Candolle	Rhodophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chrootheca richteriana</i> Hansgirg	Rhodophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chrootheca rupestris</i> Hansgirg	Rhodophyta
	En Peligro Crítico	<i>Compsopogon coeruleus</i> (Balbis ex C. Agardh) Montagne	Rhodophyta
	En Peligro Crítico	<i>Kyliniella latvica</i> Skuja	Rhodophyta
	En Peligro Crítico	<i>Pithophora roettleri</i> (Roth) Wittrock	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Sphaeroplea soleirolii</i> (Duby) Montagne ex Kützinger	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Tetraspora gelatinosa</i> (Vaucher) Devaux	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Tetraspora lubrica</i> (Roth) C. Agardh	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Trentepohlia jolithus</i> (Linnaeus) Wallroth	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Ulva prolifera</i> O. F. Müller	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Ulva radiata</i> (J. Agardh) Hayden, Blomster, Maggs, P. C. Silva, M. J. Stanhope & J. R. Waaland	Chlorophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chara aspera</i> Willdenow	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chara braunii</i> C. C. Gmelin	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chara contraria</i> A. Braun ex Kützinger	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chara gymnophylla</i> A. Braun	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Chara polyacantha</i> A. Braun	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Oocardium stratum</i> Nägeli	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Tolypella hispanica</i> Nordstedt ex T. F. Allen	Streptophyta
	En Peligro Crítico	<i>Vaucheria borealis</i> Hirn	Heterokontophyta
	En Peligro Crítico	<i>Vaucheria schleicheri</i> De Wildeman	Heterokontophyta
	En Peligro Crítico	<i>Vaucheria undulata</i> Jao	Heterokontophyta
	Vulnerable	<i>Draparnaldia glomerata</i> (Vaucher) C. Agardh	Chlorophyta
	Vulnerable	<i>Gongrosira debaryana</i> Rabenhorst	Chlorophyta
	Vulnerable	<i>Hydrodictyon reticulatum</i> (Linnaeus) Bory	Chlorophyta
	Vulnerable	<i>Ulva compressa</i> Linnaeus	Chlorophyta
	Vulnerable	<i>Chara canescens</i> Loiseleur-Deslongschamps	Streptophyta
	Vulnerable	<i>Chara globularis</i> Thuiller	Streptophyta
	Vulnerable	<i>Chara hispida</i> Linnaeus	Streptophyta
	Vulnerable	<i>Nitella tenuissima</i> (Desvaux) Kützinger	Streptophyta
	Vulnerable	<i>Tolypella glomerata</i> (Desvaux) Leonhardi	Streptophyta
	Vulnerable	<i>Vaucheria sescuplicaria</i> T. A. Christensen	Heterokontophyta
	Vulnerable	<i>Vaucheria sessilis</i> (Vaucher) De Candolle	Heterokontophyta
	Vulnerable	<i>Vaucheria synandra</i> Woronin	Heterokontophyta
	Vulnerable	<i>Vaucheria terrestris</i> (Vaucher) De Candolle	Heterokontophyta
	Vulnerable	<i>Vaucheria velutina</i> C. Agardh	Heterokontophyta

Tabla 5. Lista roja de macroalgas amenazadas de la Región de Murcia (García-Fernández et al., 2010).

Introducción general

El conocimiento detallado de la distribución de los taxones ha servido de base para la elaboración de listas rojas de algas. Sólo unos pocos países europeos han elaborado listas rojas de algas continentales. En Alemania se ha elaborado una lista roja de flora que contiene plantas vasculares, hongos, líquenes, briófitos, algas continentales y marinas (Ludwig & Schnittler, 1996). En Finlandia (Rassi et al., 2001), en Polonia (Siemińska, 2006) y en Bulgaria (Temniskova et al., 2008) las listas rojas incluyen tanto algas continentales como marinas. Hungría ha publicado un libro rojo de algas continentales para las áreas protegidas del país (Németh, 2005). Los países de los Balcanes han elaborado una lista roja específica de carófitos amenazados (Blaženčić et al., 2006). En Ucrania se ha publicado una lista del orden Charales (Palamar-Mordvintseva, 2004). En el Reino Unido se ha confeccionado una lista roja de las desmidiáceas (Palmer et al., 1997; Brodie et al., 2007).

Lista roja	Categoría	Taxones
ALEMANIA	En Peligro Crítico	<i>Balbiania investiens</i> (Lenormand ex Kützinger) Sirodot
	En Peligro	<i>Bangia atropurpurea</i> (Roth) C. Agardh
	En Peligro	<i>Batrachospermum confusum</i> (Bory) Hassall
	En Peligro	<i>Batrachospermum helminthosum</i> Bory
	En Peligro	<i>Batrachospermum turfosum</i> Bory
	En Peligro	<i>Paralemanea annulata</i> (Kützinger) M. L. Vis & R. G. Sheath
	En Peligro	<i>Porphyridium purpureum</i> (Bory) Drew & Ross
	En Peligro	<i>Sheathia arcuata</i> (Kyllin) Salomaki & M. L. Vis
	En Peligro	<i>Sheathia boryana</i> (Sirodot) Salomaki & M. L. Vis
	Vulnerable	<i>Audouinella hermannii</i> (Roth) Duby
	Vulnerable	<i>Batrachospermum atrum</i> (Hudson) Harvey
	Vulnerable	<i>Batrachospermum confusum</i> f. <i>anatinum</i> (Sirodot) S. A. Stewart & M. L. Vis
	Vulnerable	<i>Batrachospermum gelatinosum</i> (Linnaeus) De Candolle
	Vulnerable	<i>Hildenbrandia rivularis</i> (Liebmann) J. Agardh
	Vulnerable	<i>Lemanea fluviatilis</i> (Linnaeus) C. Agardh
	Vulnerable	<i>Paralemanea catenata</i> (Kützinger) M. L. Vis & R. G. Sheath
	Vulnerable	<i>Thorea hispida</i> (Thore) Desvaux
BULGARIA	En Peligro Crítico	<i>Thorea hispida</i> (Thore) Desvaux
	En Peligro	<i>Batrachospermum turfosum</i> Bory
	En Peligro	<i>Lemanea parvula</i> Sirodot
	En Peligro	<i>Lemanea sudetica</i> Kützinger
	En Peligro	<i>Sheathia boryana</i> (Sirodot) Salomaki & M. L. Vis
	Vulnerable	<i>Lemanea mamillosa</i> Kützinger
	Vulnerable	<i>Paralemanea annulata</i> (Kützinger) M. L. Vis & R. G. Sheath
	Vulnerable	<i>Paralemanea catenata</i> (Kützinger) M. L. Vis & R. G. Sheath
POLONIA	Vulnerable	<i>Audouinella chalybaea</i> (Roth) Bory
	Vulnerable	<i>Audouinella hermannii</i> (Roth) Duby
	Vulnerable	<i>Audouinella pygmaea</i> (Kützinger) Weber-van Bosse
	Vulnerable	<i>Batrachospermum gelatinosum</i> (Linnaeus) De Candolle
	Vulnerable	<i>Batrachospermum skujae</i> Geitler
	Vulnerable	<i>Hildenbrandia rivularis</i> (Liebmann) J. Agardh
	Vulnerable	<i>Lemanea fluviatilis</i> (Linnaeus) C. Agardh
	Vulnerable	<i>Sheathia boryana</i> (Sirodot) Salomaki & M. L. Vis
	Vulnerable	<i>Sheathia confusa</i> (Bory) Salomaki & M. L. Vis

Tabla 6. Rodofíceas amenazadas incluidas en las listas rojas de Alemania, Bulgaria y Polonia aceptadas taxonómicamente en la actualidad (Ludwig & Schnittler, 1996; Siemińska, 2006; Temniskova et al., 2008).

En España se han elaborado listas rojas de algas marinas en Galicia (Bárbara et al., 2006) y en las Islas Canarias (Ley 4/2010, 2010). El Catálogo Español de Especies Amenazadas no incluye algas pero el Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial contiene 9 algas marinas pertenecientes a la división Rhodophyta, 5 a la Heterokontophyta y 1 a la Chlorophyta (R.D. 139/2011, 2011). Hasta la fecha sólo se ha elaborado una lista roja de algas continentales provisional para la Región de Murcia (García-Fernández et al., 2010) siguiendo las categorías y criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN, 2012a) y las directrices recomendadas a nivel regional (UICN, 2012b). Partiendo de una base de datos de 833 taxones de algas continentales de los que 259 eran macroalgas, se consideraron 2 taxones como extintos a nivel regional (RE), 25 en peligro crítico (CR), 14 vulnerables (VU) y 86 con datos insuficientes (DD) (Tabla 5). En proporción a la riqueza de taxones, la división Rhodophyta es la más amenazada de la región puesto que de nueve taxones citados cinco están amenazados y uno extinto a nivel regional. El peligro que se cierne sobre este grupo taxonómico en esta región es el mismo que afecta a los sistemas acuáticos de aguas cristalinas en los que se desarrollan. Las rodofíceas son un grupo amenazado también a nivel europeo (Kwandrans & Eloranta, 2010) ya que han sido incluidas en las listas rojas de varios países (Tabla 6): 17 taxones en Alemania (Ludwig & Schnittler, 1996), 10 taxones en Bulgaria (Temniskova et al., 2008) y 11 taxones en Polonia (Siemińska, 2006). En Finlandia la lista roja únicamente considera 3 taxones en la categoría de casi amenazados (NT) (Rassi et al., 2001). Por otra parte, el conocimiento de la distribución territorial de las especies y de su rareza permite seleccionar áreas de elevada diversidad como herramienta esencial para su conservación y de los ambientes donde habitan.

La organización PlantLife International, cuyo objetivo es el desarrollo de una estrategia global para la conservación de las plantas, estableció una metodología para seleccionar Áreas Importantes para Plantas (AIPs) a nivel europeo y global (Anderson, 2002). Un Área Importante para Plantas se define como un lugar natural o seminatural que alberga una riqueza botánica excepcional, y/o apoyado por una reseñable concurrencia de taxones raros, amenazados, y/o endémicos, y/o vegetación de elevado interés botánico. Esta estrategia contempla la identificación de Áreas Importantes para algas marinas y continentales a escala europea y utiliza criterios difíciles de aplicar de forma regional, al señalar la relevancia de áreas con especies o tipos de hábitats de interés europeo o global. La mayoría de trabajos desarrollados en Europa a partir de esta estrategia se centran en la identificación de Áreas Importantes para Plantas y sólo se conoce la aplicación de esta metodología para algas continentales y marinas en el Reino Unido (Brodie et al., 2007). Sin embargo, las Áreas Importantes para algas continentales en el Reino Unido han sido elaboradas únicamente a partir de datos de la familia Desmidiaceae (orden Desmidiales, división Streptophyta) principalmente debido a la larga serie histórica de estudios de esta familia en este país.

Aplicar criterios como la riqueza, la rareza o la vulnerabilidad de los taxones permite seleccionar áreas importantes o prioritarias para la conservación de algas continentales (García-Fernández & Aboal, 2011), de forma similar a como se ha hecho con macroinvertebrados acuáticos como los coleópteros (Sánchez-Fernández et al., 2004; Abellán et al., 2005). Las áreas seleccionadas en estos estudios suelen coincidir con las menos perturbadas y suelen solaparse con zonas protegidas, aunque a veces algunas áreas que contienen taxones amenazados no están incluidas en ninguna categoría de protección. Con el objetivo de garantizar la conservación de los taxones de algas amenazados sería recomendable que las diferentes administraciones revisaran la designación de áreas protegidas, y/o delimitaran reservas o microrreservas para preservar taxones algales. En los trabajos de conservación la escala espacial es un factor relevante. A menudo, se le da más importancia a la escala global que

a la regional, pero una lista roja regional es imprescindible para guiar y evaluar las prioridades de conservación o la selección de áreas prioritarias (UICN, 2012b).

2.3 Evaluación de la calidad ecológica acuática mediante el uso de macroalgas

2.3.1 Las macroalgas como indicadoras de la calidad acuática

Las macroalgas permiten valorar de forma bastante precisa las modificaciones en los ambientes acuáticos porque poseen un elevado número de especies con diferente sensibilidad a un amplio rango de condiciones ambientales y responden de manera sensible a cambios en el pH, conductividad, nutrientes, oxígeno disuelto, velocidad de la corriente, presencia de compuestos tóxicos como pesticidas y otros contaminantes (Zanini-Branco & Necchi, 1996, 1998; Pan et al., 2000; Nezlin et al., 2009; Rybak et al., 2013; Schneider et al., 2013).

Las macroalgas, a diferencia de las diatomeas, pueden captar y acumular nutrientes para lograr un crecimiento lento que les permite alcanzar grandes dimensiones (Whitton, 1984a; Stevenson et al., 2004). El ciclo de vida largo, y a veces complejo, permite conocer la respuesta a los cambios ambientales a largo plazo. Algunos autores sostienen que para una valoración precisa del estado ecológico de los cursos de agua mediante algas bentónicas se requiere el análisis conjunto tanto de las diatomeas como de las macroalgas bentónicas puesto que tanto unas como otras influyen en la estructura y funcionamiento del ecosistema (Schneider et al., 2013).

2.3.2 Biomonitorio de macroalgas

El uso de las macroalgas en biomonitorio empezó hace varias décadas en diversos países europeos cuando la perspectiva algológica en este campo estaba lejos de ser mayoritaria. Whitton & Dalpra (1968) y Holmes & Whitton (1981) estudiaron la relación de las variables ambientales y la composición del fitobentos en varios ríos del Reino Unido. Los trabajos de Whitton et al. (1981) y Whitton (1984) en el campo de la bioacumulación de metales pesados en algas han sido numerosos en ríos de Europa, sobre todo del Reino Unido. Rott & Pfister (1988) analizaron las comunidades algales epilíticas en ríos y lagos de los Alpes y su relación con las influencias humanas.

En Noruega, Lindstrøm (1991) identificó problemas de contaminación y acidificación en ríos con un método semicuantitativo basado en algas epilíticas. Whitton & Kelly (1995) valoraron distintos criterios para evaluar la calidad del agua en ríos del oeste de Europa mediante briófitos, angiospermas, macroalgas y diatomeas. En Austria, Pipp & Rott (1996) compararon la capacidad de macro y microalgas para catalogar el estado de los ríos mediante índices sapróbicos y Rott et al. (1997) elaboraron un catálogo con el valor indicador de las especies del fitobentos que se desarrollan en los ríos de Austria. Eloranta & Kwandrans (1996a, b) se centraron más en la ecología y distribución de rodofíceas en ríos de Finlandia y propusieron valores indicadores de las especies para ríos (Eloranta & Kwandrans, 2004). Eloranta (2004) recoge los resultados de las investigaciones ecológicas y limnológicas en aguas continentales y costeras de Finlandia desde la primera mitad del siglo XX hasta la actualidad que incluyen estudios de fitoplancton, fitobentos y zoobentos (Eloranta, 2004).

En los últimos años, con la implantación de la Directiva Marco del Agua, se ha hecho un esfuerzo mayor por catalogar el estado ambiental de los cuerpos de agua continentales europeos. Ledger et al. (2008) investigaron la influencia de las perturbaciones derivadas de la dinámica fluvial en las comunidades algales

bentónicas de un río del Reino Unido en condiciones de mesocosmos. En Noruega, Schneider & Lindstrøm (2011) elaboraron un índice para evaluar el grado de eutrofización de ríos basado en algas bentónicas excluyendo diatomeas, y Chapuis et al., (2012) sugirieron el análisis de las especies incluidas en la familia Lemnaceae (Rhodophyta) para su uso como indicadoras potenciales de la calidad del agua de la Cuenca del río Duero.

Actualmente el principal desafío en el campo del monitoreo mediante macroalgas podría ser la búsqueda de nuevas herramientas o biomarcadores apropiados para descubrir las respuestas de las macroalgas a componentes tóxicos de origen humano o ambiental. Aunque por lo general se asume que en concentraciones muy bajas no afectan a las comunidades, no existen prácticamente estudios experimentales sobre ello, y tampoco se conoce su efecto sobre la competencia interespecífica (Rott & Schneider, 2014).

2.3.3 Macroalgas en la implantación de la Directiva Marco del Agua (DMA)

La aprobación de la DMA supuso el desarrollo o la adaptación de herramientas para la evaluación de la calidad ambiental a los sistemas continentales españoles. Este desarrollo debería haberse basado en un buen conocimiento de la taxonomía de las especies y sus rangos ecológicos, y en el desarrollo de metodologías de muestreo específicas que permitieran la elaboración de índices biológicos que pudieran aplicarse con éxito al diagnóstico de las distintas masas de agua, ya sea a escala regional o general (Sabater, 2005). Los organismos con competencias en calidad de agua han urgido a la comunidad científica a realizar un esfuerzo por elaborar y aplicar protocolos y metodologías para poder evaluar el estado de las masas de agua mediante la utilización de macrófitos acuáticos (macroalgas, briófitos y cormófitos) (Barrios Barcía & Puig Infante, 2012; MAGRAM, 2013). Aunque las bases de datos actuales son muy limitadas y ofrecen enormes diferencias entre cuencas hidrográficas, es esperable que en los próximos años se enriquezcan con los propios datos obtenidos en las campañas de muestreo de las redes de calidad.

A pesar de que en muchos casos se utilizan métricas elaboradas en otros países, también se han propuesto índices de macrófitos a diferentes escalas regionales: para la Cuenca del Segura (IM) (Suárez et al., 2005); para humedales, lagos de montaña y cuencas interiores de Cataluña (IVAM-FBL) (Gutiérrez et al., 2001; Agència Catalana de l'Aigua, 2003; Moreno et al., 2008), para ríos de Castilla la Mancha (IVAM) (Moreno et al., 2006) y para lagos y lagunas de la cuenca del Duero (Flor-Arnau et al., 2013), pero se han hecho muy pocos esfuerzos por encontrar herramientas de diagnóstico de uso más general, que permitan obtener datos comparables y globales.

En el resto de Europa se ha avanzado más rápidamente en la elaboración de métricas y en la verificación de su viabilidad, ya que se partía de un mejor conocimiento florístico-ecológico. Los índices de macrófitos más utilizados en los países europeos son el índice de eutrofización para ríos italianos (E/P-I) (Dell'Uomo, 1991); el "Mean Trophic Rank" para evaluar el nivel trófico de los ríos de Inglaterra (MTR) (Holmes, 1995); el índice de macrófitos para lagos pre-alpinos de Alemania (IM) (Seele et al., 2000); el índice biológico de macrófitos en ríos de Francia (IBMR) (AFNOR, 2003) y el índice trófico de macrófitos acuáticos para ríos de Alemania (TIM) (Schneider & Melzer, 2003).

2.3.4 El uso de las macroalgas como bioindicadoras de las aguas de transición

La DMA propone el uso de la abundancia y composición del fitoplancton, macroalgas, angiospermas, fauna bentónica invertebrada y fauna ictiológica para evaluar la calidad ecológica de las aguas de transición

(Directiva 2000/60/EC, 2000). En los últimos años están aumentando los estudios que incluyen macroalgas para biomonitorio de estos sistemas de transición. Orfanidis et al. (2001) publicaron un índice de evaluación ecológica en aguas de transición y costeras del norte de Grecia basado en la composición, abundancia y cambios en los patrones de distribución de la comunidad de macrófitos bentónicos de agua salobre y marinos. Żbikowski et al. (2007) compararon la efectividad de los clorófitos *Cladophora* sp. y *Ulva* sp. como posibles bioindicadores de elementos químicos en una laguna costera del mar Báltico analizando la presencia y cobertura de estas macroalgas y la concentración de elementos químicos. Micheletti et al. (2011) evaluaron la calidad ambiental de los cuerpos de agua de la laguna de Venecia aplicando una metodología que integra: indicadores biológicos como son la abundancia de macrófitos; físico-químicos como la concentración de nutrientes, pH y temperatura, y ecotoxicológicos como la presencia de bacterias. A pesar de que el uso de macroalgas para el monitoreo de los sistemas de transición cada vez es mayor, es muy escaso en los humedales en que los aportes de agua dulce son relevantes, y albergan una mayor riqueza de flora continental.

2.4. Objetivos

En esta tesis se combinan disciplinas como la taxonomía, la ecología y la filogenia molecular para ampliar el conocimiento de las comunidades de macroalgas en sistemas de transición y proporcionar datos relevantes para la conservación de su biodiversidad, así como para evaluar su capacidad como bioindicadoras del ecosistema, centrándose en el estudio del marjal de Pego-Oliva. Como objetivos generales se plantean:

- Analizar cuáles son los principales factores que afectan a la composición y distribución de las especies de macroalgas del marjal de Pego-Oliva.
- Estudiar las comunidades de macroalgas de los diferentes cuerpos de agua del marjal de Pego-Oliva desde una perspectiva interdisciplinar.

Los objetivos específicos de esta tesis son:

- Analizar los rangos ecológicos y el valor indicador de las especies de macroalgas del marjal de Pego-Oliva.
- Comprobar la viabilidad del uso de las macroalgas para evaluar la calidad ecológica de las aguas en marjales mediterráneos.
- Realizar un estudio taxonómico y filogenético de las principales especies de macroalgas, en especial de las rodofíceas.
- Valorar el interés en conservación del marjal en un contexto europeo y mundial.

2.5. Área de estudio: el marjal de Pego-Oliva

2.5.1 Características generales y localización

El marjal de Pego-Oliva es un humedal del litoral mediterráneo español de gran valor desde el punto de vista de la conservación de la biodiversidad pues constituye una zona de paso y/o de nidificación de un gran número de aves migratorias, alberga hábitats importantes para peces en peligro de extinción y la flora y la fauna

son de gran importancia por su grado de rareza y endemidad (Mataeche, 1998). Su estatus ha sido reconocido en tratados internacionales y directivas europeas (Tabla 7).

Parque Natural	Ley 11/1994, de 27 de diciembre, de Espacios Naturales de la Comunidad Valenciana (Ley 11/1994, 1995).
Catálogo de Zonas Húmedas	Incluido en el Catálogo de Zonas Húmedas de la Comunidad Valenciana (Acuerdo de 10 de septiembre de 2002, 2002).
PORN	Decreto 280/2004, de 17 de diciembre, del Gobierno Valenciano, por el que se aprobó el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales (PORN) del Parque Natural del Marjal de Pego-Oliva (Decreto 280/2004, 2004).
LIC	Lugar de Importancia Comunitaria (LIC), con la denominación “Marjal de Pego-Oliva” (código ES0000147), en aplicación de la Directiva Hábitats 92/43/CEE (Decisión de la Comisión de 19 de julio de 2006, 2006).
ZEPA	Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) en aplicación de la Directiva 79/409/CEE del Consejo, de 2 de abril de 1979, relativa a la Conservación de las Aves Silvestres (R. D. 928/1995, 1995).
Convenio Ramsar	Lista del Convenio Ramsar de Humedales de Importancia Internacional (Resolución de 4 de noviembre de 1994, 1994).

Tabla 7. Figuras de protección del marjal de Pego-Oliva.

Los primeros datos sobre las comunidades de algas de la zona se publicaron en la década de los ochenta, dentro del contexto de un proyecto que abordó el estudio de las lagunas litorales mediterráneas españolas, desde Gerona hasta Málaga (Tomás et al., 1980; Margalef-Mir, 1981; Tomás, 1981, 1988). Posteriormente otros autores (Carretero, 1990; Cantoral Uriza & Aboal, 2001, 2010; Egidos & Aboal, 2003) ampliaron el conocimiento de su flora y su biodiversidad vegetal.

El marjal de Pego-Oliva ocupa una superficie de 14 Km² y se encuentra situado a una altitud de 10 m sobre el nivel del mar, entre las localidades de Pego y Oliva pertenecientes a las provincias de Alicante y Valencia, respectivamente. Es un área deprimida rodeada por las elevaciones montañosas que constituyen la Sierra de Mustalla al norte con una altitud de 359 m, la Sierra de Segaria al sur con 506 m de altitud y abierto al Mediterráneo por el este (Durán et al., 2005). Por toda su extensión se desarrollan carrizales y arrozales atravesados por una red de ríos, acequias y canales (azarbes), que conforman un espacio natural de gran riqueza y productividad.

2.5.2 Geología y geomorfología

El marjal se asienta sobre materiales cuaternarios de naturaleza detrítica, con suelos constituidos fundamentalmente por materiales sedimentarios con abundante contenido en materia orgánica (Urios et al., 1993). Los materiales geológicos más antiguos son calizas y dolomías, que conforman las vertientes de las montañas que rodean la cuenca, mientras que en el marjal predominan las margas y los sedimentos fluviales (Viñals et al., 1990).

El marjal se formó durante el Holoceno, hace unos 12.000 años, por la acreción de una flecha litoral que encerró una antigua bahía subsidente que al aislarse del mar se colmató por la acumulación de sedimentos de origen aluvial (Durán et al., 2005). La laguna fue rellenándose por una masa heterogénea de detritus y fangos, a la que finalmente se superpuso una formación turbosa y una capa de suelo vegetal (COACV, 1984).

Ocasionalmente, se intercalaron depósitos de arena procedentes de la flecha litoral aportados durante épocas de temporal. Actualmente, el marjal está separado del mar por una barra arenosa de 9 km de longitud y 1,6 km de anchura.

2.5.3 Hidrología

Desde el punto de vista del origen de sus recursos hídricos, el marjal se cataloga como humedal litoral valenciano dependiente de las aguas subterráneas, tanto en lo que se refiere a su origen y formación como a su mantenimiento y conservación. Aunque tiene relación hídrica con el acuífero detrítico sobre el que se asienta, la mayor parte de sus recursos proceden de los ríos de régimen permanente Bullent y Racons. El caudal de estos ríos se genera a partir de las descargas de los acuíferos kársticos próximos que dependen directamente de las precipitaciones que son elevadas e irregulares, por lo que este paraje natural presenta una total dependencia de los recursos hídricos subterráneos. Los dos acuíferos kársticos asociados aportan el agua de manera difusa y puntual: Albuerca-Gallinera-Mustalla y Almudaina-Alfaro-Segaria. En concreto, el río Bullent recibe recursos del primero a través de los manantiales de las Aguas, Solinar y Font Salada; mientras que el Racons los recibe del manantial de la Bassa Sineu que drena al segundo (Ballesteros Navarro et al., 2009). Por otro lado, estos mismos ríos sirven, a su vez, en su tramo final como mecanismo de drenaje del marjal hacia el mar.

Distintos factores naturales y humanos han modificado notablemente el funcionamiento hidrológico de todo el sistema. Así, por ejemplo, la desecación y drenaje de algunas fincas agrícolas mantienen el nivel piezométrico por debajo del nivel del mar, lo que se traduce en procesos de intrusión marina en el acuífero subyacente (Ballesteros et al., 2007). Por otra parte, entre los factores naturales que contribuyen a la complejidad del sistema, destaca la existencia de aguas de salinidad variable en las surgencias que drenan los acuíferos kársticos asociados con una temperatura y mineralización creciente en dirección a la costa.

2.5.4 Climatología

La zona pertenece al clima mediterráneo con una temperatura media anual de 18 °C, veranos cálidos con temperatura media de 26,3 °C e inviernos suaves con 12,7 °C de media. Se inscribe dentro del piso termomediterráneo con ombroclima subhúmedo (Rivas-Martínez, 1987). Las precipitaciones suelen ser torrenciales con una media anual de 905 mm, con máximos otoñales y primaverales y una acusada sequía estival (Viñals et al., 1990).

Según los datos obtenidos en la estación meteorológica más cercana al marjal (Pego Convento) y con disposición de datos desde 1982 hasta 2013, la precipitación media anual varió dentro del rango 345-1.885 mm y la temperatura media anual desde 14,8 a 20,1 °C (Figura 1). En general, la precipitación media anual varió de un año a otro, con secuencias de años más lluviosos seguidos de otros de años más secos. El año más lluvioso del periodo 1982-2013 fue 1989 con una precipitación media anual de 1.885 mm y el más seco 1983 con 345 mm. En el otoño de 2007 se alcanzaron los valores más altos de precipitación de los últimos 20 años: 1.701 mm de precipitación media anual y más de 400 L/m² en unas cuantas horas, que elevaron el nivel de los ríos varios metros anegando gran parte del marjal. La temperatura media anual ha permanecido bastante constante con los años (18 °C), exceptuando 2013 año en el que bajó hasta los 14,8 °C.

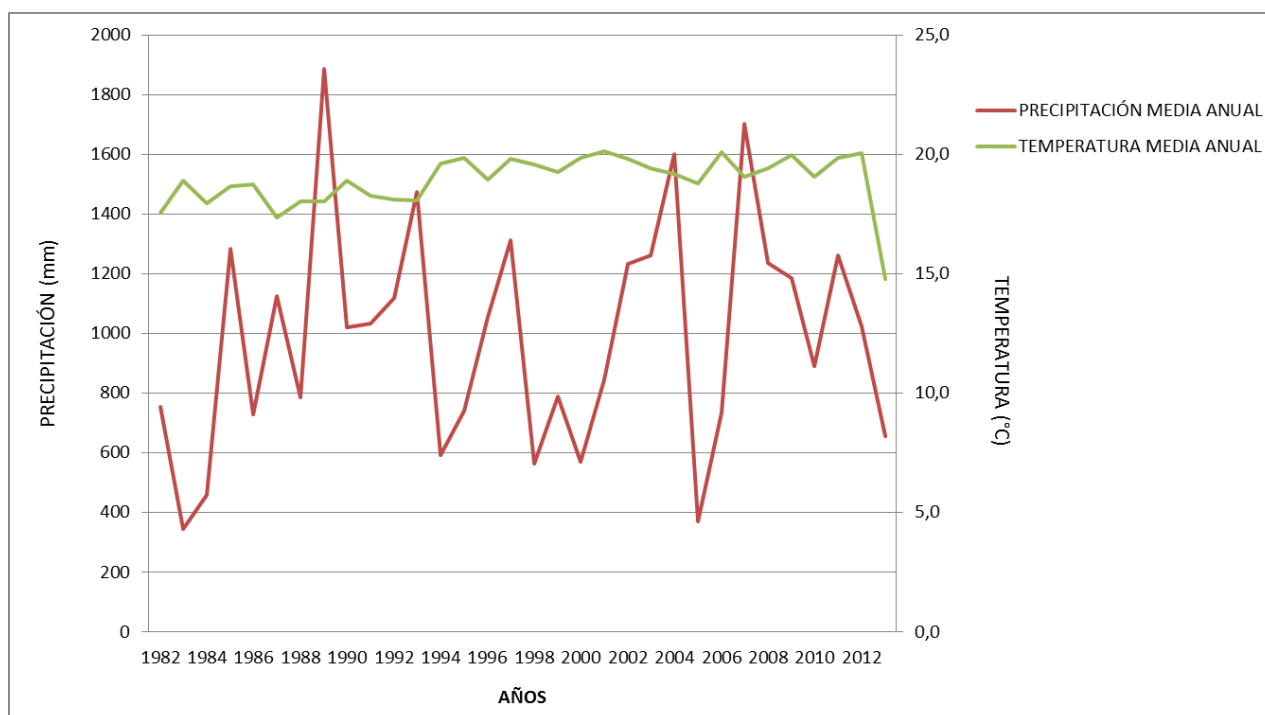


Figura 1. Precipitación y temperatura media anual de la estación meteorológica Pego Convento desde 1982 hasta 2013 (Datos proporcionados por la Agencia Estatal de Meteorología).

2.5.5 Formaciones vegetales

La diversidad de ecosistemas acuáticos y terrestres del marjal junto a la existencia de áreas dedicadas al cultivo de arroz y al pastoreo controlado, son responsables de una riqueza florística y unas formaciones vegetales de alto valor corológico con especies endémicas o amenazadas (Viñals et al., 1990) entre las que se encuentran *Narcissus perezlarae* Font Quer, *Nymphaea alba* L., *Kosteletzkya pentacarpa* (L.) Ledeb. y *Orchis conica* Willd. Se han catalogado siete tipos principales de formaciones vegetales cuyas especies características se detallan a continuación (COACV, 1984):

1. Praderías sumergidas o de fondo, en los cienos del fondo de aguas dulces o con un grado mínimo de salinidad: *Ceratophyllum demersum* L., *Myriophyllum verticillatum* L., *Utricularia vulgaris* L. y *Chara* sp.
2. Vegetación flotante, sobre aguas no muy profundas y estancadas: *Iris pseudacorus* L., *Nymphaea alba*, *Potamogeton densus* L., *P. coloratus* Hornem., *P. nodosus* Poiret in Lam, *P. pectinatus* L., *P. fluitans* Roth y *Lemna minor* L.
3. Vegetación palustre de grandes zonas muy encharcadas, o de aguas algo tranquilas de cierta profundidad: *Arundo donax* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel, *P. australis* ssp. *altissima* (Bentham) W. D. Clayton, *Typha angustifolia* L., *T. latifolia* L.
4. Vegetación palustre de zonas ligeramente encharcadas: *Juncus maritimus* Lam., *Schoenoplectus lacustris* (L.) Palla y *Cladium mariscus* (L.) Pohl.
5. Vegetación de las pequeñas charcas: *Rorippa nasturtium-aquaticum* (L.) Hayek, Sched y *Apium nodiflorum* (L.) Lag.
6. Vegetación de zonas muy húmedas no encharcadas que circundan las comunidades anteriores: *Scirpoides holoschoenus* (L.) Soják, *Molinia caerulea* (L.) Moench, *Sonchus maritimus* subsp. *aquatilis* (Pourret) Nyman,

Introducción general

Pulicaria dysenterica (L.) Bernh., *Mentha suaveolens* Ehrh., *Plantago major* L., *Cynanchum acutum* L. y *Calystegia sepium* (L.) R. Br.

7. Vegetación de zonas desecadas formadas por arcillas y turberas algo salobres situadas en los márgenes del marjal donde habitan algunas especies halófilas: *Arundo donax*, *Inula crithmoides* L., *Sonchus maritimus* L., *S. maritimus* subsp. *aquaticus*, *S. crassifolius* Pourr. ex Willd., *Festuca arundinacea* Schreber, *Phragmites australis*, *P. australis* ssp. *altissima*, *Limonium ovalifolium* (Poiret) O. Kuntze y *Hordeum marinum* Hudson.

Recientemente, se detectó la presencia de dos especies exóticas invasoras que están siendo objeto de seguimiento y control: *Egeria densa* Planchon y *Ludwigia grandiflora* (Michx.) Greuter & Burdet (Figura 2). Ambas se encuentran incluidas en el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras (R.D. 630/2013, 2013).

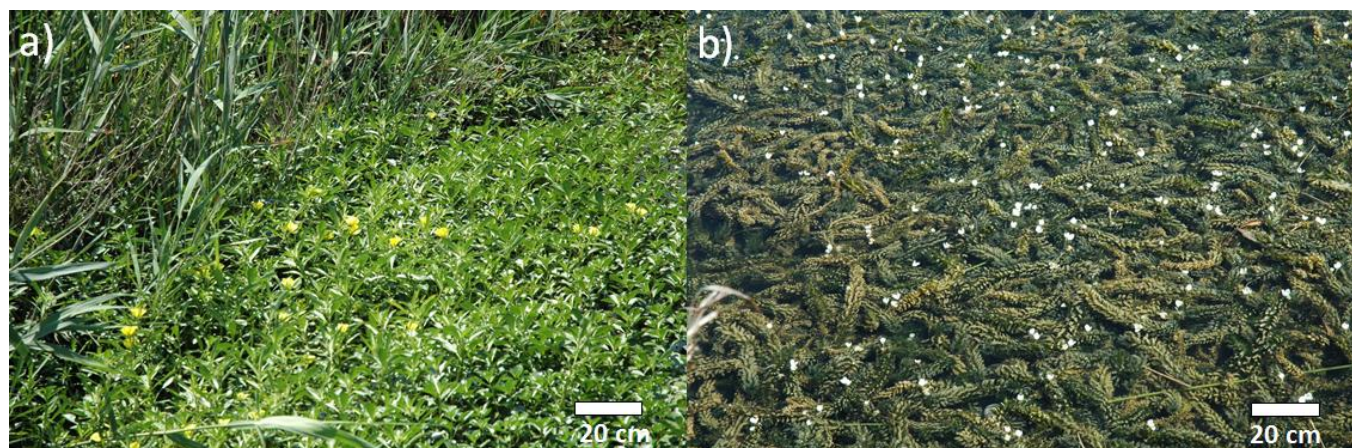


Figura 2. *Ludwigia grandiflora* (a) y *Egeria densa* (b) formando grandes masas en los azarbes.

2.5.6 Fauna

Debido a la desaparición de gran parte de las zonas húmedas que ha sufrido el litoral mediterráneo en los últimos siglos, el marjal alberga un buen número de especies amenazadas (Tabla 8) (Urios et al., 1993).

Reptiles y Anfibios	Peces	Aves
<i>Emys orbicularis</i> (Linnaeus, 1758) (Vulnerable)	<i>Aphanius iberus</i> (Valenciennes in Cuvier y Valenciennes, 1846) (En peligro de extinción)	<i>Ardea purpurea</i> (Linnaeus, 1766) (Vulnerable)
	<i>Valencia hispanica</i> (Valenciennes, 1846) (En peligro de extinción)	<i>Ardeola ralloides</i> (Scopoli, 1769) (En peligro de extinción)
		<i>Botaurus stellaris</i> (Linnaeus, 1758) (En peligro de extinción)
		<i>Chlidonias hybrida</i> (Pallas, 1811) (Vulnerable)
		<i>Glareola pratincola</i> (Linnaeus, 1766) (Vulnerable)
		<i>Marmaronetta angustirostris</i> (Menetries, 1832) (En peligro de extinción)

Tabla 8. Especies amenazadas de la fauna del marjal de Pego-Oliva según el Catálogo Valenciano de Especies Amenazadas de Fauna y el Catálogo Español de Especies Amenazadas (Decreto 32/2004, 2004; R.D. 139/2011, 2011).

2.5.7 Estaciones de muestreo

Se seleccionaron 23 puntos de muestreo: 5 puntos para cada uno de los dos ríos estudiados, 5 surgencias de agua dulce, 2 surgencias de agua salada, 4 azarbes y 2 arrozales (Tabla 9, Figuras 3 y 4). Se llevaron a cabo 4 muestreos intensivos estacionales por año y varios muestreos extensivos para tratar de abarcar la heterogeneidad de la zona durante el periodo 2008-2010.

Localidades	Código	Nombre	Geolocalización
Ullales	U1	Ullal 1: Próximo a chopera	38° 52' 52" N 0° 05' 49" O
	U2	Ullal 2: Cerca del río Bullent	38° 52' 46" N 0° 05' 48" O
	U3	Ullal 3: Ullal Bullent	38° 52' 12" N 0° 04' 21" O
	U4	Ullal 4: Ullal del carro	38° 52' 44" N 0° 05' 32" O
	U5	Ullal 5: Port d'aigües	38° 52' 27" N 0° 05' 16" O
Nacimientos de agua salada	FS	Font Salada	38° 53' 16" N 0° 04' 48" O
	BS	Bassa Sineu	38° 51' 13" N 0° 03' 24" O
Azarbes	AN	Azarbe Nenúfares	38° 52' 16" N 0° 04' 58" O
	AV	Azarbe Viveros	38° 52' 26" N 0° 04' 44" O
	AM	Azarbe Moreras	38° 52' 25" N 0° 04' 37" O
	AC	Azarbe Carretera	38° 52' 16" N 0° 04' 25" O
Río Racons	R1	Río Racons 1: Nacimiento	38° 51' 38" N 0° 04' 29" O
	R2	Río Racons 2: Tramo medio	38° 51' 25" N 0° 04' 09" O
	R3	Río Racons 3: Tramo medio	38° 51' 49" N 0° 03' 13" O
	R4	Río Racons 4: Cerca desembocadura	38° 52' 40" N 0° 01' 55" O
	R5	Río Racons 5: Desembocadura	38° 53' 05" N 0° 02' 15" O
Río Bullent	B1	Río Bullent 1: Nacimiento	38° 52' 16" N 0° 05' 33" O
	B2	Río Bullent 2: Tramo medio. Puente	38° 52' 47" N 0° 05' 21" O
	B3	Río Bullent 3: Tramo medio. Calapatar	38° 52' 58" N 0° 04' 41" O
	B4	Río Bullent 4: Cerca desembocadura	38° 53' 46" N 0° 04' 33" O
	B5	Río Bullent 5: Desembocadura	38° 54' 13" N 0° 03' 51" O
Arrozales	AE	Arrozal Ecológico	38° 52' 33" N 0° 04' 34" O
	AT	Arrozal Tradicional	38° 52' 26" N 0° 04' 29" O

Tabla 9. Geolocalización de los puntos de muestreo intensivo en el marjal de Pego-Oliva.



Figura 3. Localización del área de estudio y puntos de muestreo en el marjal de Pegó-Oliva (■: Ullales, ★: Nacimientos de agua salada, ●: Río Bullent, ◆: Río Racons, ▲: Azarbes, +: Arrozales).

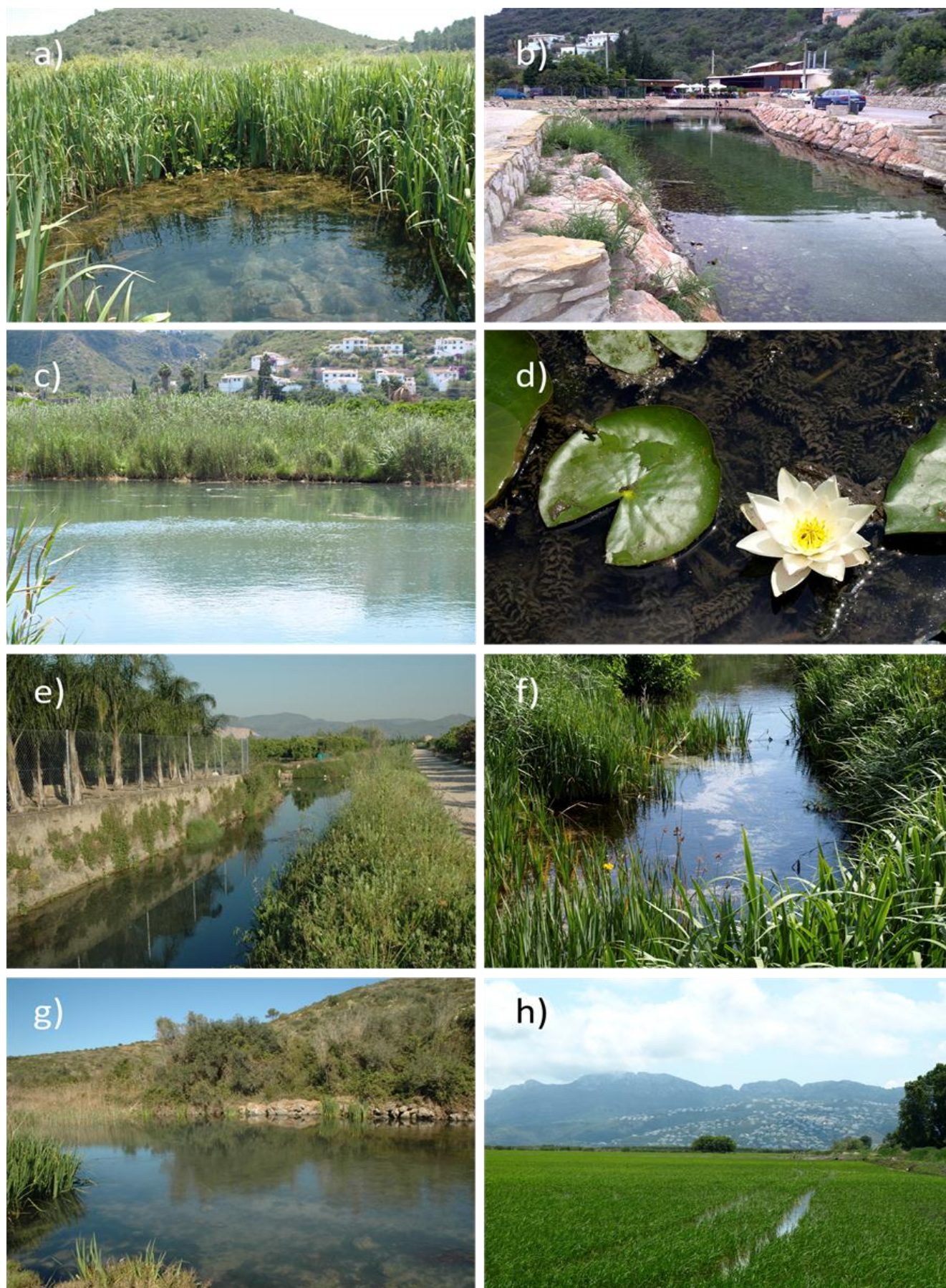


Figura 4. Ambientes muestreados en el marjal de Pegó-Oliva: a) ullal (U2), b) Font Salada (FS), c) Bassa Sineu (BS), d) azarbe (AN), e) río Racons en su tramo medio (R2), f) río Bullent cerca de su nacimiento (B2), g) río Bullent en su tramo medio (B3), h) arrozal (AE).

2.5.8 Caracterización de los ambientes del marjal de Pego-Oliva

En los cinco tipos de ambientes se recolectaron un total de 570 muestras de macroalgas y microalgas bentónicas formoladas, que junto con 107 pliegos, se depositaron en el herbario de la Universidad de Murcia (MUB-ALGAS) (Anexos). Las variables físicas y químicas medidas en el campo en las distintas localidades fueron: temperatura del agua, pH, conductividad, oxígeno disuelto, radiación activa fotosintética (R. A. F.) en superficie y a 50 cm de profundidad y velocidad de la corriente. En el laboratorio se analizó el contenido de N-NO_3^- , N-NO_2^- , N-NH_4^+ , P-PO_4^{3-} , NT y PT de las muestras de agua recolectadas.

Para evaluar la variabilidad de la estructura de la comunidad de macroalgas en relación con las variables ambientales se llevó a cabo un análisis de correspondencias canónicas (ACC) y para predecir las posibles relaciones significativas entre las especies y las variables ambientales se utilizaron modelos lineales generalizados (MLG). El uso potencial de las especies como indicadoras de los diferentes hábitats se analizó mediante el análisis indicador de especies (IndVal) que determina la importancia de cada especie en cada ambiente.

De acuerdo con el ACC y el MLG, las principales variables responsables de la distribución de las macroalgas en el marjal son la conductividad y el oxígeno, y en menor medida la concentración de amonio. La importancia de la conductividad y el nitrógeno en humedales kársticos semejantes al marjal ha sido mencionada previamente (Espinar et al., 2002; Albertin et al., 2012). Los humedales que reciben el agua de escorrentía que proviene de zonas de agricultura se cargan esencialmente de nitrato y el nivel de nitrógeno se regula principalmente por la tasa de desnitrificación que se ve favorecida por las condiciones anóxicas, la alta disponibilidad de nitrato y el carbono orgánico disponible (Bastviken, 2006). La cuantificación y la dinámica de las fuentes de nitrógeno son fundamentales para conocer la composición y distribución de las comunidades de macroalgas en el ecosistema. Sin embargo, es muy probable que en sistemas como los marjales las algas puedan estar adaptadas a los valores altos de nitrógeno. La contaminación por nutrientes en los ecosistemas costeros afecta negativamente a la concentración de oxígeno disuelto y puede reducirlo hasta niveles críticos en un fenómeno generalizado que parece estar creciendo a nivel mundial (Prasad et al., 2011). Algunos estudios han puesto de relieve la importancia de la dinámica del oxígeno disuelto en ambientes estuarinos y su relación con la biomasa de macroalgas, la temperatura del agua y la salinidad (Nezlin et al., 2009).

Las concentraciones de fósforo inorgánico en estos sistemas kársticos suelen ser muy bajas debido a la precipitación asociada al carbonato, mientras que el fósforo orgánico puede tener mayor importancia. Muchas de las especies que aquí se desarrollan han demostrado tener una elevada actividad fosfatásica (Whitton et al., 2005), aunque no se conoce la importancia de esta actividad enzimática en este u otros sistemas de transición. En cuanto a la biomasa, las relaciones Cl b/Cl a y Cl c/Cl a indican que las algas verdes dominan en el bentos de las aguas dulces (ullales, ríos y azarbes), mientras que las diatomeas lo hacen en las surgencias de agua salada.

El ACC y el MLG mostraron además la inexistente relación entre la distribución de las comunidades de algas en los distintos ambientes y variables como el pH, la temperatura, la radiación activa fotosintética (R. A. F.), la velocidad de corriente y la concentración de N-NO_3^- , NT y PT. Tampoco mostraron ninguna relación entre los valores de biomasa y la composición de macroalgas del marjal de Pego-Oliva. Pan et al. (2000) señalaron que la composición de especies de algas epifitas es más sensible a la concentración de nutrientes que a los valores de biomasa algal en humedales subtropicales.

Ullales o nacimientos de agua dulce

Los ullales son nacimientos de agua dulce, con aguas cristalinas, generalmente poco profundas, que presentan una conductividad y concentraciones de nutrientes (nitrógeno inorgánico disuelto, ortofosfato) menores que el resto de ambientes estudiados y elevadas concentraciones de oxígeno disuelto. La conductividad y el oxígeno disuelto son los principales parámetros responsables de la distribución de las macroalgas en este ambiente, de acuerdo con el ACC y el MLG, y a lo largo del año presentan variaciones. La conductividad en los ullales 2 y 3 anualmente fluctúa más que la de los ullales 1, 4 y 5, y la concentración de oxígeno disuelto es más variable en los ullales 1 y 2 que en el resto (Figura 6).

Chaetophora tuberculosa (Roth) C. Agardh, *Draparnaldia mutabilis* (Roth) Bory, *Homoeothrix juliana* (Bornet & Flahault) Kirchner y *Sheathia arcuata* (Kyllin) Salomaki & M. L. Vis (= *Batrachospermum arcuatum* Kylin) parecen preferir valores más bajos de conductividad (Figura 6), mientras que *Homoeothrix juliana*, *Leptolyngbya angustissima* (W. West & G. S. West) Anagnostidis & Komárek y *Sheathia arcuata* aparecen asociadas a concentraciones de oxígeno disuelto elevadas.

Calothrix parietina Thuret ex Bornet & Flahault, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis* y *Leptolyngbya angustissima* se muestran como buenas indicadoras de las surgencias de agua dulce, según el análisis indicador de especies (Indval), pero *Calothrix parietina* y *Leptolyngbya angustissima* son exclusivas de estas. *Homoeothrix juliana* y *Sheathia arcuata*, observadas también en el nacimiento del río Bullent, son buenas indicadoras tanto de los ullales como del nacimiento del río Bullent puesto que sólo crecen en ambos ambientes.

Los rangos ecológicos de las especies que se desarrollan en los ullales son generalmente estrechos (Figura 5). *Chaetophora tuberculosa*, *Hildenbrandia angolensis* Welwitsch ex W. West & G. S. West, *Homoeothrix juliana* y *Sheathia arcuata* son las especies con el rango más estrecho y bajo de concentración de nutrientes (amonio, nitratos, nitritos, ortofosfato), aunque *Calothrix parietina* y *Draparnaldia mutabilis* son las que poseen un rango más estrecho y bajo para el fósforo total. *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa* y *Draparnaldia mutabilis* crecen en un rango de conductividad bastante estrecho y bajo. *Draparnaldia mutabilis* y *Chaetophora tuberculosa* se asocian a un rango de oxígeno disuelto bastante amplio y *Calothrix parietina* e *Hildenbrandia angolensis* se desarrollan a temperaturas ligeramente más bajas ya que prefieren condiciones umbrías.

Homoeothrix juliana y *Sheathia arcuata* han sido observadas frecuentemente en hábitats oligotróficos continentales como charcas, lagos y ríos a baja temperatura y conductividad y elevada concentración de oxígeno (Vis et al., 1996; John et al., 2002; Komárek & Anagnostidis, 2005; Eloranta et al., 2011), similares condiciones a las encontradas en los ullales.

Calothrix parietina es frecuente en ríos, surgencias y charcas de naturaleza calcárea y oligotróficos o ligeramente enriquecidos de nutrientes (John et al., 2002; Komárek, 2013). En el marjal, esta especie parece que también prefiere surgencias de agua con relativa baja concentración de nutrientes. *Chaetophora tuberculosa* y *Draparnaldia mutabilis* han sido citadas en una gran variedad de hábitats en un amplio rango de condiciones ambientales, desde ríos oligotróficos de gran corriente y baja temperatura hasta medios con poca corriente, baja concentración de oxígeno y relativamente eutrofizados (John et al., 2002). En el área de estudio parecen seleccionar los hábitats más oligotróficos y menos perturbados. Las algas que pertenecen al orden Chaetophorales suelen ser muy plásticas y su identificación puede llegar a ser complicada. Sería conveniente un

Introducción general

estudio taxonómico en profundidad de ambas especies para aclarar no sólo su variabilidad morfológica sino sus requerimientos ecológicos.

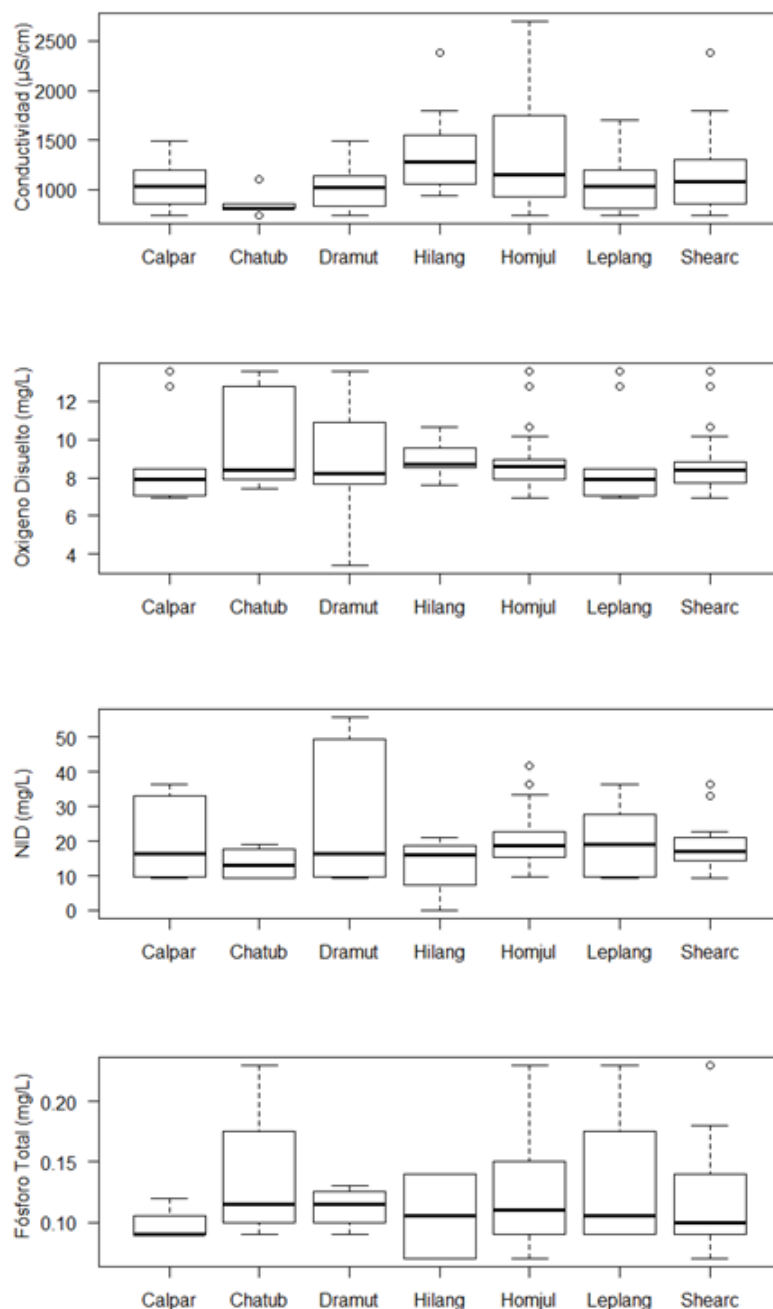


Figura 5. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Calothrix parietina* (Calpar), *Chaetophora tuberculosa* (Chatub), *Draparnaldia mutabilis* (Dramut), *Hildenbrandia angolensis* (Hilang), *Homoeothrix juliana* (Homjul), *Leptolyngbya angustissima* (Lepang) y *Sheathia arcuata* (Shearc).

Hildenbrandia angolensis se asocia a surgencias de agua dulce transparentes y oligotróficas en zonas sombreadas o bajo briófitos (Carmona-Jiménez et al., 2002; Eloranta et al., 2011). A pesar de que la presencia de esta especie es mayoritaria en los ullales en condiciones ecológicas similares a las citadas por otros autores, también se ha recolectado en el nacimiento del río Bullent.

Como especies acompañantes, en algunas ocasiones se han inventariado: *Mougeotia* sp., *Oedogonium* sp., *Spirogyra* sp. y *Vaucheria dichotoma* (Linnaeus) Martius. La flora vascular acuática y helofítica está dominada

por *Arundo donax*, *Ceratophyllum demersum*, *Iris pseudacorus*, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton coloratus*, *P. densus*, *P. pectinatus* y *Typha* sp.

La ubicación de muchos de los ullales entre las viviendas y zonas de cultivo, los hace muy susceptibles a continuas alteraciones que ponen en peligro su propia existencia o modifican la abundancia y biodiversidad de las especies vegetales (Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Sin embargo, la existencia de un número elevado de surgencias hace que las condiciones ambientales puedan recuperarse con relativa facilidad, a pesar de las perturbaciones sufridas con los años (Vázquez-Roig et al., 2012).

Desde los estudios previos del marjal que se remontan 30 años atrás, las condiciones ambientales de los ullales se han mantenido más o menos estables (Tomás, 1981, 1988; Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Sus aguas bien oxigenadas y de oligo a ligeramente mesotróficas albergaban las mismas comunidades algales aunque parece que *Schizothrix fasciculata* ha visto reducida su presencia y es ahora más abundante en el nacimiento del río Bullent. *Sheathia boryana* (Sirodot) Salomaki & M. L. Vis (= *Batrachospermum boryanum* Sirodot), observada en un ullal próximo al nacimiento del río Bullent, desapareció debido al estancamiento artificial de las aguas (Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Lo mismo pudo ocurrir con *Thorea hispida* (Thore) Desvaux que tras su primera cita en los ullales del marjal (Tomás, 1981) no ha vuelto a recolectarse en este ambiente. En un intento de caracterización de los hábitats del marjal mediante el uso de diatomeas, únicamente se encontró una clara diferenciación entre las agrupaciones que dominaban las aguas dulces y las agrupaciones de aguas salobres (Cantoral-Uriza & Aboal, 2008). La riqueza de especies características de manantiales de agua dulce era mucho menor (7 especies) que la de aguas salobres (25 especies), debido probablemente a las condiciones de sequía del periodo de estudio (1998 fue uno de los años más secos de los últimos 30 años). Las especies de aguas salobres presentaron notables semejanzas con las de ramblas y arroyos salinos del sureste peninsular (Aboal, 1988; Aboal et al., 1996).

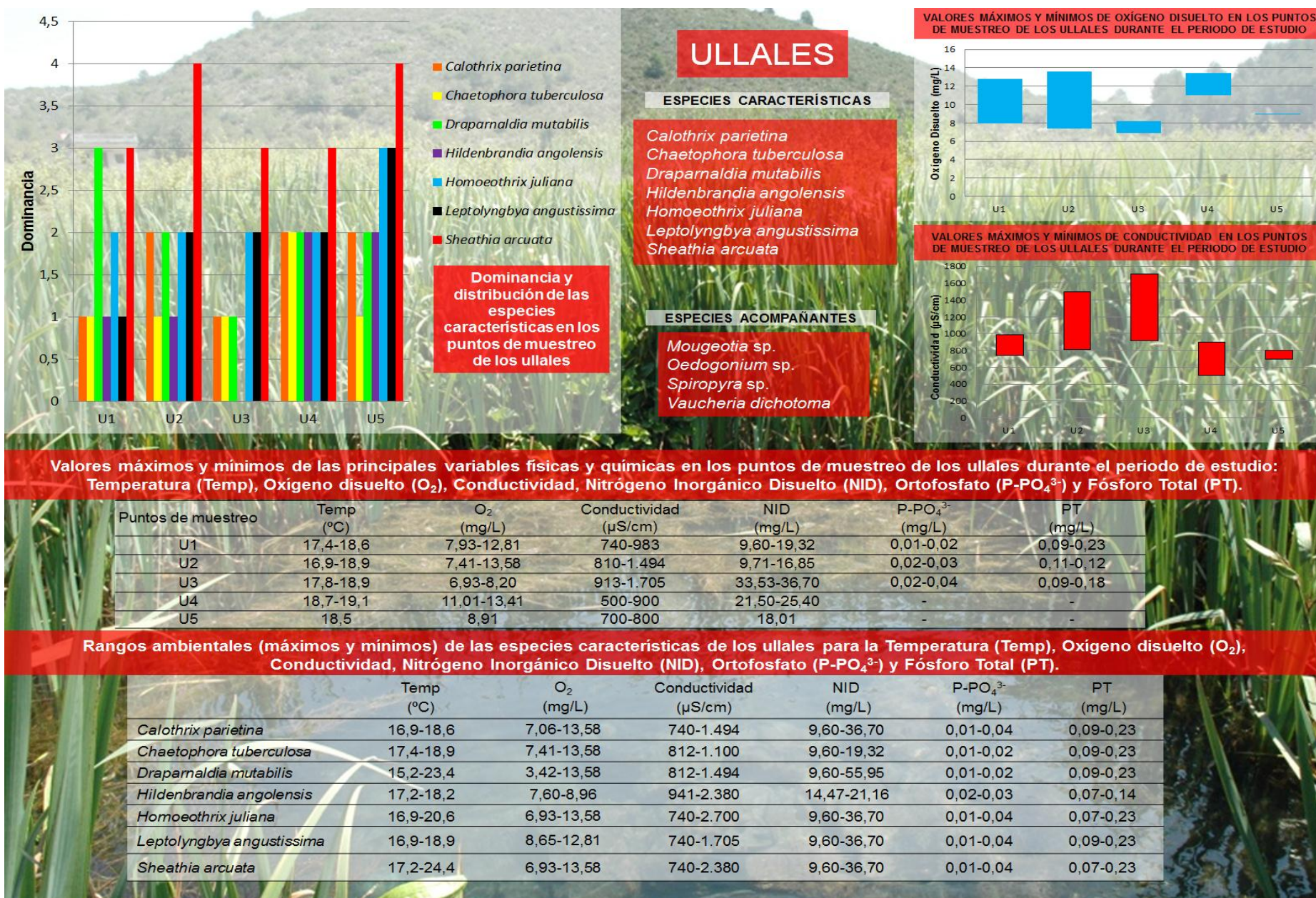


Figura 6. Macroalgas características y variables ambientales de los ullales del marjal de Pego-Oliva.

Nacimientos de agua salada

En este estudio se han caracterizado dos nacimientos de agua salada: la Font Salada y la Bassa Sineu. La Font Salada es un nacimiento de agua mesohalina situado en las inmediaciones del tramo medio del río Bullent. Es un lugar muy frecuentado por bañistas de la zona al mantener una temperatura de 22-25 °C a lo largo de todo el año. La Bassa Sineu es un nacimiento de agua oligohalina localizada al sur del marjal, adyacente al tramo medio del río Racons al que vierte sus aguas. Las condiciones ecológicas de ambos nacimientos son muy similares. Ambos se caracterizan por una conductividad, temperatura y concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto y ortofosfato elevadas y baja concentración de oxígeno aunque, los valores de conductividad y concentraciones de nutrientes de la Font Salada son mucho más elevados que los de la Bassa Sineu.

La conductividad y la concentración de ortofosfato son los principales parámetros responsables de la distribución de las macroalgas en este ambiente de acuerdo con el ACC y el GLM. La conductividad en la Font Salada es más fluctuante a lo largo del año que la de la Bassa Sineu. La concentración de ortofosfato registra las cifras más elevadas del marjal en la Font Salada (Figura 8). Los valores de ortofosfato en la Bassa Sineu son más constantes durante el año y menores que los de la Font Salada.

Calothrix pulvinata C. Agardh ex Bornet & Flahault, *Cladophora glomerata* (Linnaeus) Kützinger, *Compsopogon coeruleus* (Balbis ex C. Agardh) Montagne, *Phormidium tergestinum* (Kützinger) Anagnostidis & Komárek, *Polysiphonia subtilissima* Montagne, *Tapinothrix violacea* (Bornet & Flahault) Bohunická & Johansen (= *Homoeothrix violacea* (Bornet & Flahault) Komárek & Kann) (Bohunická et al., 2011), *Thorea violacea* Bory y *Ulva intestinalis* Linnaeus crecen en estos ambientes de elevada conductividad (Figura 8). *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea*, *Thorea violacea* y *Ulva intestinalis* crecen con concentraciones elevadas de ortofosfato, mientras que *Polysiphonia subtilissima* prefiere elevadas concentraciones de nitritos. Estas relaciones entre las especies y las variables ambientales están soportadas por el ACC y el MLG y son significativas.

Calothrix pulvinata, *Tapinothrix violacea*, *Thorea violacea*, *Phormidium tergestinum* y *Ulva intestinalis* son indicadoras de las surgencias de agua salada, de acuerdo con el análisis indicador de especies (Indval), pero *Phormidium tergestinum* y *Ulva intestinalis* son exclusivas de estas. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* y *Ulva intestinalis* son las que poseen un rango ecológico más amplio en el marjal (junto con *Ulva flexuosa* Wulfen que se observa en el río Bullent, en el Racons y en azarbes) (Figura 7). *Calothrix pulvinata* y *Thorea violacea* se desarrollan en un rango estrecho y bajo de oxígeno disuelto. *Calothrix pulvinata*, *Tapinothrix violacea* y *Thorea violacea* prefieren las altas temperaturas de las surgencias de agua salada y son las que se desarrollan en un rango mayor de ortofosfato. *Tapinothrix violacea* y *Thorea violacea* crecen en un rango estrecho y elevado de nitrógeno inorgánico disuelto.

Cladophora glomerata y *Ulva intestinalis* han sido observadas en ambientes continentales como ríos, charcas, lagos y canales de riego con alto contenido en materia orgánica y pH neutro. Son capaces de tolerar elevadas concentraciones de nutrientes (John et al., 2002; Żbikowski et al., 2007). *Calothrix pulvinata*, *Phormidium tergestinum* y *Tapinothrix violacea* han sido citadas previamente en aguas saladas eutróficas en zonas de transición (John et al., 2002; Komárek & Anagnostidis, 2005; Komárek, 2013). *Polysiphonia subtilissima* en las surgencias de agua salada del marjal es dominante durante todo el año especialmente en la Font Salada.

Compsopogon coeruleus ha sido citada principalmente en aguas cálidas con corriente o estancadas en una gran variedad de hábitats: charcas, ríos, acuarios o efluentes agrícolas (John et al., 2002; Kwadrans &

Eloranta, 2010; Necchi et al., 2013). Los datos previos sugieren su amplia tolerancia a cargas orgánicas relativamente importantes y a distintos rangos de pH y conductividad (Necchi et al., 1999). En las surgencias de agua salada del marjal se ha observado tanto en la Bassa Sineu (surgencia oligohalina) como en la Font Salada (surgencia mesohalina). *Thorea violacea* crece en aguas cálidas, de neutras a alcalinas, con alto contenido en iones y corriente moderada (Carmona & Necchi, 2001; Eloranta et al., 2011). En el marjal ha sido recolectada en nacimientos de agua con una conductividad muy elevada donde parece preferir las condiciones bastante estables que caracterizan las surgencias, aunque forma poblaciones reducidas.

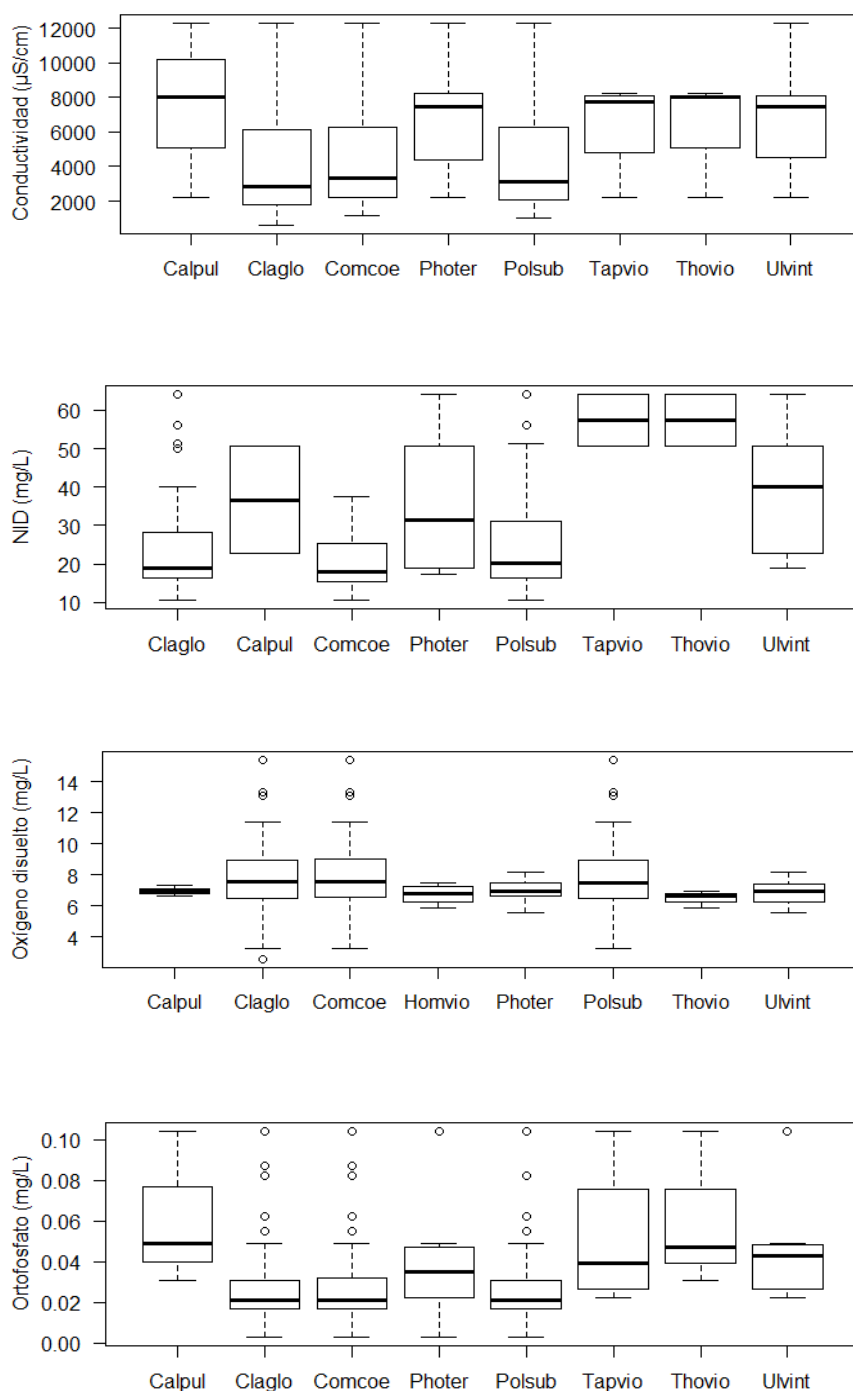


Figura 7. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y ortofosfato para *Calothrix pulvinata* (Calpul), *Cladophora glomerata* (Claglo), *Compsopogon coeruleus* (Comcoe), *Phormidium tergestinum* (Photer), *Polysiphonia subtilissima* (Polsub), *Tapinothrix violacea* (Tapvio), *Thorea violacea* (Thovio) y *Ulva intestinalis* (Ulvint).

Como especies acompañantes se pueden citar a *Oedogonium* sp., *Spirogyra* sp. y *Vaucheria compacta* (Collins) Collins. La flora acuática esta dominada por *Myriophyllum spicatum*, *Najas marina*, *Potamogeton nodosus*, *P. pectinatus* y *Ruppia maritima*.

La sobreexplotación de los acuíferos puede ocasionar problemas de intrusión de agua marina en el marjal, especialmente en aquellos casos como el de la Bassa Sineu en el que el nivel freático se mantiene por debajo del nivel del mar (Cantoral Uriza & Aboal, 2001; Ballesteros et al., 2007).

Los estudios previos señalan valores de conductividad bastante elevados ocasionados probablemente por la intrusión marina derivada de la escasa precipitación: Bassa Sineu alcanzó los 10.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y la Font Salada los 15.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en 1999 (Cantoral Uriza & Aboal, 2001). A pesar de estas fluctuaciones, la comunidad de macroalgas permaneció constante. Únicamente cabe señalar que en los últimos años se recolectó *Compsopogon coeruleus* en la Font Salada.

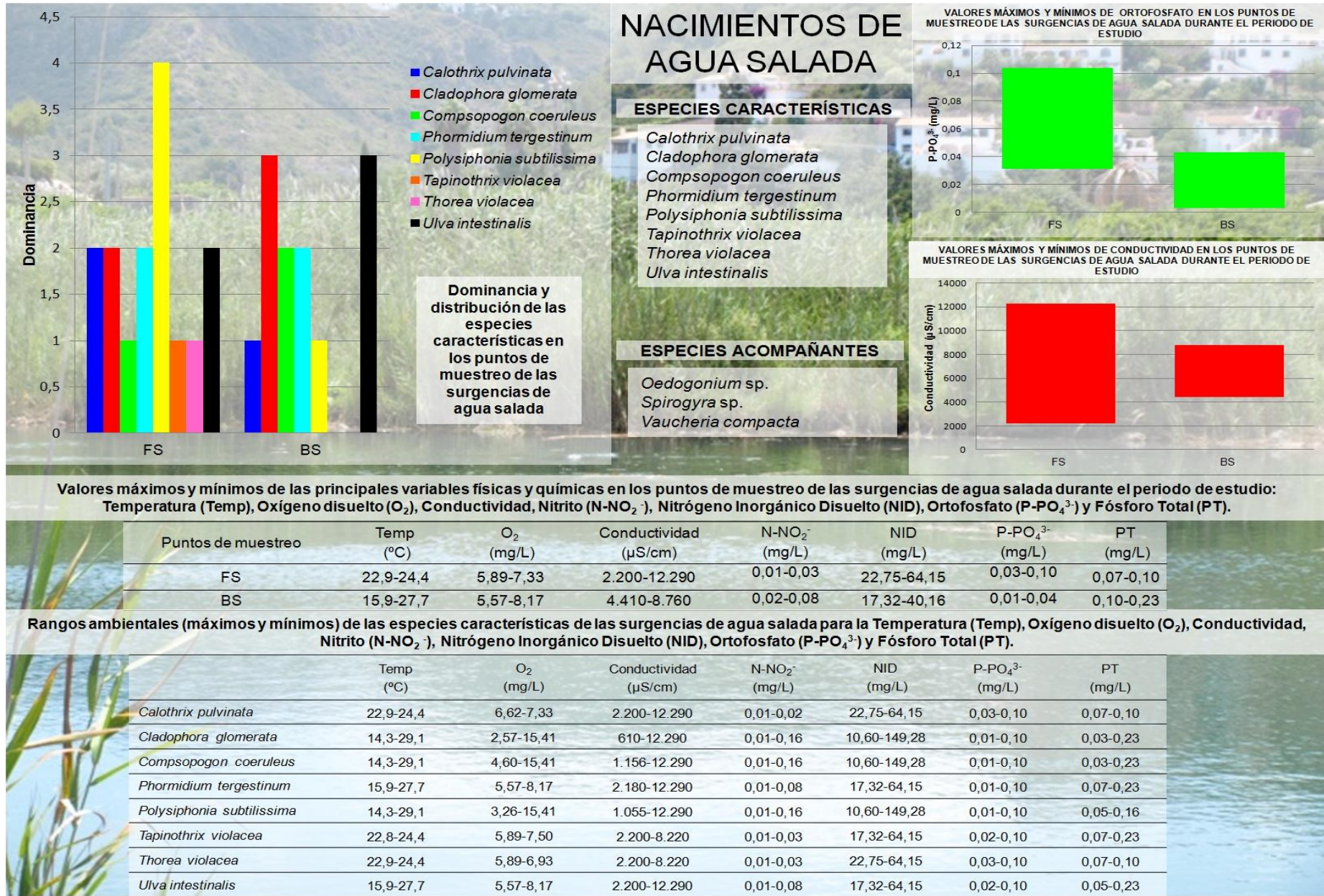


Figura 8. Macroalgas características y variables ambientales de las surgencias de agua salada del marjal de Pegu-Oliva.

Río Bullent

El río Bullent delimita el marjal por el flanco norte con un recorrido aproximado de 7 km de longitud y una cuenca superficial de 35 km². Los periodos de mayor drenaje se centran de diciembre a febrero y de abril a mayo y pueden llegar a generar caudales máximos de 5.800 L/s. Por el contrario, los periodos en los que el agua evacuada es menor, entre junio y principios de octubre, los caudales del río Bullent son inferiores a los 925 L/s (Ballesteros et al., 2007).

La conductividad y la concentración de oxígeno disuelto son los principales parámetros responsables de la distribución de las macroalgas en este río de acuerdo con el ACC y el GLM. La conductividad en los tramos finales (B4 y B5) es mucho más fluctuante que en el nacimiento y tramo medio a lo largo del año, al igual que ocurre para el oxígeno disuelto, especialmente en la desembocadura (Figura 12).

Nacimiento

El nacimiento del río Bullent es un ambiente con características ecológicas muy similares a las de los ullales, con aguas poco alteradas por la influencia humana, de buena calidad, cristalinas, con una conductividad y concentración de nutrientes menores que otros hábitats estudiados y una elevada concentración de oxígeno. La temperatura es un poco más baja que aguas abajo. Las comunidades algales son también muy similares a las de los ullales (Figura 12). *Homoeothrix juliana* y *Sheathia arcuata* están ligadas a ambientes de conductividad relativamente baja y oxígeno disuelto elevado, mientras que *Phormidium formosum* (Bory de Gomont) Anagnostidis & Komárek parece asociada a concentraciones de nitritos más bajas. Estas relaciones entre las especies y las variables ambientales están soportadas por el ACC y el MLG y son significativas.

Chaetophora elegans (Roth) C. Agardh, *Phormidium formosum*, *Schizothrix fasciculata* Gomont ex Gomont y *Tapinothrix crustacea* (Voronichin) Bohunická & Johansen (= *Homoeothrix crustacea* Voronichin) (Bohunická et al., 2011) son buenas indicadoras del nacimiento del río Bullent, de acuerdo con el análisis indicador de especies (IndVal), pero *Phormidium formosum* y *Tapinothrix crustacea* son exclusivas de este tipo de ambiente. *Homoeothrix juliana* y *Sheathia arcuata* son buenas indicadoras tanto del nacimiento del río Bullent como de ullales, como se ha mencionado con anterioridad.

En cuanto a los rangos ecológicos de las especies que crecen en el nacimiento de este río *Chaetophora elegans* y *Schizothrix fasciculata* aparecen ligadas a elevadas concentraciones de oxígeno disuelto y relativas bajas concentraciones de nutrientes (nitrógeno inorgánico disuelto, fósforo total) (Figura 9). Estas dos especies junto a *Sheathia arcuata* crecen en un rango de conductividad bastante estrecho y bajo.

Phormidium formosum ha sido citada tanto en agua dulce continental como salobre, sobre rocas y suelos húmedos y en surgencias ricas en azufre. En el marjal sólo se ha encontrado epilítica en el nacimiento del río Bullent. *Chaetophora elegans* se ha observado en un amplio rango de condiciones ambientales y hábitats, desde ríos oligotróficos bien oxigenados a baja temperatura hasta ambientes más estancados con poco oxígeno y ligeramente eutrofizados (John et al., 2002). En el área de estudio parece que prefiere los medios menos alterados y más oligotróficos, por lo que sería recomendable su estudio taxonómico en profundidad para confirmar su identidad y sus requerimientos ecológicos.

Schizothrix fasciculata es habitual en lagos calcáreos y ríos no eutrofizados donde forma colonias esféricas calcificadas. En el marjal se desarrolla principalmente en el nacimiento del río Bullent, aunque en

Introducción general

ocasiones se recolecta también en algunos ullales, donde se observan igualmente estas colonias esféricas ligeramente calcificadas. *Tapinothrix crustacea* es frecuente en ríos, surgencias y charcas también de naturaleza calcárea pero ligeramente enriquecidos de nutrientes aunque con niveles de fosfato más bien bajos, en muchas ocasiones su presencia va ligada a *Rivularia* (John et al., 2002). En el marjal, aunque aparece en nacimientos de aguas no se ha observado *Rivularia*.

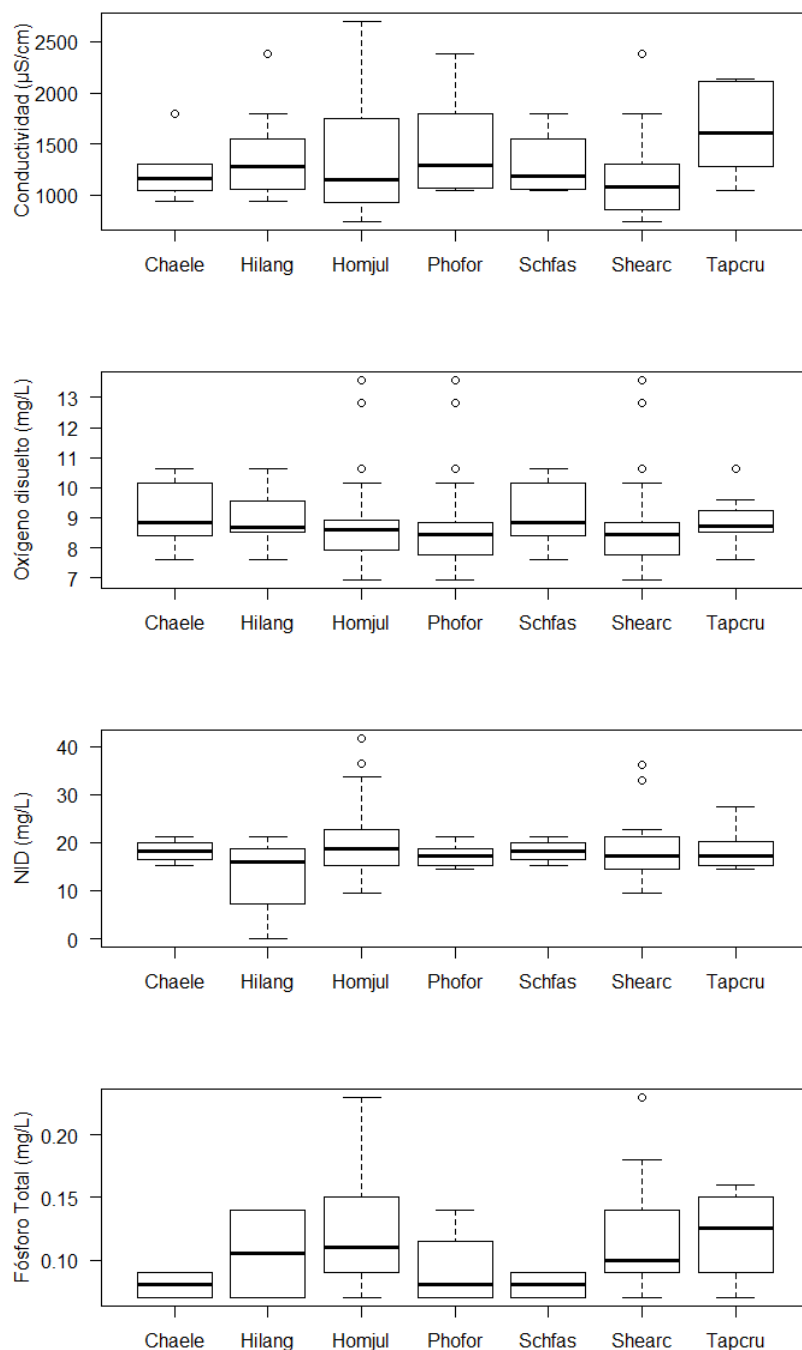


Figura 9. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Chaetophora elegans* (Chaele), *Hildenbrandia angolensis* (Hilang), *Homoeothrix juliana* (Homjul), *Phormidium formosum* (Phofo), *Schizothrix fasciculata* (Schfas), *Sheathia arcuata* (Shearc) y *Tapinothrix crustacea* (Tapcru).

Oedogonium sp., *Oscillatoria* sp., *Spirogyra* sp., *Stigeoclonium subsecundum* (Kützing) Kützing y *Vaucheria dichotoma* son especies acompañantes en este ambiente. La flora acuática y helofítica está representada por *Arundo donax*, *Ceratophyllum demersum*, *Iris pseudacorus*, *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton coloratus*, *P. densus*, *P. pectinatus* y *Typha* sp.

Tramo medio

En el tramo medio del río las condiciones ecológicas van cambiando, aumenta la conductividad y la concentración de nutrientes y empiezan a cambiar también las comunidades algales (Figura 12). Crecen aquí *Chara baltica* Bruzelius, *Chara hispida* Linnaeus, *Chaetophora lobata* Schrank, *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Draparnaldia glomerata* (Vaucher) C. Agardh, *Polysiphonia subtilissima*, *Thorea hispida* y *Ulva flexuosa* junto a algunas conjugadas (*Spirogyra* sp., *Mougeotia* sp.). *Thorea hispida* y *Draparnaldia glomerata* prefieren rangos de oxígeno estrechos y moderadamente altos, mientras que *Chaetophora lobata* y *Draparnaldia glomerata* prefieren concentraciones de fósforo total más pequeñas, y *Draparnaldia glomerata* parece desarrollarse en un rango más estrecho y bajo de nitrógeno inorgánico disuelto (Figura 10). *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* y *Ulva flexuosa* se asocian a elevadas conductividades y *Polysiphonia subtilissima* además está asociada a la concentración alta de nitritos, de acuerdo con el ACC y el MLG.

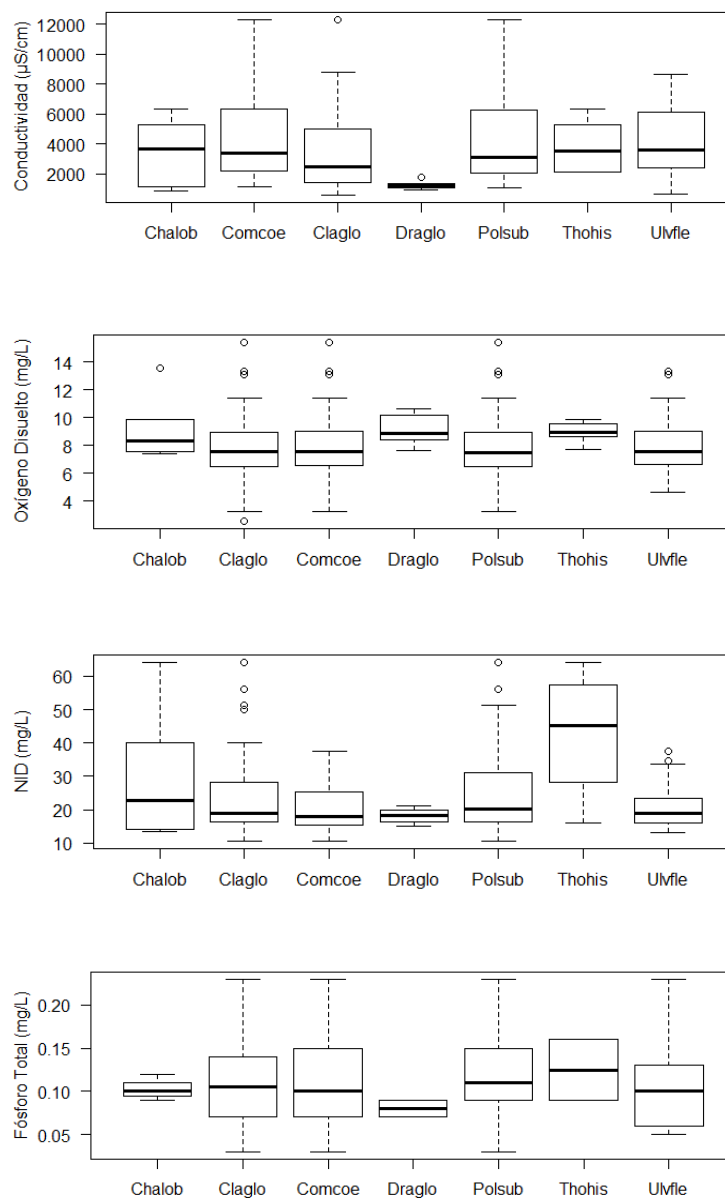


Figura 10. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Chaetophora lobata* (Chalob), *Cladophora glomerata* (Claglo), *Compsopogon coeruleus* (Comcoe), *Draparnaldia glomerata* (Draglo), *Polysiphonia subtilissima* (Polsub), *Thorea hispida* (Thohis) y *Ulva flexuosa* (Ulvle).

Chaetophora lobata y *Draparnaldia glomerata* son las especies indicadoras del tramo medio del río, según los resultados del análisis indicador de especies (IndVal), porque se desarrollan exclusivamente en este hábitat. Ambas han sido citadas en gran variedad de ambientes como ríos, charcas o lagos y en un amplio rango de condiciones físicas y químicas. Toleran desde aguas oligotróficas hasta relativamente eutrofizadas (John et al., 2002). En el área de estudio parece que prefieren hábitats mesotróficos.

Thorea hispida ha sido recolectada en surgencias de agua dulce y en ríos de todo el mundo, pero ha sido escasamente citada (John et al., 2002; Eloranta et al., 2011). En el marjal crece en el tramo medio del río Bullent aunque no siempre está presente y no se conocen con precisión sus requerimientos ecológicos. *Polysiphonia subtilissima* aparte de desarrollarse en nacimientos salinos del marjal donde es muy abundante, se observa en los puntos de muestreo cercanos a la desembocadura de los dos ríos y en el río Bullent alcanza el tramo medio.

Cladophora glomerata y *Ulva flexuosa* han sido citadas en ríos, charcas, lagos y canales de riego con alto contenido en materia orgánica. Parece que se adaptan bien a los cambios físicos y químicos del medio y pueden tolerar elevadas concentraciones de nutrientes (John et al., 2002; Żbikowski et al., 2007), al igual que en el marjal donde están ampliamente distribuidas. La expansión de *Ulva flexuosa* junto con la de *Polysiphonia subtilissima* parece estar favorecida por la intrusión de agua marina, aunque no se ha estudiado su potencial invasor. Sin embargo, sí se conocen estudios previos dedicados a la proliferación de *Ulva flexuosa* en lagos costeros (Lougheed & Stevenson, 2004).

Tramo final

El tramo final del río está eutrofizado con aguas turbias donde la conductividad es más elevada por su proximidad al mar y la concentración de oxígeno menor (Figura 12). Además, estudios recientes han detectado pesticidas cerca de la desembocadura de este río (Fernández et al., 1998).

Cladophora glomerata, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* y *Ulva flexuosa* están relacionadas significativa y positivamente con la conductividad y pueden desarrollarse en rangos amplios y elevados de conductividad, temperatura y concentración de nutrientes (amonio, nitratos, nitritos, ortofosfato), se asocian a ambientes más eutróficos como el tramo medio-final de este río (Figura 11). Ninguna de las especies que crecen en este tramo son indicadoras de este ambiente como consecuencia de su amplia distribución en otros hábitats del marjal.

Como acompañantes pueden citarse *Mougeotia* sp., *Oedogonium* sp., *Spirogyra* sp., *Vaucheria dichotoma* y *Ulva intestinalis*. La flora acuática está representada por *Myriophyllum spicatum*, *Najas marina*, *Potamogeton nodosus*, *P. pectinatus* y *Ruppia marítima*.

La composición química del río Bullent ha permanecido más o menos constante en los últimos 30 años, únicamente en 1999 sufrió un aumento leve de la mineralización probablemente a consecuencia de la acusada sequía de 1998 (Cantoral Uriza & Aboal, 2001). *Cladophora glomerata*, *Chaetophora elegans*, *Draparnaldia glomerata*, *Homoeothrix juliana*, *Schizothrix fasciculata* y *Tapinothrix crustacea* siguen siendo las especies predominantes.

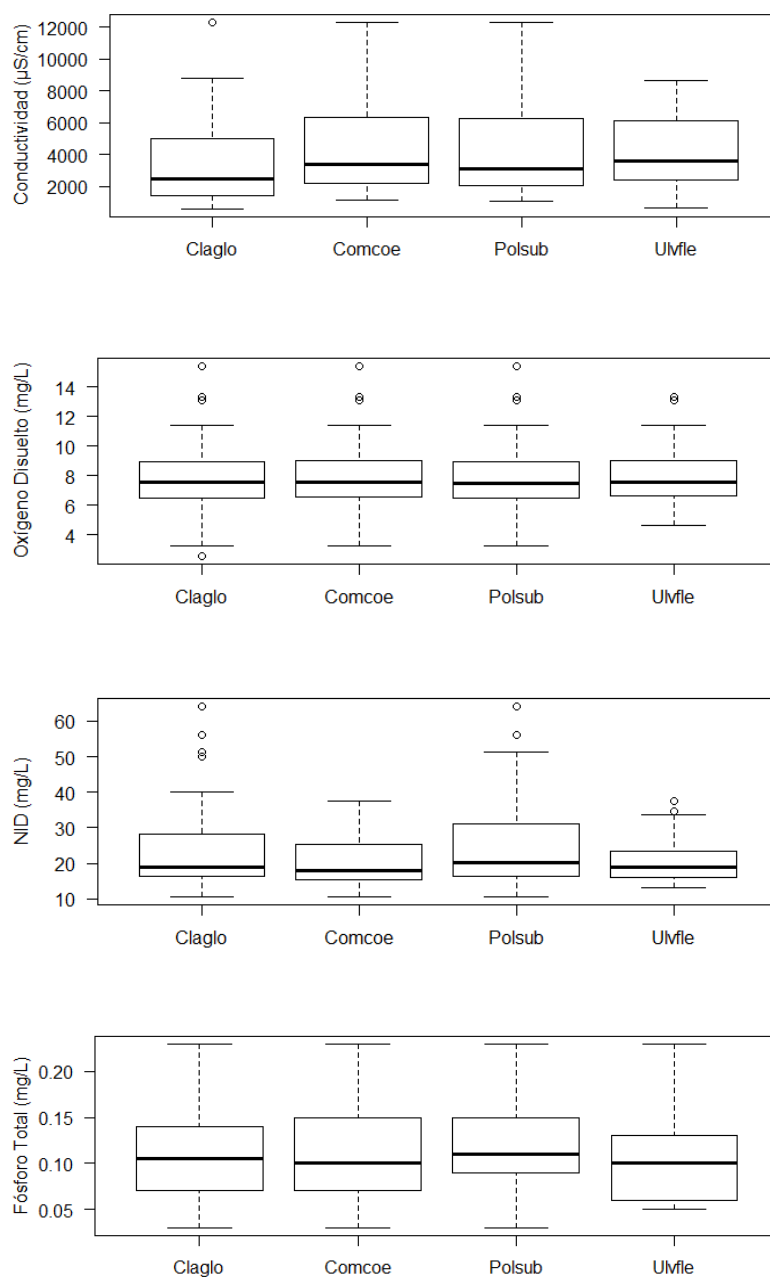


Figura 11. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Cladophora glomerata* (Claglo), *Compsopogon coeruleus* (Comcoe), *Polysiphonia subtilissima* (Polsub) y *Ulva flexuosa* (Ulvfle).

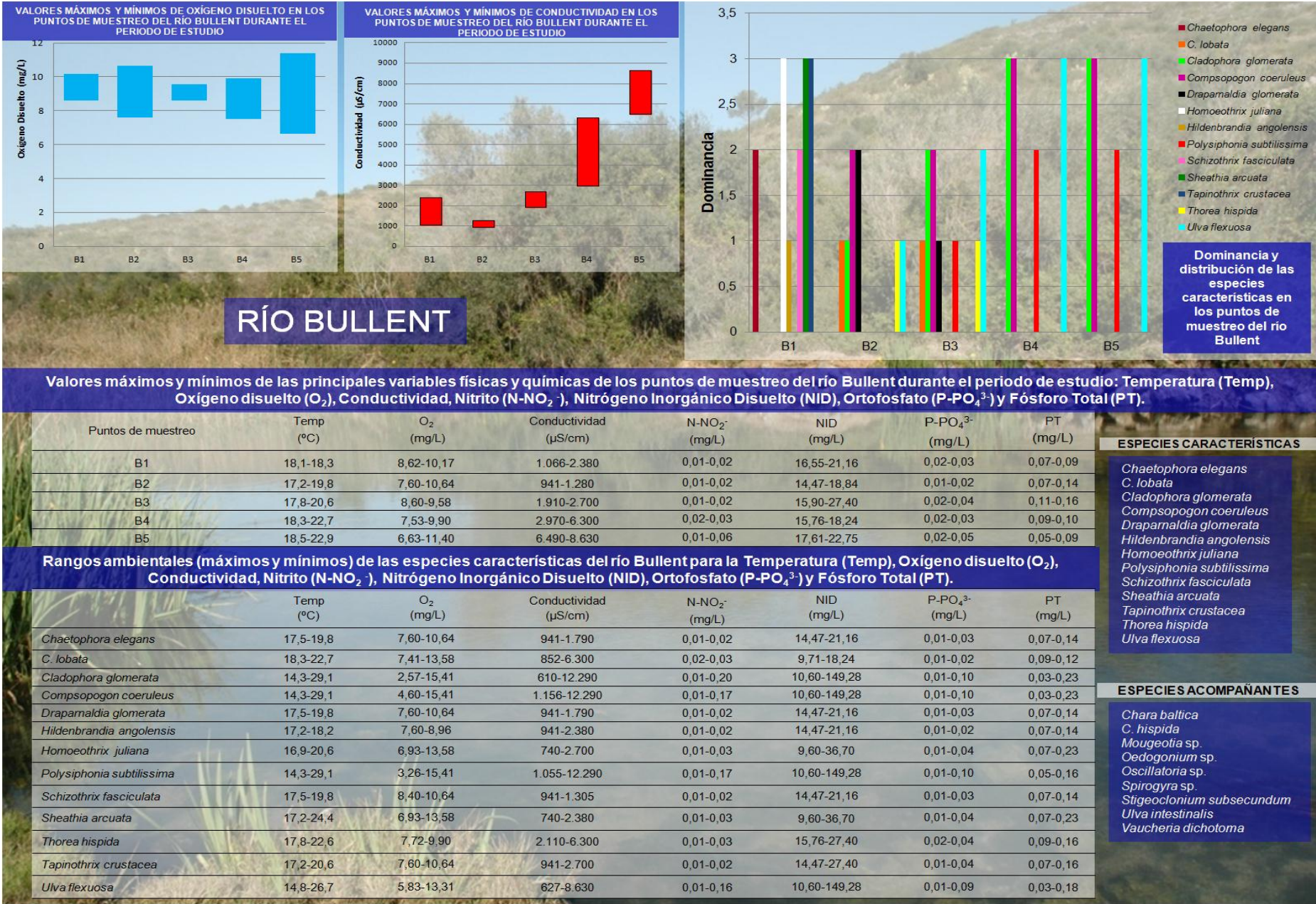


Figura 12. Macroalgas características y variables ambientales del río Bullent.

Río Racons

El río Racons recorre el marjal por el flanco meridional (Durán et al., 2005). Tiene una longitud aproximada de 7 km y una cuenca superficial de 40 km². Al igual que en el caso del río Bullent, los periodos de mayor drenaje se producen de diciembre a febrero y de abril a mayo y puede llegar a generar caudales máximos de 11.000 L/s. Entre junio y principios de octubre el agua evacuada es menor y los caudales del río rondan los 1.967 L/s (Ballesteros et al., 2007).

Se caracteriza por el elevado nivel de eutrofia que presentan sus aguas debido tanto a los problemas de la estación depuradora cercana, que han provocado el vertido directo de las aguas residuales procedentes de las urbanizaciones durante años como a las aguas procedentes de la irrigación de cítricos y arrozales. Recientemente se han detectado fármacos y pesticidas en el agua, sedimento y suelo del marjal. De hecho es en este río en donde se han observado las concentraciones más altas de fármacos de todo el marjal (Vázquez-Roig et al., 2012).

La conductividad es el principal parámetro responsable de la distribución de las macroalgas en este ambiente de acuerdo con el ACC y el GLM. Es claramente apreciable el incremento de conductividad desde el nacimiento hasta la desembocadura, aunque la variación anual en cada uno de los puntos es escasa, a excepción del R2 en que es un poco mayor (Figura 14). La concentración de fósforo total es desigual en cada una de las localidades y las fluctuaciones anuales más intensas se dan en el R3 y R5.

Las condiciones ambientales y las comunidades de macroalgas son en general muy homogéneas a lo largo de todo el cauce. En el nacimiento las aguas están un poco menos alteradas por la influencia humana que aguas abajo y su conductividad y concentración de nutrientes (nitrógeno inorgánico disuelto, ortofosfato) es ligeramente menor. Los tramos medio y final del río están muy eutrofizados, con aguas turbias y con una conductividad, temperatura y concentración de nutrientes elevada.

Las comunidades de macroalgas de los distintos tramos coinciden con las del tramo final del río Bullent y algunas del tramo medio. Se desarrollan *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Oedogonium* sp., *Polysiphonia subtilissima*, *Spirogyra* sp., *Ulva flexuosa* y *Ulva intestinalis*. Todas ellas pueden crecer en un rango amplio y elevado de concentración de amonio, nitratos, nitritos, ortofosfato, temperatura y conductividad (Figura 13). Todas las especies tienen una amplia distribución en otros ambientes del marjal.

Además, se han observado aquí comunidades complejas de algas aerofíticas que se desarrollan después de las grandes lluvias: *Botrydium granulatum* (Linnaeus) Greville, *Vaucheria compacta*, *V. dillwynii* (Weber & Mohr) C. Agardh, *V. frigida* (Roth) C. Agardh sensu T. A. Christensen, *V. geminata* (Vaucher) de Candolle y *V. sessilis* (Vaucher) de Candolle. Muchas de estas especies fueron citadas por primera vez para la península Ibérica en el marjal (García-Fernández et al., 2011). Entre las angiospermas acuáticas acompañantes se pueden citar *Myriophyllum spicatum*, *Najas marina*, *Potamogeton nodosus*, *P. pectinatus* y *Ruppia marítima*.

Estudios previos ya mencionaban su carácter oligohalino y su elevado grado de eutrofia (Carretero, 1990; Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Especies como *Compsopogon coeruleus*, *Cladophora* sp. y *Ulva intestinalis* llegaron a desaparecer debido a los problemas de contaminación. Con la puesta en marcha de la depuradora se mejoró la calidad de las aguas y empezaron a observarse de nuevo. La concentración de ortofosfato se ha

Introducción general

reducido desde valores comprendidos entre 0,29-0,84 mg/L (1995) a 0,01-0,08 mg/L (2008). Las comunidades de algas observadas en la actualidad son muy similares a las anteriores aunque *Ulva flexuosa* ha sido recolectada en el presente con mayor frecuencia que *Ulva intestinalis*.

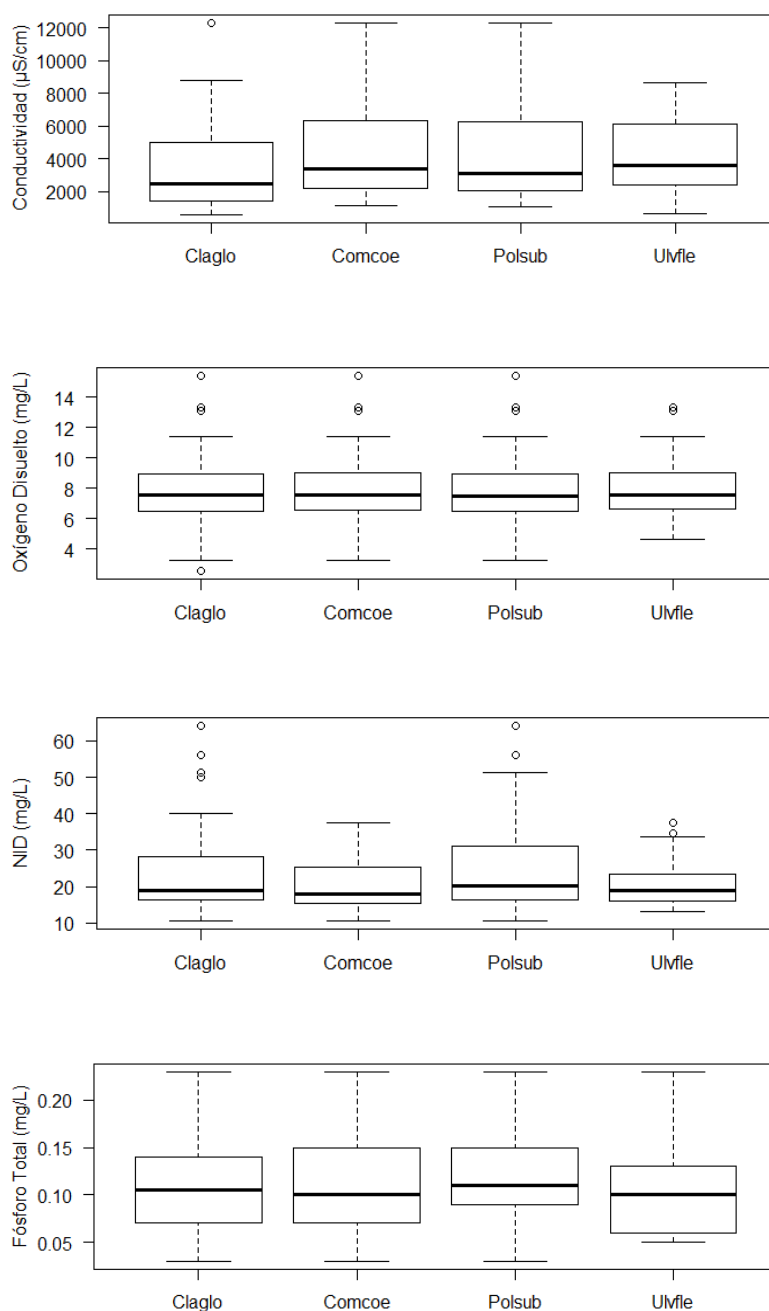


Figura 13. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Cladophora glomerata* (Claglo), *Compsopogon coeruleus* (Comcoe), *Polysiphonia subtilissima* (Polsub) y *Ulva flexuosa* (Ulvle).

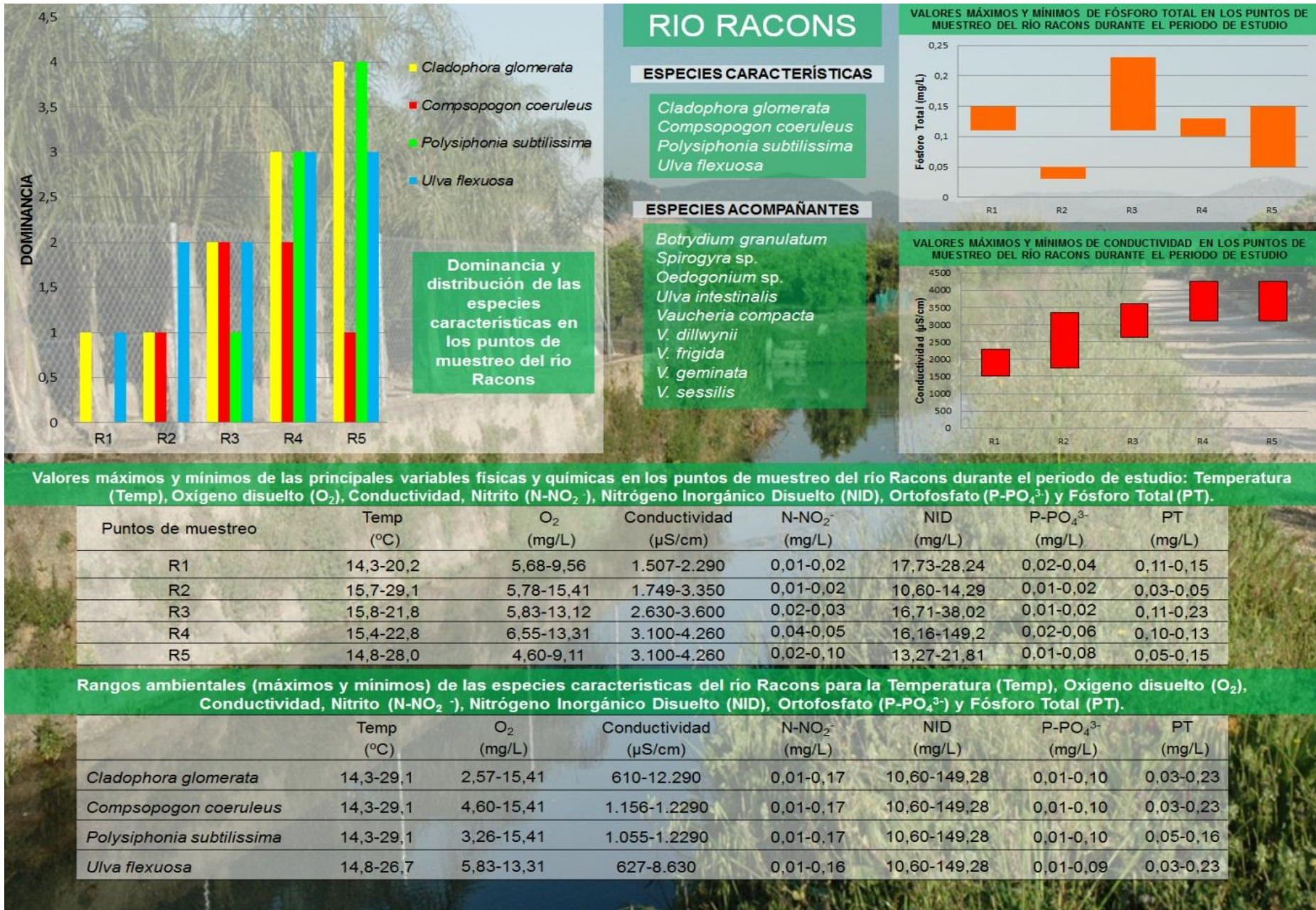


Figura 14. Macroalgas características y variables ambientales del río Racons.

Azarbes

Los azarbes son cauces por donde tiene salida el agua sobrante de los riegos que es canalizada en este tipo de construcciones para evitar encharcamientos. En el marjal existe una intrincada red de cauces distribuidos por todo su territorio. Son hábitats con elevadas concentraciones de amonio, bajos niveles de oxígeno disuelto y elevada turbidez probablemente provocada por la naturaleza turbosa de sus suelos con alto contenido en materia orgánica (Boira, 1988). Estudios recientes han detectado niveles importantes de pesticidas en estos canales (Fernández et al., 1998).

La conductividad y la concentración de amonio son los principales parámetros responsables de la distribución de las macroalgas en este tipo de ambientes de acuerdo con el ACC y el GLM. La concentración de amonio fluctúa más a lo largo del año en los azarbes que la conductividad (Figura 16).

Kumanoa mahlacensis, *Microcoleus autumnalis* (Trevisan ex Gomont) Strunecký, Komárek & Johansen (= *Phormidium autumnale* Gomont) (Strunecký et al., 2013) y *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* (Linnaeus) De Candolle pueden considerarse buenas indicadoras de éste ambiente de acuerdo con el análisis indicador de especies (IndVal), pero las dos últimas son exclusivas de él. Estas especies viven en un rango amplio y alto de concentración de nutrientes y el rango de concentración de oxígeno es más bajo que en otros ambientes (Figura 15). El rango de amonio de *Microcoleus autumnalis* es más estrecho y bajo que el de *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* y *Kumanoa mahlacensis*. Existe una clara diferencia en los rangos de conductividad y amonio entre las especies indicadoras de este ambiente y aquellas que se han observado aquí también pero están extendidas por todo el marjal como *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus* y *Ulva flexuosa*. De acuerdo con el ACC y el MLG, *Kumanoa mahlacensis* parece estar asociada a una elevada concentración de amonio, *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* y *Microcoleus autumnalis* a una menor conductividad y *Microcoleus autumnalis* a una menor concentración de nitritos.

Como especies acompañantes se pueden citar *Chlorosaccus fluidus* Luther, *Coleochaete scutata* Brébisson, *Compsopogon coeruleus*, *Mougeotia* sp., *Nitella confervacea* (Brébisson) A. Braun ex Leonhardi, *N. hyalina* (De Candolle) C. Agardh, *Oedogonium* sp. y *Spirogyra* sp. La vegetación acuática y helofítica está dominada por *Arundo donax*, *Ceratophyllum demersum*, *Nymphaea alba*, *Phragmites australis*, *Potamogeton crispus*, *P. densus*, *P. pectinatus* y *Typha* sp.

Microcoleus autumnalis ha sido recogida previamente en ambientes de agua salada y con elevada carga orgánica (John et al., 2002; Komárek, 2013). En el marjal se desarrolla en hábitats de agua dulce con elevadas concentraciones de amonio.

Kumanoa mahlacensis ha sido citada en un rango amplio de concentración de nutrientes y conductividad en surgencias de agua y ríos (Vis et al., 2012); mientras que en el marjal sólo se ha recolectado en el azarbe nenúfares. *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* normalmente se asocia a aguas bien oxigenadas y oligotróficas (Eloranta & Kwandrans, 2002; John et al., 2002) pero en el marjal de Pego-Oliva también ha sido recolectada en azarbes. Para algunos autores (Vis & Sheath, 1996; Eloranta & Kwandrans, 2007) esta especie además de tener una distribución mundial y estar ampliamente extendida en América del Norte y en Europa, posee un rango ecológico amplio. En la actualidad se está realizando una revisión mundial del taxón y los primeros resultados parecen indicar que bajo ese nombre se encierra una gran variabilidad genética, mayor en los ejemplares europeos que en los norteamericanos (Vis, com. pers.).

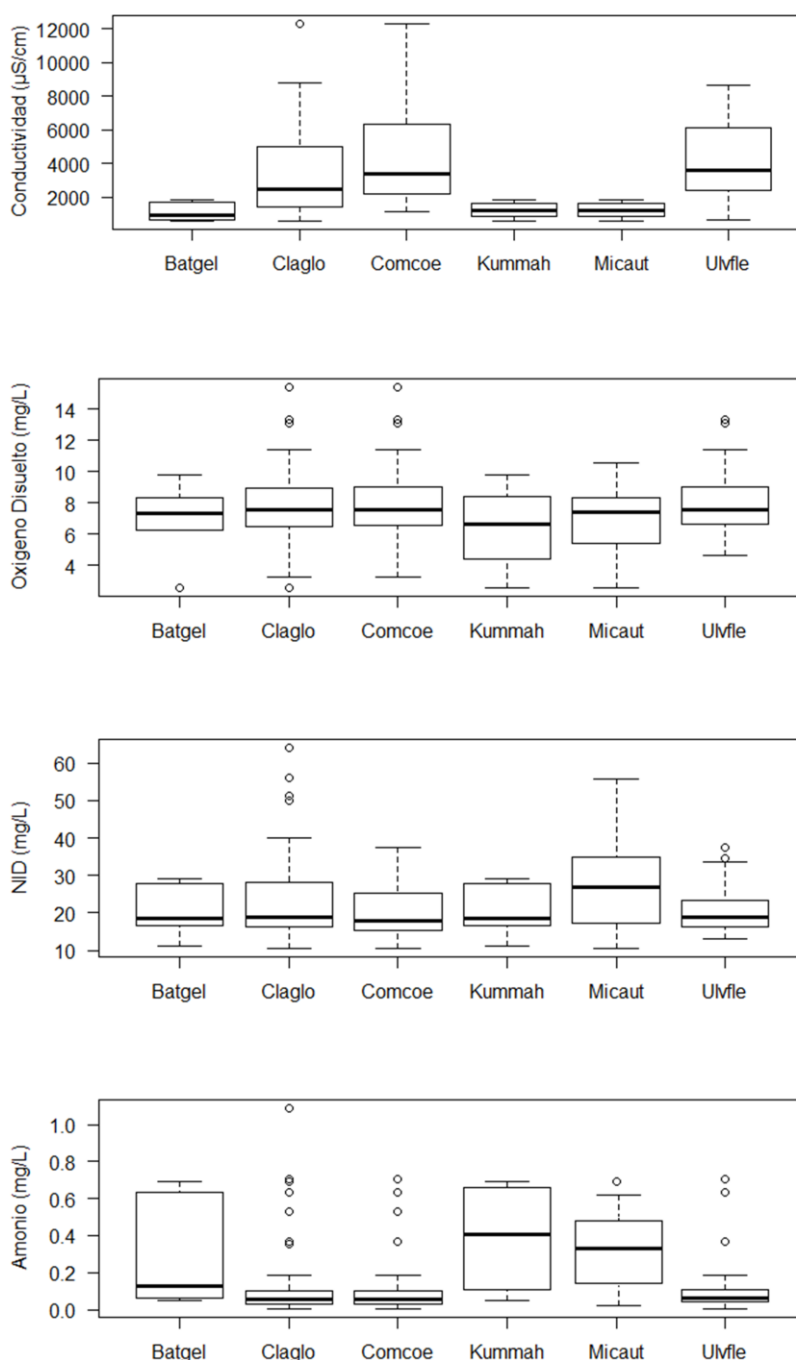


Figura 15. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y amonio para *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* (Batgel), *Cladophora glomerata* (Claglo), *Compsopogon coeruleus* (Comcoe), *Kumanoa mahlacensis* (Kummah), *Microcoleus autumnalis* (Micaut) y *Ulva flexuosa* (Ulvle).

Los datos de estudios previos en los azarbes mencionan su importancia por albergar comunidades complejas de hidrófitos junto con *Compsopogon coeruleus*, *Nitella confervacea*, *N. hyalina* y *Cladophora glomerata*, siendo esta última la especie dominante (Carretero, 1990; Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Estas especies continúan habitando los azarbes en el presente pero la biodiversidad de macroalgas se ha incrementado, especialmente de rodófitas. No es posible comparar la química del agua porque no existen datos previos, aunque probablemente la homogeneidad de estos hábitats es sólo aparente, ya que la presencia en alguno de ellos de especies como *Utricularia vulgaris* merece un estudio más en profundidad de sus condiciones ambientales y su dinámica anual, y quizá están ligados a la existencia de pequeñas surgencias.

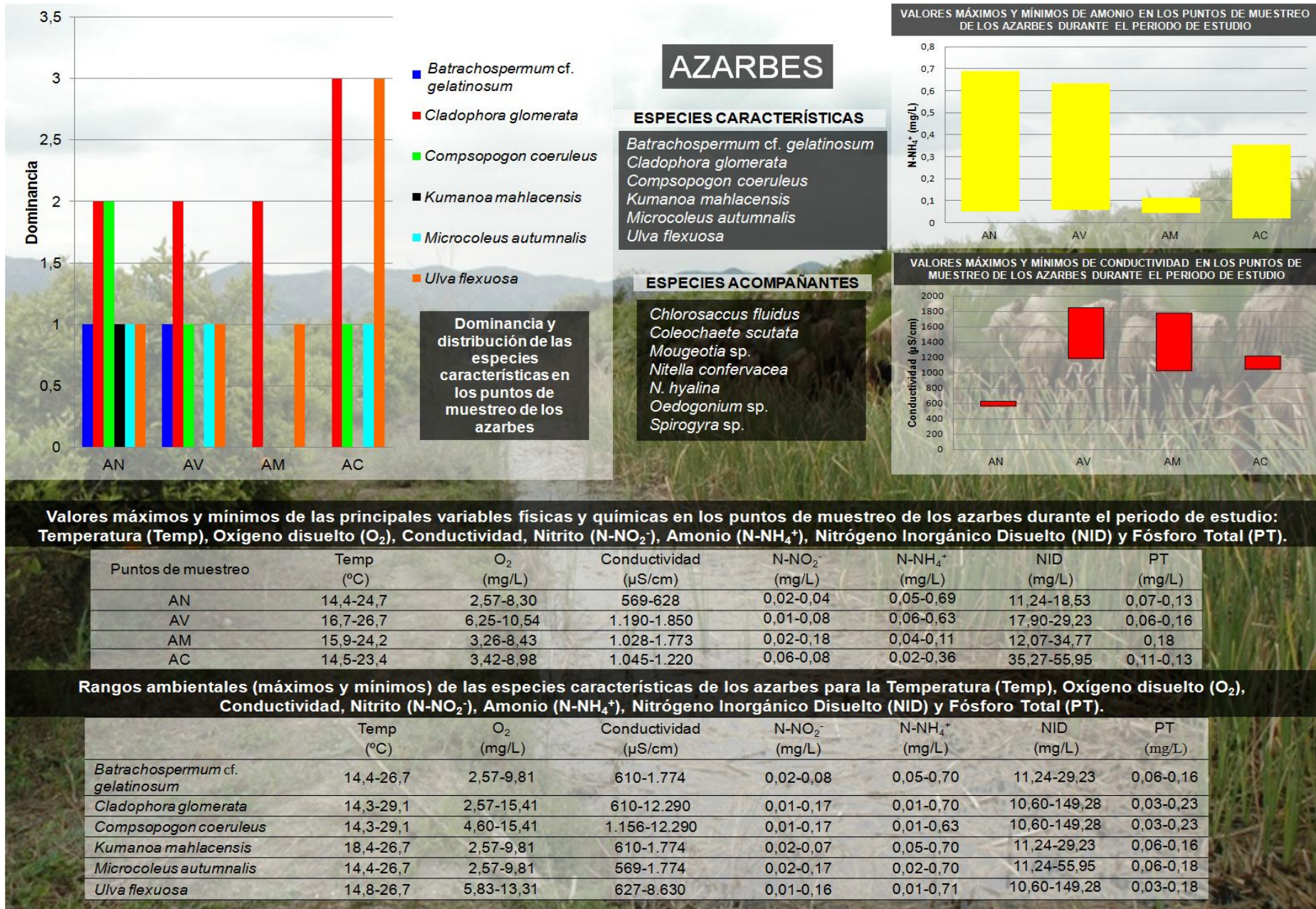


Figura 16. Macroalgas características y variables ambientales de los azarbes.

Arrozales

Los arrozales son ambientes acuáticos temporales, poco profundos pero extensos que requieren cantidades abundantes de agua. Enclavados por lo general sobre antiguas zonas húmedas, representan uno de los aprovechamientos humanos más extendidos en nuestras latitudes (CITMA, 2002). Los arrozales son considerados humedales, en los que la acusada estacionalidad hídrica representa un aspecto diferenciador respecto de los humedales naturales típicos. Por otro lado, a pesar de que este cultivo supone una marcada alteración de las condiciones naturales originales, cumple un papel determinante en la conservación de ciertos humedales, ya que favorece la disponibilidad de recursos tróficos y el mantenimiento de buena parte de las comunidades biológicas propias de este tipo de ambientes contribuyendo al incremento de la biodiversidad vegetal (Viñals et al., 1990).

En el marjal ocupan una superficie de 330 Ha y el agua es proporcionada por los ríos Bullent y Racons. La temperatura y la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto son elevadas y los niveles de oxígeno sufren grandes oscilaciones (Figura 18). También en los arrozales se han detectado recientemente altas concentraciones de fármacos y pesticidas (Vázquez-Roig et al., 2012).

En el área de estudio se pueden encontrar dos tipos de arrozales, los ecológicos y los que utilizan métodos tradicionales. Se diferencian fundamentalmente en que en los primeros utilizan una serie de medidas naturales para mantener y mejorar la fertilidad del suelo y minimizar el impacto de las plagas y la maleza sin recurrir a los pesticidas y herbicidas químicos (CITMA, 2002). La producción por hectárea es inferior en estos, pero los menores gastos que conllevan y el mejor precio al que se vende su arroz permiten que su cultivo pueda ser rentable. En los tradicionales las concentraciones de nutrientes son más elevadas. A pesar de que las condiciones químicas son diferentes en ambos tipos, no se ha encontrado ninguna diferencia significativa entre la distribución de las especies y la clase de arrozal. Destacan las especies *Chara braunii* C. C. Gmelin, *C. globularis* Thuiller, *Cladophora glomerata*, *Hydrodictyon reticulatum* (Linnaeus) Bory, *Pithophora roettleri* (Roth) Wittrock, *Sphaeroplea annulina* (Roth) C. Agardh, *Ulva flexuosa*, *Oedogonium* sp., *Spirogyra* sp., *Mougeotia* sp. y *Zygnema* sp.

Los arrozales albergan especies que son infrecuentemente citadas en un contexto español a pesar de su potencial abundancia, probablemente debido a su carácter temporal, aunque suelen mostrar una gran fidelidad a este tipo de ambientes: *Chara braunii*, *Pithophora roettleri* o *Sphaeroplea annulina*. *Chara braunii* ha sido citada previamente en charcas, embalses, canales y balsas, en aguas dulces o ligeramente salinas, y es común en arrozales (Cantoral Uriza & Aboal, 2001). Parece que algunas poblaciones actuales han prosperado a partir de introducciones ligadas al cultivo de arroz (Cirujano et al., 2008).

En general existe una gran diferencia en los rangos ambientales entre las especies que son características y exclusivas de los arrozales como son *Chara braunii*, *Hydrodictyon reticulatum*, *Pithophora roettleri* o *Sphaeroplea annulina* y las que se han observado aquí pero tienen una distribución mayor en el marjal como *Cladophora glomerata* y *Ulva flexuosa* (Figura 17). El rango de oxígeno disuelto y el de nitrógeno inorgánico disuelto es mucho mayor en las especies típicas de este ambiente y el rango de fósforo total muy estrecho y bajo.

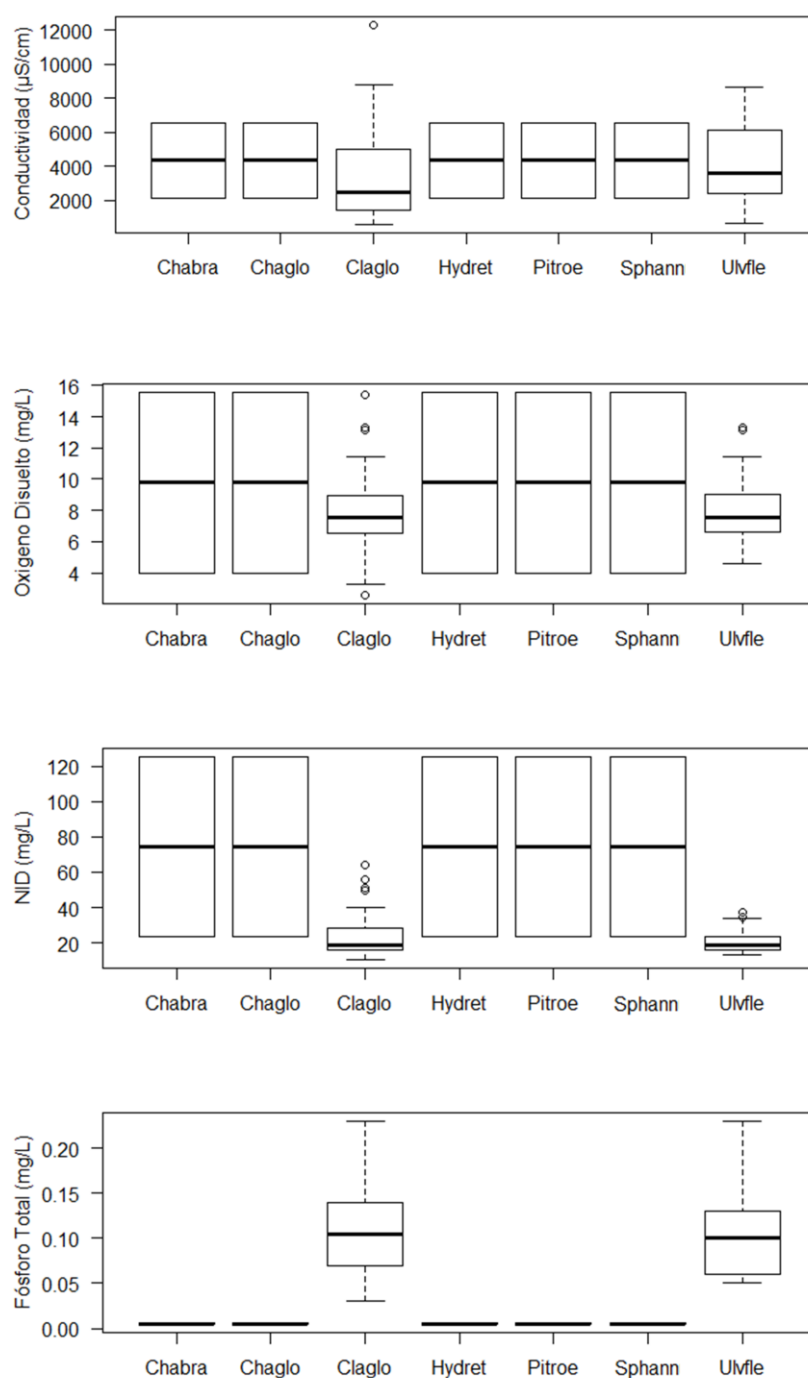


Figura 17. Rangos de conductividad, oxígeno disuelto, nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo total para *Chara braunii* (Chabra), *Chara globularis* (Chaglo), *Cladophora glomerata* (Claglo), *Hydrodictyon reticulatum* (Hydret), *Pithophora roettleri* (Pitroe), *Sphaeroplea annulina* (Sphann) y *Ulva flexuosa* (Ulvle).

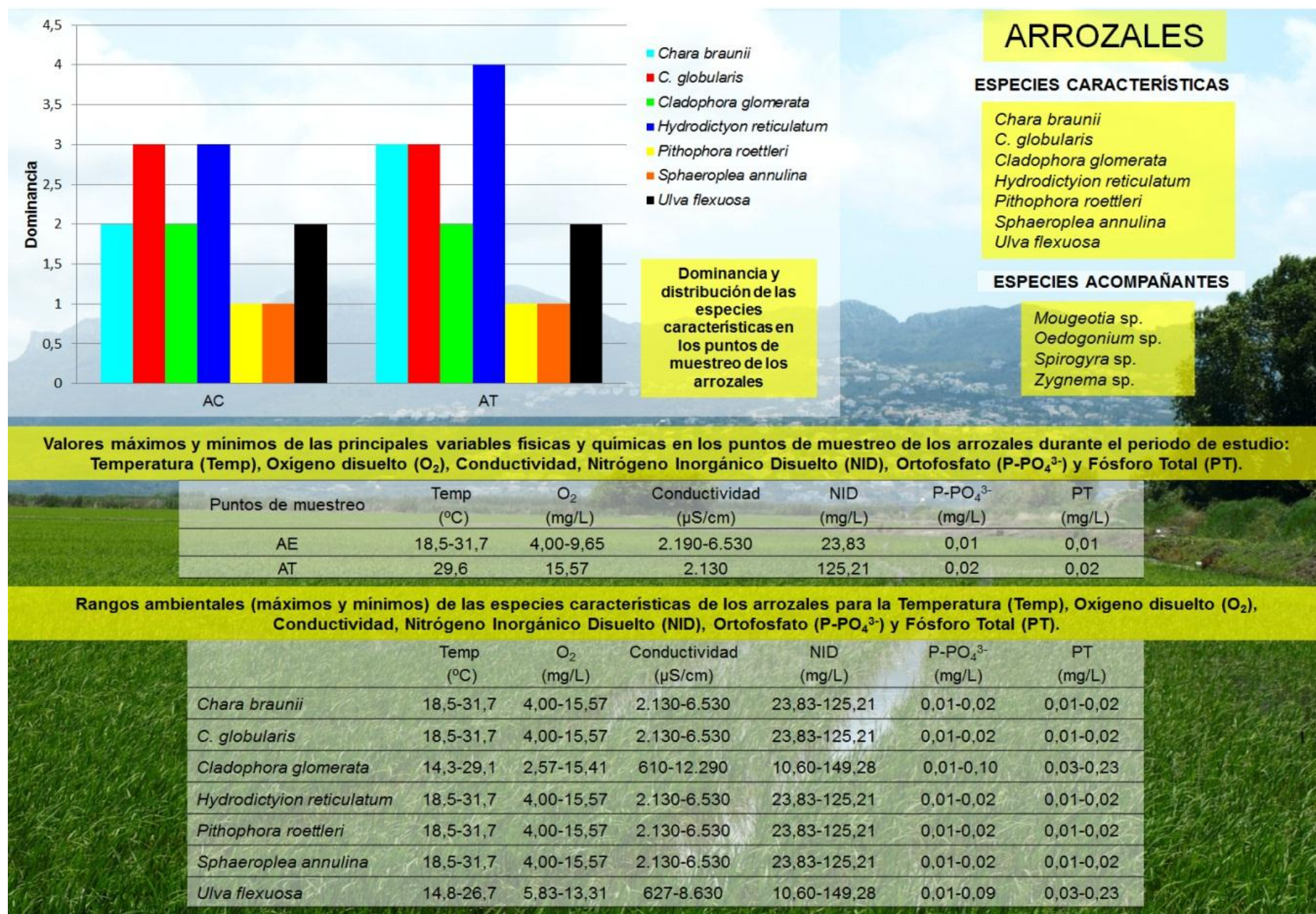


Figura 18. Macroalgas características y variables ambientales de los arrozales.

2.5.9. Identificación molecular, filogenia y distribución de las especies

Para confirmar la identidad de algunas especies de macroalgas se secuenció el gen plastidial (*rbcL*) que codifica la subunidad mayor de la enzima ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO), que es uno de los marcadores genéticos más utilizados en macroalgas. Las especies secuenciadas fueron *Compsopogon coeruleus*, *Kumanoa mahlacensis*, *Polysiphonia subtilissima*, *Sheathia arcuata* y *Thorea hispida*. Para *Polysiphonia subtilissima* se secuenció también el marcador molecular citocromo c oxidasa subunidad I (COI).

Compsopogon es un género de distribución tropical y subtropical, poco citado en Europa aunque bastante extendido en el litoral mediterráneo español. Su amplia tolerancia a distintas condiciones ambientales ha sido reconocida recientemente (Necchi et al., 2013). Desde que el género fue descrito con la separación de una sola especie (Montagne, 1846-1869) se han discutido los caracteres morfológicos específicos, pues la plasticidad morfológica dentro del género es elevada. Krishnamurthy (1962) reconoció seis especies de *Compsopogon* y elevó *Compsopogon leptoclados* al género *Compsopogonopsis*, género monoespecífico que se distingue de *Compsopogon* por la presencia de células rizoidales en el córtex. En la flora polaca Starmach (1977) reconocía hasta 9 especies de *Compsopogon*. Un estudio morfológico posterior que incluía ejemplares de Norteamérica y Brasil confirmó la existencia de los dos géneros y solamente tres especies, dos en *Compsopogon*: *Compsopogon coeruleus* y *C. prolificus* Yadava & Kumano y una en *Compsopogonopsis*: *Compsopogonopsis leptoclados* (Montagne) V. K. Krishnamurthy (Vis et al., 1992). La secuenciación del gen *rbcL* puso de manifiesto una diferenciación genética muy baja entre ellos (Rintoul et al., 1999). Posteriormente, Eloranta et al. (2011) reconocían 4 especies para la flora Centroeuropea: *Compsopogon aerugineus* (J. Agardh) Kützinger, *C. chalybeus* Kützinger, *C. coeruleus* y *C. hookeri* Montagne. En un estudio reciente la combinación de datos moleculares y morfológicos ha demostrado que *Compsopogon* es un género monoespecífico y que *C. coeruleus* es la designación correcta para la especie por ser la descripción más antigua publicada. La variabilidad genética entre las especies pertenecientes a este género es efectivamente muy baja. Su tolerancia a un amplio rango de condiciones ambientales (Tabla 10) y su vía de propagación a través de esporas probablemente sean las responsables de su ubicuidad en las regiones tropicales y subtropicales y de su escasa variabilidad genética (Necchi et al., 2013). La secuencia obtenida del gen *rbcL* del ejemplar recolectado en la Bassa Sineu del marjal de Pego-Oliva, atribuido a la especie *C. coeruleus* según los datos morfométricos, presentó un porcentaje de similitud del 100% con otros especímenes de *C. coeruleus* de zonas de distribución tropical.

El género *Kumanoa* difiere de *Batrachospermum* principalmente por la presencia de carposporófitos hemisféricos centrales en el verticilo y ramas carpogoniales claramente curvadas, retorcidas, o en espiral. Los análisis filogenéticos confirmaron que se trata de un grupo monofilético (Vis et al., 2012). *Kumanoa mahlacensis* ha sido citada en escasas localidades del mundo en un rango amplio de concentración de nutrientes y conductividad, aunque los datos sobre los requerimientos ecológicos de la especie son escasos. Fue descrita por primera vez en un nacimiento de agua de la isla de Guam (Islas Marianas, EE.UU.) sobre terrenos volcánicos y clima tropical (Kumano & Bowden-Kerby, 1986). Más tarde se recolectó en un área tropical en ríos de zona boscosa de Tailandia (Traichaiyaporn et al., 2004) y en regiones áridas, Texas y Nuevo México, al suroeste de Estados Unidos, (Vis et al., 2012). En el marjal de Pego-Oliva ha sido observada en un azarbe (Figura 19) en lo que representa la primera cita de la especie y del género para España y de la especie para Europa (García-Fernández et al., 2014). La conductividad y la concentración de nitratos y nitritos son mayores en el marjal que en la localidad de Tailandia. La concentración de amonio es elevada en la localidad española pero no existen datos en las otras localidades (Tabla 11). La temperatura y el pH son muy similares en todas las localidades donde se

ha citado esta especie. La secuencia del gen *rbcL* (1.282pb de longitud) confirmó que el espécimen recolectado en el marjal de Pego-Oliva era *K. mahlacensis*. Su secuencia tenía un porcentaje de similitud del 100% con las de Nuevo México y Texas. No se dispone de los datos de secuenciación del ejemplar de Guam. A pesar de que en un principio se consideraba una especie tropical, los nuevos datos parecen apuntar a una distribución cosmopolita.

	Localidad	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (μS/cm)	Hábitat
AMÉRICA	Luisiana (EE.UU.)	6,6	24	50	Surgencia (Spring Creek), Planicie
	Virginia (EE.UU.)	-	-	600-1.000	Río Jackson, Bosque templado
	Espírito Santo (Brasil)	7	15,9	32	Río Guandú, Bosque lluvioso atlántico
	Espírito Santo (Brasil)	6,4	16,9	19	Salto de agua, Bosque lluvioso atlántico
	Espírito Santo (Brasil)	6,7	15,3	18	Salto de agua, Bosque lluvioso atlántico
	São Paulo (Brasil)	7,4	17,3	247	Río Muquém, Savana brasileña
	São Paulo (Brasil)	7,2	19,3	685	Savana brasileña
	São Paulo (Brasil)	7,1	21,3	79	Río Petro, Bosque estacional semicaducifolio
	Sergipe (Brasil)	7,6	24,4	280	Río Traíras, Bosque tropical lluvioso
EUROPA	Austria	8	12,1	209	Río Pulkava, Bosque templado
	Lleida (España)	7,6	21,9	608	Río Ebro, Elevaciones montañosas de baja altitud
	Marjal de Pego-Oliva (España)	7,4	18,3	8.360	Surgencia de agua oligohalina, Matorral mediterráneo
	Zaragoza (España)	7,6	21,5	1.766	Río Ebro, Elevaciones montañosas de baja altitud mediterráneas
	Zaragoza (España)	7,6	21,9	1.024	Río Ebro, Elevaciones montañosas de baja altitud mediterráneas
OCEANÍA	Chuuck (Micronesia)	8,3	28,4	80	Salto de agua, Bosque tropical
	Guam (Micronesia)	8	27,7	280	Río Mahlack, Bosque tropical
	Hawaii (Polinesia)	8,1	22	90	Río Wailua, Bosque tropical lluvioso
	Hawaii (Polinesia)	7,8	24,4	120	Río Kahana, Bosque tropical lluvioso

Tabla 10. Variables físicas y químicas de los hábitats donde se recolectó *Compsopogon coeruleus* para su secuenciación molecular en Necchi et al. (2013). Se han incluido los datos relativos a la localidad del marjal de Pego-Oliva.

Localidad	T (°C)	pH	Conductividad (μS/cm)	O ₂ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NH ₄ ⁺ (mg/L)	PO ₄ ⁻³ (mg/L)
Guam (Micronesia)	25	7,2	-	-	-	-	-	-
Tailandia	19-21	7,08-7,35	86,7-93,0	-	0,5-1,7	0,002-0,003	-	0,21-0,31
España	20	7,5	610	6,25	10,54	0,02	0,69	0,03

Tabla 11. Comparación de las variables físicas y químicas de las localidades donde se ha recolectado *Kumanoa mahlacensis* (Traichaiyaporn et al., 2004; Vis et al., 2012; García-Fernández et al., 2014). En Tailandia se especifican los valores de las variables para las dos ocasiones en las que se recolectó la especie.

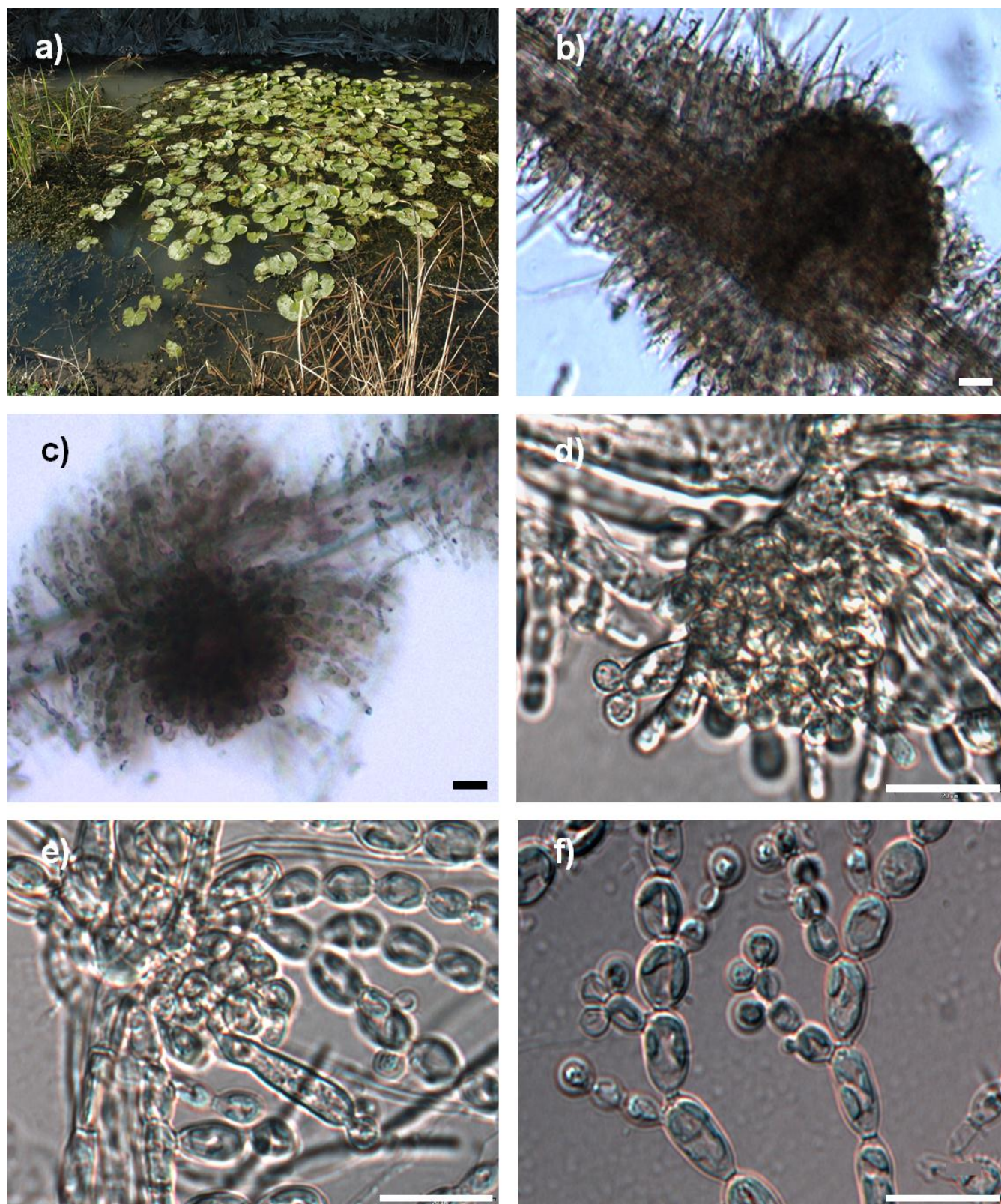


Figura 19. *Kumanoa mahlacensis*: a) Azarbe del marjal de Pego-Oliva donde se recolectó *Kumanoa mahlacensis* junto con *Nymphaea alba*, b) y c) Ejes principales con verticilos piriformes y un único carposporófito en la parte central, d) y e) Ramas carpogoniales curvadas que emergen de las células periaxiales, tricógina elipsoidal o claviforme más o menos pedunculada con espermacios adheridos, f) Espermacios esféricos en la parte terminal de los fascículos. Escala= 20 µm.

Polysiphonia subtilissima es una especie fundamentalmente marina citada en las costas de casi todos los continentes excepto en la Antártida (Lam et al., 2013); sin embargo, no ha sido recolectada en las costas atlánticas europeas ni en las costas españolas mediterráneas. En Florida (EEUU) fue citada en una surgencia de

agua dulce y cálida, en terrenos carbonatados, con elevada conductividad y a 170 Km de la influencia marina (Sheath & Cole, 1990) y en la isla de Jamaica en un río de características semejantes (Sheath et al., 1993). En el marjal de Pego-Oliva además de desarrollarse en nacimientos salinos donde es muy abundante, se ha recolectado en el tramo medio del río Bullent, un río con una conductividad y temperatura similar a las localidades de Florida y Jamaica (Figura 20, Tabla 12). A pesar de haber sido citada en varias ocasiones en aguas continentales su identificación taxonómica es problemática ya que normalmente no produce estructuras reproductoras sexuales y sólo se propaga vegetativamente. Las secuencias de las muestras del marjal y Florida eran idénticas con una similitud del 100% tanto para el marcador molecular COI (664pb de longitud) como para el gen *rbcL* (1.282bp de longitud). Al compararlas con otras secuencias de *P. subtilissima* de distribución marina se encontró un nivel de similitud del 96% para un ejemplar de Panamá y un 99% para dos ejemplares de Carolina del Norte y Hawai (Lam et al., 2013).

Localidad	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (µS/cm)	Hábitat
Florida (EE.UU.)	7,7	26	1.840	Surgencia
Jamaica	7,8	22	1.150	Río
Marjal de Pego-Oliva (España)	7,7	20,6	2.300	Río

Tabla 12. Comparación de las variables físicas y químicas de las localidades de agua dulce donde se ha recolectado *Polysiphonia subtilissima* (Sheath & Cole, 1990; Sheath et al., 1993; Lam et al., 2013).

Los valores de la matriz de distancias *p* no corregidas (proporción de diferencias de nucleótidos detectadas entre dos secuencias alineadas) para el gen *rbcL* entre los ejemplares de *P. subtilissima* de agua dulce y los marinos variaron de 0,0008 a 0,0204 (Tabla 13). El marcador COI es ligeramente más variable con valores para la matriz de distancias de 0 a 0,0407 (Tabla 14) entre los ejemplares de agua dulce y los marinos (Lam et al., 2013).

Taxón	España ¹	Florida ¹	Hawai (EU492919) ²	Carolina del Norte (492918) ²	Carolina del Norte (492917) ²	Panamá (HM573575) ²	<i>P. scop.</i> (EU492915)
España ¹	-	0	1	4	2	26	83
Florida ¹	0	-	1	4	2	26	83
Hawai (EU492919) ²	0,0008	0,0008	-	5	1	27	83
Carolina del Norte (492918) ²	0,0031	0,0031	0,0038	-	6	27	83
Carolina del Norte (492917) ²	0,0016	0,0016	0,0007	0,0045	-	28	85
Panamá (HM573575) ²	0,0204	0,0204	0,0211	0,0211	0,02181	-	81
<i>P. scop.</i> (EU492915)	0,0641	0,0641	0,0619	0,0623	0,06339	0,0632	-

¹ *P. subtilissima* de habitats de agua dulce.

² *P. subtilissima* de habitats marinos.

Tabla 13. Matriz de distancias *p* no corregidas (diagonal posterior) y cambios totales de nucleótidos (diagonal superior) en el gen *rbcL* para los ejemplares de *P. subtilissima* y *P. scopulorum* var. *villum* (*P. scop.*).

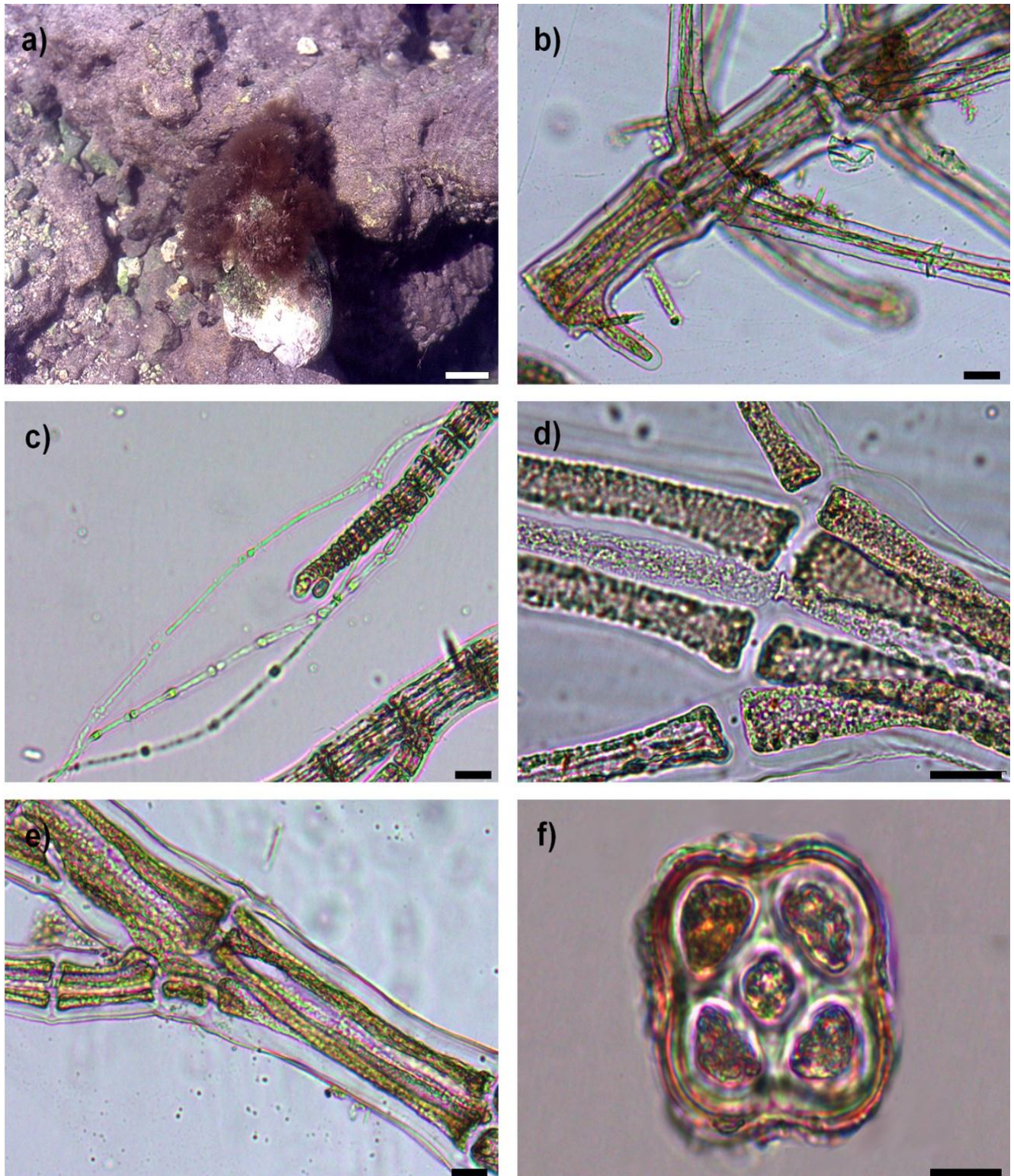


Figura 20. *Polysiphonia subtilissima*: a) Filamentos de *P. subtilissima* creciendo sobre roca, b) Filamento con rizoides que crecen a partir de las células pericentrales, c) Tricoblastos apicales ramificados, d) Vista longitudinal del eje con cuatro células pericentrales, e) Pared celular y las cuatro células pericentrales, f) Sección transversal, célula central rodeada de cuatro células pericentrales. Escala a)= 3 cm. Escala b), c), d), e), f)= 20 μ m.

Todos los datos moleculares mostraron que las poblaciones marinas y de agua dulce son conespecíficas. Los resultados de la matriz de distancias para los genes *rbcl* y *COI* sugieren que las especies de agua dulce y marina de *P. subtilissima* son más similares entre sí que cuando se comparan con la especie cercana *P. scopulorum* var. *villum*. Los caracteres morfológicos de los ejemplares de *Polysiphonia* de agua dulce de Florida,

Jamaica y España y las variables químicas del agua en las distintas localidades eran muy similares. Aunque la presencia de esta especie en aguas dulces no es frecuente, ya que la cita del marjal es la tercera en el mundo, los datos confirman su amplia tolerancia a la salinidad (Lam et al., 2013). El hecho de que haya perdido, hasta donde sabemos, la capacidad de reproducirse sexualmente en este tipo de ambientes puede ser debido al hecho de encontrarse en el límite de su distribución, como se cree que ocurre con *Polysiphonia stricta* (Dillwyn) Greville, especie típicamente marina que ha perdido la capacidad reproductora al adaptarse a vivir en aguas de baja salinidad (Maggs & Hommersand, 1993).

Taxón	España ¹	Florida ¹	Carolina del Norte (HM573529) ²	Panamá (HM573528) ²	<i>P. scop.</i> (HM573535)
España ¹	-	0	0	21	68
Florida ¹	0	-	0	21	68
Carolina del Norte (HM573529) ²	0	0	-	21	64
Panamá (HM573528) ²	0,0407	0,0407	0,0405	-	55
<i>P. scop.</i> (HM573535)	0,1028	0,1028	0,1018	0,1066	-

¹ *P. subtilissima* de habitats de agua dulce.

² *P. subtilissima* de habitats marinos.

Tabla 14. Matriz de distancias *p* no corregidas (diagonal posterior) y cambios totales de nucleótidos (diagonal superior) en el gen COI para los ejemplares de *P. subtilissima* y *P. scopulorum* var. *villum* (*P. scop.*).

Thorea hispida y *T. violacea* son especies de distribución mundial pero escasamente citadas y más extendidas en regiones tropicales y subtropicales o en aguas templadas. En el marjal ambas han sido recolectadas pero en ambientes totalmente diferentes. La primera, en el tramo medio del río Bullent con una conductividad y concentración de nutrientes moderada, y la segunda en un nacimiento de agua mesohalina a una conductividad y temperatura alta y constante a lo largo del año y en condiciones eutróficas. La secuencia genética del gen *rbcL* del ejemplar de *T. hispida* del marjal confirmó su identidad, pero todavía está pendiente de verificar la identidad de *T. violacea*. Carmona & Necchi (2001) propusieron (inválidamente) la sinonimia de *T. hispida* y *T. violacea*, de acuerdo con los datos morfométricos de poblaciones de México y Brasil, puesto que el único carácter diferenciador entre ambas especies es la densidad de ramificación secundaria. Recientemente los análisis moleculares de poblaciones de *T. hispida* y *T. violacea* de distintas partes del mundo parecen confirmar la existencia de las dos especies (Necchi et al., 2010a), pero resulta prioritaria la búsqueda de caracteres diagnósticos que permitan su diferenciación a efectos de bioindicación.

El género *Hildenbrandia* está ampliamente distribuido en ambientes marinos y dulceacuícolas. En el continente europeo *H. rivularis* (Liebmann) J. Agardh es la especie de agua dulce más citada, aunque *H. angolensis*, considerada de distribución tropical o subtropical, ha sido recolectada en España en el marjal de Pego-Oliva y en Riópar (Albacete) (Ros et al., 1997). Los análisis filogenéticos realizados hasta la fecha parecen establecer que *H. rivularis* y *H. angolensis* son especies diferentes porque se sitúan en dos clados claramente distintos (Sherwood & Sheath, 2000). Ambas crecen en ambientes oligotróficos en condiciones de escasa iluminación pero en rangos de temperatura diferentes, *H. rivularis* se desarrolla en aguas frías e *H. angolensis* en aguas cálidas (Carmona & Necchi, 2001). En el marjal de Pego-Oliva *H. angolensis* se ha observado en nacimientos de agua dulce transparente y cálida. Aunque algunos autores (Boira, 1988) sostienen que las condiciones climáticas de esta zona y algunas de las especies vegetales que crecen poseen un carácter subtropical, se necesitan estudios moleculares de *H. angolensis* para aclarar su identidad y/o su posible sinonimia con *H. rivularis* puesto que los caracteres morfológicos para identificar ambas especies a menudo se solapan.

Se ha intentado en diversas ocasiones secuenciar el gen plastidial *rbcL* de *H. angolensis* del marjal de Pego-Oliva, pero no se obtuvieron bandas de amplificación. La obtención de ADN representativo de especies que crecen sobre superficies rocosas es difícil debido a las bajas concentraciones de ácidos nucleicos que se pueden extraer normalmente del material rocoso y la frecuente aparición en los extractos de distintos compuestos inhibidores (Alain et al., 2011).

El género *Sheathia* ha sido propuesto para incluir las especies previamente englobadas en la sección *Helminthoidea* de *Batrachospermum*. *Sheathia* difiere de *Batrachospermum* por la presencia de corticación irregular con células bulbosas. *Sheathia arcuata* a pesar de no presentar esta característica distintiva se sitúa en los análisis filogenéticos en el mismo clado que el resto de especies con corticación irregular. Se hipotetiza que esta característica morfológica era compartida por un antecesor común y que *S. arcuata* la ha perdido a lo largo de su proceso evolutivo (Salomaki et al., 2014). *S. arcuata* es una especie de distribución mundial, común en Europa y con una plasticidad morfológica considerable que podría incluir especies crípticas (Vis et al., 2010). En España ha sido escasamente citada debido probablemente a su confusión con la ampliamente distribuida *Batrachospermum gelatinosum* por su similitud morfológica. Uno de los caracteres clave tradicionales para diferenciar ambas especies es el tipo de reproducción, siendo *B. gelatinosum* monoica y *S. arcuata* dioica. Sin embargo, recientemente se ha constatado que este no es un buen carácter diferenciador dentro del orden Batrachospermales (Stewart & Vis, 2007). Las secuencias obtenidas del gen *rbcL* de los ejemplares recolectados en surgencias de agua y en el nacimiento del río Bullent del marjal de Pego-Oliva, atribuidos entonces a la especie *Batrachospermum arcuatum* según los datos morfométricos, presentaron un porcentaje de similitud del 100% entre sí y con otros especímenes de *B. arcuatum* de localidades bastante alejadas.

2.5.10 Impactos

Los principales impactos que afectan al marjal de Pego-Oliva provienen principalmente del uso que tradicional y actualmente se ha hecho del territorio, y algunas prácticas que son incompatibles con la conservación del humedal (Viñals, 1996). Además, las relaciones no fluidas entre la administración regional y la población y los grupos conservacionistas no favorecen una gestión adecuada. Las actividades que afectan directamente al marjal son la agricultura, la caza, la pesca, las especies exóticas invasoras, la urbanización y otros problemas derivados de su manejo.

Agricultura

El principal impacto sufrido en el marjal fue su transformación para uso agrícola a través de sistemas de drenaje (canales y sistemas de bombeo) y puesta en cultivo a partir del siglo XVIII. En la actualidad el cultivo de cítricos es la actividad agrícola más importante junto con las plantaciones de arroz. Mediante un sistema de compuertas se controla el nivel de las aguas en los canales de riego-drenaje y derivan las procedentes de los ríos para la inundación periódica de los campos de arroz (Ballesteros Navarro et al., 2009). Las aguas que provienen del regadío de los cultivos son vertidas directamente al marjal afectando principalmente al río Racons por su proximidad (Viñals, 1996), lo que ha ocasionado el lamentable estado del río durante años, especialmente en los

90 cuando se llegaron a encontrar incluso poblaciones de peces muertos. Desde entonces, su regeneración ambiental ha sido progresiva y actualmente parece estar bastante recuperado.

Caza

La caza en los marjales es un asunto controvertido puesto que a pesar de sus diversos inconvenientes implica que los propietarios de los terrenos mantengan el humedal inundado. Los efectos más perjudiciales han sido la utilización de perdigones de plomo y la utilización de perros para la caza de *Gallinula chloropus* (Linnaeus, 1758) o gallineta común que no seleccionan la presa (Viñals, 1996).

Con la aprobación del Plan de Ordenación de Recursos Naturales (Decreto 280/2004, 2004) se regularon los planes de aprovechamiento cinegético en terrenos de régimen cinegético especial. Los titulares de los cotos deben contar con un plan técnico de aprovechamiento cinegético, como instrumento de gestión para el aprovechamiento de la riqueza cinegética de modo compatible con su capacidad biológica y potenciación de las especies existentes.

Pesca

Existen dos reservas de pesca deportiva que no son incompatibles con la conservación del marjal. El principal problema ha sido la introducción de especies exóticas como *Procambarus clarki* (Girard, 1852) o cangrejo rojo americano, *Micropterus salmoides* (Lacépède, 1802) o “black bass” y *Ciprinus carpio* (Linnaeus, 1758) o carpa común (Viñals, 1996). Afortunadamente las dos últimas especies constituyen un porcentaje importante de las capturas contribuyendo de esta manera al control de especies invasoras.

Especies exóticas invasoras

Los gestores del Parque Natural llevan trabajando años para la erradicación de las especies de plantas exóticas invasoras *Egeria densa* y *Ludwigia grandiflora* de los ríos y canales. Se pretende frenar la proliferación masiva de estas especies que amenazan con desplazar la flora acuática autóctona del Parque con graves consecuencias medioambientales. Para lograr su eliminación y restaurar los hábitats, *Ludwigia grandiflora* se pulveriza con inhibidores hormonales y *Egeria densa* se extrae de forma mecánica con retroexcavadoras (Generalitat Valenciana, 2008).

Urbanización

En los últimos años el boom de las urbanizaciones turísticas próximas al marjal y la expansión urbanística en primera línea de playa han sido responsables de los principales focos de contaminación (Vázquez-Roig et al., 2012). Debido al mal funcionamiento de la depuradora de agua encargada de depurar las aguas procedentes de las nuevas urbanizaciones, las aguas residuales son vertidas al marjal (Viñals, 1996). El río Racons, cercano a las urbanizaciones, es el río más afectado por estos residuos.

Manejo y conservación

Después de su declaración como Parque Natural, entre 1996 y 1998, se produjeron quemadas intencionadas de vegetación, se instalaron bombas para extraer agua y rebajar el nivel del agua del humedal y se construyeron

Introducción general

caminos y diques afectando a 600 Ha, alrededor de la mitad de la superficie total. Todas estas actuaciones ilegales derivaron en problemas judiciales (Ferrandis & Garrido, 2007).

El marjal de Pego-Oliva es considerado por la Directiva Marco del Agua como sistema de aguas de transición por lo que es imprescindible la mejora del estado ecológico de sus aguas, y la protección de sus aguas subterráneas mediante una gestión integral de cuenca hidrográfica.

Este sistema transformado y manejado por el hombre desde el siglo XVIII, constituye un refugio de biodiversidad extraordinario por la presencia de algunas especies bastante raras a nivel nacional, incluso europeo: *Kumanoa mahlacensis*, *Hildenbrandia angolensis*, *Polysiphonia subtilissima* o *Thorea violacea*.

La información que aportan las algas resulta esencial para comprender la dinámica de este tipo de sistemas y demuestra la importancia de su estudio a la hora de evaluar la calidad ecológica de los cuerpos de agua, deberían ser una herramienta a considerar en los planes de gestión de calidad acuática.

Los marjales mediterráneos se verán muy afectados por el cambio climático que incrementará la carga de nutrientes y la salinidad por aumento de la evapotranspiración (Jeppesen et al., 2011), la intrusión marina y la sobreexplotación de acuíferos. Todos estos factores juntos amenazan gravemente su supervivencia.

2.6 Referencias

- Abellán P, Sánchez-Fernández D, Velasco J, Millán A, 2005. Conservation of freshwater biodiversity: a comparison of different area selection methods. *Biodiversity and Conservation* 14: 3457-3474.
- Aboal M, 1988. Diatomées des cours d'eau saumâtres temporaires ou permanentes du SE de l'Espagne. *Memories Société Royal Botanique Belgique* 10: 48-54.
- Aboal M, Alcaraz F, Barreña JA, Egidos AI, 2003a. El componente vegetal en los humedales de la Región de Murcia: catalogación, evaluación de la rareza y propuestas de medidas para su conservación. *Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Región de Murcia, Murcia*.
- Aboal M, Álvarez-Cobelas M, Luc E, 2003b. Floristic List of Non-Marine Diatoms (Bacillariophyceae) of Iberian Peninsula, Balearic and Canary Islands. In: Witkowski A (eds.). *Diatom Monographs*, vol. 4. ARG Gantner Verlag KG.
- Aboal M, García-Fernández ME, Roldán M, Whitton BA, 2014. Ecology, morphology and physiology of *Chroothoece richteriana* (Rhodophyta, Stytonematophyceae) in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain. *European Journal of Phycology* 49(1): 83-96.
- Aboal M, Puig MA, Soler G, 1996. Diatom assemblages in some Mediterranean temporary streams in southeastern Spain. *Archiv für Hydrobiologie* 136(4): 509-527.
- Acuerdo de 10 de septiembre de 2002, 2002. Acuerdo de 10 de septiembre de 2002, del Gobierno Valenciano, de aprobación del Catálogo de Zonas Húmedas de la Comunidad Valenciana. *Diari Oficial de la Comunitat Valenciana* 4.336, 16 de septiembre de 2002. pp. 23313-23331.
- AFNOR, 2003. Qualité de l'eau: Détermination de l'indice biologique macrophytique en rivière (IBMR). NF 90-395. Association Française de Normalisation, Paris.
- Agapow PM, Bininda-Emonds ORP, Crandall KA, Gittleman JL, Mace GM, Marshall JC, et al., 2004. The impact of species concept on biodiversity studies. *The Quarterly Review of Biology* 79: 161-179.
- Agència Catalana de l'Aigua, 2003. Desenvolupament d'un índex integral de qualitat ecològica i regionalització ambiental dels sistemes lacustres de Catalunya. Departament de Medi Ambient i Habitatge de la Generalitat de Catalunya, Barcelona.
- Alain K, Callac N, Ciobanu MC, Reynaud Y, Duthoit F, Jebba M, 2011. DNA extractions from deep seafloor sediments: Novel cryogenic-millbased procedure and comparison to existing protocols. *Journal of Microbiological Methods* 87(3): 355-362.
- Albertin AR, Sickman JO, Pinowska A, Stevenson RJ, 2012. Identification of nitrogen sources and transformations within karst springs using isotope tracers of nitrogen. *Biogeochemistry* 108: 219-32.
- Álvarez-Cobelas M, 1984. Catálogo de las algas continentales españolas II: Craspedophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Haptophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Xanthophyceae. *Acta Botanica Malacitana* 9: 27-40.
- Álvarez-Cobelas M, 1988. Catálogo de las algas de las aguas continentales españolas V. Cyanophyceae Schaffner. *Acta Botanica Malacitana* 13: 53-76.
- Álvarez-Cobelas M, Gallardo T, 1988. Catálogo de las Cianobacterias de las aguas continentales españolas. *Acta Botanica Malacitana* 13: 53-76.
- Álvarez-Rogel J, Ortiz-Silla R, Alcaraz-Ariza F, 2001. Edaphic characterization and soil ionic composition influencing plant zonation in a semiarid Mediterranean salt marsh. *Geoderma* 99: 81-98.
- Anderson S, 2002. Identifying important plant areas. *Plantlife International*, London.
- Angiolini C, Landi M, Pieroni G, Frignani F, Finoia MG, Gaggi C, 2013. Soil chemical features as key predictors of plant community occurrence in a Mediterranean coastal ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 119: 91-100.
- Ardre F, 1957. Florule hivernale de la Ria de Vigo. *Revue Algologique, Nouvelle Serie* 3: 135-146.
- Ballesteros BJ, Rodríguez-Hernández L, Domínguez JA, Díaz-Losada E, 2007. Determinación de la relación entre zonas húmedas y acuíferos asociados mediante modelos de flujo y transporte. Aplicación a la gestión

Introducción general

- sostenible del acuífero de Pego-Denia (Alicante). IGME-DPA, Instituto Geológico y Minero de España, Fondo documental, Madrid.
- Ballesteros Navarro BJ, Domínguez-Sánchez JA, Díaz-Losada E, García-Menéndez O, 2009. Zonas húmedas mediterráneas y acuíferos asociados. Condicionantes hidrogeológicos del Marjal de Pego-Oliva (Alicante, Valencia). Boletín Geológico y Minero 120(3): 4478-4549.
- Bárbara I, Cremades J, 1996. Seaweeds of the Ría de A Coruña (NW Iberian Peninsula, Spain). Botanica Marina 39: 371-388.
- Bárbara I, Cremades J, Calvo S, López-Rodríguez MC, Dosil J, 2005. Checklist of the benthic marine and brackish Galician algae (NW Spain). Anales del Jardín Botánico de Madrid 62: 69-100.
- Bárbara I, Cremades J, Pérez-Cirera JL, 1995. Zonación de la vegetación bentónica marina en la Ría de A Coruña (N.O. de España). Nova Acta Científica Compostelana (Biología) 5: 5-23.
- Bárbara I, Díaz P, Cremades J, Peña V, López-Rodríguez MC, Berceibar E, Santos R, 2006. Catálogo gallego de especies amenazadas y lista roja de las algas bentónicas marinas de Galicia. Algas (Boletín de la Sociedad Española de Ficología, SEF) 35: 9-19.
- Barrios Barcía E, Puig Infante A, (eds.), 2012. ID-TAX, Catálogo y claves de identificación de organismos del grupo de macrófitos utilizados como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.
- Basset A, Sabetta L, Fonnesu A, Mouillot D, Do Chi T, Viaroli P, et al., 2006. Typology in Mediterranean transitional waters: new challenges and perspectives. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems 16(5): 441-455.
- Bastviken S, 2006. Nitrogen removal in treatment wetlands. Factors influencing spatial and temporal variations. Dissertation, Linköping University. pp. 35.
- Baumberger T, Affre L, Croze T, Mesléard F, 2012. Habitat requirements and population structure of the rare endangered *Limonium girardianum* in Mediterranean salt marshes. Flora 207: 283-293.
- Belando MD, Marín A, Aboal M, 2012. *Licmophora* species from a Mediterranean hypersaline coastal lagoon (Mar Menor, Murcia, SE Spain). Nova Hedwigia 141: 275-288.
- Bianchi F, Acri F, Aubry FB, Berton A, Boldrin A, Camotti E, Cassin D, Comaschi A, 2003. Can plankton communities be considered as bio-indicators of water quality in the Lagoon of Venice? Marine Pollution Bulletin 46(8): 964-71.
- Blanco C, 1974. Estudio de la contaminación de la Albufera de Valencia y de los efectos de dicha contaminación sobre la fauna y flora del lago. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia. pp. 193.
- Blaženčić J, Stevanović B, Blaženčić Z, Stevanović V, 2006. Red Data List of Charophytes in the Balkans. Marine, Freshwater, and Wetlands Biodiversity Conservation 4: 77-89.
- Bohunická M, Johansen JR, Fucíková K, 2011. *Tapinothrix clintonii* sp. nov. (Pseudanabaenaceae, Cyanobacteria), a new species at the nexus of five genera. Fottea 11: 127-140.
- Boira H, 1988. Flora y Vegetación del Marjal de Pego-Oliva. Ayuntamiento de Oliva, Valencia.
- Brodie J, John DM, Tittley I, Holmes MJ, Williamson DB, 2007. Important Plant Areas for algae: a provisional review of sites and areas of importance for algae in the United Kingdom. Plantlife International, Salisbury, UK.
- Burger J, 1985. Habitat Selection in Temperate Marsh-Nesting Birds. In: Cody ML (ed.). Habitat Selection in Birds. Academic Press, London.
- Calvo S, Bárbara I, 2002. Algas bentónicas de las marismas de Ortigueira, Betanzos, Baldaio y Corrubedo (Galicia, España). Nova Acta Científica Compostelana (Biología) 12: 5-34.
- Calvo S, Bárbara I, Cremades J, 1999. Benthic algae of salt-marshes (Corrubedo Natural Park, NW Spain): the flora. Botanica Marina 42: 343-353.
- Cambra J, Álvarez-Cobelas M, Aboal M, 1998. Lista florística y bibliográfica de los clorófitos (Chlorophyta) de la península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. Asociación Española de Limnología. pp. 614.

- Cantoral Uriza EA, Aboal M, 2001. El Marjal Pegó-Oliva: evolución temporal de la flora de macroalgas. *Limnetica* 20(1): 159-171.
- Cantoral-Uriza EA, Aboal M, 2008. Diatomeas (Bacillariophyceae) del marjal de Pegó-Oliva (Comunidad Valenciana, España). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 65(1): 111-128.
- Cantoral-Uriza EA, Aboal M, 2010. Comunidades algales bentónicas de algunas fuentes del marjal Oliva-Pegó, Comunidad Valenciana, España. *Limnetica* 29(2): 287-300.
- Carmona J, Necchi O Jr, 2001. Systematics and distribution of *Thorea* (Thoreaceae, Rhodophyta) from central Mexico and south-eastern Brazil. *Phycological Research* 49: 231-40.
- Carmona-Jiménez J, Montejano G, González-González J, 2002. Taxonomía y distribución de *Hildenbrandia* Nardo (Hildenbrandiales, Rhodophyta) de agua dulce en la región de México. *Hidrobiologica* 12(1): 7-14.
- Carretero CJL, 1990. Macrófitos acuáticos de la provincia de Alicante. *Medi Natural* 2: 45-55.
- Chapuis IS, Aboal M, Gómez V, Martínez Salmerón V, Luque Y, Sánchez Castillo P, 2012. Approach to the use of Lemnaceae (Rhodophyta) as bioindicators of the environmental quality of the Hydrographic Duero Basin. *International Symposium on Use of Algae for Monitoring Rivers VIII*, 2012 Jun 19-22, Madrid, España.
- Chapuis IS, Sánchez Castillo PM, Aboal Sanjurjo M, 2014. Checklist of freshwater red algae in the Iberian Peninsula and the Balearic Islands. *Nova Hedwigia* 98 1(2): 213-232.
- Cires Rodríguez E, Cuesta Moliner C, 2010. Checklist of benthic algae from the Asturias coast (North of Spain). *Boletín de Ciencias de la Naturaleza RIDEA* 51: 135-212.
- Cirujano S, Cambra J, Sánchez Castillo PM, Meco A, Flor Arnau N, 2008. Flora Ibérica algas continentales. Carófitos (Characeae). Real Jardín Botánico, Madrid.
- CITMA, 2002. Importancia del cultivo del arroz en el Parc Natural de l'Albufera. Oficina de gestión técnica del Parc Natural de l'Albufera, Conselleria de Medio Ambiente, Generalitat Valenciana, Valencia.
- COACV, 1984. Espacios Naturales. Provincia de Alicante. Colegio Oficial de Arquitectos de Valencia, Caja de Ahorros Provincial de Alicante, Alicante.
- Cole KM, Sheath RG, 1990. Biology of the red algae. Cambridge University press, Cambridge.
- Conde F, Flores-Moya A, Soto J, Altamirano M, Sánchez A, 1996. Check-list of Andalusia (S. Spain) seaweeds. III. Rhodophyceae. *Acta Botanica Malacitana* 21: 7-33.
- Dambska I, 1964. Charophyta-Ramienice. In: Starmach K (ed.). *Flora Slodkowodna Polski*, T. 13. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- De Pascalis F, Pérez-Ruzafa A, Gilabert J, Marcos C, Umgieser G, 2012. Climate change response of the Mar Menor coastal lagoon (Spain) using a hydrodynamic finite element model. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 114: 118-129.
- Decisión de la Comisión de 19 de julio de 2006, 2006. Decisión de la Comisión, de 19 de julio de 2006, por la que se adopta, de conformidad con la Directiva 92/43/CEE del Consejo, la lista de lugares de importancia comunitaria de la región biogeográfica mediterránea. *Diario Oficial de la Unión Europea* L 259, de 21 de septiembre de 2006. pp. 1-104.
- Decreto 32/2004, 2004. Decreto 32/2004, de 27 de febrero, del Consell de la Generalitat, por el que se crea y regula el Catálogo Valenciano de Especies de Fauna Amenazadas, y se establecen categorías y normas para su protección. *Diari Oficial de la Comunitat Valenciana* 4.705, 4 de marzo de 2004. pp. 4.963-4.973.
- Decreto 280/2004, 2004. Decreto 280/2004, de 17 de diciembre, del Consell de la Generalitat, por el que se aprueba el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales del Parc Natural del Marjal de Pegó-Oliva. *Diari Oficial de la Comunitat Valenciana* 4.910, 24 de diciembre de 2004. pp. 33.200-33.225.
- Del Barrio Fernández P, García Gómez A, García Alba J, Álvarez Díaz C, Revilla Cortezón JA, 2012. A model for describing the eutrophication in a heavily regulated coastal lagoon. Application to the Albufera of Valencia (Spain). *Journal of Environmental Management* 112: 340-352.
- Dell'Uomo A, 1991. Use of benthic macroalgae for monitoring rivers in Italy. In: Whitton BA, Rott E, Friedrich G (eds.). *Proceedings of an International Symposium on Use of Algae for Monitoring Rivers*, 1991 May 26-28, Düsseldorf, Germany. STUDIA Studentenförderungs-Ges. m.b.H., Innsbruck.

Introducción general

- Di Rita F, Simone O, Caldara M, Gehrels WR, Magri D, 2011. Holocene environmental changes in the coastal Tavoliere Plain (Apulia, southern Italy): A multiproxy approach. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310: 139-151.
- Directiva 2000/60/EC, 2000. Directiva 2000/60/EC del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de la Unión Europea* L327, 22 de diciembre de 2000. pp. 1-72.
- Durán JJ, Domingo AG, López Geta JA, Robledo PA, Soria JM, 2005. Humedales del Mediterráneo español: modelos geológicos e hidrogeológicos. Instituto Geológico y Minero de España, Madrid.
- Egidios AI, Aboal M, 2003. *Thorea violacea* Bory de Saint-Vincent (Thoreaceae, Rhodophyceae) en una surgencia del Marjal Pego-Oliva, Comunidad Valenciana. Nueva cita para la flora algal española. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 60: 27-32.
- Eloranta P (ed.), 2004. Inland and coastal waters of Finland. University of Helsinki, Palmenia publishing, Saarijärvi.
- Eloranta P, Kwandrans J, 1996a. Distribution and ecology of freshwater red algae (Rhodophyta) in some central Finnish rivers. *Nordic Journal of Botany* 16(1): 107-117.
- Eloranta P, Kwandrans J, 1996b. Testing the use of diatoms and macroalgae for river monitoring in Finland. In: Whitton BA, Rott E (eds.). *Proceedings of an International Symposium on Use of Algae for Monitoring Rivers II*, 1995 Sep 17-19, Innsbruck, Austria. STUDIA Studentenförderungs-Ges. m.b.H, Innsbruck.
- Eloranta P, Kwandrans J, 2002. Notes of some interesting freshwater Rhodophyta from Finland. *Archiv für Hydrobiologie, Supplementband Algological Studies* 105: 95-109.
- Eloranta P, Kwandrans J, 2004. Indicator value of freshwater red algae in running waters for water quality assessment. *Oceanological and Hydrobiological Studies, International Journal of Oceanography and Hydrobiology* 33(1): 47-54.
- Eloranta P, Kwandrans J, 2007. Freshwater red algae (Rhodophyta). Identification guide to European taxa, particularly to those in Finland. *Norrinia* 15: 1-103.
- Eloranta P, Kwandrans J, Kusel-Fetzmann E, 2011. Rhodophyceae and Phaeophyceae. In: Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, Preisig HR, Schagerl M (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 7*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Entwistle TJ, Vis ML, Chiasson WB, Necchi O Jr, Sherwood AR, 2009. Systematics of the Batrachospermales (Rhodophyta) - a synthesis. *Journal of Phycology* 45(3): 704-715.
- Espinar JL, García L, García-Murillo P, Toja J, 2002. Submerged macrophyte zonation in a Mediterranean salt marsh: a facilitation effect from established helophytes? *Journal of Vegetation Science* 13: 831-40.
- Ettl H, Gärtner G, 1988. Chlorophyta II. Tetrasporales, Chlorococcales, Gloeodendrales. In: Ettl H, Gerloff J, Heyning H, Mollenhauer D (eds). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, vol. 10. Stuttgart Gustav Fischer Verlag, Munich.
- Fernández M, Ibáñez M, Picó Y, Mañes J, 1998. Spatial and temporal trends of Paraquat, Diquat, and Difenzoquat contamination in water from marsh areas of the Valencian Community (Spain). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35: 377-84.
- Fernández C, Niell FX, 1982. Zonación del fitobentos intermareal de la región de Cabo Peñas (Asturias). *Investigación Pesquera* 46: 121-141.
- Ferrandis J, Garrido L. El ex alcalde de Pego, primer cargo público que ingresa en prisión por delito ecológico, [en línea]. *El País*, 3 mayo 2007 <http://elpais.com/diario/2007/05/03/espana/1178143210_850215.html> [Consulta: 21 febrero 2014].
- Fischer-Piette C, Seoane Camba J, 1962. Ecologie de la ria-type: la Ría del Barquero. *Bulletin de l'Institut Océanographique*, Monaco 1244: 1-36.
- Flor-Arnau N, Cambra Sánchez J, Velasco i Vatlé E, 2013. Valoración de lagos y lagunas de la cuenca del Duero a partir de los macrófitos acuáticos. *Limnetica* 32(2): 373-390.
- Flores-Moya A, Conde F, Sánchez A, Altamirano M, 1994. Notas corológicas del macrofitobentos de Andalucía (España). III. *Acta Botanica Malacitana* 19: 211-213.

- Francalanci S, Bendoni M, Rinaldi M, Solari L, 2013. Ecomorphodynamic evolution of salt marshes: Experimental observations of bank retreat processes. *Geomorphology* 195: 53-65.
- García-Fernández ME, Aboal M, 2011. High diversity areas of algae: the case of Murcia, South-East of Spain. 7th Symposium for European Freshwater Sciences, 2011 Jul 27-1, Girona, Spain.
- García-Fernández ME, Sánchez-Lorencio MI, Aboal M, 2010. Datos preliminares para la elaboración del libro rojo de algas continentales de la Región de Murcia. XV Congreso de la Asociación Ibérica de Limnología, 2010 Jul 5-9, Ponta Delgada, Açores, Portugal.
- García-Fernández ME, Sánchez-Lorencio MI, Aboal M, 2011. Algas aerofíticas del Marjal de Pegó-Oliva, este de la Península Ibérica. *Acta Botanica Malacitana* 36: 169-174.
- García-Fernández ME, Vis M, Aboal M, 2014. *Kumanoa mahlacensis* S. Kumano & W.A. Bowden-Kerby (Batrachospermales, Rhodophyta) in a mediterranean wetland, a new species for the European continental algal flora. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (aceptado).
- García-Sánchez M, Pérez-Ruzafa IM, Marcosa C, Pérez-Ruzafa A, 2012. Suitability of benthic macrophyte indices (EEI, E-MaQI and BENTHOS) for detecting anthropogenic pressures in a Mediterranean coastal lagoon (Mar Menor, Spain). *Ecological Indicators* 19: 48-60.
- Gayet G, Croce N, Grillas P, Nourry C, Deschamps C, Defos du Rau P, 2012. Expected and unexpected effects of waterbirds on Mediterranean aquatic plants. *Aquatic Botany* 103: 98-105.
- Geertz-Hansen O, Montes C, Duarte CM, Sand-Jensen K, Marbá N, Grillas P, 2011. Ecosystem metabolism in a temporary Mediterranean marsh (Doñana National Park, SW Spain). *Biogeosciences* 8: 963-971.
- Generalitat Valenciana, 2008. Memoria de gestión del Parc Natural de la Marjal de Pegó-Oliva, 2008. Generalitat Valenciana. Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Urbanisme i Habitatge, Valencia.
- Giordani G, Zaldivar JM, Viaroli P, 2009. Simple tools for assessing water quality and trophic status in transitional water ecosystems. *Ecological indicators* 9: 982-991.
- González Guerrero P, 1927. Contribución al conocimiento ficológico del Pirineo español. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 27: 343-346.
- González Guerrero P, 1942. Algas del Norte y Centro de España. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 3: 269-278.
- González Guerrero P, 1945. Algas de Valencia (1ª Serie). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 5: 304-321.
- González Guerrero P, 1949. Observaciones ficológicas en la Sierra de Gêres (Portugal). *Portugaliae Acta Biológica (B)*, Vol. Julio Henriques: 117-140.
- Gorostiaga JM, Santolaria A, Secilla A, Casares C, Díez I, 2004. Check-list of the Basque coast benthic algae (North of Spain). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61: 155-180.
- Granja A, Cremades J, Barbara I, 1992. Catálogo de las algas bentónicas marinas de la Ria de Ferrol (Galicia, N.O. de la Península Ibérica) y consideraciones biogeográficas sobre su flora. *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 3: 3-21.
- Grillas P, 1990. Distribution of submerged macrophytes in the Camargue in relation to environmental factors. *Journal of Vegetation Science* 1(3): 393-402.
- Gutiérrez C, Salvat A, Sabater F, 2001. IVF Índex per a l'avaluació de la qualitat del medi fluvial a partir de la vegetació de ribera. Documents tècnics de l'Agència Catalana de l'Aigua, Departament de Medi Ambient de la Generalitat de Catalunya. Agència Catalana de l'Aigua, Barcelona.
- Hernández I, Bermejo R, Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, 2010. Contribución al conocimiento de los macrófitos marinos del saco interno y caños adyacentes de la Bahía de Cádiz. *Algas (Boletín de la Sociedad Española de Ficología, SEF)* 43: 11-16.
- Holmes N, 1995. Macrophytes for Water and other Quality Assessments. Report to the National Rivers Authority, Anglain Region, Peterborough.
- Holmes N, Whitton BA, 1981. Phytobenthos of the River Tees and its tributaries. *Freshwater Biology* 11: 139-163.

Introducción general

- Ibáñez C, Curco A, Day JW, Prat N, 2002. Structure and Productivity of Microtidal Mediterranean Coastal Marshes. In: Weinstein MP, Kreeger DA (eds.). Concepts and Controversies in Tidal Marsh Ecology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Jeppesen E, Kronvang B, Olesen JE, Audet J, Søndergaard M, Hoffmann CC, et al., 2011. Climate change effects on nitrogen loading from cultivated catchments in Europe: implications for nitrogen retention, ecological state of lakes and adaptation. *Hydrobiologia* 663: 1-21.
- John DM, Whitton BA, Brook AJ, 2002. The freshwater algal flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kadlubowska JZ, 1972. Zygnemaceae. In: Starmach K, Sieminska J (eds.). Flora Slodkowodna Polski T. 12. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Kadlubowska JZ, 1984. Conjugatophyceae I (Zygnemales). In: Ettl H, Gerloff J, Heyning H, Mollenhauer D (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa vol. 16. Stuttgart Gustav Fischer Verlag, Munich.
- Komárek J, 2013. Cyanoprokaryota 19/3: Heterocystous genera. Süßwasserflora von Mitteleuropa. Springer Spektrum, Heidelberg.
- Komárek J, Anagnostidis K, 2005. Cyanoprokaryota 19/2: Oscillatoriales. In: Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, Schagerl M (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa. Elsevier, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Krause W, 1997. Charales (Charophyceae). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 18. Gustav Fischer Verlag, Munich.
- Krishnamurthy V, 1962. The morphology and taxonomy of the genus *Compsopogon* Montagne. *Journal of the Linnean Society (Botany)* 58: 207-222.
- Kristiansen J, Preisig HR, 2007. Chrysophyte and Haptophyte algae. Part 2: Synurophyceae. In: Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, Preisig HR, Schagerl M (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa, Vol.1. Spektrum Akademischer Verlag, Munich.
- Kumano S, Bowden-Kerby WA, 1986. Studies on the freshwater Rhodophyta of Micronesia I. Six new species of *Batrachospermum* Roth. *The Japanese Journal of Phycology* 34(2): 107-28.
- Kwandrans J, Eloranta P, 2010. Diversity of freshwater red algae in Europe. *International Journal of Oceanography and Hydrobiology* 39: 161-169.
- Lam WD, García-Fernández ME, Aboal M, Vis LM, 2013. *Polysiphonia subtilissima* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater habitats in North America and Europe is confirmed as conspecific with marine collections. *Phycologia* 52(2): 156-160.
- Ledger ME, Harris RML, Armitage PD, Milner AM, 2008. Benthic algae in high altitude streams of the Alps - a neglected component of the aquatic biota. *Hydrobiologia* 562:195-216.
- Ley 11/1994, 1995. Ley 11/1994, de 27 de diciembre, de Espacios Naturales de la Comunidad Valenciana. Boletín Oficial del Estado 33, 8 de febrero de 1995. pp. 4060-4072.
- Ley 4/2010, 2010. Ley 4/2010, de 4 de Junio, del Catálogo Canario de Especies Protegidas. Boletín Oficial de Canarias 112, 9 de junio de 2010. pp. 15.200-15.225.
- Lindén O, Nilsson H, Povilanskas R, 2012. Introduction. In: Nilsson H, Povilanskas R, Stybel N (eds.). Transboundary management of transitional waters - Code of conduct and good practice examples. Coastline Reports 19. Malmö, Klaipėda, Warnemünde, EUCC -Die Küsten Union Deutschland e.V, c/o Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde, 5-7.
- Lindstrøm EA, 1991. Use of periphyton for monitoring rivers in Norway - application of previously obtained data to evaluate impacts of acid precipitation. In: Whitton BA, Rott E, Friedrich G (eds.). Proceedings of an International Symposium on Use of Algae for Monitoring Rivers, 1991 May 26-28, Düsseldorf, Germany. STUDIA Studentenförderungs-Ges. m.b.H., Innsbruck.
- Llimona X, Ballesteros E, Brugués M, Comín FA, Cros RM, Molero J, et al., 1985. Historia Natural dels Països Catalans. Plantes inferiors, Vol 4. Enciclopedia Catalana, S.A., Barcelona.
- Lloret J, Marín A, 2011. The contribution of benthic macrofauna to the nutrient filter in coastal lagoons. *Marine Pollution Bulletin* 62: 2732-2740.

- López-Flores R, Quintana XD, Salvadó V, Hidalgo M, Sala L, Moreno-Amich R, 2003. Comparison of nutrient and contaminant fluxes in two areas with different hydrological regimes (Empordá Wetlands, NE Spain). *Water Research* 37: 3034-3046.
- Lougheed VL, Stevenson RJ, 2004. Exotic marine macroalga (*Enteromorpha flexuosa*) reaches bloom proportions in a coastal lake of Lake Michigan. *Journal of Great Lakes Research* 30(4): 538-44.
- Ludwig G, Schnittler M, 1996. Rote Liste der Pflanzen Deutschlands. Schriftenreihe für Vegetationskunde Heft 28: 1-224.
- Maggs CA, Hommersand MH, 1993. Seaweeds of the British Isles. Vol. 1. Rhodophyta. Part 3A Ceramiales. HMSO, London.
- MAGRAM, 2013. Informe de actualización de Taxagua. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.
- Margalef R, 1944a. Datos para la flora algológica de nuestras aguas dulces. *Publicaciones del Instituto Botánico de Barcelona* 4: 1-130.
- Margalef R, 1944b. Materiales para el estudio del lago de Banyoles. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 1: 27-28.
- Margalef R, 1946. Contribución al conocimiento hidrobiológico del País Vasco-Navarro. In: *Aportación al estudio de la fauna y flora Vasco-Navarras (Sierra de Aralar)*. Estación de Estudios Pirenaicos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Zaragoza.
- Margalef R, 1947a. Estudios sobre la vida en las aguas continentales de la región endorreica manchega. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 4: 5-51.
- Margalef R, 1947b. Limnosociología. *Monografías de Ciencia Moderna*, 10. Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal, 4. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.
- Margalef R, 1949. Datos para la hidrobiología de la Sierra de Guadarrama. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 6: 5-21.
- Margalef M, 1950. Datos para la hidrobiología de la Cordillera Cantábrica, especialmente del macizo de los Picos de Europa. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 7: 37-76.
- Margalef R, 1952a. La vida en las aguas dulces de Andorra. *Monografías de la Estación de Estudios Pirenaicos* 69: 1-107.
- Margalef R, 1952b. Materiales para la hidrobiología de la isla de Menorca. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 9: 5-112.
- Margalef R, 1953a. Algunos organismos interesantes de las aguas dulces de los Pirineos. *Pirineos* 9: 20-407.
- Margalef R, 1953b. Materiales para la hidrobiología de la Isla de Mallorca. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 15: 5-111.
- Margalef R, 1955a. Comunidades bióticas de las aguas dulces del noroeste de España. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 21: 5-85.
- Margalef R, 1955b. Los organismos indicadores en la limnología. *Biología de las aguas continentales*, 12. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias. Ministerio de Agricultura, Madrid.
- Margalef R, 1956a. Algas de agua dulce del Noroeste de España. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 32: 43-152.
- Margalef R, 1956b. La vida en las aguas de elevado residuo salino de la provincia de Zamora. *Publicaciones del Instituto de Biología Aplicada* 24: 123-137.
- Margalef-Mir R, 1981. Distribución de los macrófitos de las aguas dulces y salobres del E y NE de España y dependencia de la composición química del medio. *Fundación Juan March, Serie Universitaria*.
- Marín-Guirao L, Lloret J, Marín A, García G, García Fernández AJ, 2007. Pulse-discharges of mining wastes into a coastal lagoon: Water chemistry and toxicity. *Chemistry and Ecology* (3): 217-231.

Introducción general

- Martínez-Gil M, Gallardo T, Díaz P, Bárbara I, 2007. Aportación al conocimiento de las algas marinas bentónicas del litoral comprendido entre el estuario del Río Quejo y Punta de la Mesa, Noja, Cantabria, España. *Botanica Complutensis* 31: 41-53.
- Mataeche P, 1998. Catálogo de las zonas húmedas de la Comunidad Valenciana (España). Sede para el estudio de los humedales mediterráneos, Valencia.
- Mauchamp A, Mésleard F, 2001. Salt tolerance in *Phragmites australis* populations from coastal Mediterranean marshes. *Aquatic Botany* 70: 39-52.
- McLusky DS, Elliott M, 2007. Transitional waters: a new approach, semantics or just muddying the waters? *Estuarine Coastal and Shelf Science* 71: 359-363.
- Mercado JM, de los Santos CB, Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, 2009. Carbon isotopic fractionation in macroalgae from Cádiz Bay (Southern Spain): Comparison with other bio-geographic regions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 85: 449-458.
- Micheletti C, Gottardo S, Critto A, Chiarato S, Marcomini A, 2011. Environmental quality of transitional waters: The lagoon of Venice case study. *Environment International* 37: 31-41.
- Miranda F, 1931. Sobre las algas y cianofíceas del Cantábrico especialmente de Gijón. *Trabajos Museo Nacional Ciencias Naturales. Serie Botánica* 25: 1-106.
- Miranda F, 1934. Materiales para una flora marina de las rías bajas gallegas. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural* 34: 165-180.
- Montagne JFC, 1846-1869. Algae. In: Durieu de Maisonneuve MC, Montagne JFC, Bory de Saint Vincent JBGM, Tulasne LR, Tulasne C, Lévillè JH. *Flore d'Algérie Cryptogamie, première partie*. Imprimerie Impériale, Paris.
- Moreira D, López-Archilla AI, Amils R, Marin I, 1994. Characterization of two new thermoacidophilic microalgae: genome organization and comparison with *Galdieria sulphuraria*. *FEMS Microbiology Letters* 122: 109-114.
- Moreno JL, De Las Heras J, Prat N, Rieradevall M, 2008. Evaluación del estado trófico de tres cuencas interiores de Cataluña (Foix, Besòs y Llobregat) mediante la vegetación acuática: aplicación de un índice trófico (IVAM-FBL). *Limnetica* 27: 107-118.
- Moreno JL, Navarro C, De las Heras J, 2006. Propuesta de un índice de vegetación acuática (IVAM) para la evaluación del estado trófico de los ríos de Castilla la Mancha: comparación con otros índices bióticos. *Limnetica* 25(3): 821-838.
- Moreno-Amich R, Quintana X, Suñer L, Trobajo R, Gascón S, Barrera R, Gifre J, Martinoy M, 1998. Monitorización de la calidad ecológica de las aguas y seguimiento de la composición de la comunidad d'invertebrados acuáticos en la zona del Parque Natural de Aiguamolls de l'Empordà. Compendio de informes correspondientes al "Seguimiento de la calidad de las aguas a la zona del Parque Natural de Aiguamolls de l'Empordà". Consorcio de la Costa Brava, Girona.
- Mouret JC, Hammond R, Dreyfus F, Desclaux D, Marnotte P, Mesléard F, 2004. An integrated study of the development of organic rice cultivation in the Camargue (France). *International Conference on Challenges and Opportunities for Sustainable Rice-Based Production Systems*, 2004 Sept 13-15, Torino, Italy.
- Mrozinska T, 1969. Chlorophyta IV, Oedogoniales, Oedogoniowe. In: Starmach K (ed.). *Flora Slodkowodna Polski*, T. 22. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Mrozinska T, 1985. Chlorophyta VI, Oedogoniophyceae: Oedogoniales. In: Ettl H, Gerloff J, Heyning H, Mollenhauer D (eds.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, vol. 14. Stuttgart Gustav Fischer Verlag, Munich.
- Necchi OJr, Branco CCZ, Gomes RRV, 1999. Microhabitat and plant structure of *Compsopogon coeruleus* (Compsopogonaceae, Rhodophyta) populations in streams from São Paulo State, southeastern Brazil. *Cryptogamie, Algologie* 20: 75-87.
- Necchi OJr, Cabral de Oliveira M, Salles P, 2010a. Molecular systematics of *Thorea* (Rhodophyta, Thoreaales) species in Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 33(2): 227-235.
- Necchi OJr, García Fo AS, Salomaki ED, West JA, Aboal M, Vis ML, 2013. Global sampling reveals low genetic diversity within *Compsopogon* (Compsopogonales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 48(2): 152-162.

- Necchi OJr, Vis ML, 2012. Monograph of the genus *Kumanoa* (Rhodophyta, Batrachospermales). Bibliotheca Phycologica 116: 1-79.
- Necchi OJr, Vis ML, Oliveira MC, 2010b. Phylogenetic relationships in *Kumanoa* (Batrachospermales, Rhodophyta) species in Brazil with the proposal of *Kumanoa amazonensis* sp. nov. Phycologia 49: 97-103.
- Németh J, 2005. Red list of algae in Hungary. Acta Botanica Hungarica 47(3-4): 379-417.
- Nezlin NP, Kamer K, Hyde J, Stein ED, 2009. Dissolved oxygen dynamics in a eutrophic estuary, Upper Newport Bay, California. Estuarine Coastal and Shelf Science 82: 139-51.
- Nosil P, Harmon LJ, Seehausen O, 2009. Ecological explanations for (incomplete) speciation. Trends in Ecology and Evolution 24: 145-156.
- Oliveira-Ribeiro CA, Voltaire Y, Sánchez-Chardi A, Roche H, 2005. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAHs and heavy metals in eels (*Anguilla anguilla*) from the Camargue Biosphere Reserve, France. Aquatic Toxicology 74: 53-69.
- Oltra R, 1993. Estudio del zooplankton de dos lagunas litorales mediterraneas: El Estany de Cullerú y la Albufera de Valencia. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia. pp. 437.
- Orfanidis S, Panayotidis P, Stamatis N, 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: A marine benthic macrophytes-based model. Mediterranean Marine Science 2(2): 45-65.
- Palamar-Mordvintseva GM, 2004. Red list of Charales of the Ukraine. International Journal on Algae 6(4): 305-318.
- Palmer MA, Hodgetts NG, Wigginton MJ, Ing B, Stewart NF, 1997. The application to the British flora of the World Conservation Union's revised red list criteria and the significance of red lists for species conservation. Biological Conservation 82: 219-226.
- Pan Y, Stevenson RJ, Vaithianathan P, Slate J, Richardson CJ, 2000. Changes in algal assemblages along observed and experimental phosphorus gradients in a subtropical wetland, USA. Freshwater Biology 44(2): 339-53.
- Parada M, Carrió E, Bonet MA, Vallès J, 2009. Ethnobotany of the Alt Empordà region (Catalonia, Iberian Peninsula). Plants used in human traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology 124: 609-618.
- Pérez-Cirera JL, 1989. Algas Mariñas. In: Díaz-Fierros V, Río Barxa F, Viéitez Cortizo E (eds.). A Natureza Ameazada. Xea, Flora e Fauna de Galicia en perigo: 89-139. Colección do Patrimonio Ecolóxico, Consello da Cultura Galega, Galicia.
- Pipp E, Rott E, 1996. Recent developments in the use of benthic algae (excluding diatoms) for monitoring rivers in Austria and Germany. In: Whitton BA, Rott E (eds). Proceedings of an International Symposium on Use of Algae for Monitoring Rivers II, 1995 Sep 17-19, Innsbruck, Austria. STUDIA Studentenförderungs-Ges. m.b.H., Innsbruck.
- Prasad MBK, Long W, Zhang X, Wood RJ, Murtugudde R, 2011. Predicting dissolved oxygen in the Chesapeake Bay: applications and implications. Aquatic Science 73: 437-51.
- Puglisi L, Adama MC, Baldaccini NE, 2005. Man-induced habitat changes and sensitive species: a GIS approach to the Eurasian Bittern (*Botaurus stellaris*) distribution in a Mediterranean wetland. Biodiversity and Conservation 14: 1909-1922.
- Quintana XD, Moreno-Amich R, 2002. Phytoplankton composition of Empordà salt marshes, Spain and its response to freshwater flux regulation. Journal of Coastal Research 36: 581-591.
- Rassi P, Alanen A, Kanerva T, Mannerkoki I. 2001. Suomen Lajien Uhanalaisuus 2000. Ympäristöministeriö & Suomen ympäristökeskus, Helsinki.
- Resolución de 4 de noviembre de 1994, 1994. Resolución de 4 de noviembre de 1994, de la Subsecretaria, por la que se dispone la publicación del Acuerdo del Consejo de Ministros de 15 de julio de 1994 por el que se autoriza la inclusión de los embalses de Corda billa y Malpasillo, albufera de Adra, ría del Ea, Mar Menor, marismas de Santoña y marjal de Pego-Oliva en la lista del Convenio de Ramsar, relativo a Humedales de Importancia Internacional, especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas. Boletín Oficial del Estado 273, 15 de noviembre de 1994. pp. 35011-35027.

Introducción general

- R. D. 928/1995, 1995. Real Decreto 928/1995, de 9 de junio, por el que se establece un régimen de fomento del uso en determinados humedales de métodos de producción agraria compatibles con la protección del medio ambiente y la conservación del espacio natural y de las aves silvestres. Boletín Oficial del Estado 170, 18 de julio de 1995. pp. 21.898-21.906.
- R. D. 139/2011, 2011. Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas. Boletín Oficial del Estado 46, 23 de febrero de 2011. pp. 20.912- 20.951.
- R. D. 630/2013, 2013. Real Decreto 630/2013, de 2 de agosto, por el que se regula el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras. Boletín Oficial del Estado 185, 3 de Agosto de 2013. pp. 56.764-56.786.
- Rieth A, 1980. Xanthophyceae 2. Teil. In: Ettl H, Gerloff J, Heyning H (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa vol 3, 2/2. Stuttgart Gustav Fischer Verlag, Munich.
- Rintoul TL, Sheath RG, Vis ML, 1999. Systematics and biogeography of the Compsopogonales (Rhodophyta) with emphasis on the freshwater families in North America. Phycologia, 38: 517–527.
- Rivas-Martínez S, 1987. Memoria del mapa de vegetación de España. ICONA, Madrid.
- Rodrigo MA, Alonso-Guillén JL, 2013. Assessing the potential of Albufera de Valencia Lagoon sediments for the restoration of charophyte meadows. Ecological Engineering 60: 445-452.
- Rodrigo MA, Rojo C, Armengol X, Mañá M, 2001. Heterogeneidad espacio-temporal de la calidad del agua en un humedal costero: El Marjal de la Safor (Valencia). Limnetica 20(2): 329-339.
- Rodríguez-Pérez H, Cayuela H, Hilaire S, Olivier A, Mesléard F, 2014. Is the exotic red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) a current threat for the Mediterranean tree frog (*Hyla meridionalis*) in the Camargue (Southern France)? Hydrobiologia 723:145-156.
- Romo S, 1991. Estudio del fitoplancton de la Albufera de Valencia, una laguna hipertrófica y somera, entre 1980 y 1988. Tesis doctoral, Universidad de Valencia. pp.197.
- Ros MD, López-Jiménez E, Aboal M, 1997. Primera cita de *Hildenbrandia angolensis* Welwitsch ex W. West & G. S. West (Hildenbrandiales, Rhodophyceae), para la flora algal epicontinental española. Anales del Jardín Botánico de Madrid 55: 458-460.
- Ros M, Miracle RM, 1984. Variación estacional del fitoplancton del Mar Menor y su relación con la de un punto próximo en el Mediterráneo. Limnetica 1: 32-42.
- Rott E, Hofmann G, Pall K, Pfister P, Pipp E, 1997. Indikationslisten für Aufwuchsalgen. Teil 1. Saprobielle Indikation. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.
- Rott E, Pfister P, 1988. Natural epilithic algal communities in fast-flowing mountain streams and rivers and some man-induced changes. Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie 23: 1320-1324.
- Rott E, Schneider SC, 2014. A comparison of ecological optima of soft-bodied benthic algae in Norwegian and Austrian rivers and consequences for river monitoring in Europe. Science of the Total Environment 475: 180-186.
- Rybak A, Messyas B, Łęska B, 2013. The accumulation of metal (Co, Cr, Cu, Mn and Zn) in freshwater *Ulva* (Chlorophyta) and its habitat. Ecotoxicology 22: 558-573.
- Sabater S, 2005. Uso de las comunidades de algas en la categorización y seguimiento de masas de agua continentales. Algunas potencialidades y limitaciones. Algas (Boletín de la Sociedad Española de Ficología, SEF), número especial Bioindicadores y Biomonitorización: 12-14.
- Salomaki ED, Kwandrans J, Eloranta P, Vis M, 2014. Molecular and morphological evidence for *Sheathia* gen. nov. (Batrachospermales, Rhodophyta) and three new species. Journal of Phycology 50(3): 526-542.
- Sánchez-Fernández D, Abellán P, Velasco J, Millán A, 2004. Selecting areas to protect the biodiversity of aquatic ecosystems in a semiarid Mediterranean region. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems 14: 465-479.
- Sánchez Castillo PM, Aboal Sanjurjo M, Angeler D, Asencio Martínez A, Cambra Sánchez J, Seguí Chapuís I, et al., 2009. El estudio de las algas filamentosas en la península Ibérica. Algas (Boletín de la Sociedad Española de Ficología, SEF) 41: 23-25.

- Saunders GW, Hommersand MH, 2004. Assessing red algal supraordinal diversity and taxonomy in the context of contemporary systematic data. *American Journal of Botany* 91: 1494-507.
- Sauvageau C, 1897. Note préliminaire sur les algues marines du golfe de Gascogne. *Journal de Botanique* 1-64.
- Schneider S, Kahlert M, Kelly MG, 2013. Interactions between pH and nutrients on benthic algae in streams and consequences for ecological status assessment and species richness patterns. *Science of the Total Environment* 444: 73-84.
- Schneider SC, Lindstrøm E, 2011. The periphyton index of trophic status PIT: a new eutrophication metric based on non-diatomaceous benthic algae in Nordic rivers. *Hydrobiologia* 665:143-155.
- Schneider S, Melzer A, 2003. The Trophic Index of Macrophytes (TIM) - a New Tool for Indicating the Trophic State of Running Waters. *International Review of Hydrobiology* 88(1): 49-67.
- Sciandrello S, Tomaselli V, 2014. Coastal salt-marshes plant communities of the *Salicornietea fruticosae* class in Apulia (Italy). *Biologia* 69: 53-69.
- Seele J, Mayr M, Staab F, Raeder U, 2000. Combination of two indication systems in pre-alpine lakes - diatom index and macrophyte index. *Ecological Modelling* 130: 145-149.
- Seoane-Cambra J, 1965. Estudios sobre las algas bentónicas en la costa sur de la Península Ibérica (litoral de Cádiz). *Investigacion Pesquera* 29: 3-216.
- Sheath RG, 1984. The biology of freshwater red algae. *Progress in Phycological Research* 3: 89-157.
- Sheath RG, Cole KM, 1990. *Batrachospermum heterocorticum* sp. nov. and *Polysiphonia subtilissima* (Rhodophyta) from Florida spring-fed streams. *Journal of Phycology* 26: 563-568.
- Sheath RG, Vis ML, Cole KM, 1993. Distribution and systematics of freshwater Ceramiales (Rhodophyta) in North America. *Journal of Phycology* 29: 108-117.
- Sherwood AR, Sheath RG, 2000. Biogeography and systematics of *Hildenbrandia* (Rhodophyta, Hildenbrandiales) in Europe: inferences from morphometrics and *rbcL* and 18S rRNA gene sequence analyses. *European Journal of Phycology* 35: 143-152.
- Siemińska J, 2006. Red list of the algae in Poland. In: Mirek Z, Zarzycki K, Wojewoda W, Szeląg Z (eds). Red list of plants and fungi in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- Siemińska J, Wołowski K, 2003. Catalogue of Polish prokaryotic and eukaryotic alga. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- Soria JM, 1997. Estudio de los sistemas acuáticos del Parque Natural de la Albufera de Valencia. Tesis Doctoral, Universidad de Valencia. pp. 297.
- Starmach K, 1966. Cyanophyta-Sinice, Glaucophyta-Glaukofity. *Flora Ślaskowodna Polski*, T. 2. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Starmach K, 1968a. Chrysophyta I, Chrysophyceae-Zlotowiciowcw. In: Starmach K, Siemińska J (eds.). *Flora Ślaskowodna Polski*, T. 5. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Starmach K, 1968b. Chrysophyta III, Xanthophyceae-Różnowiciowe. *Flora Ślaskowodna Polski*, T. 7. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Starmach K, 1972. Chlorophyta III, Zielonice Nitkowate: Ulothrichales, Ulvales, Prasiolales, Sphaeropleales, Cladophorales, Chaetophorales, Trentepohliales, Siphonales, Dichotomosiphonales. In: Starmach K, Siemińska J (eds.). *Flora Ślaskowodna Polski*, T. 10. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Starmach K, 1977. Phaeophyta, Rhodophyta. *Flora Ślaskowodna Polski*, T. 14. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Kraków.
- Stevenson RJ, Pinowska A, Wang YK, 2004. Ecological conditions of algae and nutrients in Florida springs. Florida Department of Environmental Protection, Tallahassee.
- Stewart SA, Vis ML, 2007. Investigation of two species complexes in *Batrachospermum* section *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta). *Phycologia* 46: 380-5.

Introducción general

- Strunecký O, Komárek J, Johansen J, Lukesová A, Elster J, 2013. Molecular and morphological criteria for revision of the genus *Microcoleus* (Oscillatoriales, cyanobacteria). *Journal of Phycology* 49(6): 1167-1180.
- Suárez ML, Mellado A, Sánchez-Montoya MM, Vidal-Abarca MR, 2005. Propuesta de un índice de macrófitos para evaluar la calidad ecológica de los ríos de la cuenca del Segura. *Limnetica* 24(3-4): 305-318.
- Tagliapietra D, Ghirardini AV, 2006. Notes on coastal lagoon typology in the light of the EU. Water Framework Directive: Italy as a case study. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystem* 16: 457-467.
- Tagliapietra D, Pavan M, Wagner C, 2000. Benthic patterns in a salt marsh basin: a snapshot of Palude della Rosa (Venetian Lagoon, Italy). *Wetlands Ecology and Management* 8: 287-292.
- Temniskova D, Stoyneva MP, Kirjakov IK, 2008. Red List of the Bulgarian algae, I. Macroalgae. *Phytologia Balcanica* 14(2): 193-206.
- Tomás X, 1981. *Thorea ramosissima* en un canal del litoral valenciano. *Folia Botanica Miscelanea* 2: 71-74.
- Tomás X, 1988. Diatomeas de las aguas epicontinentales saladas del litoral mediterráneo de la península Ibérica. Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona. pp. 720.
- Tomás X, López P, Margalef-Mir R, Comin FA, 1980. Distribution and ecology of *Composopogon coeruleus* (Balbis) Montagne (Rhodophyta, Bangiophycidae) in Eastern Spain. *Cryptogamie Algologie* 1(3): 179-186.
- Torres-Rondon L, Damien Carrière S, Chalikakis K, Valles V, 2013. An integrative geological and geophysical approach to characterize a superficial deltaic aquifer in the Camargue plain, France. *Comptes Rendus Geoscience* 345: 241-25.
- Traichaiyaporn S, Kumano S, Chainapong T, Khuantrairong T, Waraegsiri B, 2004. New Record of Freshwater Red Algae (Rhodophyta) in Thailand. *Batrachospermum mahlacense* Kumano et Boden-Kerby. *Science Asia* 30(3): 313-315.
- Trobajo R, Quintana XD, Sabater S, 2004. Factors affecting the periphytic diatom community in Mediterranean coastal wetlands (Empordà wetlands, NE Spain). *Archiv für Hydrobiologie* 160(3): 375-99.
- UICN, 2012a. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. pp. 34.
- UICN, 2012b. Directrices para el uso de los Criterios de la Lista Roja de la UICN a nivel regional y nacional: Versión 4.0. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. pp. 43.
- Urios V, Donat MP, Viñals MJ, 1993. La Marjal de Pego-Oliva. Institut d'estudis comarcals de la Marina Alta, Alicante.
- Usaquén Perilla OL, García Gómez A, García Gómez A, Álvarez Díaz C, Revilla Cortezón JA, 2012. Methodology to assess sustainable management of water resources in coastal lagoons with agricultural uses: An application to the Albufera lagoon of Valencia (Eastern Spain). *Ecological Indicators* 13: 129-143.
- Vázquez-Roig P, Andreu V, Blasco C, Morillas F, Picó Y, 2012. Spatial distribution of illicit drugs in surface waters of the Natural Park of Pego-Oliva Marsh (Valencia, Spain). *Environmental Science and Pollution Research* 19: 971-982.
- Viñals MJ, 1996. The Oliva-Pego marsh, Spain. In: Morillo C, Gonzalez JL (eds.). *Management of Mediterranean wetlands*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Viñals MJ, Camarasa AM, Sendra A, 1990. Factores de estabilidad en un humedal costero: La Marjal de Oliva-Pego. In: Gutiérrez M, Peña JL, Lozano MV (eds.). *Actas XIV Reunión Nacional de Geomorfología*, Tomo I. Instituto de estudios Turolenses, Teruel.
- Vis ML, Feng J, Chiasson WB, Xie S, Stancheva R, Entwisle TJ, et al., 2010. Investigation of the molecular and morphological variability in *Batrachospermum arcuatum* (Batrachospermales, Rhodophyta) from geographically distant locations. *Phycologia* 49: 545-553.
- Vis ML, Necchi OJr, Chiasson WB, Entwisle TJ, 2012. Molecular phylogeny of the genus *Kumanoa* (Batrachospermales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 48: 750-758.
- Vis ML, Saunders GW, Sheath RG, Dunse K., Entwisle TJ, 1998. Phylogeny of the Batrachospermales (Rhodophyta) inferred from *rbcL* and 18S ribosomal DNA gene sequences. *Journal of Phycology* 34: 341-50.

- Vis ML, Sheath RG, 1992. Systematics of the freshwater red algal family Lemnaceae in North America. *Phycologia* 31: 164-179.
- Vis ML, Sheath RG, 1996. Distribution and systematics of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America 9. Section *Batrachospermum*: description of five new species. *Phycologia* 35: 124-34.
- Vis ML, Sheath RG, Cole KM, 1992. Systematics of the freshwater red algal family Compsopogonaceae in North America. *Phycologia* 31: 564-575.
- Vis ML, Sheath RG, Cole KM, 1996. Distribution and systematics of *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) in North America. 8b. Section *Batrachospermum*: previously described species excluding *Batrachospermum gelatinosum*. *European Journal of Phycology* 31: 189-99.
- Vis ML, Sheath RG, Entwistle TJ, 1995. Morphometric analysis of *Batrachospermum* section *Batrachospermum* (Batrachospermales, Rhodophyta) type specimens. *European Journal of Phycology* 30(1): 35-55.
- West JA, Zuccarello GC, Scott J, Pickett-Heaps J, Kim GH, 2005. Observations on *Purpureofilum apyrenoidigerum* sp. nov. from Australia and *Bangiopsis subsimplex* from India (Stylonematales, Bangiophyceae, Rhodophyta). *Phycological Research* 53: 49-66.
- Whitton BA, 1984. Algae as monitors of heavy metals in freshwater. In: Shubert LE (eds.). *Algae as Ecological Indicators*. Academic Press, London.
- Whitton BA, Al-Shehri AM, Ellwood NTW, Turner BL, 2005. Ecological aspects of phosphatase activity in Cyanobacteria, Eukaryotic Algae and Bryophytes. In: Turner BL, Frossard E, Baldwin DS (eds.). *Organic phosphorus in the environment*. CAB International, Wallingford.
- Whitton BA, Buckmaster RC, 1970. Macrophytes of the river Wear. *Naturalist* 914: 97-116.
- Whitton BA, Dalpra M, 1968. Floristic changes in the River Tees. *Hydrobiologia* 32(3-4): 545-550.
- Whitton BA, Kelly MG, 1995. Use of algae and other plants for monitoring rivers. *Australian Journal of Ecology* 20(1): 45-56.
- Whitton BA, Say PJ, Wehr JD, 1981. Use of plants to monitor heavy metals in rivers. In: Say PJ, Whitton BA (eds.). *Heavy metals in Northern England: Environmental and Biological Aspects*. Department of Botany, University of Durham, Durham.
- Yoon HS, Müller KM, Sheath RG, Ott FD, Bhattacharya D, 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology* 42: 482-492.
- Zanini-Branco CC, Necchi OJr, 1996. Distribution of stream macroalgae in the eastern Atlantic Rainforest of São Paulo State, southeastern Brazil. *Hidrobiologia* 333(3): 139-150.
- Zanini-Branco LH, Necchi OJr, 1998. Distribution of stream macroalgae in three tropical drainage basins of southeastern Brazil. *Archiv für Hydrobiologie* 142(2): 241-256.
- Żbikowski R, Szefer P, Latala A, 2007. Comparison of green algae *Cladophora* sp. and *Enteromorpha* sp. as potential biomonitors of chemical elements in the southern Baltic. *Science of Total Environment* 387: 320-32.

3. General conclusions (Conclusiones generales)

1. Despite the high nitrogen concentration the macroalgal assemblages from the Pego-Oliva marsh exhibit a high diversity.
2. The main factors explaining the distribution of macroalgal assemblages in the marsh are conductivity, dissolved oxygen and ammonium concentration.
3. The inorganic phosphorus concentrations are usually very low probably due to the precipitation associated with carbonate, while organic phosphorus might be of greater importance because the species here collected have fairly high alkaline phosphatase rates.
4. The composition of macroalgae assemblages changes with the gradual increase in salinity and temperature of water as their distance from the coast decreases.
5. The homogeneity of macroalgae assemblages in the different stretches of Racons River confirms the perturbation of the river from the source.
6. *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis*, *Homoeothrix juliana*, *Leptolyngbya angustissima* and *Sheathia arcuata* are good indicators of freshwater springs but *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis* and *Leptolyngbya angustissima* are exclusive of that habitat.
7. *Chaetophora elegans*, *Homoeothrix juliana*, *Phormidium formosum*, *Schizothrix fasciculata*, *Sheathia arcuata* and *Tapinothrix crustacea* are indicators of the source of Bullent River because are mostly found in that habitat, but *Phormidium formosum* and *Tapinothrix crustacea* are exclusive of that habitat.
8. *Calothrix pulvinata*, *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea*, *Thorea violacea* and *Ulva intestinalis* are indicators of eutrophic salt springs but *Phormidium tergestinum* and *Ulva intestinalis* only grow in that habitat.
9. *Batrachospermum* cf. *gelatinosum*, *Kumanoa mahlacensis* and *Microcoleus autumnalis* are associated with irrigation ditches, the first two species are the best indicators because they are exclusive of that habitat.
10. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* and *Ulva flexuosa* are the most widespread species and have the broadest ecological ranges in the marsh.
11. *Chaetophora elegans*, *C. tuberculosa*, *Hildenbrandia angolensis*, *Homoeothrix juliana*, *Schizothrix fasciculata* and *Sheathia arcuata* have the narrowest and lowest ranges of nutrient concentrations.
12. *Hildenbrandia angolensis* and *Thorea hispida* grow in a narrow and high dissolved oxygen range and *Draparnaldia mutabilis* and *Chaetophora tuberculosa* also in a high but wide dissolved oxygen range.
13. *Chaetophora elegans*, *C. tuberculosa* and *Draparnaldia mutabilis* develop in a relatively narrow and low conductivity range.
14. *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa* and *Hildenbrandia angolensis* grow in a narrow and low temperature range, and *Calothrix pulvinata*, *Tapinothrix violacea* and *Thorea violacea* also in a very narrow but high temperature range.

15. Macroalgal assemblages can be used to evaluate water quality and to predict potential changes of climate change and human activities in transitional waters.
16. The high macroalgal biodiversity and the number of different habitats in the marsh confirm its interest as a refuge of biodiversity.
17. Despite the impact of human activities in the marsh over the years, macroalgal assemblages and environmental conditions have kept stable and maintained high species richness.
18. *Kumanoa mahlacensis* rare in a European context, has been reported the first time in Europe in an irrigation ditch in the marsh, even if it probably has a cosmopolitan distribution.
19. *Thorea hispida* has been collected in the middle stretches of Bullent River but its presence is not permanent and its ecological requirements remain unclear. It has been cited in rivers and springs worldwide even though has been rarely reported.
20. In freshwater springs and the source of Bullent River, the less disturbed habitats of the marsh, grow *Hildenbrandia angolensis* which is considered a tropical/subtropical species linked to oligotrophic conditions and low light intensity and has a restricted distribution in a European or worldwide context.
21. Saltwater springs of the marsh also host tropical or subtropical species rare in Europe. *Thorea violacea* usually grows at low conductivity, neutral or alkaline pH and warm waters in tropical areas but in the marsh it occurs when the conductivity, nutrients and temperature of the water are fairly high.
22. *Polysiphonia subtilissima*, a species with a global marine distribution but not reported in the European Atlantic Ocean or Mediterranean Spanish coast, is very abundant in saltwater springs of the Pego-Oliva marsh. However, it is also confirmed from intermediate stretches of Bullent River. This is the third freshwater record for the taxa in the world and the first in Europe.
23. There are some species from the Pego-Oliva marsh which have a restricted distribution in tropical or subtropical areas but genomic and ecological studies are needed to know more precisely their geographical distribution and ecological range.

4. Publicaciones

Las siguientes publicaciones constituyen el cuerpo principal de esta tesis y reflejan las investigaciones realizadas en taxonomía y ecología de macroalgas y su utilidad como indicadoras de la calidad acuática desde un punto de vista multidisciplinar. Además, durante el periodo investigador de la tesis, se realizaron también otros trabajos con macroalgas que se incluyen en anexos.

Artículo 1: García ME, Aboal M, 2014. Environmental gradients and macroalgae in Mediterranean marshes: the case of Pego-Oliva marsh (East Iberian Peninsula). *Science of the Total Environment* 475: 216-224.

A pesar de que los marjales mediterráneos han sufrido la presión de las actividades humanas desde tiempos ancestrales, mantienen una notable biodiversidad. Se encuentran severamente amenazados e inexplorados desde el punto de vista algológico. La mayoría de índices propuestos para evaluar la calidad ecológica acuática utilizan diatomeas y muy pocos macroalgas. El marjal de Pego-Oliva se localiza al este de la península Ibérica muy próximo a la costa mediterránea con temperaturas anuales suaves y precipitaciones bastante altas. Los objetivos de este estudio son determinar las variables ecológicas que explican la distribución de las macroalgas en el marjal de Pego-Oliva y evaluar su papel indicador. La diversidad de macroalgas encontrada ha sido alta (50 taxones) a pesar de las elevadas concentraciones de nitrógeno. Todas las variables ambientales estudiadas presentan un rango amplio en los distintos ambientes del marjal, especialmente la conductividad (500–12.290 $\mu\text{S}/\text{cm}$), temperatura (14,3–31,7°C), nitrato (9,49–64,11 mg/L) y amonio (0,004–0,814 mg/L). *Sheathia arcuata* (= *Batrachospermum arcuatum*), *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis*, *Hildenbrandia angolensis* y *Leptolyngbya angustissima* son indicadoras de ambientes de baja conductividad y nitrógeno inorgánico disuelto, y elevado oxígeno, mientras que *Calothrix pulvinata*, *Ulva intestinalis*, *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea* (= *Homoeothrix violacea*) y *Thorea violacea* son indicadoras de hábitats con elevada conductividad y ortofosfato. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* y *Ulva flexuosa* son las especies más extendidas y con mayor rango ecológico. Los azarbes presentan concentraciones elevadas de amonio y bajas de oxígeno disuelto y albergan especies raras como *Kumanoa mahlacensis*. Los resultados obtenidos confirman la utilidad de las macroalgas para evaluar la calidad ecológica en marjales, al mismo tiempo que contribuyen a aumentar nuestro conocimiento sobre la distribución y rangos ecológicos de algunas especies.

Artículo 2: Lam WD, García-Fernández ME, Aboal M, Vis LM, 2013. *Polysiphonia subtilissima* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater habitats in North America and Europe is confirmed as conspecific with marine collections. *Phycologia* 52(2): 156-160.

Polysiphonia subtilissima tiene una distribución global marina y ha sido citada en las zonas costeras de todos los continentes, excepto en la Antártida. En este estudio se cita por primera vez en un hábitat de agua dulce en el marjal de Pego-Oliva, España, la tercera cita del género en agua dulce a nivel mundial y la primera en Europa. Esta especie ha sido citada previamente en Juniper Creek (Florida, USA), a 140 km del mar y en un río de la isla de Jamaica. Para secuenciar los ejemplares de agua dulce de España y Florida se utilizaron dos marcadores moleculares, citocromo c oxidasa subunidad I (COI) y el gen plastidial (*rbcl*) que codifica la subunidad mayor de la enzima ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO). Las secuencias de los ejemplares de agua dulce fueron idénticas a las publicadas previamente para *P. subtilissima* para ambos marcadores. Las poblaciones de agua dulce se recolectaron en aguas alcalinas (pH 7,6–8,8 en España y 7,7 en Florida) a elevada conductividad

(1.900–2.700 en España y 1.840 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en Florida). Es probable que la elevada conductividad de estos ambientes alivie un poco el estrés osmótico de las poblaciones de *P. subtilissima* de agua dulce.

Artículo 3: García-Fernández ME, Vis M, Aboal M, 2014. *Kumanoa mahlacensis* S. Kumano & W.A. Bowden-Kerby (Batrachospermales, Rhodophyta) in a mediterranean wetland, a new species for the European continental algal flora. Anales del Jardín Botánico de Madrid (aceptado 2014).

El estudio de los caracteres morfológicos y las secuencias del gen plastidial (*rbcl*) que codifica la subunidad mayor de la enzima ribulosa 1,5 bifosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) han confirmado la presencia de *Kumanoa mahlacensis* en Europa en un marjal costero mediterráneo del levante español. El género *Kumanoa* presenta una distribución mundial y habita tanto en ambientes lóticos como leníticos; sin embargo, existe poca información sobre los requerimientos ecológicos de esta especie. En este trabajo se describe la morfología y ecología del material recolectado en España con el objetivo de obtener una visión más amplia de su distribución y de su presencia en áreas mediterráneas.

Anexos:

6.1 García-Fernández ME, Sánchez-Lorencio MI, Aboal M, 2011. Algas aerofíticas del Marjal de Pego-Oliva, este de la península Ibérica. Acta Botanica Malacitana 36: 169-174.

6.2 García-Fernández ME, Aboal M, 2011. *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler (Cyanidiaceae, Cyanidiophyceae) nueva cita para la flora algal continental española. Acta Botanica Malacitana 36: 164-169.

6.3 García-Fernández ME, Seguí-Chapuis I, Aboal M, 2012. *Kyliniella latvica* Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae) un rodófito indicador de buena calidad del agua. Limnetica 31(2): 341-348.

6.4 Aboal M., García-Fernández ME, Roldán M, Whitton BA, 2014. Ecology, morphology and physiology of *Chroothoece richteriana* (Rhodophyta, Stylonematophyceae) in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain. European Journal of Phycology 49(1): 83-96.

5. Capítulos

5.1 García ME, Aboal M, 2014. Environmental gradients and macroalgae in Mediterranean marshes: the case of Pego-Oliva marsh (East Iberian Peninsula). *Science of the Total Environment* 475: 216-224.

María Eugenia García Fernández: Estudiante de Doctorado, Laboratorio de Algología, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, marujegf@gmail.com

Marina Aboal Sanjurjo: Catedrática de Universidad del área de Botánica en el Departamento de Biología Vegetal, Laboratorio de Algología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, maboal@um.es

La estudiante de Doctorado, María Eugenia García Fernández, ha participado de forma activa en el desarrollo de los trabajos de investigación asociados a este artículo, así como en su elaboración. En concreto, su participación en cada una de las etapas ha sido la siguiente:

- Planificación inicial de los objetivos y elaboración del diseño experimental del artículo.
- Muestreo, realización de análisis químicos y estudio del material biológico.
- Diseño y realización de experimentos de campo y de laboratorio.
- Análisis estadísticos de los datos, interpretación y elaboración de resultados y conclusiones.

URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969713011583>

ABSTRACT

Although Mediterranean marshes have historically suffered high anthropogenic pressure, they have maintained their remarkable biodiversity. They are severely threatened but remain comparatively unexplored systems from the algological point of view. For example, most of the indexes proposed for monitoring ecological quality are based on diatoms and very few have explored the use of macroalgae. The Pego-Oliva marsh is located in the east of the Iberian Peninsula close to the Mediterranean coast with warm annual temperature and fairly high precipitation. The aims of this study were to ascertain the ecological variables that explained macroalgal distribution in the Pego-Oliva marsh and to assess their indicator value. Macroalgal biodiversity was seen to be high (50 taxa) despite the high nitrogen concentration of the marsh. All the environmental variables studied had a broad range of variation throughout the marsh, especially conductivity (500-12290 $\mu\text{S}/\text{cm}$), temperature (14.3-31.7 °C), nitrate (9.49-64.11 mg/L) and ammonium (0.004-0.814 mg/L). A clear gradient of conductivity and dissolved oxygen was observed from fresh to saltwater. *Calothrix parietina*, *Chaetophora tuberculosa*, *Draparnaldia mutabilis*, *Hildenbrandia angolensis*, *Leptolyngbya angustissima* and *Sheathia arcuata* (= *Batrachospermum arcuatum*) were seen to act as indicators of low conductivity and dissolved inorganic nitrogen, and high dissolved oxygen, while *Calothrix pulvinata*, *Phormidium tergestinum*, *Tapinothrix violacea* (= *Homoeothrix violacea*), *Thorea violacea* and *Ulva intestinalis* were indicators of high conductivity and orthophosphate habitats. *Cladophora glomerata*, *Compsopogon coeruleus*, *Polysiphonia subtilissima* and *Ulva flexuosa* are the most widespread species and have a broad ecological range. Irrigation ditches have high ammonium and low dissolved oxygen concentrations and host infrequently reported species like *Kumanoa mahlacensis*. The data presented confirm the usefulness of macroalgae for the ecological monitoring of marshes, while increasing our knowledge of the distribution and ecological range of some species. However, more experimental work is needed to know the tolerance range of species living in dynamic systems like Mediterranean marshes.

5.2. Lam WD, García-Fernández ME, Aboal M, Vis LM, 2013. *Polysiphonia subtilissima* (Ceramiales, Rhodophyta) from freshwater habitats in North America and Europe is confirmed as conspecific with marine collections. *Phycologia* 52(2): 156-160.

Dr. Daryl W. Lam: Profesor visitante del Departamento de Biología Vegetal y Medio Ambiente, Porter Hall rm. 315, Ohio University, Athens OH 45701 USA, lam@ohio.edu

María Eugenia García Fernández: Estudiante de Doctorado, Laboratorio de Algología, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, marujegf@gmail.com

Marina Aboal Sanjurjo: Catedrática de Universidad del área de Botánica en el Departamento de Biología Vegetal, Laboratorio de Algología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, maboal@um.es

Morgan L. Vis: Profesora Titular de Ecología y Sistemática de algas del Departamento de Biología Vegetal y Medio Ambiente, Porter Hall rm. 315, Ohio University, Athens OH 45701 USA, vis-chia@ohio.edu

El trabajo llevado a cabo por María Eugenia García Fernández, la estudiante de Doctorado, se centró en el estudio del material biológico Europeo. En el campo recolectó las muestras biológicas y de agua y midió las variables físico-químicas. En el laboratorio estudió las muestras taxonómicamente y realizó los análisis químicos del agua. Los análisis moleculares los realizó en la Universidad de Ohio (USA).

URL: <http://www.phycologia.org/doi/abs/10.2216/12-085.1>

ABSTRACT

Polysiphonia subtilissima has a global marine distribution and has been reported from coastlines of every continent except Antarctica. Here, we report *P. subtilissima* from a freshwater habitat in Pego-Oliva Natural Park, Spain, which is only the third freshwater record for the genus and the first from Europe. This species was previously identified based on morphology from Juniper Creek (Florida, USA), 140 km from marine tidal influence, as well as from a stream on the island of Jamaica. Two molecular markers, 5' cytochrome c oxidase subunit I barcode (COI) and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) large subunit gen (*rbcL*) were sequenced for the freshwater collections from Spain and Florida. DNA sequences from the freshwater specimens were identical for each marker and were identical or highly similar to previously published *P. subtilissima* sequences. Both the freshwater samples were collected from alkaline waters (pH 7.6-8.8 and 7.7, respectively) with high conductivity (1900-2700 and 1840 μScm^{-1} , respectively) for a freshwater ecosystem, suggesting a high concentration of total dissolved solids within these habitats. The high conductivity may have alleviated some of the osmolaric stress to the freshwater *P. subtilissima* populations.

5.3. García-Fernández ME, Vis M, Aboal M, 2014. *Kumanoa mahlacensis* S. Kumano & W.A. Bowden-Kerby (Batrachospermales, Rhodophyta) in a mediterranean wetland, a new species for the European continental algal flora. Anales del Jardín Botánico de Madrid (aceptado).

María Eugenia García Fernández: Estudiante de Doctorado, Laboratorio de Algología, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, marujegf@gmail.com

Morgan L. Vis: Profesora Titular de Ecología y Sistemática de algas del Departamento de Biología Vegetal y Medio Ambiente, Porter Hall rm. 315, Ohio University, Athens OH 45701 USA, vis-chia@ohio.edu

Marina Aboal Sanjurjo: Catedrática de Universidad del área de Botánica en el Departamento de Biología Vegetal, Laboratorio de Algología, Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30100, Murcia, España, maboal@um.es

La estudiante de doctorado María Eugenia García Fernández planificó los objetivos del estudio, recolectó y estudió el material biológico de campo y realizó los análisis químicos. Además interpretó los resultados y conclusiones y elaboró el manuscrito.

ABSTRACT

Morphological characters and molecular sequence data of the plastid-encoded ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) large subunit gen (*rbcL*) confirmed the first record of *Kumanoa mahlacensis* (S. Kumano & W. A. Bowden-Kerby) Entwisle, M. L. Vis, W. B. Chiasson, Necchi & A. R. Sherwood in Europe from a Spanish Mediterranean coastal wetland. The genus *Kumanoa* has a worldwide distribution and inhabits in both lotic and lentic habitats, but information about the ecological requirements of species is scarce. In this study, the morphology and ecology of Spanish material is described in order to gain a broader insight of the distribution of species from Mediterranean areas.

JAVIER FUERTES AGUILAR, Científico Titular del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Director de la revista científica *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, ante quien corresponda:

CERTIFICA: que D^a M^a EUGENIA GARCÍA FERNÁNDEZ es autora de un artículo, aceptado por su interés científico para su publicación en dicha revista, cuyo título es:

KUMANOA MAHLACENSIS (BATRACHOSPERMALES, RHODOPHYTA) IN A MEDITERRANEAN COASTAL WETLAND, A NEW SPECIES FOR THE EUROPEAN CONTINENTAL ALGAL FLORA.

La revista *Anales del Jardín Botánico de Madrid* es publicada por Editorial CSIC de la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y está indizada en numerosas bases de datos internacionales, entre ellas Current Contents, y Science Citation Index Expanded.

Asimismo, hacemos constar que de la publicación indicada se distribuyen 1.500 ejemplares en Instituciones Educativas y Culturales tanto a nivel nacional como internacional, al tener establecido intercambio de todas las publicaciones con Universidades, Organismos o Entidades Públicas y Privadas.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente documento en Madrid a 29 de enero de 2014.



Fdo.: Javier Fuertes Aguilar
Director
Anales del Jardín Botánico de Madrid
Real Jardín Botánico de Madrid, CSIC

6. Anexos

6.1 García-Fernández ME, Sánchez-Lorencio MI, Aboal M, 2011. Algas aerofíticas del Marjal de Pegó-Oliva, este de la Península Ibérica. Acta Botanica Malacitana 36: 169-174.

211. ALGAS AEROFÍTICAS EPIPÉLICAS DEL MARJAL DE PEGO-OLIVA, ESTE DE LA PENÍNSULA IBÉRICA

M. Eugenia FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Isabel SÁNCHEZ-LORENCIO y Marina ABOAL

Recibido el 10 de junio de 2011, aceptado para su publicación el 28 de julio de 2011

Aerophytic epipellic algae from Marjal Pegó-Oliva, eastern Iberian Peninsula

Palabras clave: Algas aerofíticas, marjales, *Vaucheria*, *Botrydium*, Península Ibérica.

Key words: Aerophytic algae, saltmarsh, *Vaucheria*, *Botrydium*, Península Ibérica.

Las algas aerofíticas han sido escasamente estudiadas en nuestro país. En algunos casos los datos florísticos se incorporan a trabajos ligados al biodeterioro de monumentos de

sustratos rocosos (Rifón-Lastra 2000) y en otros, en cambio, se centran en comunidades de microalgas epipélicas (Aboal 1996).

La flora y distribución de las macroalgas

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (proyecto CGL 2086-09884).

Localidad	Coordenadas geográficas	Especies recolectadas
Riberas del río Racons (R2)	N38°51.612'W0°04.403'	<i>Botrydium granulatum</i> , <i>Vaucheria dillwynii</i> , <i>Vaucheria frigida</i>
Riberas del río Racons (R3)	N38°51.419'W0°04.139'	<i>Vaucheria dillwynii</i> , <i>Vaucheria sessilis</i> , <i>Vaucheria geminata</i> , <i>Vaucheria frigida</i>
Riberas de la Bassa Sineu	N38°51.164'W0°03.415''	<i>Vaucheria compacta</i>

Tabla 1. Localización de los puntos de muestreo y especies recolectadas. *Sampling locations and collected species.*

epipélicas, muchas de ellas pertenecientes a las xantofíceas, permanece bastante desconocida. En los últimos años se han publicado escasas referencias sobre algunos géneros como *Vaucheria* (Aboal 1989, 2003; Calvo 2001) o *Botrydium* (Gil-Rodríguez et al. 2003) en áreas geográficas muy concretas.

En este trabajo se describen las comunidades de algas epipélicas del Marjal de Pegó-Oliva y se aportan nuevas citas para la zona y para el territorio español.

Dentro del marco de un proyecto de caracterización extensiva de la flora algal del Marjal se muestrearon las comunidades bentónicas de ríos (Bullent y Racons), surgencias de agua dulce y salobre, azarbes y arrozales. La localización exacta de las localidades en las que se recolectaron las especies aerofíticas se indica en la tabla 1. En el campo se realizó una caracterización limnológica general de todos los puntos de muestreo y se recolectaron muestras de agua para la cuantificación de los principales iones.

El material vegetal se transportó en frío hasta el laboratorio para su observación y, posteriormente, se fijó con formaldehído (<4%) y/o se prensó. Para la observación con microscopio óptico, cuando fue necesario, se trató el material con EDTA (5%). El material recolectado que no estaba fructificado se mantuvo en semicultivo con agua del medio para inducir la reproducción.

Para la identificación de los especímenes se utilizaron los trabajos de Christensen (1995), John *et al.* (2002), Rieth (1980) y Venkataraman (1961).

El Marjal de Pegó-Oliva es una de las zonas húmedas más importantes del litoral mediterráneo español y sirve de refugio a comunidades vegetales y animales muy amenazadas en otros lugares (Cantoral y Aboal 2001, 2010). El humedal se encuentra situado en la zona de mayor pluviosidad de la Comunidad Valenciana (fig. 1) y presenta una elevada temperatura, lo que explica el carácter subtropical de la flora (Carretero 1990). El grado de singularidad de este enclave se hace patente al compararlo con el resto de humedales litorales de la vertiente española.

Su superficie se reparte entre los términos municipales de Oliva (en la provincia de Valencia) y de Pegó, Denia y Vergel (en la provincia de Alicante). Presenta una forma alargada, paralela a la costa con unos 14 km² de superficie. El río Bullent recorre el Marjal por su flanco septentrional y recoge los aportes de diversos manantiales de agua dulce y de agua salada. Las precipitaciones en la zona suelen ser torrenciales, con máximos otoñales y primaverales y una acusada sequía estival.

Las precipitaciones de otoño de 2007 fueron las más intensas de los últimos veinte años en la zona del Marjal de Pegó-Oliva (más de 400 litros por metro cuadrado en

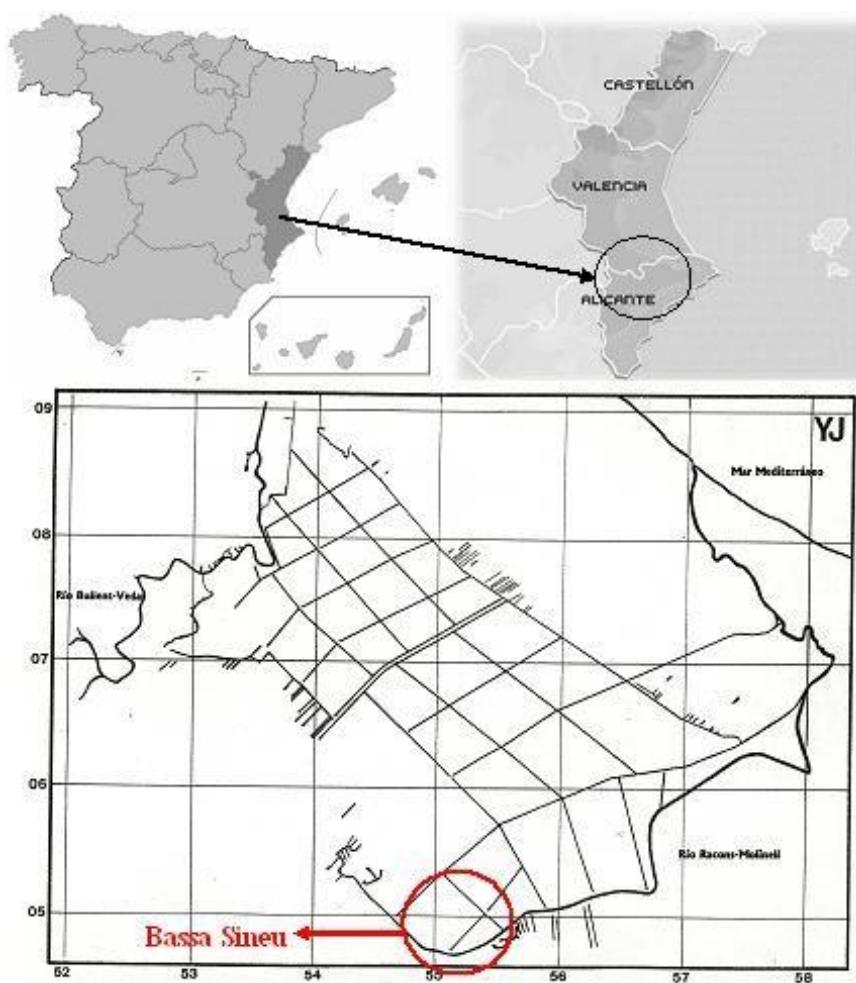


Figura 1. Localización geográfica de la zona de estudio

unas cuantas horas), y elevaron el nivel de los ríos varios metros anegando gran parte del parque. El muestreo se realizó cuando las aguas volvieron a su cauce. La composición química de las aguas en el momento de la recolección se recoge en la tabla 2.

La comunidad se desarrollaba sobre terrenos arcillosos de las riberas del río Racons y en las inmediaciones de la Bassa Sineu formando un fieltro de coloración verdosa salpicado con vesículas verdeazuladas. Con anterioridad, en el Marjal se había citado únicamente *Vaucheria dichotoma* (L.) Martius, formando tapetes a veces bastante extensos en los arroyos (Cantoral y Aboal 2001). En esta ocasión este taxón no se recolectó fértil en el campo pero sí formó las estructuras de reproducción en el laboratorio. Todas las especies mencionadas en este trabajo

son nuevas citas para el parque. *Vaucheria compacta* y *V. dillwynii* son nuevas citas para el levante español y *V. compacta* es nueva cita para el territorio español (Álvarez-Cobelas 1984; Calvo-Marta 2001).

O. VAUCHERIALES

Vaucheria compacta (Collins) Collins in Taylor (fig. 2: 1-2)

Filamentos de 40-65 μm de diámetro. Dioica. Órganos sexuales en el extremo de cortas ramas que crecen en ángulo recto con el filamento vegetativo. Sólo se observaron pies femeninos. Oogonios globosos, obovoides, de apertura irregular. Oósporas, de 300-350 x 320-370 μm esféricas u oblongas, de paredes gruesas incoloras o amarillentas.

Forma tapetes sobre la tierra húmeda junto con otras especies. Tolera altas concentraciones salinas y es capaz de crecer también en aguas dulces

Localidad	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (µS cm ⁻²)	Oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)	PRS (µmol L ⁻¹)	NID (µmol L ⁻¹)
Riberas del río Racons (R2)	7,6-8,2	16,8-21,7	2.630-3.600	5,6-8,2	0,13-0,27	171,42-220,12
Riberas del río Racons (R3)	7,5-8,4	16,6-29,1	1.970-3.350	5,8-15,4	0,15-0,22	271,57-628,13
Riberas de la Bassa Sineu	7,4-7,7	15,9-27,7	4.410-7.740	5,8-13,12	0,10-0,55	281,99-651,45

Tabla 2: Variación anual de las características físicoquímicas del agua en los puntos de muestreo. *Annual variation of the physico-chemical characteristics of water in the sampling points.*

(Christensen 1995). No se conocía en España pero se ha citado en Dinamarca, Francia y Estados Unidos (Venkataraman 1961, John *et al.* 2002).

Vaucheria dillwynii (Weber et Mohr) C. Agardh (= *Vaucheria pachyderma* Walz) fig. 2: 3-4)

Filamentos de 60-100 µm de diámetro. Monoica. Oogonios solitarios, de 80-150 x 80-200 µm, sésiles, truncados, erectos, con su eje longitudinal horizontal, con un pico reflejo. Las oósporas de 150 x 180 µm, llenan por completo los oogonios y tienen una pared gruesa y ornamentada. Los anteridios de 25-30 x 50-70 µm nacen en el extremo de una corta rama perpendicular al filamento y tienen de 0,2-0,6 espiras, frecuentemente junto a un oogonio, más raramente entre dos (Venkataraman 1961).

Convive con las especies precedentes. No se conocía en España pero se ha citado en aguas dulces y aguas salobres, de Europa y Estados Unidos (Venkataraman 1961, John *et al.* 2002, Wehr & Sheath 2003).

Vaucheria frigida (Roth) C. Agardh sensu T. A. Christensen (= *Vaucheria terrestris* sensu Götz non *terrestris* sensu de Candolle, *V. hamata* (Vaucher) de Candolle)

Filamentos de 500-100 µm de diámetro. Monoica. Anteridios y oogonios sobre ramas recurvadas. Anteridios de 25-35 x 65-90 µm, con 0,5 o 0,75 espiras. Oogonios de 90-120 x 90-135 µm, ovoides, con una prominencia distal, solitarios o en parejas. Las oósporas negruzcas llenan por completo los oogonios y tienen las paredes gruesas.

Forma tapetes sobre la tierra húmeda junto

con otras especies. Se había citado en Murcia (Aboal 1989) y otros puntos de España (Álvarez-Cobelas 1984, Calvo-Marta 2001) y está ampliamente distribuida por Europa, Asia y Australia (Venkataraman 1961, John *et al.* 2002).

Vaucheria geminata (Vaucher) de Candolle in Lamarck et de Candolle

Filamentos de 45-75 µm de diámetro. Monoica. Anteridio en el centro de las ramas fértiles rodeado por dos oogonios y con 0,3 a una espira. Oogonio de 65-80 x 75-115 µm, ovoides a reniformes, con una prominencia distal, con el eje longitudinal erecto a casi horizontal y poros dirigidos hacia arriba. Oósporas de 55-220 x 65-185 µm de pared engrosada y llenando por completo el oogonio.

En las mismas condiciones que la especie precedentes. Citada para Murcia (Aboal 1989) y otros puntos de España (Álvarez-Cobelas 1984, Calvo-Marta 2001, está ampliamente distribuida por Asia, Australia, Europa o Estados Unidos (Venkataraman 1961, John *et al.* 2002).

Vaucheria sessilis (Vaucher) de Candolle in Lamarck (= *Vaucheria bursata* (O.F. Müller) C. Agardh)

Filamentos de 45-120 µm de diámetro. Monoica. Anteridios de 20-29 x 50-75 µm situados entre dos oogonios, generalmente curvado en el plano vertical, con 0,3-0,7 espiras, en el extremo de un corta rama perpendicular al filamento. Oogonios normalmente en parejas, de ovoides a subesféricos, de 50-75 x 75-100 µm, sésiles y con un pico lateral o terminal muy característico. El poro se sitúa en ángulo agudo con el filamento y está generalmente

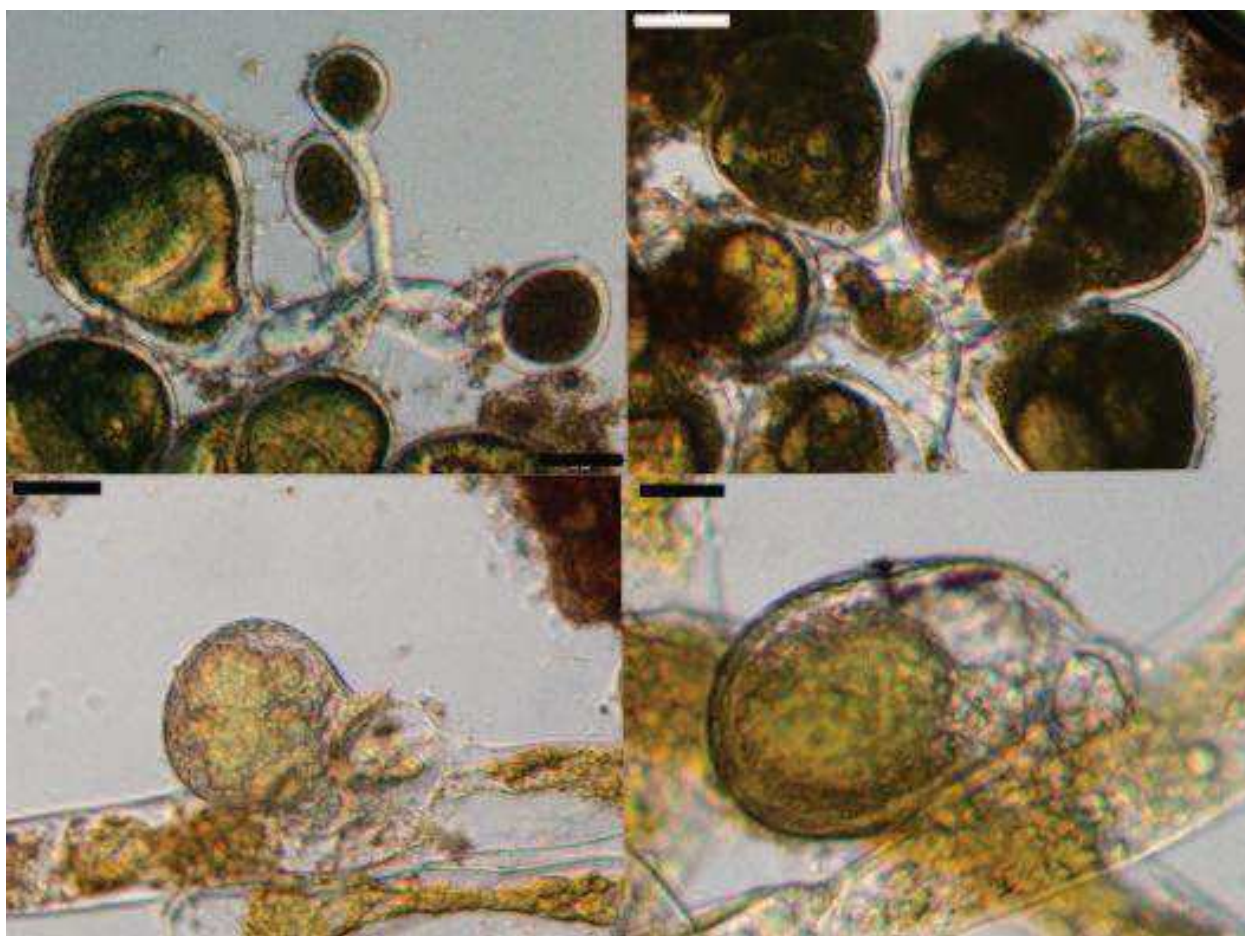


Figura 2. 1-2. *Vaucheria compacta*: detalles de las ramas con oogonios en distintos grados de maduración. 3-4. *Vaucheria dillwynii*: detalles en vista frontal y lateral del oogonio y el anteridio. La escala representa 50 μm . 1-2: *Vaucheria compacta*: details of the branches with oogonia in different levels of maturation. 3-4: *Vaucheria dillwynii*: details in front and lateral view of oogonia and antheridium. The scale represents 50 μm .

girado en dirección al anteridio adyacente. Las oósporas de 50-70 x 75-95 μm , llenan por completo los oogonios y tienen paredes gruesas, oscuras y ornamentadas.

En las mismas condiciones que la especies precedentes. Citada para Murcia (Aboal 1989) y otros puntos de España (Álvarez-Cobelas 1984, Calvo-Marta 2001, está ampliamente distribuida por Asia, Australia, Europa o Estados Unidos (Venkataraman 1961, John *et al.* 2002).

O. BOTRYDIALES

Botrydium granulatum (L.) Greville

Talo versiculoso, de parte aérea esférica de hasta 5 mm de diámetro, de color verdeazulado o verde grisáceo, de paredes finas y frecuente incrustación de carbonatos. Rizoides subterráneos

muy ramificados e incoloros.

Junto con las especies precedentes. Había sido citada en varios puntos de España (Álvarez-Cobelas 1984, Gil-Rodríguez *et al.* 2003) y es frecuente en suelos húmedos en la orilla de lagos, estanques y ríos, normalmente en primavera y otoño (John *et al.* 2002).

AGRADECIMIENTOS. Agradecemos al personal del Parque Natural del Marjal de Pegu-Oliva, a Sergio Marco Castaño y a José Pedro Marín Murcia su apoyo en los trabajos de campo.

BIBLIOGRAFÍA

ABOAL, M. -1989- Aportación al conocimiento de las algas epicontinentales del S. E. de España. V.

- Xantoficeas (Xanthophyceae P. Allorge ex Fritsch, -1935). *Anuario da Sociedade Broteriana* 62: 239- 248.
- ABOAL, M. -1996- Epipellic algal assemblages in irrigation channels from Southeastern Spain. *Arch. Hydrobiol. (Algological Studies)* 82: 117- 131.
- ABOAL, M. -2003- *Vaucheria undulata* Jao (Vaucheriaceae, Xanthophyceae), nueva cita para la flora algal epicontinental española. *Anales Jard. Bot. Madrid* 60(1): 215- 216.
- ÁLVAREZ COBELAS, M. -1984- Catálogo de las algas continentales españolas, II. *Acta Bot. Malacitana* 9: 27-40. Málaga.
- CALVO-MARTA, S. -2001- *Algas bentónicas de marismas de Galicia: Flora y Vegetación*. Tesis Doctoral, Universidade da Coruña.
- CANTORAL, E. A. y M. ABOAL -2001- El Marjal de Pego-Oliva: evolución temporal de la flora de macroalgas. *Limnética* 20 (1): 159-171.
- CANTORAL, E. A. y M. ABOAL -2010- Comunidades algales bénticas de algunas fuentes del Marjal Oliva-Pego, Comunidad Valenciana, España: implicaciones para la biodiversidad, control de calidad ambiental y manejo de cuencas en la región mediterránea. *Limnetica* (en prensa).
- CARRETERO, C. J. L. -1990- Macrófitos acuáticos de la provincia de Alicante. *Medi Natural* 2: 45-55.
- CHRISTENSEN, T. -1995- Volume 4: *Tribophyceae* (Xanthophyceae). En: *Seaweeds of the British Isles*. The Natural History Museum. Londres.
- GIL-RODRÍGUEZ, M. C., A. LOSADA-LIMA y L. MORO-ABAD -2003- *Botrydium granulatum* (Linnaeus) Greville, primera cita del género en las Islas Canarias. *ALGAS (Boletín de la Sociedad española de Ficología) Número Especial en Homenaje al Dr. Seoane*: 23-24.
- JOHN, D. M., B. A. WHITTON & A. J. BROOK (Ed.). -2002- *The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge University Press. Cambridge.
- RIETH, A. -1980- *Xanthophyceae*. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart.
- RIFÓN-LASTRA, A. B. -2000- *Algas epilíticas en monumentos de interés histórico en Galicia*. Tesis Doctoral. Universidade da Coruña.
- VENKATARAMAN, G. S. -1961- *Vaucheriaceae*. Indian Council of Agricultural Research. Nueva Delhi.
- WEHR, J. D. & SHEATH, R. G. (Ed.) -2003- *Freshwater Algae of North America*. Academic Press.
- Dirrección de los autores. Laboratorio de Algología. Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. E- 30100, Murcia (España)

6.2 García-Fernández ME, Aboal M, 2011. *Cyanidium caldarium* (Tilden) Geitler (Cyanidiaceae, Cyanidiophyceae) nueva cita para la flora algal continental española. Acta Botanica Malacitana 36: 164-169.

210. *CYANIDIUM CALDARIUM* (TILDEN) GEITLER (CYANIDIACEAE, CYANIDIOPHYCEAE) NUEVA CITA PARA LA FLORA ALGAL CONTINENTAL ESPAÑOLA

María Eugenia GARCÍA-FERNÁNDEZ* y Marina ABOAL

Recibido el 4 de junio de 2011, aceptado para su publicación el 10 de julio de 2011

Cyanidium caldarium (Tilden) Geitler (Cyanidiaceae, Cyanidiophyceae) new record for the Spanish continental algal flora

Palabras clave. Cyanidiophyceae, *Cyanidium*, cuevas, aguas termales, material yesífero, distribución.

Keywords. Cyanidiophyceae, *Cyanidium*, caves, thermal springs, gypsum, distribution.

El género *Cyanidium* Geitler es monoespecífico y se caracteriza por su hábito unicelular y estar sobre todo bien representado en aguas termales. Presenta una morfología bastante simple que consiste en células esféricas uninucleadas de paredes gruesas con un único cloroplasto discoidal sin pirenoide (De Luca *et al.* 1978, Merola *et al.* 1981). Los estudios filogenéticos sugieren que es uno de los géneros de algas más primitivos (Yoon *et al.* 2002).

Desde su descripción, *Cyanidium caldarium* se ha incluido en hasta 4 grupos taxonómicos distintos: Chlorophyta (Tilden 1898), Cyanophyta (Geitler & Ruttner 1936), Rhodophyta (Hirose 1958, Geitler 1958) y Cryptophyta (Dougherty & Allen, 1960).

El orden Cyanidiales además incluye a los géneros *Cyanidioschyzon* De Luca, Taddei & Varano y *Galdieria* Merola in Merola *et al.* que se diferencian de *Cyanidium* por el modo de reproducción. *Galdieria* y *Cyanidium* se reproducen asexualmente mediante la formación de autósporas (4 autósporas *Cyanidium* y de 4 a 30 *Galdieria*), sin embargo en *Cyanidioschyzon* sólo se ha observado división celular. Los géneros *Cyanidium* y *Cyanidioschyzon* contienen una única especie, mientras que en el género *Galdieria* se recogen cuatro (Toplin *et al.* 2008).

En este trabajo se cita *Cyanidium caldarium* por primera vez en España (Álvarez-Cobelas *et al.* 1984, Ballesteros *et al.* 1985, Sabater *et al.* 1989).

Las muestras fueron recolectadas en la cueva la Romera situada en el término municipal de Cañete la Real (Málaga, Sur España) en las coordenadas UTM 30S UF1297 a 450 m sobre el nivel del mar. La cueva mide aproximadamente 500 m de longitud y unos 8 m de profundidad con una única entrada (fig. 2). La temperatura es moderada, se mantiene alrededor de los 15° C. La cueva se asienta sobre



Figura 1. Localización de la cueva la Romera

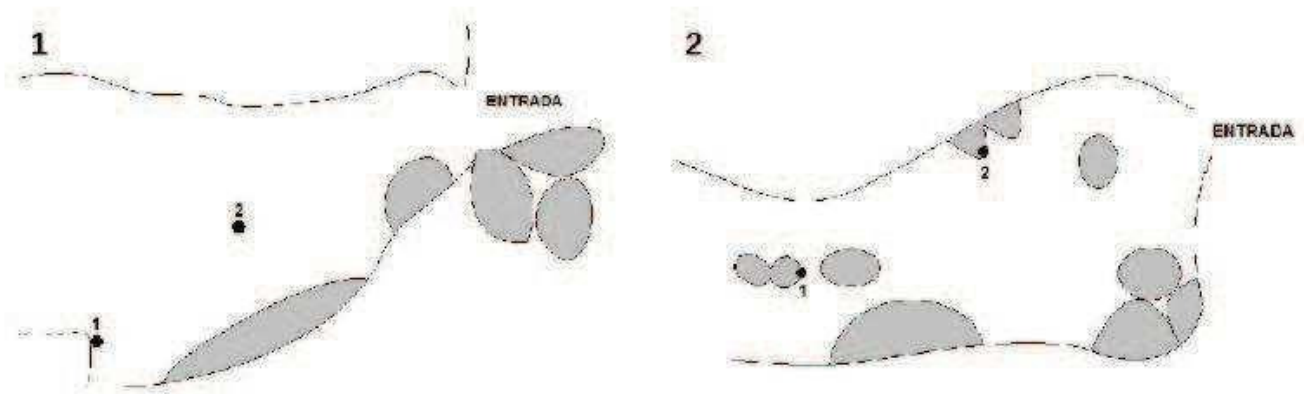


Figura 2. 1-2 Perfil y planta de la cueva la Romera, y localización de los puntos de muestreo.

terreno yesífero con ombroclima semiárido y una vegetación de monte bajo mediterráneo donde las coscojas (*Quercus coccifera* L.), espinos negros (*Rhamnus lycioides* L.), pinos carrascos (*Pinus halepensis* Mill.) y lentiscos (*Pistacia lentiscus* L.) son predominantes (fig. 1). Se recogieron muestras de la superficie rocosa de la cueva mediante raspado y de agua en dos puntos de muestreo, uno situado a 35 m de la entrada a la cueva (punto 1) y otro menos profundo a 20 m (punto 2) (fig. 2). En el momento de la recolección se midieron en el campo la temperatura, y el pH del agua. Las muestras de agua se transportaron hasta el laboratorio en frío, se filtraron con filtros de 0.45 μm de tamaño de poro y se analizó su composición química (nitrógeno y fósforo total, NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y Si) con los kits de análisis de aguas Merck (Spectroquant) (tab. 1).

Las muestras biológicas se conservaron en frío hasta la llegada al laboratorio donde una parte se estudiaron en vivo con microscopía óptica y posteriormente se conservaron en seco y se depositaron en el Herbario MUB-ALGAS. Se realizaron 20 medidas de las dimensiones de las células y se fotografiaron con un microscopio Leica DMRB, equipado con un programa de ordenador para digitalizar imágenes, Spot RT Software v3.0. Para la microscopía electrónica de barrido se utilizó un microscopio JEOL-6100 en el Servicio de Microscopía de la Universidad

de Murcia. Previamente se preparó el material vegetal mediante fijación con glutaraldehído al 2,5% y tetróxido de osmio al 1% en tampón fosfato, deshidratación con etanol (las secciones se tiñeron con acetato de uranilo al 2% y citrato de plomo), y mediante punto crítico y metalización con Au-Pd.

Se obtuvieron cultivos monoclonales a partir de aislamientos en el medio de cultivo BBM (Bold 1949).

El pH del agua es levemente alcalino y la conductividad es elevada, como corresponde a aguas sobre material yesífero. El contenido en nutrientes (nitrógeno y fósforo) es relativamente elevado probablemente debido a la existencia de colonias de murciélagos en el interior de la cueva. La concentración de amonio también se debe a la presencia de materia orgánica en descomposición (tab. 1).

Las poblaciones de *Cyanidium* se desarrollan en puntos en los que no llega la luz directa de la entrada y muestran un aspecto pulverulento y de intenso color verde azulado. Las células son esféricas de 3 a 6 μm de diámetro de un color verde azulado intenso y están aisladas. Tienen un único cloroplasto discoidal sin pirenoide. Como estructuras reproductoras sólo se observan autoesporocistes con 4 autósporas (fig. 3).

Las características morfométricas y la morfología de las células, se encuentran dentro

PUNTO DE MUESTREO	CONDUCTIVIDAD mS/cm ²	pH	FÓSFORO TOTAL (mg/L)	NITRÓGENO TOTAL (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	PRS (mg/L)	Si (mg/L)
1	3	7,13	2,62	9,8	4,8	0,02	0,14	0,05	0,76
2	2,43	7,24	2,82	19,4	7,8	0,01	0,22	0,04	1,41

Tabla 1. Características físico-químicas del agua de la cueva la Romera.

CONTINENTE	LOCALIDAD	HÁBITAT	pH	T ^a	MATERIAL GEOLÓGICO	REFERENCIA
América	Desierto de Atacama (Chile)	cueva costera	4,5	15° C	basalto andesítico y arenisca	Azúa-Bustos <i>et al.</i> 2009
	Parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos)	aguas termales	3,3	56° C	roca volcánica	Toplin <i>et al.</i> 2008
	Cueva Monte Rotaro, Ischia (Italia)	cueva	7 – 7,2	-	roca volcánica	Ciniglia <i>et al.</i> 2004
	Cueva Sybil, Nápoles (Italia)	cueva	7 – 7,2	-	roca volcánica	Ciniglia <i>et al.</i> 2004
Europa	Pisciarelli, Nápoles (Italia)	aguas termales	0,5 - 2	25- 55° C	roca volcánica	Ciniglia <i>et al.</i> 2004
	Acqua Santa (Italia)	aguas termales	0,5 - 3	50-55° C	-	Pinto <i>et al.</i> 2003 Ciniglia <i>et al.</i> 2004
	Siena (Italia)	aguas termales	0,5 - 3	50-55° C	-	Pinto <i>et al.</i> 2003 Ciniglia <i>et al.</i> 2004
	Cueva la Romera, Málaga (España)	cueva	7,2	15° C	yesos	Este trabajo
Oceanía	Quennsland (Australia)	cueva costera	-	-	arenisca	Cribb 1965
Asia	Java (Indonesia)	aguas termales	0,5 - 3	50-55° C	-	Pinto <i>et al.</i> 2003 Ciniglia <i>et al.</i> 2004
	Japón	aguas termales	0,5 - 3	50-55° C	-	Pinto <i>et al.</i> 2003 Ciniglia <i>et al.</i> 2004

Tabla 2. Distribución geográfica y características ambientales de las localidades en las que se ha citado *Cyanidium caldarium*.

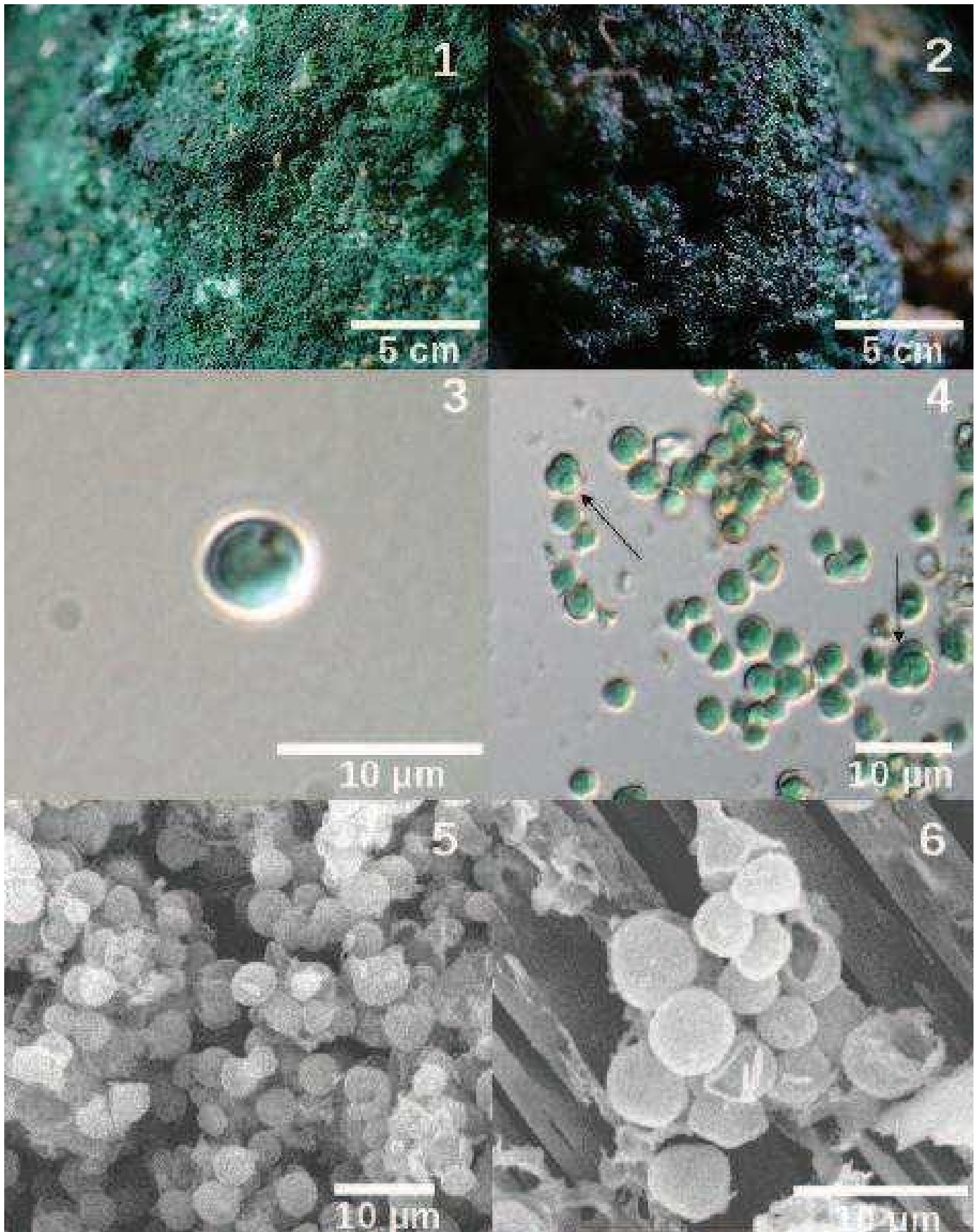


Figura 3. 1-2. Aspecto general de las poblaciones de *Cyanidium* en la cueva la Romera. 3-4. Células aisladas y autoesporocistes (flechas). 5. Células aisladas de *Cyanidium* al microscopio electrónico de barrido. 6. Liberación de las autósporas sobre los cristales de yeso.

de los rangos establecidos para la especie.

Cyanidium caldarium es una especie ampliamente distribuida en fuentes termales de todo el mundo, sin embargo recientemente se ha citado en varias cuevas, sobre distintos materiales geológicos, con distintos valores de pH y a una temperatura moderada (tab. 2).

En general, el pH en las cuevas es básico, a excepción de la cueva de Atacama (Chile) que lo tiene ácido. Los materiales geológicos suelen ser areniscas y rocas volcánicas, a excepción de la cueva la Romera donde el material es yesífero. Las aguas termales en las que se desarrolla se asientan sobre terrenos volcánicos (tab. 2). Aunque se carece de datos para otras cuevas es posible que en todos los casos haya un buen suministro de nutrientes proporcionado por los animales que suelen habitar las cuevas del material estudiado.

La delimitación de especies dentro del género *Cyanidium* es complicada debido a la ausencia de caracteres morfológicos. No se puede separar con claridad el material de la cueva la Romera del citado para aguas termales u otras cuevas. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que en cuevas se desarrolla un linaje monofilético y mesófilico de *Cyanidium*, diferente de los linajes termoacidófilos que habitan en aguas termales (Azúa-Bustos *et al.* 2009). Es por tanto imprescindible realizar una caracterización genómica de los taxones para poder verificar la existencia de más de una especie dentro de este género.

AGRADECIMIENTOS. A Toni Pérez, Baltasar Felguera e Ildefonso Felguera, Grupo de Espeleología de Villacarrillo y Grupo Espeleológico Arqueológico de Campillos, por su ayuda en la recogida del material vegetal.

BIBLIOGRAFÍA

- de las algas continentales españolas II. Craspedophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Haptophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Xanthophyceae. *Acta Bot. Malacitana* 9: 27-40.
- AZÚA-BUSTOS, A., C. GONZÁLEZ-SILVA, R.A. MANCILLA, L. SALAS, R.E. PALMA, J.J. WYNNE, C.P. MCKAY & R. VICUÑA -2009- Ancient photosynthetic eukaryote biofilms in an Atacama Desert coastal cave. *Microb. Ecol.* 58:485-496.
- BALLESTEROS, E., C.F. BOUDOURESQUE, M.P. BOUDOURESQUE, M. BRUGUÉS, J. CATALÁN, F.A. COMÍN, J. CAMBRA, R.M. CROS, M. COMELLES, M. DELGADO, M. HERNÁNDEZ, X. LLIMONA, J. MOLERO, M.A. RIBERA, J. ROMERO, X. TOMÁS & F. TORRELLA -1985- Història natural dels Països Catalans: Plantes inferiors, vol. 4. Enciclopèdia Catalana S. A., Barcelona.
- BOLD, H.C. -1949- The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp. nov. *Bull. Torrey Bot. Club.* 76: 101-108.
- CINIGLIA, C., H.S. YOON, A. POLLIO, G. PINTO & D. BHATTACHARYA -2004- Hidden biodiversity of the extremophilic Cyanidiales red algae. *Mol. Ecol.* 13:1827-1838.
- CRIBB, A.B. -1965- An ecological and taxonomic account of the algae of a semi-marine cavern, Paradise cave, Queensland. University of Queensland Press, Department of Botany, vol. IV, no. 16.
- DE LUCA, P., R. TADDEI & L. VARANO -1978- '*Cyanidioschyzon merolae*': a new alga of thermal acidic environments. *Webbia* 33: 37-44.
- DOUGHERTY, E.C. & M.B. ALLEN -1960- Is pigmentation a clue to protistan phylogeny? Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems. *Symp. Comp. Biol.* 1: 129-144.
- GEITLER, L. & F. RUTTNER -1936- Die Cyanophyceen der deutschen limnologischen Sunda-Expedition. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 14: 308-481.
- GEITLER, L. -1958- Die Gattung *Cyanidium*. *Österr. Bot. Z.* 106: 172-173.
- HIROSE, H. -1958- Rearrangement of the systematic position of a thermal alga, *Cyanidium caldarium*. *Bot. Mag. Tokyo* 71: 347-352.
- MEROLA, A., R. CASTALDO, P. DE LUCA, R. GAMBARDILLA, A. MUSACCHIO &

- R. TADDEI -1981- Revision of *Cyanidium caldarium*. Three species of acidophilic algae. *Giorn. Bot. Ital.* 115: 189–195.
- PINTO, G., P. ALBERTANO, C. CINIGLIA, S. COZZOLINO, A. POLLIO, H.S. YOON & D. BHATTACHARYA -2003- Comparative approaches to the taxonomy of the genus *Galdieria merola* (Cyanidiales, Rhodophyta). *Crypt. Algal.* 24:13-32.
- SABATER, S., M. ABOAL & J. CAMBRA -1989- Nuevas observaciones de rodofíceas en aguas epicontinentales del NE y SE de España. *Limnética* 5: 93-100.
- TILDEN, J.E. -1898- Observations on some West American thermal algae. *Bot. Gaz.* 25: 89-105.
- TOPLIN, J.A., T.B. NORRIS, C.R. LEHR, T.R. MCDERMOTT & R.W. CASTENHOLZ -2008- Biogeographic and Phylogenetic Diversity of Thermoacidophilic Cyanidiales in Yellowstone National Park, Japan, and New Zealand. *Appl. Env. Microbiol.* 74(9) 2822–2833.
- YOON, H.S., J.D. HACKETT, G. PINTO & D. BHATTACHARYA -2002- The single, ancient origin of chromist plastids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 15507-15512.
- Dirección de las autoras. Laboratorio de Algología, Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Campus de Espinardo. Universidad de Murcia. 30100, Murcia, Spain.*Autora para correspondencia: marujegf@gmail.com

6.3 García-Fernández ME, Seguí-Chapuis I, Aboal M, 2012. *Kyliniella latvica* Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae) un rodófito indicador de buena calidad del agua. *Limnetica* 31(2): 341-348.

***Kyliniella latvica* Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae), un rodófito indicador de buena calidad del agua**

María Eugenia García-Fernández^{1,*}, Iara Seguí-Chapuis² y Marina Aboal¹

¹ Laboratorio de Algología. Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. E-30100 Murcia. España.

² Departamento de Botánica. Facultad De Ciencias. Campus de Fuentenueva. Universidad De Granada. 18071 Granada. España.

* Corresponding author: marujegf@gmail.com

Received: 29/12/11

Accepted: 2/3/12

ABSTRACT

The Rhodophyta *Kyliniella latvica* Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae), a good water quality indicator

Kyliniella latvica Skuja is a wide spread Rhodophyta scarcely reported because of its seasonality. Its presence is always linked to low-nutrient environments, and may be considered a good indicator of oligotrophy. The species has been collected in lakes and streams in America and Europe. This is the first record of the filamentous mature thallus for Spain.

Key words: Stylonematales, Rhodophyta, *Kyliniella*, seasonality, distribution, SE Spain.

RESUMEN

***Kyliniella latvica* Skuja (Stylonemataceae, Stylonematophyceae), un rodófito indicador de buena calidad del agua**

Kyliniella latvica Skuja es un rodófito de amplia distribución pero escasamente citado debido a su carácter estacional. Su presencia siempre está ligada a ambientes bajos en nutrientes, y podría considerarse un buen indicador de oligotrofia. La especie ha sido recolectada en lagos y arroyos de America y Europa. Esta es la primera vez que se cita para España de la parte madura filamentosa.

Palabras clave: Stylonematales, Rhodophyta, *Kyliniella*, estacionalidad, distribución, SE España.

INTRODUCCIÓN

Las algas rojas continentales (Rhodophyta) han sido escasamente estudiadas en la Península Ibérica hasta tiempos recientes. Aparte de los trabajos de Margalef (recogidos por Álvarez-Cobelas, 1984; Ballesteros *et al.*, 1985) se han publicado escasas aportaciones sobre el tema, que incluyen el estudio de áreas más o menos extensas como la cuenca del río Segura (Aboal, 1989a), o zonas del NE y SE de España (Sabater *et al.*, 1989), junto con

nuevas citas para la flora: *Batrachospermum boryanum* Sirodot (Prefasi & Aboal, 1994), *Batrachospermum atrum* (Hudson) Harvey (Aboal *et al.*, 1995), *Hildenbrandia angolensis* Welwitsch ex West & G. S. West (Ros *et al.*, 1997), *Thorea violacea* Bory de Saint-Vincent (Egidos & Aboal, 2003) o *Batrachospermum arcuatum* Kylin (Marco & Aboal, 2008).

El género *Kyliniella* Skuja es monoespecífico y pertenece al orden Stylonematales que incluye además los géneros *Stylonema* Reinsch, *Ban-*

giopsis F. Schmitz in Engler & Prantl, *Chroodactylon* Hansgirg, *Chroothece* Hansgirg in Witrock & Nordstedt, *Purpureofilum* J. A. West, Zuccarello & J. L. Scott in J. A. West, Zuccarello, J. L. Scott, J. Pickett-Heaps & G. H. Kim, *Rhodosorus* Geitler, *Rhodospira* Geitler, y *Rufusia* D. E. Wujek & P. Timpano (Sheath & Wehr, 2003). En este orden se incluyen los rodófitos unicelulares, filamentosos o pseudofilamentosos, con varios cloroplastos, con o sin pirenoide y reproducción por división celular o monósporas (Yoon *et al.*, 2006). Anteriormente el género *Kyliniella* se incluía dentro del orden Porphyriadiales junto con los géneros *Cyanidium*, *Flintiella*, *Porphyridium*, *Chroodactylon*, *Chroothece* y *Rufusia* (Sheath & Wehr, 2003), pero los análisis

moleculares actuales han esclarecido la filogenia de los mayores linajes de las algas rojas continentales y modificado su clasificación.

Kyliniella se caracteriza principalmente por presentar una parte basal discoidal, de donde parten filamentos uniseriados no ramificados que pueden alcanzar varios centímetros, con células que pueden elongarse lateralmente en forma de rizoides, que contienen cloroplastos parietales acintados de color rosáceo (Bourrelly, 1970).

Ha sido citada escasamente en cursos de agua de localidades de Europa y América (Tabla 1), aunque se le atribuye una distribución cosmopolita (Bourrelly, 1970). En este trabajo se aporta una nueva cita de esta especie para la flora algal continental española.

Tabla 1. Comparación de poblaciones de *Kyliniella latvica* del río Alhárabe con la bibliografía. *Comparison of the populations of Kyliniella latvica in Alhárabe river with the literature.*

	Poblaciones	Ø Célula (µm)	Long. Célula (µm)	Ø Rizoide (µm)	Long Rizoide (µm)	Ø Filamento (µm)	Ambiente	Características ecológicas	Referencias
América	New Hampshire (Estados Unidos)	7.4-14.8	4.9-11.1	7.4-9.9	17.3-24.7	12.4-32.1	Arroyo	Poco común en la zona litoral de los ríos, en la región de bosque caducifolio de Norte América	Flint 1953, Vis & Sheath 1993
	Rhode Island (Estados Unidos)	8.0-11.0	5.0-9.0	7.0-10.0	18.0-25.0	24.0	Arroyo		Sheath & Burkholder 1985
	Río San Francisco, Canastra (Brasil)	—	—	—	—	—	Arroyo	Recolectada sólo en invierno en zonas con sustratos poco rocosos y con poca abundancia de especies	Necchi <i>et al.</i> 2003
Europa	Lago Usma (Letonia)	9.0-10.0	14.0-22.0	7.4-9.9	10.0-150.0	10.0-19.1	Laguna	Epífita sobre <i>Chara</i> , <i>Phragmites</i> y <i>Scirpus</i>	Skuja 1926
	Río Alhárabe, Murcia (España)	8.3-29.9	17.4-40.66	8.9-12.5	156.3-170	35.78-50.92	Arroyo	Filamentos primero fijados a las rocas en zonas de corriente y después flotan en aguas remansadas oligotróficas	Este trabajo
	Austria	—	—	—	—	—	Laguna	Aguas alcalinas	Geitler 1954, Bourrelly 1970
	Francia	—	—	—	—	—	Laguna	—	Bourrelly 1970
	Suecia	—	—	—	—	—	Laguna	—	Israelson 1938

MATERIALES Y MÉTODOS

Kyliniella latvica fue recolectada en el río Alhárabe situado en la localidad de Moratalla (NO Murcia) en las coordenadas UTM WH 9130 (Fig. 1). Este río nace a 1440 m de altura y se incorpora al río Segura 50 km más abajo. Se caracteriza por tener un curso breve, un caudal irregular, superficie de 348 875 km² y una pendiente media del 24 % (López-Bermúdez, 1973). Los materiales litológicos predominantes de la cuenca son calizas, dolomías y margas. La vegetación de ribera está dominada por saucedas y helófitos como *Arundo donax* L. y *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. En zonas de aguas remansadas o en las represas proliferan los céspedes monoespecíficos de *Zannichellia palustris* L. o *Potamogeton coloratus* L. (Aboal, 1989b). El clima es mediterráneo subhúmedo con menos de 550 mm de precipitación anual, con picos en otoño y en primavera. La temperatura media anual es de 11.7 °C.

Dentro del contexto de un proyecto extensivo realizado a lo largo de un año para caracterizar los principales factores ambientales que afectan al desarrollo de las comunidades de algas en el río Alhárabe, se recolectaron muestras que se conservaron en frío hasta la llegada al laboratorio. En el campo se midieron algunas variables limnológicas (temperatura, pH, conductividad, velocidad de la corriente y profundidad). Paralelamente se tomaron muestras de agua, se filtraron con filtros de 0.45 µm de tamaño de poro y se analizó su composición química (fósforo total, ortofosfato, NO₃⁻, NO₂⁻ y Si) con los kits de análisis de aguas Merck (Spectroquant).

En el laboratorio se realizó el estudio morfológico y morfométrico del material vegetal con un microscopio óptico dotado de contraste interferencial y cámara digital (OLYMPUS BX50). Parte del material se conservó en seco y se depositó en el Herbario MUB-ALGAS. El estudio morfométrico (realizado en 40 células) se basó en los siguientes parámetros: diámetro y longitud



Figura 1. Localización del río Alhárabe (Moratalla, Murcia). *Location of the Alhárabe river (Moratalla, Murcia).*

celular, diámetro y longitud del rizoide y diámetro del filamento. Además, se valoró la actividad fosfatásica microscópicamente (la producción de las enzimas fosfatasas es una estrategia eficiente para la mineralización del fósforo orgánico disponible en el medio por las algas) con BCIPT/TNBT (5-bromo-4-cloro-3-indoxil fosfato y cloruro de nitro-azul de tetrazolio) (Elwood & Whitton, 2007). Como resultado de la tinción para la actividad fosfomonoesterasa, el BCIPT/TNBT se hidrolizó y se obtuvo un precipitado azulado-purpúreo y por tanto la localización de la enzima. *Kyliniella* fue incubada en 4 ml de solución BCIPT/TNBT a temperatura ambiente (20 °C) durante 15-20 minutos antes de añadir 0.5 M NaOH y lavar con agua desionizada. Las muestras se observaron al microscopio.

RESULTADOS

Kyliniella latvica se desarrolla durante un corto periodo de tiempo a finales del invierno o inicios de la primavera. El pH del agua es básico y la conductividad moderada. La temperatura puede alcanzar valores de hasta 9.4 °C en verano, pero en invierno, aunque no llega a congelarse, puede descender hasta 4.7 °C (Aboal *et al.*, 2005). El caudal es el parámetro que más oscila durante el periodo invierno-primavera. Las concentra-

ciones de nutrientes son escasas, los silicatos y los nitratos son los que aparecen en concentraciones mayores mientras que el ortofosfato y nitritos permanecen en niveles menores (Tabla 2). La especie posee una elevada actividad fosfatasa (BCIPT/TNBT) a lo largo de todo el año que le permite convertir el fósforo orgánico en inorgánico para poder incorporarlo.

Las matitas son de un color pardoamarillento y pueden alcanzar varios centímetros de longitud. A pesar de que aparentemente suelen vivir fijadas a plantas, en el río Alhárabe son más frecuentes sobre rocas y pueden flotar libremente en su madurez y acumularse en los remansos. La parte basal, adherida al sustrato, es discooidal y de ella parte un filamento no ramificado de 35.78-50.92 µm de diámetro o con ramas cortas (Tabla 1). Las células son más o menos discooidales de 8.3-29.9 µm de diámetro, 17.4-40.66 µm de altura, con varios cloroplastos acintados parietales, de color rosado. Poseen una gruesa vaina mucilagínosa en la que abundan bacterias epífitas. Es frecuente observar la formación de rizoides a partir de las células del filamento (Fig. 2). Las dimensiones del material recolectado en el río Alhárabe son más grandes que las publicadas para las muestras de los ríos americanos (Flint, 1953; Vis & Sheath, 1993; Sheath & Burkholder, 1985; Necchi *et al.*, 2003) y se asemejan a las de la localidad tipo de Letonia (Skuja, 1926).

Tabla 2. Características físico-químicas del agua del río Alhárabe durante el periodo invierno-primavera. *Physical and chemical characteristics of Alhárabe river water during the winter-spring period.*

Características físico-químicas	Media	Mínimo	Máximo
T ^a (°C)	7.03	4.70	9.40
pH	8.35	8.20	8.50
Conductividad (µS/cm)	649	515	785
Caudal (L/s)	39.48	3.90	64.50
Profundidad (cm)	6.95	3.90	8.40
Radiación (PAR) (µE/m ² /s)	38.9	14.26	63.69
Alcalinidad (meq/L)	4.02	3.39	4.40
NO ₃ ⁻ (mg/L)	2.85	2.85	2.86
NO ₂ ⁻ (µg/L)	8.5	6.03	10.99
Si (mg/L)	2.8	2.42	3.19
Ortofosfato (µg/L)	56.13	41.03	71.23
Fósforo total (µg P/L)	73.84	55.46	92.22

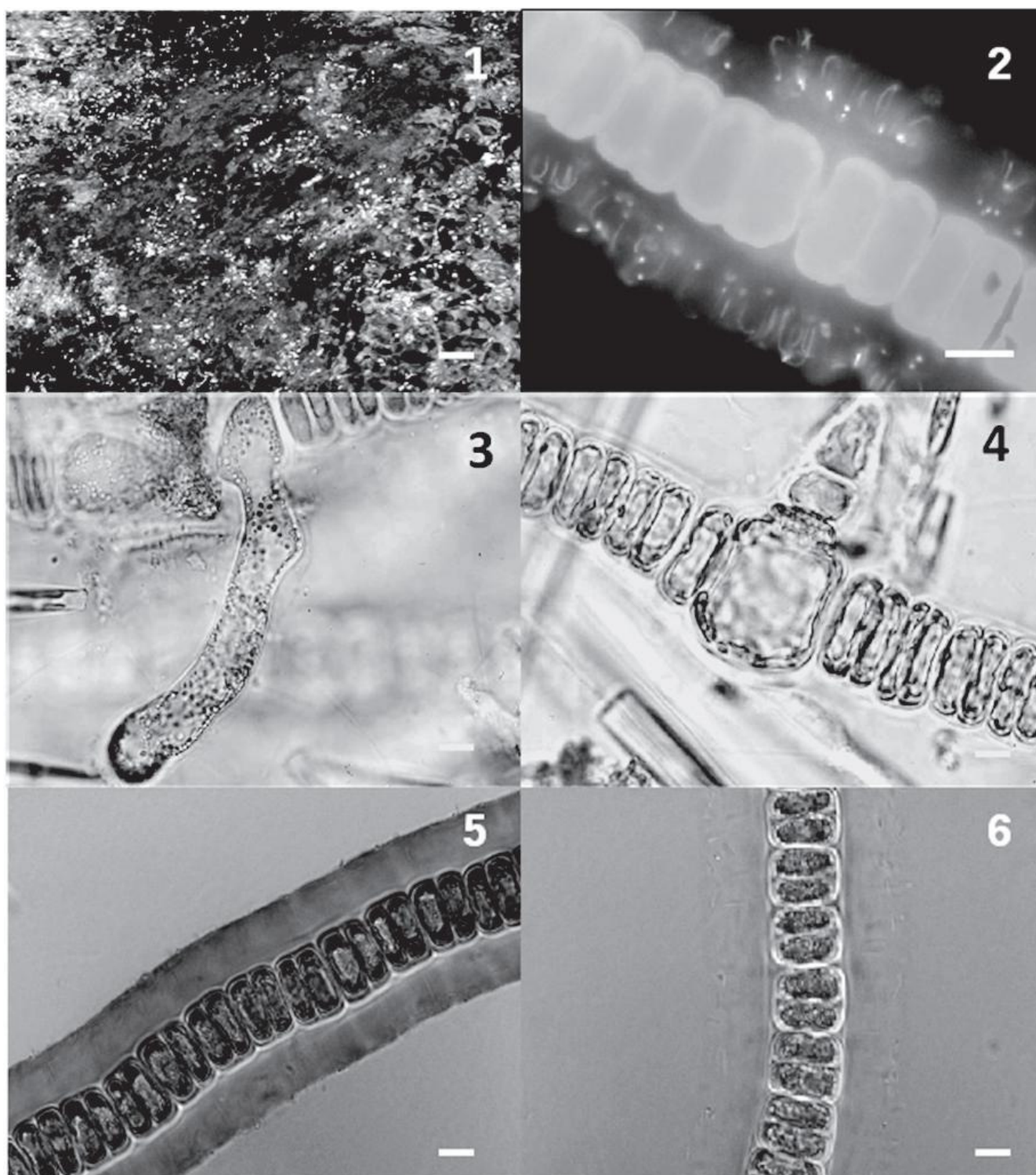


Figura 2. 1. Aspecto general de las poblaciones epilíticas de *Kyliniella latvica* en el río Alhárabe (escala 5 cm). 2. Bacterias epifitas en la vaina mucilaginosa con microscopía de fluorescencia (escala 10 μ m). 3. Rizoide lateral (escala 10 μ m). 4. Detalle de la formación de una pequeña rama (escala 10 μ m). 5. Coloración negruzca que indica la transformación de fósforo orgánico en inorgánico por las enzimas fosfatasa alcalinas (BCIPT/TNBT) (escala 10 μ m). 6. Control de la tinción BCIPT/TNBT, no se aprecia coloración (escala 10 μ m). 1. General view of the epilithic populations of *Kyliniella latvica* in Alhárabe river (scale 5 cm). 2. Epiphytic bacteria in the mucilaginous sheath with fluorescence microscopy (scale 10 μ m). 3. Lateral rhizoid (scale 10 μ m). 4. Small branch formation (scale 10 μ m). 5. Black staining due to the transformation of organic to inorganic phosphorus by alkaline phosphatases (BCIPT/TNBT) (scale 10 μ m). 6. BCIPT/TNBT staining control, no colour (scale 10 μ m).

DISCUSIÓN

Kyliniella latvica ha sido citada en cursos de agua de Rhode Island y New Hampshire en Estados Unidos (Flint, 1953; Sheath & Burkholder, 1985; Vis & Sheath, 1993), en ríos de Brasil (río San Francisco) (Necchi *et al.*, 2003), en el lago Usma de Letonia (Skuja, 1926), y en lagos de Suecia (Israelson, 1938), Austria y Francia (Geitler, 1954; Bourrelly, 1970). En España Cambra cita la presencia de los estados juveniles sobre *Cladium mariscus* L. en el lago de Basturs (Cambra, 1989; Cambra, 1991). Aunque Bourrelly (1970) le atribuye una distribución cosmopolita sería conveniente realizar un estudio de la especie en profundidad para tratar de dilucidar si se trata de una especie con gran variabilidad morfológica y ecológica o podría tratarse de varios taxones próximos. La distribución de la especie es probablemente mucho más amplia en nuestro país pero su marcada estacionalidad y su corto periodo de desarrollo probablemente dificulten su identificación.

Las especies acompañantes más frecuentes de *Kyliniella* son *Chaetophora incrassata* (Hudson) Hazen, que tiene un desarrollo estacional, y *Rivularia biassolettiana* Meneghini ex Bornet & Flahault que puede observarse todo el año. La sencillez de su identificación y su presencia ligada a la escasez de nutrientes de las cabeceras de ríos calcáreos, parecen aconsejar incluirla en la lista de especies indicadoras de condiciones oligotróficas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Comunidad Autónoma de Murcia (PEPLAN 2007-2011) y por la Fundación Séneca de la Región de Murcia (0572/PI/07).

REFERENCIAS

- ABOAL, M. 1989a. Aportación al conocimiento de las algas epicontinentales del SE de España. II. Rodofíceas (Rhodophyceae). *Lazaroa*, 11: 115–122.
- ABOAL, M. 1989b. Flora algal del río Benamor (cuenca del Segura, SE de España). *Limnetica*, 5: 1–11.
- ABOAL, M., E. LÓPEZ-JIMÉNEZ & A.D. ASEN-CIO. 1995. *Batrachospermum atrum* (Huds.) Harv. (Batrachospermales, Rodophyceae), novedad para la flora algal epicontinental española. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 53(1): 121–123.
- ABOAL, M., M. A. PUIG & A. D. ASEN-CIO. 2005. Production of microcystins in calcareous Mediterranean streams: The Alhárabe, Segura river Basin in S.E. Spain. *Journal of Applied Phycology*, 17(3): 231–243.
- ÁLVAREZ-COBELAS, M. 1984. Catálogo de las algas continentales españolas II: Craspedophyceae, Cryptophyceae, Chrysophyceae, Dinophyceae, Euglenophyceae, Haptophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae, Xanthophyceae. *Acta Botanica Malacitana*, 9: 27–40.
- BALLESTEROS, E., C. F. BOUDOURESQUE, M. P. BOUDOURESQUE, M. BRUGUÉS, J. CATALÁN, F. A. COMÍN, J. CAMBRA, R. M. CROS, M. COMELLES, M. DELGADO, M. HERNÁNDEZ, X. LLIMONA, J. MOLERO, M. A. RIBERA, J. ROMERO, X. TOMÁS & F. TORRELLA. 1985. *Història natural dels Països Catalans: Plantes inferiors*, vol. 4. Enciclopèdia Catalana S. A. Barcelona. 558 pp.
- BOURRELLY, P. 1970. *Les Algues d'eau douce. Les algues bleues et rouges. III*. Ed. Boubée. París. 512 pp.
- CAMBRA, J. 1989. *Estudi sobre les algues epifítiques en sistemes lacustres*. Ph.D. Thesis. University of Barcelona. 546 pp.
- CAMBRA, J. 1991. Contribució a l'estudi de les algues epifítiques dels estanys de Banyoles, Basturs i Estanya. *Orsis*, 6: 27–44.
- EGIDOS, A. I. & M. ABOAL. 2003. *Thorea violacea* (Thoreaceae, Rhodophyceae) en fuentes del Marjal Pego-Oliva, Comunidad Valenciana. Nueva cita para la flora española. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 60: 27–32.
- ELWOOD, N. & B. WHITTON. 2007. Importance of organic phosphate hydrolyzed in stalks of the lotic diatom *Didymosphenia geminata* and the possible impact of atmospheric and climatic changes. *Hydrobiologia*, 592: 121–133.
- FLINT, L.H. 1953. *Kyliniella* in America. *Phytomorphology*, 3: 76–80.
- GEITLER, L. 1954. Die Süßwasserbangiaceae *Kyliniella latvica* und ihr obligater bakterieller Bewohner. *Österreichisches Botanisches Zeitschrift*, 101: 304–314.

- ISRAELSON, G. 1938. *Kyliniella latvica*, in Schweden gefunden nebst neuen Fundorten für ein paar im Süßwasser auftretende Bangioideen. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 5: 20–23.
- LÓPEZ BERMÚDEZ, F. J. 1973. *La vega alta del Segura. Clima, hidrología y geomorfología*. Publicaciones del Dpto. De Geografía. Univ. Murcia. 288 pp.
- MARCO, S. & M. ABOAL. 2008. *Batrachospermum arcuatum* (Batrachospermaceae, Floridophyceae) en el Parque Natural del Marjal de Pego-Oliva. Nueva cita para la flora algal de las aguas continentales españolas. *ALGAS. Boletín de la Sociedad Española de Ficología*, 39: 35–37.
- NECCHI-JÚNIOR, O., L. H. Z. BRANCO & C. C. Z. BRANCO. 2003. Ecological distribution of stream macroalgal communities from a drainage basin in the serra da Canastra National Park, Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 63(4): 635–646.
- PREFASI, M. & M. ABOAL. 1994. Estudio del Género *Batrachospermum* Roth: *B. boryanum* Sirod. y *B. moniliforme* Roth en la provincia de Castellón, España. *Acta Botanica Malacitana*, 19: 45–50.
- ROS, M. D., E. LÓPEZ-JIMÉNEZ & M. ABOAL. 1997. Primera cita de *Hildenbrandia angolensis* Welwitsch ex W. West & G.S. West (Hildenbrandiales, Rhodophyceae), para la flora algal epicontinental española. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 55(2): 458–460.
- SABATER, S., M. ABOAL & J. CAMBRA. 1989. Nuevas observaciones de rodofíceas en aguas epicontinentales del NE y SE de España. *Limnetica*, 5: 93–100.
- SHEATH, R. G. & J. M. BURKHOLDER. 1985. Characteristics of softwater streams in Rhode Island. II. Composition and seasonal dynamics of macroalgal communities. *Hydrobiologia*, 128: 109–118.
- SHEATH, R. G. & J. D. WEHR. 2003. *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. Academic Press. San Diego. CA. 918 pp.
- SKUJA, V. H. 1926. Eine neue Süßwasserbangiacee *Kyliniella latvica* n.g., n. sp. *Acta Horti Botanici Universitatis Latviensis*, 1: 1–5.
- VIS, M. L. & R. G. SHEATH. 1993. Distribution and systematics of *Chroodactylon* and *Kyliniella* (Porphyridiales, Rhodophyta) from North American streams. *Japanese Journal of Phycology*, 41: 237–241.
- YOON, H. S., K. M. MÜLLER, R. G. SHEATH, F. D. OTT & D. BHATTACHARYA. 2006. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 42: 482–492.

6.4 Aboal M, García-Fernández ME, Roldán M, Whitton BA, 2014. Ecology, morphology and physiology of *Chroothece richteriana* (Rhodophyta, Stylonematophyceae) in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain. European Journal of Phycology 49(1): 83-96.

Ecology, morphology and physiology of *Chroothoece richteriana* (Rhodophyta, Styronematophyceae) in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain

MARINA ABOAL¹, MARÍA EUGENIA GARCÍA-FERNÁNDEZ¹, MÓNICA ROLDÁN² AND BRIAN A. WHITTON³

¹Laboratorio de Algología, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia, E30100 Murcia, Spain

²Servei de Microscòpia, Universitat Autònoma de Barcelona, Edifici C, Facultat de Ciències, 08193, Bellaterra, Spain

³School of Biological and Biomedical Sciences, Durham University, Durham DH1 3LE, UK

(Received 5 May 2013; revised 13 October 2013; accepted 17 November 2013)

The ecology of *Chroothoece* was studied in the highly calcareous Río Chícamo, south-east Spain, in order to explain its success there, but rarity elsewhere. The river, which originates mainly from an underground aquifer, has water with high conductivity, sulphate and nitrate but low phosphate concentrations, the latter mainly organic. *Chroothoece* occurs in mats and in lobed colonies reaching 4 cm in the broadest dimension. The colony surface consists of one layer of cells, each of which is attached to a stalk, which dichotomizes when the cell divides; stalks often extend to the colony base. The central region of many mat cells and almost all colony cells has a yellow to orange-brown colour, associated with the numerous lipid droplets densely covering the surface of the pyrenoid and arms of the star-shaped chloroplast. Field material and laboratory isolates indicate that stalk formation occurs under moderate P limitation and both stalks and cell sheath show high phosphatase activities. This also occurred in a culture collection strain maintained for 30 years in a very P-rich medium, but then transferred to a moderately P-limiting medium (*c.* 0.9 mg l⁻¹). We suggest that colony formation is initiated by aggregation of motile cells following P pulses in the water. Comparisons are made with *Rivularia*, a competitor in this nitrate-rich river, in spite of being a N₂-fixer. One difference is that *Chroothoece* cells lie at the periphery of the colonies and are therefore exposed to maximum sunlight, whereas *Rivularia* trichomes grow inside colonies with photoprotection by scytonemin. However, the ability to withstand heavy grazing pressure may be an especially important factor favouring *Rivularia* here.

Key words: calcareous *Chroothoece*, colony, lipid, organic phosphatase activities, phosphate, river, *Rivularia*, semi-arid

Introduction

Although there are records of the rhodophyte *Chroothoece* in fresh waters from a number of countries, their distribution is scattered and the reported environments apparently diverse (reviewed below). Its frequency in a stretch of the Río Chícamo in south-east Spain therefore stimulated us to assess which features favour its success in this river. Preliminary observations showed that cells often had abundant lipid droplets, yet the organism has never caught the attention of researchers studying the biotechnology of microalgae. Río Chícamo has a very high conservation status due to the presence of the endemic omnivorous fish *Aphanius*, which is at serious risk of extinction (ICONA, 1986; Council Directive 92/43/EEC, 1992).

Chroothoece was first described from Bohemia (present-day Czech Republic) by Hansgirg in Wittrock & Nordstedt (1884). The organism, *C. richteriana*, consisted of cylindrical cells with rounded poles and a mucilaginous sheath; it formed gelatinous colonies, blue-green in colour, but becoming yellow-brown or orange when older. Five species of freshwater and terrestrial *Chroothoece* have now been described, with the majority of records listed as *C. richteriana*. The older literature is often confusing, because many authors treated it as a blue-green alga until Pascher (1925) and Geitler (1925) both made clear that it is a red alga. The most detailed morphological account subsequent to the original is by Rieth (1973), who distinguished four species. Based on the differences shown in his figures, the species are separated mainly by their dimensions, but even this is far from clear-cut. Surprisingly, the most obvious morphological feature distinguishing populations – whether they consist of distinct gelatinous colonies or are merely a mat or

mixed community – has not been considered as a possible specific feature. Only Blinn & Prescott (1976) have described the colony morphology and their accounts of a population in a spring in south-west USA included considerable environmental information. They also summarized the earlier literature, but were apparently unaware of the detailed overview by Rieth (1973), sometimes making it hard to relate their study to earlier ones. The resemblance of *Chroodactylon* (formerly *Asterocytis*) to *Chroothoece* under some environmental conditions (Pujals, 1961; Lewin & Robertson, 1971) is a further complication.

In addition to the Czech Republic, Austria and USA, records for particular countries include the Bahamas (Howe, 1924), Bangladesh (Nurul Islam, 1992), Belgium (Conrad, 1942), Cuba (Rieth, 1973), Spain (Margalef, 1955; Aboal, 1989) and the UK (Belcher & Swale, 1957; Pentecost & Whitton, 2012). A report for Sweden by Israelson (1949) also mentions *Chroothoece* from France, Morocco and Guadeloupe.

Several floras and reviews contain environmental information for *Chroothoece*, but it is usually unclear whether this is based on observations by the authors or merely an attempt to interpret the literature. Among the accounts for individual sites are *C. richteriana* from the edge of a salt ditch (Hansgirg, 1884), *C. didymos* as an epiphyte on *Glyceria aquatica* in the River Meuse, Belgium (Conrad, 1942), *C. mobilis* and *C. monococca* on building bricks in Bangladesh (Nurul Islam, 1992) and *C. rupestris* on moist rocks near St Bernardino, Switzerland (Hansgirg, 1890, cited by Rieth, 1973). The material described by Rieth (1973) from the Oriente Mountains in Cuba formed large colonies in part of a stream with a stratum of the desmid *Oocardium*.

Blinn & Prescott (1976) found their population (reported as *C. mobilis*) in a shaded seep at Nipple Springs in a semi-desert area of south-west USA, though only on one occasion (23 May 1973). The water was sampled near the source, so the values for some variables may have differed from where the alga was growing. The temperature was 13°C, conductivity 340–570 $\mu\text{S cm}^{-1}$, total alkalinity 256–300 mg l^{-1} , $< 1 \text{ mg l}^{-1} \text{ O}_2$, 52 $\text{mg l}^{-1} \text{ CO}_2$, 11.5 $\text{mg l}^{-1} \text{ K}$, 36.5 $\text{mg l}^{-1} \text{ Mg}$, 61 $\text{mg l}^{-1} \text{ Ca}$ and high SO_4^{2-} . A thickened sheath surrounded most cells, with long mucilaginous strands present on a few of the vegetative cells. The large pyrenoid in the stellate blue-green chloroplast was golden-brown. The authors stated that cells were frequently in a resting stage, although this was probably based simply on morphological observations.

The present study set out to describe the ecology, morphology and physiology of the *Chroothoece* population in the Río Chícamo, with the aim of establishing the key features of this organism, which has such scattered records, apparently from different

environments. An ecophysiological comparison with the dominant species and main algal competitor in the stretch of the river studied (*Rivularia*) is also provided.

Materials and Methods

Study area

Río Chícamo is a small river in Murcia Province, Spain (37° 49'N, 0°47'W), in a semi-arid region with $< 200 \text{ mm}$ annual rainfall and a mean temperature of 19°C (Fig. 1). The geological substratum of the region consists of Cretaceous conglomerates, sandstones, siltstones and clay (Aguilar & Gallardo, 1989). The basin of the river is in an area where there was a connection between the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea during the Messinian salinity crisis 5 million years ago (Arana *et al.*, 1999). The river is fed mainly by the Quibas aquifer (Rodríguez, 1987). It originates from a spring at 290 m altitude and gains flow from underground sources on passing downstream for the first couple of kilometres, but also loses water in places. There is probably considerable upwelling through sediments, but quantitative studies are lacking. Downstream of this stretch the water becomes increasingly saline due to over-exploitation of the aquifer (Vidal-Abarca *et al.*, 2000; Ros *et al.*, 2009).

Much of the river for the first 2 km flows in a steep-sided valley and is shaded by small trees and bushes (values for river distance were obtained from a large-scale map and estimated using pins and cotton). The woody bank species are *Tamarix canariensis*, *T. boveana* and *Nerium oleander*. Semi-aquatic species include *Typha domingensis*, *Phragmites australis*, *Juncus maritimus*, *Cyperus distachyos* and *Scirpus holoschoenus*. Partially submerged larger plants, which were most obvious near small waterfalls, include *Samolus valerandi*, *Mentha* spp. and the mosses *Eucladium verticillatum* and *Didymodon tophaceus*. These mosses often become heavily calcified, contributing to tufa (travertine) formation.

Macroscopic algal communities at the sample sites persist through the year and, in addition to *Chroothoece*, include *Rivularia*; filamentous Zygnematales, especially *Spirogyra*; two forms of *Chara vulgaris*, the type and var. *crassicaulis*; and *Cladophora glomerata*. Macroscopic mucilaginous colonies of *Cymbella*, especially a species originally identified as *C. affinis* (recent taxonomic changes suggest that this *Cymbella* should now be identified as *C. excisa*; Krammer, 2002), are conspicuous at some times of year, mainly late winter. Details of *Chroothoece* and *Rivularia* are given in the Results. The green alga *Gongrosira incrustans* is common on calcareous surfaces in the Río Chícamo, though subject to intense grazing by the molluscs *Theodoxus fluviatilis* and *Limnaea* sp.

Sampling programme

General observations on the algal vegetation of the non-saline part of the river were made from 2005 to 2012 and the river was surveyed for the presence of macroscopic *Chroothoece* colonies from the source to the downstream site (km 7.5) in 2007. This is the downstream limit of where the algal

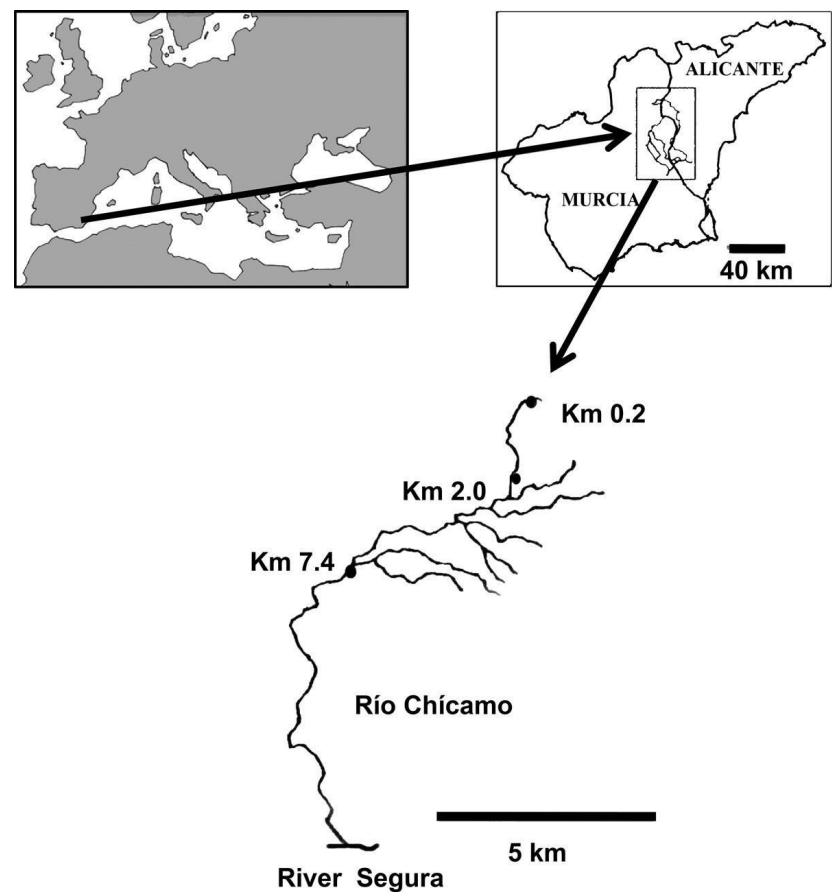


Fig. 1. Location of Río Chícamo and sampling points.

vegetation is most obvious, but we also observed it a few times at sites further downstream. The most upstream site (km 2.0), where *Chroothece* was particularly obvious throughout the year, was selected for detailed study (Fig. 1). Measurements of light intensity (photosynthetically active radiation [PAR]), temperature and water chemistry were made here on five dates between April 2008 and March 2009 (2 April, 22 July, 25 November, 11 February, 31 March) within a 20-m river distance (transect). Field measurements and sampling for subsequent water analysis took place between 10.00 h and 12.00 h. Sets of readings were taken at two different positions within the transect. The values quoted for a particular time are in each case the mean of the two, but were always very close. Changes in water temperature, pH, dissolved O₂ and conductivity were measured in the main water column at 1-h intervals from 09.30 h on 18.30 h on 1 March and 09.00 h to 20.00 h on 27 June 2009; PAR was recorded at 15-min intervals during these periods. Comparison of summaries of the data for these four water variables with and without the values for these two days made little difference to the mean values, so these two days were not incorporated when preparing Table 1. Samples of interstitial water among coarse sediment were removed on the five dates when measurements were only made during the morning, these being collected immediately after the main sample.

Physical and chemical variables

Current speed was measured with a FLOMATE 2000 meter (FLOWTRONIC S.A., Welkenreadt, Belgium), depth with a ruler, and flow calculated by summarizing partial data from a series of 50-cm sectors marked in a transect (Gordon *et al.*,

Table 1. Summary of data for physical and chemical variables measured on five dates during 2008–2009 (see Materials and methods).

Variable	Unit	Minimum	Mean	Maximum
flow	l s ⁻¹	9.0	17.7	29.3
current speed	m s ⁻¹	0.03		0.57
temperature	°C	11.9	16.0	22.3
O ₂	mg l ⁻¹	8.3	9.7	10.4
pH		8.1	8.3	8.5
conductivity	μS cm ⁻¹	2640	2877	3100
total alkalinity	mg l ⁻¹	1.3	2.8	4.6
SO ₄ -S	mg l ⁻¹	199	290	448
NO ₃ -N	mg l ⁻¹	1.7	4.7	6.2
NH ₄ -N	mg l ⁻¹	< 0.01	0.04	0.48
FOP	mg l ⁻¹	0.02	0.10	0.25
FRP	mg l ⁻¹	< 0.004	0.02	0.07
SiO ₂ -Si	mg l ⁻¹	1.3	2.6	4.1

2004). Current speed was also measured for particular algal microhabitats. Water temperature and pH were measured with a WTW 95/1 pH meter (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten, Weilheim, Germany), dissolved O₂ with a CRISON OX96 oxymeter (Crison Instruments, Barcelona, Spain), and conductivity with a WTW LF 95 conductivity meter (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten). PAR measurements were made with a LICOR LI-92 underwater sensor coupled to a LICOR-1000-32 datalogger (LI-COR Environmental, Lincoln, Nebraska, USA).

Samples to provide a total of 250 ml from the main water column were taken with syringes and from the interstitial water with syringes and needles from *c.* 5 cm depth. These

were filtered into polypropylene bottles, all of which had been prewashed in 10% HCl. Total alkalinity and $\text{NH}_4\text{-N}$ were measured in the field, using a portable spectrophotometer Spectroquant NOVA 60 A (Merck Millipore, Darmstadt, Germany) in the latter case. Samples for other variables were filtered in the field and then taken to the laboratory; filtration was done in two stages, first with a 0.45- μm and then a 0.22- μm GFC filter. Samples for most analyses were frozen in liquid N_2 at the field site, but samples for P fractions were merely refrigerated. P fractions were measured during the afternoon of the same day. All analyses for chemical variables were made according to American Public Health Association (1998).

$\text{PO}_4\text{-P}$ was measured as filterable reactive P (FRP) and the filterable hydrolysable fraction, which is treated as filterable organic P (FOP) here, though the possibility that colloidal inorganic P might be included would require detailed study of the water chemistry (Whitton & Neal, 2011).

Elemental composition

Colonies were dried to constant weight in an oven at 105°C and then broken up with a Teflon capped homogenizer. For C, H, O and N analyses an aliquot of this material was transferred to tin capsules, the weight recorded and the sample then analysed with an element analyser (Carlo Erba modelo EA-1108, Carlo Erba Instruments, Milan, Italy). For P analysis the material was first oxidized with potassium persulphate in a microwave and the P content then estimated using the method of Fernández *et al.* (1985).

The composition of the crystals present in colonies was examined by X-ray powder diffraction, with $\text{K}\alpha\text{Cu}$ radiation, 24-mA intensity, 40 KV, Ni filter and an exploration speed of 1° min^{-1} ; diffractograms were estimated from 3–60°C. In order to confirm the presence of sulphate, gypsum was extracted with water according to Nelson (1982) and later quantified by ion chromatography.

Microscopy

For light microscopy, colonies were collected by forceps or hand and kept cool until study in the laboratory. Thin sections of colonies were studied with a LEICA DMRB microscope (Leica, Wetzlar, Germany) plus digital camera from the Microscopy Service of Universidad de Murcia (SUME). Confocal laser scanning microscopy (CLSM) was performed with a Leica TCS-SP2 from the Technical Services of Barcelona University. BODIPY 493/503 (Life Technologies, Carlsbad, California, USA) was used to stain non-polar oil-containing organelles at a final concentration of 10 μM . The wavelengths of the excitation lasers were in the UV Ar (351, 364 nm), blue Ar (458, 476, 488 nm), green Ar (514 nm), green HeNe (543 nm) and red HeNe (633 nm) spectra. Each image sequence (wavelength scans or lambda scan function of the system) was obtained by scanning the same x – y optical section with a λ -step size of 20 nm for emission wavelengths between 360 and 800 nm (Roldán *et al.*, 2004). Colonies for scanning electron microscopy (SEM) were fixed in the field with glutaraldehyde and paraformaldehyde in cacodylate buffer, and subsequently post-fixed with OsO_4 ; they were then critical-point dehydrated

and coated with gold–palladium before observations with a JEOL-6100 (JEOL, Tokyo, Japan).

Phosphatase activities

Phosphatase activities in *Chroothoece* and *Rivularia* were assessed by staining and assays. The materials for these studies were taken from fairly close positions at km 2.0. They were stored in a coolbox and then a refrigerator on return to the laboratory until use later the same day for staining or assays. Staining and a preliminary set of assays on *Chroothoece* were done using material collected on 17 and 28 February 2011 and *Rivularia* on 4 and 13 April 2011. As the assays showed no differences between measurements in the light and the dark for either organism, a further set of assays with material collected during October 2012 was done wholly in the light.

In the case of staining, 5-bromo-4-chloro-3'-indolyl phosphate (BCIP; Coston & Holt, 1958) was used to study possible phosphomonoesterase (PME) activity. BCIP is hydrolysed by PME to form an intermediate that undergoes dimerization to produce an indigo dye. A more detailed account of the method is given by Ellwood & Whitton (2007), but briefly it involves incubating colonies in 4 ml BCIP-NBT in alkaline buffer (Sigma–Aldrich Chemicals, Poole, UK) at 20°C for around 5–20 min with shaking in the light, and then terminating the reaction with 0.5 M NaOH and washing with deionized water. The samples were then observed under the light microscope.

Assays of PMEase and PDEase (phosphodiesterase) activities were made using the analogue substrates *p*-nitrophenyl phosphate (*p*NPP) and bis-*p*-nitrophenyl phosphate (bis-*p*NPP) (Turner *et al.*, 2001). Care was taken to remove obvious detritus from the colonies prior to analysis. Colonies were chopped into small pieces with a scalpel and approximately 10 mg fresh weight portions were placed in glass vials containing 2.9-ml buffered assay medium (HEPES buffer, pH 8.0). This medium was based on the No. 10 medium of Chu (1942), modified by use of EDTA as a chelator and omitting N and P. Assays of PMEase and PDEase activities were initiated by adding 0.1-ml substrate to give 2, 5, 10, 20, 50, 100 or 200 μM final concentrations. The vials were incubated for 60 min in a shaking water bath (100 strokes min^{-1}) at 20°C. Assays in the light were made at 70 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, while dark conditions in the earlier set of experiments were obtained by wrapping foil around the flasks for incubation. Experiments were also conducted using 1 μM substrate on the influence of temperature (15, 20, 25, 30°C) and pH (7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5), all with glycine buffer. All assays used four replicates and measurements were made in 4-cm light path quartz cuvettes. Samples of chopped colony were frozen in liquid nitrogen for later analysis of chlorophyll (Marker *et al.*, 1980).

Cultures

Studies included *Chroothoece* brought into clonal culture. Fragments of colonies were sonicated, washed and centrifuged three times before separation into still smaller groups. One colony isolate and a culture from the Göttingen Culture Collection were used for experimental studies; neither was axenic.

As *Chroothoece* SAG 104/79 had probably been maintained for at least 30 years in ½SWES medium (details in Göttingen Culture Collection catalogues and online information), this medium was included in growth experiments. It has a very high phosphate concentration ($4.6 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$), so Chu (No.) 10 medium (Chu, 1942) was also tested with both cultures in order to provide another standard medium with a lower P concentration (*c.* 0.9 mg l^{-1}). Based on the original formulae for these media, filtered Río Chicamo water was used to make up ½SWES medium and distilled water Chu 10 medium. Both liquid and solid (1.5% agar) media were used and cultures were maintained in a chamber at 20°C and a 16 : 8 h light : dark photoperiod, with $70 \mu\text{mol photon cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ during the light periods using daylight L36W/10 lamps (Osram S.A., Tres Cantos, Madrid, Spain).

There is some confusion about the origin of the SAG strain. It is listed in Göttingen Culture Collection records as having originally come from Hamilton's Pool, Texas, USA, and that it was isolated before 1978 by F.D. Ott. The records state that this is probably the same as CCAP 1353/4. However, CCAP gives two different origins for this strain, one the same as SAG and the other as "originally 0448 found in seeps under falls" which probably refers to the Cookeville, Tennessee, locality described in Ott (2009). Sources of information about these culture collections are given by Day *et al.* (2004), though this does not resolve the problem of origin.

Acetylene reduction assays (ARA)

In order to confirm that *Rivularia* from Río Chicamo was capable of N_2 fixation, a few measurements were made using the ARA method (Peterson & Burris, 1976) as applied by Ariosa *et al.* (2006). Measurements were made on colonies taken from km 2.0 on 1 June, 13 July and 21 November 2008. Experiments were done in 60-ml plastic transparent flasks immersed in the river (18.2° , 22.3° , 12.7° , respectively) in a well-illuminated position. Five colonies of about 2-cm diameter were put in each of three replicate flasks together with 30 ml river water. Ten millilitres of acetylene (generated from calcium carbide and distilled water) were injected through a rubber septum to each bottle. Samples were removed to vacutainers (BD, Franklin Lakes, New Jersey, USA) at 30-min intervals up to 2 h. The detection level was estimated as 10 ppb.

Estimate of biomass

Chlorophyll *a* was used to indicate biomass for both the phosphatase and acetylene reduction assays. The mean value of four replicates of the suspensions of small parts of *Chroothoece* and *Rivularia* colonies was used for phosphatase, whereas the actual colonies in the assays were used for ARA. Chlorophyll *a* was extracted and estimated according to Marker *et al.* (1980).

Data analysis

Physical and chemical data were tested for normality with Shapiro–Wilks and Levene tests. Due to absence of normality in some cases, non-parametric 2-way ANOVA analysis (Kruskal–Wallis) followed by a Mann–Whitney *U*-test with

the Bonferroni method for each of the variables was used for these (Conover & Iman, 1981; Shirley, 1987). All analyses were done using the statistical package SPSS (Windows version 11.0.1, SPSS, Chicago, Illinois).

Results

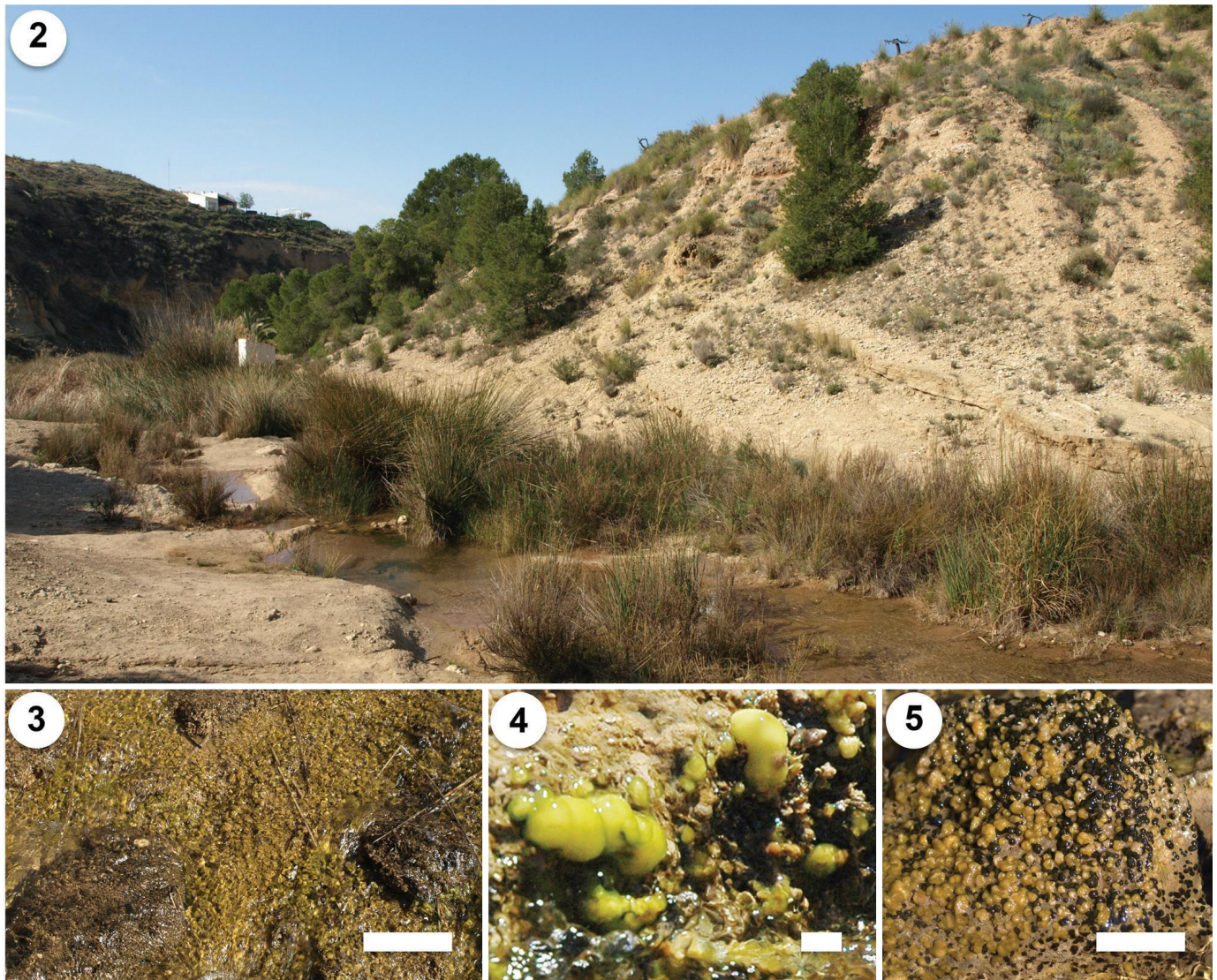
Environment

The Río Chicamo substratum consists mostly of fine sediment, with differing proportions of sand and silt. However, the underlying rock is exposed at several sites, mostly small waterfalls, where tufa deposition also occurs. Much of the upper 2 km is partially shaded, but km 2.0, the main sample site, is largely or entirely exposed to full sunlight with PAR exceeding $1800 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ (Fig. 2). Data for water at km 2.0 are summarized in Table 1. Important features include the relatively high conductivity (mean = $2877 \mu\text{S cm}^{-1}$), sulphate as the predominant anion (mean = $290 \text{ mg l}^{-1} \text{ SO}_4\text{-S}$), high $\text{NO}_3\text{-N}$ (mean = 4.7 mg l^{-1}), and total filterable P that is usually low, though reaching 1.1 mg l^{-1} on 2 April 2008, when it was almost entirely as FOP. $\text{NH}_4\text{-N}$ was negligible on all but 2 April 2008, when it was $0.48 \text{ mg l}^{-1} \text{ N}$. Most phosphate was in the organic fraction (mean = 0.10 mg l^{-1}), with mean FRP = 0.02 mg l^{-1} . The highest concentrations of both fractions were recorded in spring (FRP = 0.09 mg l^{-1} , FOP = 0.50 mg l^{-1}). No significant difference ($P < 0.05$) was found between any measurement of the main water column and interstitial water.

Occurrence and morphology

Chroothoece occurred in the river as free-living cells and colonies, but the latter were much more conspicuous and almost certainly more abundant, so these will be described first. The colonies were found between km 2.0 and km 7.4 (Fig. 3), but were most obvious by the waterfalls near km 2.0 (Fig. 4). The colonies often grew on sloping or vertical lips of consolidated sediment, where water both flowed over the top, at least intermittently, and could also reach the colony by upwelling. Scattered cells or small areas of mat were also found in the same stretch as the colonies. The colonies were initially more or less hemispherical and dense, but became lobed, hollow and clathrate as they aged. Visually obvious colonies ranged from several millimetres width to about 4 cm in the broadest dimension and their colour ranged from blue-green to yellow-green to orange or brownish orange, the shift between these colours typically being associated with increase in colony size. The orange/brown-orange colour was most obvious in old colonies in full light. The colonies were quite soft, although microscopy always showed some crystals to be present.

Chroothoece colonies often occurred near, and sometimes among, *Rivularia* (aff. *R. biasolettiana*) colonies (Fig. 5). Overall, *Rivularia* was usually the



Figs 2–5. *Chroothoece* in nature. **2.** Panoramic view of the sampling area in the Chicamo valley. **3.** *Chroothoece* colonies on the riverbed. **4.** *Chroothoece* colonies in the splash zone of a small waterfall. **5.** *Chroothoece* colonies in mixed populations with *Rivularia*. Colonies sometimes reach 4 cm in the largest dimension. Scale bars = 1 cm (Fig. 4) and 5 cm (Figs 3, 5).

more abundant of the two genera. Conspicuous growths of *Rivularia* occurred at some sites well downstream of km 7.4, whereas only a few small *Chroothoece* growths were found there. Nevertheless, the two organisms seemed to be in close competition on the waterfalls near km 2.0, though *Chroothoece* formed the largest colonies near the edge of the water, whereas *Rivularia* was most obvious in the main part of the flow over rock surfaces. *Rivularia* trichomes all had a basal heterocyst, suggesting ability to fix nitrogen (see below).

Colony and cell structure

Sections of the colonies showed that the cells formed a surface layer, with the remainder of the colony consisting of long, hyaline, lamellate stalks (Figs 6, 7). The upper end of each stalk connected with the basal part of the sheath surrounding the cell (Figs 7, 9, 10, 16–18). Each cell was surrounded by a relatively wide sheath (Fig. 8). The arrangement of the cells near the

colony surface is shown clearly with SEM (Figs 15, 17). The mean values for cell width and length (excluding sheaths) were 11.7 (SD 1.66) and 15.8 (SD 1.92) μm , respectively (Table 2). The stalks showed occasional pseudodichotomous branching, which arose as cells divided; the stalk surface was smooth or verrucose. Many, but not all, stalks extended to the underlying rock surface. A few cells were observed inside the upper part of the colony (Fig. 7), but it is unclear whether these had failed to maintain sufficient stalk growth to keep them at the surface, or were accidentally forced inwards by sectioning. Sometimes a central tube was clearly visible running down the stalk, this being most obvious after staining with BCIP (Figs 9, 10).

The cells were ellipsoidal, with a star-shaped chloroplast enclosing a central pyrenoid (Figs 8, 11, 13). The chloroplasts from very young colonies were yellow green, but in most cells from the colonies they were brownish green or even brown, being blue-green only in the base of the colony. Almost all pyrenoids in

Table 2. Comparison of Chicamo *Chroothoece* colonies, mats and cultures with cultures of *Chroothoece* SAG 104.79. Cell dimensions exclude sheath and are given as mean (and range); sheath width is listed separately. Fifty cells were measured in each case. Culture conditions were 20°C and daylight lamps (see Materials and Methods).

Medium	Chicamo colonies	Chicamo mat	Chicamo culture		SAG 104.79	
			½ SWES	CHU 10D	½ SWES	CHU 10D
Cell diameter (µm)	9.4 (7.0–11.6)	14.4 (11.5–17.4)	12.9 (7.8–16.1)	11.3 (7.2–14.2)	17.1 (11.5–18.6)	17.7 (13.2–18.7)
Cell length (µm)	17.2 (11.0–28.3)	22.1 (17.9–31.1)	20.0 (16.8–30.0)	14.2 (10.2–19.2)	24.2 (21.4–24.9)	22.6 (20.2–25.6)
Sheath (µm)	2.3 (1.2–3.5)	1.4 (1.1–2.2)	2.5 (1.3–3.6)	1.8 (1.5–2.0)	3.2 (1.5–4.2)	3.0 (1.0–4.5)
Chloroplast colour	yellowish	orange	blue-green	blue-green	blue-green	blue-green
Pyrenoid	yellow to orange-brown	yellow to orange-brown	yellow to orange-brown	yellow to orange-brown	hyaline to yellow or orange-brown	hyaline to yellow or orange-brown
Stalks	+	+	+	+	+	+
Akinete	–	–	+	+	–	+

colony cells were some shade of yellow or orange-brown. The colour was most intense in cells from old colonies. Confocal microscopy showed that the pyrenoid is surrounded by a dense cover of lipid droplets (Figs 12, 14), these becoming increasingly frequent in the main body of the chloroplast and around the outer surface of chloroplast arms as cells aged. Some or all of these droplets were presumably responsible for the orange-brown colour of many cells and the yellow-brown colour of most old colonies. Some lipid droplets were also visible in the cytoplasm.

Free-living cells sometimes formed small areas of mat in the uppermost part of the river and further downstream they were found occasionally among mats and films dominated by other algae. The mean values for the width and length of free-living cells (Table 2) were slightly larger (19.5 and 23.5 µm, respectively) than in colonies. In most free-living cells the stalks were not conspicuous and were only visible clearly after staining with methylene blue. Free-living cells usually occurred among mucilage, though it was only possible to be sure that some had been formed by *Chroothoece* when this alga was the overwhelming dominant in an association. Cells from mats sometimes showed a jerky pattern of motility on the microscope slide, similar to those performed by related genera like *Porphyridium*. Occasional cells with blue-green chloroplasts were present in the mats and their pyrenoids had little or no colour.

Deposits, mainly crystalline, occurred in both *Chroothoece* and *Rivularia* colonies, but were much more conspicuous in the latter, where the abundant calcification in old colonies made them very hard. The mean S content of *Chroothoece* colonies was 0.81% of dry weight (DW), while gypsum extraction showed values for calcium sulphate of 1.14% DW (= 0.27% S) for *Chroothoece* and 0.51% DW (= 0.12% S) for *Rivularia*.

Physiological assays

BCIP staining applied to fragments of colonies showed that the cell sheath and a layer at the surface

of the stalk rapidly became light blue and then fairly rapidly dark blue or even black (Figs 9, 10). Staining at the surface of the stalk appeared to be associated with a layer of mucilage, but it is unclear whether this merged with the outer part of the stalk. Subsequently the stalk itself became lightly stained, with more intense staining of several longitudinal strands (possibly layers).

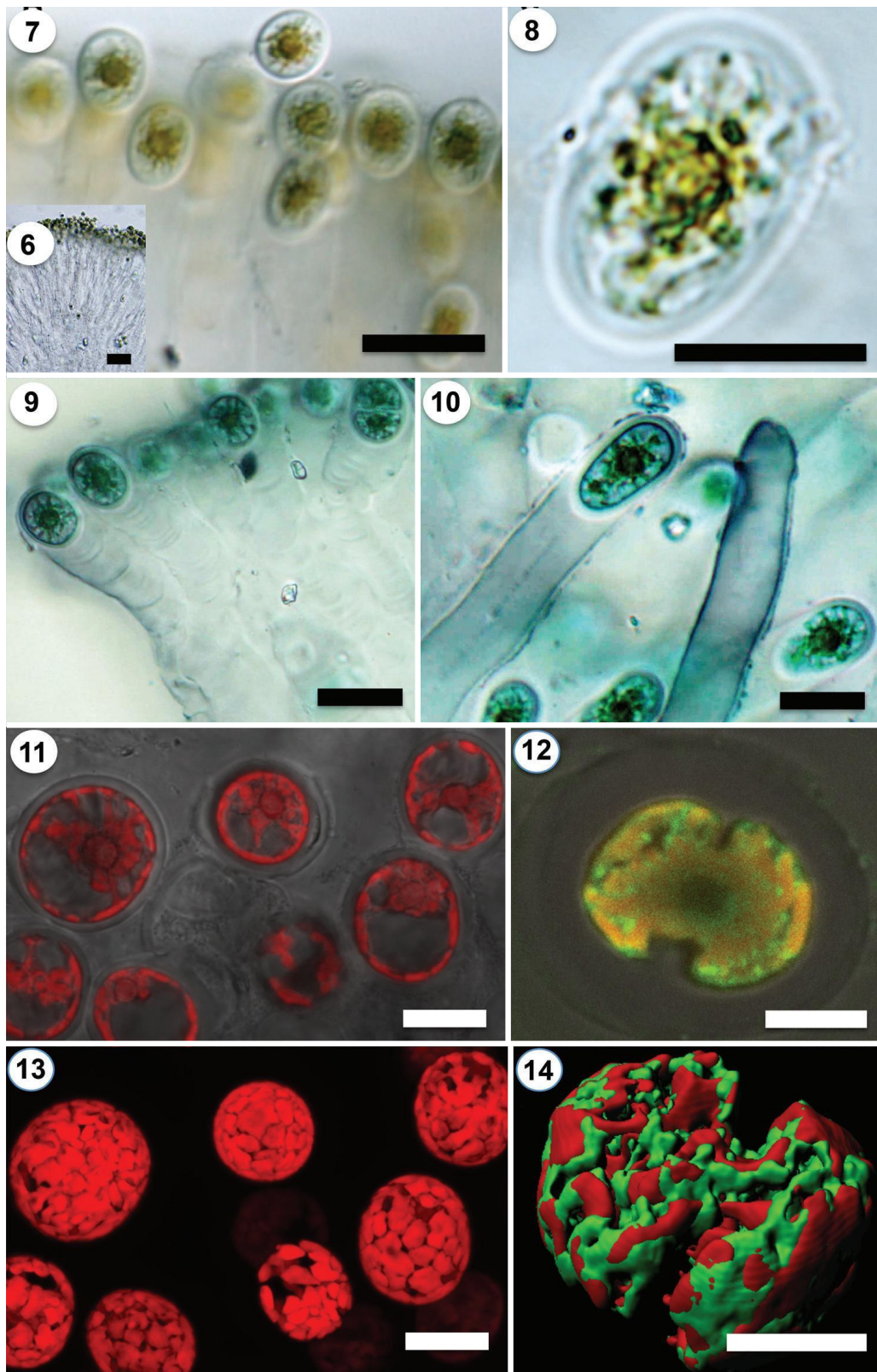
Comparisons of PMEase and PDEase activities in the light and the dark showed no differences for either *Chroothoece* or *Rivularia*, so the values for light and dark were combined when considering the results for the studies given here. The influence of substrate concentration is shown in Fig. 19 and the Michaelis–Menten constants using Lineweaver–Burk plots are given in Table 3. The higher K_m value for *Chroothoece* than *Rivularia* indicates it had lower affinity for the substrate than *Rivularia*. However, PMEase per unit chlorophyll *a* was considerably higher for PMEase in *Chroothoece* than *Rivularia* over the whole substrate range. The apparently anomalous results for PDEase activity are discussed below.

When assayed over a range of temperatures and pH values, PMEase and PDEase activities of *Chroothoece* with a low substrate concentration (1 µM) were highest at 25°C and at pH 8, while PDEase were highest at 15°C and pH 7.5. In the case of *Rivularia*, PMEase activity showed relatively little difference over the ranges 15–30°C and pH 7.5–8.0, although PDEase was clearly higher at 20°C and pH 7.5.

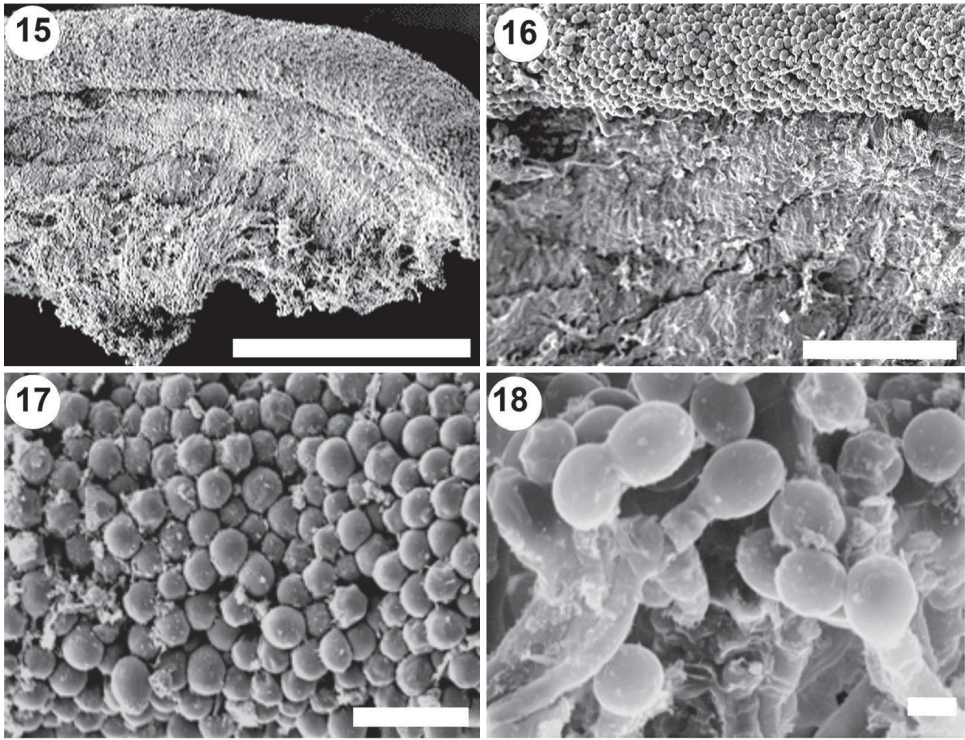
Rivularia colonies sampled on 1 June, 13 July and 21 November all showed obvious ARA, with mean rates of 0.005, 0.005 and 0.004 µmol C₂H₄ µg chl *a*^{–1} min^{–1}. A comparative study with *Chroothoece* colonies showed that any activity was below the detection limit.

Culture

The Chicamo isolate from km 2.0 and *Chroothoece* SAG 104/79 both grew well in the two media tested. Both formed stalks in Chu 10D (with 0.9 mg l^{–1} P) and ½SWES (with 4.6 mg l^{–1} P) (Table 2). Stalks formed



Figs 6–14. Fresh *Chroothoece* colonies (Figs 6–8), colonies treated with BCIP (Figs 9, 10) to indicate location of phosphomonoesterase activity, and cultured cells observed with confocal scanning laser microscopy (Figs 11–14). **6.** Transverse section of colony showing the location of the cells near the surface and the long internal stalks. **7.** Detail of outer part of colony showing the typical greenish to orange-brown colour of the cells (control). **8.** Detail of one cell with a stellate chloroplast and central pyrenoid. **9–10.** Cell sheaths and stalks stained dark blue as evidence of phosphomonoesterase activity. **11.** Transverse optical section of cells, showing the extremities of the branches of the star-like chloroplast touching the cell wall. **12.** Transverse optical section of a dividing cell stained with Bodipy showing neutral lipids as green fluorescence. **13.** 3-D reconstruction of chloroplast. **14.** 3-D reconstruction of cells to show chloroplasts (red-brown) and lipids (green). Scale bars = 200 µm (Figs 6, 9, 10), 20 µm (Fig. 7), 10 µm (Fig. 8) and 5 µm (Figs 11–14).



Figs 15–18. *Chroothece* colonies, SEM. **15.** Transverse section. **16.** Part of a section, showing the outer layer of cells and the underlying stalks running in parallel in the central part of the colony. **17.** External surface of colony. **18.** Detail of cells and upper parts of the stalks. Scale bars = 1 cm (Fig. 15), 100 μm (Fig. 16); 20 μm (Fig. 17) and 10 μm (Fig. 18).

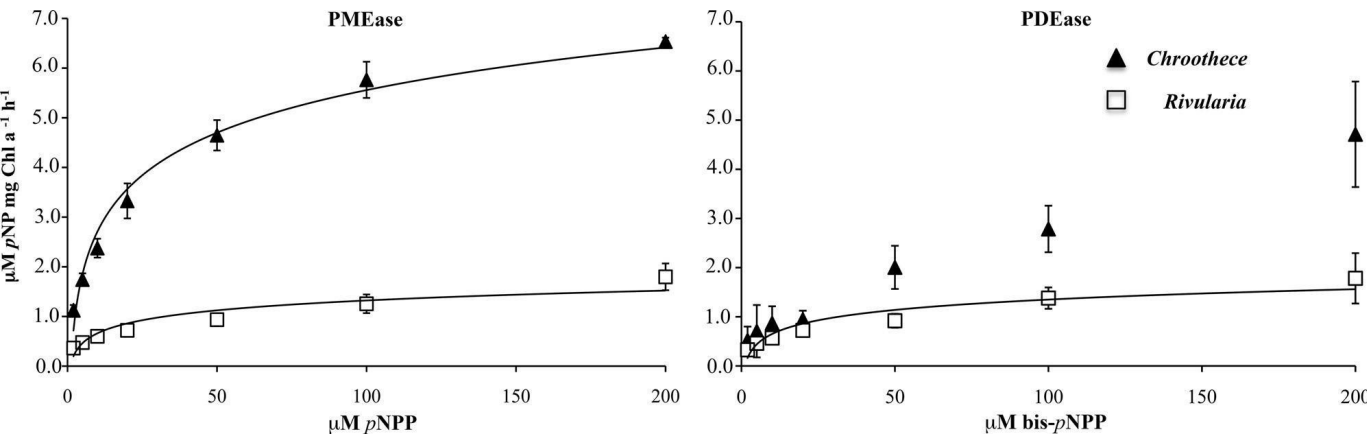


Fig. 19. Assays of *Chroothece* phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities at seven substrate concentrations for 60 min. Assay conditions: shaking, 20°C, 70 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Table 3. Results of kinetic studies on assays of phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities carried out at 20°C and pH 8.0.

Enzyme	<i>Rivularia</i>		<i>Chroothece</i>	
	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m
Phosphomonoesterase	1.02	4.06	4.60	6.74
Phosphodiesterase	14.02	4.80	0.26	78.1

in shaking and non-shaking conditions, but were less frequent in *Chroothece* SAG 104/79 than the Chícamo isolate, even when grown in Chu 10D medium. The stalks of both cultures showed staining with BCIP, i.e. presence of PMEase activity. The chloroplasts were

bright blue-green. The pyrenoids of the two strains appeared similar in both media. Nothing was observed suggesting possible sexual reproduction. Old cultures sometimes formed very large cells, which we consider as akinetes. The Chícamo isolates formed these in both media, but SAG 104/79 only in Chu 10D. Transfer of these akinetes to fresh medium led to the development of typical growing cells.

Discussion

Río Chícamo

The Río Chícamo is clearly much influenced by its underground origins in a region with low rainfall and increasing salinity. Although no data are available, it

seems unlikely that the river is ever subject to heavy scour, even after a major storm event. In any case the main study site at km 2.0 was partially protected from possible flood damage by a bed of emergent macrophytes immediately upstream of the site.

In comparison with most lowland rivers largely free of industrial or domestic inputs, the Río Chicamo may be described as having water which combines being highly calcareous and slightly saline; in particular, the mean value of $290 \text{ mg l}^{-1} \text{ SO}_4\text{-S}$ is much higher than for most unpolluted rivers. $\text{NO}_3\text{-N}$ was also relatively high, with a mean of 4.7 mg l^{-1} . The high concentration of nitrate probably largely originates from aquifer water, as occurs in many arid regions due to the geological substrata (González-Bernáldez, 1989; Holloway *et al.*, 1998), rather than from local anthropogenic activities, though atmospheric deposition presumably contributes. In contrast, filterable $\text{PO}_4\text{-P}$ was very low on all but one occasion and almost entirely in the organic fraction (as indicated by hydrolysis in acid). The origins of the phosphate are less clear and there is no information as to whether its organic form originates from the aquifer or results mainly from biological activity within the river and its sediments.

Chroothoece morphology, structure and behaviour

It seems likely that the colonies that become prominent at km 2.0 are part of the same population as cells in mats or scattered among other algae there and further upstream. Although experimental studies would be needed for confirmation, it also seems likely that colonies originate by aggregation of cells in a motile phase, much as occurs with *Rivularia*, when hormogonia formed in response to a period of elevated phosphate then move together (Whitton & Mateo, 2012). In *Rivularia* the process occurs when P-limited colonies are exposed to a period of higher phosphate concentration, which leads to the release of hormogonia and their subsequent aggregation to form new colonies. Assuming something similar happens with *Chroothoece*, the same factors are probably involved – a short period of phosphate enrichment followed by increasing P limitation leading to stalk initiation (see below) and the development of a typical colony. If colonies continue to increase in size as long as the cells are moderately P-limited, the size of colonies seen in nature is therefore not necessarily an indication of which are growing under optimum nutrient conditions.

It also seems likely that *Chroothoece* colony formation occurs at a similar time or times of year as *Rivularia* colony formation. In the UK this mostly occurs in late spring, subsequent to an early spring release of phosphate from soil or peat to upland streams and at a time of year when irradiance is increasing (Whitton *et al.*, 1998). The highest concentration of both FOP and FRP was also observed in the

Río Chicamo in spring. However, little is known about release of phosphate from the aquifer of the Chicamo or the possible role of sediments in modifying river chemistry. Although no difference between interstitial and surface water was found in the present study, the situation might be different if there were long periods of low flow with many isolated pools. The phosphorus inputs to, and dynamics within, Río Chicamo sediments and the main water column require detailed study.

Increase in size of *Chroothoece* colonies results from cell division at the surface of the colony combined with continued increase in the length of the stalks, which in some cases persists for as long as colony growth occurs. In culture, distinctive colonies like those formed in the river at km 2.0 developed only in agitated conditions. Although *Chroothoece* formed the orange-brown colour in the laboratory cultures of the isolates taken from the river, it was never as conspicuous as in cells taken from old colonies in the river. In the case of *Chroothoece* SAG 104/79, the pyrenoids appeared hyaline initially, even in cultures grown in Chu 10D, but became orange in cells of old cultures (Table 2). Further studies are needed to see if the colour of this strain can become more intense at high light intensity or whether a genetic change has occurred during culture for over 30 years.

The formation of stalks in older cultures grown in medium with $0.9 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$, but not $4.6 \text{ mg l}^{-1} \text{ P}$, suggests that stalks develop under conditions of moderate P limitation. Staining showed that PMEase activity in colonies and P-limited cultures is associated with both stalks and sheaths (Figs 9, 10). Assays of colonies showed marked surface PMEase and PDEase activities. The ability to hydrolyse organic P is important in the Chicamo because P concentrations are low and almost entirely in organic form (Table 1). Some internal differentiation was observed in the stalks (Fig. 6), and a distinct tubular structure was observed, such as occurs in the middle of the stalks of the colonial diatom *Didymosphenia* (Ellwood & Whitton, 2007; Whitton *et al.*, 2009; Aboal *et al.*, 2012), where it has been suggested it may aid rapid transfer of phosphate to the cell, such as might occur with a gradient resulting from rapid P uptake by the cell.

Although colonies in the Chicamo were distinctive and obvious, the earlier literature (reviewed by Rieth, 1973) indicates that at some sites *Chroothoece* exists only in mats or a surface layer of cells and this is definitely the case at Boggle Hole Gorge, West Yorkshire, UK (Pentecost & Whitton, 2012). The dimensions of the cells in Río Chicamo were at the lower end of the range recorded for *Chroothoece*, fitting with the original description of *C. richteriana* by Hansgirg (in Wittrock & Nordstedt, 1884). Nevertheless *Chroothoece* from different microhabitats at a particular location can show a wide size range in nature (Rieth, 1973; Pentecost *et al.*, 2013) and, to a

lesser extent, this was evident also in the cultures studied here. Hence caution is needed in treating cell dimension as an important diagnostic character. Molecular studies are needed to clarify the situation.

Several previous authors have reported the pyrenoid to be coloured, though the present study indicates this is due to the dense cover of lipid droplets around its surface. The colour is absent in some mat cells, especially those with a blue-green chloroplast, but most cells have the colour and it was present in all colony cells. It seems likely that the most intense colouration reflects the density of the droplets not only around the pyrenoid, but also around branches of the chloroplast. Oil droplets are sometimes also evident outside the chloroplast, but it is unclear whether the colour is present in all oil droplets or only some. Perhaps *Chroothoece* has special features in its mechanisms for lipid synthesis which may merit study by the biotechnology industry looking for new sources of lipid.

Competition with *Rivularia*

Visual observations indicate that the main competitor for *Chroothoece* in the Río Chícamo is *Rivularia*, but that *Rivularia* is overall the more abundant. However, it is not immediately obvious which factors favour one over the other. Both organisms show high surface phosphatase activities, which is presumably important in a river where almost all the filterable phosphate is organic. The measurements indicate higher PMEase and PDEase activities per unit chlorophyll *a* in *Chroothoece* than *Rivularia*, more than three times higher for PMEase and more than 1.5 times for PDEase, but it would need more detailed studies over a range of substrate concentrations at different times of year to decide how important this really is. Nevertheless it resembles results for an upland stream (Red Sike, Upper Teesdale) in the UK, in that the eukaryote (*Mougeotia*) from the same site showed double the PMEase activity of *Rivularia* (Whitton *et al.* 1998). The phosphatase assays conducted in the laboratory (Figs 9, 10, Table 3) indicate that the PMEase of *Rivularia* has a higher affinity for the substrate than that of *Chroothoece*. The same may apply to PDEase activity, apart from the anomalous results for *Chroothoece* at the highest substrate concentration. The PMEase of the Río Chícamo material also showed considerably higher affinity for substrate than colonies in River Muga, NE Spain (Mateo *et al.*, 2010). Some *Rivularia* populations are apparently effective at utilizing efficiently both very low phosphomonoester concentrations and also the occasional pulse of much higher concentration (Whitton & Mateo, 2012), but it would require studies over at least one year to establish whether this applied to *Rivularia* in Río Chícamo and whether there was any difference in the response of *Chroothoece*.

Comparison of ARA results for *Rivularia* in the Chícamo during late morning in summer with results for *Rivularia* in the literature help to show how important it is likely to be for the Chícamo population. The values of 0.004–0.005 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \mu\text{g chl } a^{-1} \text{ min}^{-1}$ fall in the middle of values for 18 intertidal communities in the lagoon of Aldabra Atoll at temperatures of over 10°C higher, though considerably less than the *Rivularia* community in that study (0.012 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \mu\text{g chl } a^{-1} \text{ min}^{-1}$) (Potts & Whitton, 1977). The values were also quite similar to the maximum recorded during a 24-h study on *Rivularia* in an upland stream (Slapstone Sike, Upper Teesdale) in the UK, although both rates and temperature changed markedly in this stream over the period (Livingstone *et al.*, 1984). The comparison provided by the measurements indicates that *Rivularia* is an effective N₂ fixer in the Chícamo. The importance of nitrogen fixation here seems strange, as *Chroothoece* might be expected to have the advantage in a river with elevated nitrate concentration and hence be at no disadvantage by its lack of ability to fix N₂. Furthermore much of the nitrate originates from the aquifer and hence is likely to have been high for many years with no obvious reason why it should be low at particular times of year.

Where colonies are close together, *Chroothoece* is more conspicuous towards the edge of the main current or on moist rock immediately outside the main flow, indicating it may be slightly more tolerant to drying, at least when present as a colony. Perhaps related to this, colonies in the stretch immediately downstream of km 2.0 also appear to be favoured by microhabitats with some upwelling through sediments. However, *Rivularia* colonies are frequent on sediments in some downstream stretches of the river where upwelling is the only water source during periods of low flow, so this is unlikely to be an important factor giving a competitive advantage to *Chroothoece*. Similarly, the increasing relative importance of *Rivularia* to *Chroothoece* in stretches downstream of km 7.4 suggests that neither salinity nor elevated sulphate are key factors favouring the competitive success of *Chroothoece* over *Rivularia*, in spite of these also being features of the Utah spring reported by Blinn & Prescott (1976).

Overall, *Chroothoece* appears to allocate a high proportion of its fixed carbon to lipid formation, the external sheath, and the very long stalks. It seems clear that stalk formation in *Chroothoece* is favoured by moderate P limitation, but less clear what influence N limitation has. If it is a factor favouring formation of lipid droplets, why should N-limitation become important in an environment with an apparently favourable nitrate supply? This is a similar problem to that raised above about the success of the N₂-fixing *Rivularia* in the river. Kinetic studies indicated that PMEase activity was saturated at a lower concentration in *Rivularia* than *Chroothoece*, while the opposite

was true for PDEase activity. However, it would require studies with samples at different times of year and subject to a range of assay conditions to show whether this is a general feature.

One possible factor that might favour *Rivularia* is the overall grazing pressure, since *Rivularia* in another Spanish river can produce toxins (Aboal *et al.*, 2002), but similar studies have not been made on *Chroothoece*. Grazing by the molluscs *Theodoxus* and *Limnaea* is intense, especially in spring, and its effects on the encrusting green alga *Gongrosira* are visually very obvious. The calcifying non-N₂-fixing cyanobacterium *Homoeothrix crustacea* would also seem a likely organism to outcompete *Rivularia*, but its small colony size might make it more vulnerable to *Theodoxus*. Perhaps *Rivularia* is the only phototroph forming large enough colonies and depositing sufficient calcite to withstand grazing. The absence in Río Chícamo of the small calcareous colony-forming desmid *Oocardium*, which occurred with *Chroothoece* in the Cuba stream described by Rieth (1973), might also be due to grazing pressure. Nevertheless, the success of a nitrogen-fixer in a nitrate-rich environment runs counter to the assumptions underlying interpretation of the relative importance of environmental features favouring nitrogen-fixers in aquatic systems.

A marked difference between *Chroothoece* and *Rivularia* in Río Chícamo is the fact that the cells in colonies are exposed to maximum sunlight, especially where the upper parts of the colony are out of the water. The surface layer of cells is only separated from the atmosphere by a moist, colourless sheath. In contrast, the trichomes of *Rivularia* are embedded in a sheath, which is brown due to presence of scytonemin and helps protect cells from damage by ultraviolet radiation (Castenholz & Garcia-Pichel, 2012). The fact that the orange-brown pigment was more pronounced in colonies in the river than the laboratory suggests the possibility that it has a role in photoprotection. However, cells growing at the Boggle Hole Gorge site reported by Pentecost & Whitton (2012) usually also have brownish pyrenoids, although this site is much less strongly illuminated.

Taxonomy

Finally, there is the question of the name of the organism in Río Chícamo. Blinn & Prescott (1976) selected *Chroothoece mobilis* as the name for their Utah alga growing in shallow flowing water fed by groundwater rich in salts, an environment with similarities to that of Río Chícamo. However, apart from cell size, there is little difference in the original description of *C. mobilis* from *C. richteriana*, which has nomenclatural priority. Most cells of the Chícamo material fitted the dimensions used by other authors for *C. richteriana*, so this is clearly the better name. Our study showed

considerable variation in dimensions of cells at Río Chícamo and, as there is no clear-cut separation between the original descriptions, it is doubtful whether there was ever a need to recognize two species.

The sequences published of *rbcL* and *psbA* genes show marked similarity between *Chroothoece* and *Chroodactylon*, raising doubt about maintaining these as separate genera, something which has been argued by previous authors for various reasons (Lewin & Robertson, 1971; Garbary *et al.*, 1980; Oliveira & Bhattacharya, 2000). Whether or not two distinct genera are maintained, Hansgirg's original descriptions were in 1884 for *Chroothoece* and 1885 for *Chroodactylon* (lectotype), so the former has priority and there is no problem in naming the Río Chícamo as *Chroothoece richteriana*. However, we recommend that more studies are made on organisms in this group before there is any formal taxonomic revision at the generic level.

Acknowledgements

We thank the Seneca Foundation of Murcia Region for their support (grant 05762/PI/07) and Consejería de Universidades, Empresa e Investigación of Murcia Region (PEPLAN-S5). Sulphate and ethylene were measured at the Servicio de Instrumentación Científica de la Universidad de Murcia using ion and gas chromatography (DIONEX ICS-2000, AGILENT 7683B), and some microscopy done at the Servicio Microscopía de la Universidad de Murcia and Serveis Científicotècnics de la Universidad de Barcelona. Joaquín Hernández Bastida helped with elemental and sulphate analysis of colonies. We are also most grateful to those who helped in various ways, including sampling and laboratory measurements by José Pedro Marín Murcia, Maribel Sánchez and also Dr Allan Pentecost of the Freshwater Biological Association, Cumbria, UK and Dr Neil T.W. Ellwood of Università Roma Tre, Italy, for useful discussions.

References

- ABOAL, M. (1989). Epilithic algal communities from River Segura Basin, Southeastern Spain. *Archives for Hydrobiology*, **116**: 113–124.
- ABOAL, M., PUIG, M.A., MATEO, P. & PERONA, E. (2002). Implications of cyanophyte toxicity on biological monitoring of calcareous streams in north-east Spain. *Journal of Applied Phycology*, **14**: 49–56.
- ABOAL, M., MARCO, S., CHÁVES, E., MULERO, I. & GARCÍA-AYALA, A. (2012). Ultrastructure and function of stalks of the diatom *Didymosphenia geminata*. *Hydrobiologia*, **695**: 17–24.
- AGUILAR, J. & GALLARDO, J. (1989). Tipologías y variación de tipos de suelos en zonas áridas. In *Zonas áridas en España*, 287. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- American Public Health Association (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 19th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Washington.

- ARANA, R., RODRÍGUEZ, T., MANCHEÑO, M.A., GUILLÉN, F., ORTIZ, R., FERNÁNDEZ, M.T. & DEL RAMO, A. (1999). Cabecera del río Chicamo (Abanilla). In *El patrimonio geológico de la región de Murcia*, 140–143. Fundación Séneca, Consejería de Educación y Cultura de la Región de Murcia, Murcia.
- ARIOS, Y., CARRASCO, D., QUESADA, A. & FERNÁNDEZ-VALIENTE, E. (2006). Incorporation of different N sources and light response curves of nitrogenase and photosynthesis by cyanobacterial bloom from rice fields. *Microbial Ecology*, **51**: 394–403.
- BELCHER, J.H. & SWALE, E.M.F. (1957). Some uncommon freshwater algae. *British Phycological Bulletin*, **5**: 40–42.
- BLINN, D.W. & PRESCOTT, G.W. (1976). A North American distribution record for the rare Rhodophyceae, *Chroothoece mobilis* Pascher and Petrova. *American Midland Naturalist*, **96**: 207–210.
- CASTENHOLZ, R.W. & GARCIA-PICHEL, F. (2012). Cyanobacterial responses to UV radiation. In *Ecology of Cyanobacteria II* (Whitton, B.A., editor), 481–499. Springer, Dordrecht.
- CHU, S.P. (1942). The influence of the mineral composition of the media on the growth of planktonic algae. I. Methods and culture media. *Journal of Ecology*, **30**: 284–325.
- CONOVER, W.J. & IMAN, R.L. (1981). Rank transformations as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *American Statistician*, **35**: 124–129.
- CONRAD, W. (1942). Sur la faune et la flore d'un ruisseau de l'Ardenne belge. *Mémoires du Musée Royal d'Histoire Naturelle de Belgique*, **99**: 90–92.
- COSTON, S. & HOLT, S.J. (1958). Kinetics of aerial oxidation of indolyl and some of its halogen derivatives. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **148**: 506–510.
- Council Directive 92/43/EEC (1992). *On the conservation of natural habitats and wild flora and fauna*. Annex II. *Species of Community interest whose conservation needs the designation of special zones*.
- DAY, J.G., LUKAVSKÝ, J., FRIEDL, T., BRAND, J.J., CAMPBELL, C.N., LORENZ, M. & ELSTER, J. (2004). Pringsheim's living legacy: CAUP, CCALA, CCAP, SAG and UTEX. *Nova Hedwigia*, **79**: 27–37.
- ELLWOOD, N.T.W. & WHITTON, B.A. (2007). Importance of organic phosphate hydrolyzed in stalks of the lotic diatom *Didymosphenia geminata* and the possible impact of climatic and atmospheric changes. *Hydrobiologia*, **592**: 121–133.
- FERNÁNDEZ, J.A., NIELL, F.X. & LUCENA, J. (1985). A rapid and sensitive automated determination of phosphate in natural waters. *Limnology and Oceanography*, **30**: 227–230.
- GARBARY, D.J., HANSEN, G.I. & SCAGEL, R.F. (1980). A revised classification of the Bangiophyceae (Rhodophyta). *Nova Hedwigia*, **33**: 145–166.
- GEITLER, L. (1925). Cyanophyceae. In *Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz*, Vol. 12 (Pascher, A., editor), 1–450. Gustav Fischer, Jena.
- GONZÁLEZ-BERNÁLDEZ, F. (1989). Ecosistemas áridos y endorreicos españoles. In *Zonas áridas en España*, 223–238. Real Academia de Ciencias Exactas y Físicas y Naturales.
- GORDON, N.D., McMAHON, T.A. & FINLAYSON, B.L. (2004). *Stream hydrology: An introduction for ecologists*. John Wiley, Chichester.
- HANSRIG, A. (1884). Bemerkungen zur Systematik einiger Süßwasser-Algenflora. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, **34**: 351–358.
- HANSRIG, A. (1885). Ein Beitrag zur Kenntniss von der Verbreitung der Chromatophoren und Zellkernen bei den Schizophyceen (Phycochromaceen). *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, **3**: 14–22.
- HANSRIG, A. (1890). Physiologische und algologische Mitteilungen. *Sitzungsberichte der königlichen Böhmischen Gesellschaft der Wissenschaften Prag*, **1890**: 83–140.
- HOLLOWAY, J.M., DAHLGREN, R.A., HANSEN, B. & CASEY, W.H. (1998). Contribution of bedrock nitrogen to high nitrate concentrations in stream water. *Nature*, **395**: 785–788.
- HOWE, M.A. (1924). Notes on algae of Bermuda and the Bahamas. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **51**: 351–359.
- ICONA (1986). *Lista roja de los vertebrados de España*. Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.
- Instituto Tecnológico Geominero De España, Itge (1990). Racionalización y optimización de las redes de control hidrogeológico en la Cuenca del Segura. Tomo III–VII. Unidad Hidrogeológica del Prebético de Murcia. Geological Survey of Spain.
- ISRAELSON, G. (1949). Two freshwater Protofloridae new to Sweden. *Botaniska Notiser*, **4**: 366–376.
- KRAMMER, K. (2002). *Cymbella*. In *Diatoms of Europe. Diatoms of the European inland waters and comparable habitats*, Vol. 3 (Lange-Bertalot, H., editor), 1–584. A.R.G. Gantner, Ruggell, Liechtenstein.
- LEWIN, R.A. & ROBERTSON, J.A. (1971). Influence of light on the form of *Asterocystis* in pure culture. *Journal of Phycology*, **7**: 236–238.
- LIVINGSTONE, D., PENTECOST, A. & WHITTON, B.A. (1984). Diel variations in nitrogen and carbon dioxide fixation by the blue-green alga *Rivularia* in an upland stream. *Phycologia*, **23**: 125–133.
- MARGALEF, R. (1955). Materiales para un flora de las algas del NE de España. VI. Desmidiaceae, Rhodophyceae. *Collectanea Botanica*, **4**: 319–329.
- MARKER, A.F.H., NUSCH, E.A., RAI, H. & RIEMANN, B. (1980). The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods. Conclusions and recommendations. *Ergebnisse der Limnologie*, **14**: 91–106.
- MATEO, P., BERRENDERO, E., PERONA, E., LOZA, V. & WHITTON, B.A. (2010). Phosphatase activities of cyanobacteria as indicators of nutrient status in a Pyrenees river. *Hydrobiologia*, **652**: 255–266.
- NELSON, R.E. (1982). Carbonate and gypsum. In *Methods of Soil Analysis. Part 2*, 2nd edition (Page, A.L., editor), 181–197. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- NURUL ISLAM, A.K.M. (1992). Freshwater red algae of Bangladesh. *Journal of the Asiatic Society of Bangladesh (Science)*, **18**: 29–46.
- OLIVEIRA, M.C. & BHATTACHARYA, D. (2000). Phylogeny of the Bangiophycidae (Rhodophyta). *Botany*, **87**: 482–492.
- OTT, F.D. (2009). *Handbook of the taxonomic names associated with the non-marine Rhodophycophyta*. J. Cramer, Stuttgart.
- PASCHER, A. (1925). Rhodophyta (Rhodophyceen). Allgemeiner Teil. In *Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz*, Vol. 11 (Pascher, A., editor), 134–157. Gustav Fischer, Jena.
- PENTECOST, A. & WHITTON, B.A. (2012). Ecology of the freshwater red alga *Chroothoece* on a wet cliff in Upper Swaledale, West Yorkshire. *Phycologist*, **83**: 11.
- PENTECOST, A., WHITTON, B.A. & CARTER, C.F. (2013). Ecology and morphology of the freshwater red alga *Chroothoece* in the British Isles. *Algological Studies*, **143**: 51–63.
- PETERSON, R.B. & BURRIS, R.H. (1976). Conversion of acetylene reduction rates to nitrogen fixation rates in natural populations of blue-green algae. *Analytica Biochemica*, **73**: 404–410.
- POTTS, M. & WHITTON, B.A. (1977). Nitrogen fixation by blue-green algal communities in the intertidal zone of the lagoon of Aldabra Atoll. *Oecologia*, **27**: 275–283.
- PUJALS, C. (1961). Algunas observaciones sobre *Asterocystis ornata* (C. Ag.) Hamel, Rodoficea nueva para Argentina. *Darwiniana*, **12**: 365–377.
- RIETH, A. (1973). Über *Chroothoece* Hansgirg. *Archiv für Protistenkunde*, **115**: 75–98.
- RODRÍGUEZ, T. (1987). Principales características geológicas e hidrogeológicas en la Región de Murcia. El campo. *Boletín de Información Agraria (Región de Murcia)*, **105**: 26–32.
- ROLDÁN, M., THOMAS, F., CASTEL, S., QUESADA, A. & HERNÁNDEZ-MARINÉ, M. (2004). Noninvasive pigment identification in single cells from living phototrophic biofilms by confocal imaging spectrofluorometry. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**: 3745–3750.
- ROS, M.D., MARÍN-MURCIA, J.P. & ABOAL, M. (2009). Biodiversity of diatom assemblages in a Mediterranean semiarid stream: implications for conservation. *Marine and Freshwater Research*, **60**: 14–24.

- SHIRLEY, E.A.C. (1987). Applications of ranking methods to multiple comparison procedures and factorial experiments. *Applied Statistics*, **36**: 205–213.
- TURNER, B.L., BAXTER, R., ELLWOOD, N.T.W. & WHITTON, B.A. (2001). Characterization of the phosphatase activities of mosses in relation to their environment. *Plant, Cell and Environment*, **24**: 1165–1176.
- VIDAL-ABARCA, M.R., SUÁREZ, M.L., MORENO, J.L., GÓMEZ, R. & SÁNCHEZ, I. (2000). Hidroquímica de un río de características semiáridas (río Chícamo, Murcia). Análisis espacio-temporal. *Limnética*, **18**: 57–73.
- WHITTON, B.A. & MATEO, P. (2012). Rivulariaceae. In *Ecology of Cyanobacteria II* (Whitton, B.A., editor), 561–591. Springer, Dordrecht.
- WHITTON, B.A. & NEAL, C. (2011). Organic phosphate in UK rivers and its relevance to algal and bryophyte surveys. *International Journal of Limnology*, **47**: 1–8.
- WHITTON, B.A., YELLOLY, J.M., CHRISTMAS, M. & HERNÁNDEZ, I. (1998). Surface phosphatase activity of benthic algal communities in a stream with highly variable ambient phosphate concentrations. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, **26**: 967–972.
- WHITTON, B.A., ELLWOOD, N.T.W. & KAWECKA, B. (2009). Biology of the freshwater diatom *Didymosphenia*: a review. *Hydrobiologia*, **63**: 1–37.
- WITTROCK, V.B. & NORDSTEDT, O. (1884). *Algae aquae dulcis exsiccatae*, **14**: 651–700. Stockholm.

6.5 Flora de macroalgas del marjal de Pego-Oliva

DIVISIÓN	TAXÓN	FIGURAS	PÁGINAS
CYANOPHYTA	<i>Calothrix parietina</i> Thuret ex Bornet & Flahault	5, 6, 21	27, 28, 30, 72, 74, 151
	<i>Calothrix pulvinata</i> C. Agardh ex Bornet & Flahault	7, 8, 21	31, 32, 34, 72, 74, 151
	<i>Homoeothrix juliana</i> (Bornet & Flahault) Kirchner	5, 6, 9, 12, 21	27, 28, 30, 35, 36, 38, 40, 72, 151
	<i>Leptolyngbya angustissima</i> (W. West & G. S. West) Anagnostidis & Komárek	5, 6, 21	27, 28, 30, 72, 74, 151
	<i>Microcoleus autumnalis</i> (Trevisan ex Gomont) Strunecký, Komárek & Johansen	15, 16, 21	44, 45, 46, 72, 151
	<i>Oscillatoria</i> sp.	12	36, 40
	<i>Phormidium formosum</i> (Bory ex Gomont) Anagnostidis & Komárek	9, 12, 21	35, 36, 40, 72, 151
	<i>Phormidium tergestinum</i> (Kützing) Anagnostidis & Komárek	7, 8, 21	31, 32, 34, 72, 74, 151
	<i>Schizothrix fasciculata</i> Gomont ex Gomont	9, 12, 22	29, 30, 35, 36, 38, 40, 72, 152
	<i>Tapinothrix crustacea</i> (Voronichin) Bohunická & Johansen	9, 12, 22	13, 35, 36, 38, 40, 72, 152
	<i>Tapinothrix violacea</i> (Bornet & Flahault) Bohunická & Johansen	7, 8, 22	31, 32, 34, 72, 74, 152
RHODOPHYTA	<i>Batrachospermum</i> cf. <i>gelatinosum</i> (Linnaeus) De Candolle	15, 16, 22	13, 14, 44, 45, 46, 56, 72, 152
	<i>Compsopogon coeruleus</i> (Balbis ex C. Agardh) Montagne	7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 23	13, 31, 32, 33, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 50, 51, 72, 74, 153
	<i>Hildenbrandia angolensis</i> Welwitsch ex W. West & G. S. West	5, 6, 9, 12, 23	27, 28, 30, 36, 40, 55, 56, 58, 72, 73, 74, 153
	<i>Kumanoa mahlacensis</i> (Kumano & W. A. Bowden-Kerby) M. L. Vis, Necchi, W. B. Chiasson & Entwisle	15, 16, 19	10, 11, 44, 45, 46, 50, 51, 52, 58, 72, 73, 74, 75
	<i>Polysiphonia subtilissima</i> Montagne	7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 20, 24	31, 32, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 50, 52, 53, 54, 55, 58, 72, 73, 74, 75, 154
	<i>Sheathia arcuata</i> (Kylin) Salomaki & M. L. Vis	5, 6, 9, 12, 24	14, 27, 28, 30, 35, 36, 40, 50, 56, 72, 74, 154
	<i>Thorea hispida</i> (Thore) Desvaux	10, 12, 25	14, 29, 37, 38, 40, 50, 55, 72, 73, 155
	<i>Thorea violacea</i> Bory	7, 8, 25	31, 32, 35, 55, 58, 72, 73, 74, 155

DIVISIÓN	TAXÓN	FIGURAS	PÁGINAS
CHLOROPHYTA	<i>Chaetophora elegans</i> (Roth) C. Agardh	9, 12, 25	35, 36, 38, 40, 72, 155
	<i>Chaetophora lobata</i> Schrank	10, 12, 26	37, 38, 40, 156
	<i>Chaetophora tuberculosa</i> (Roth) C. Agardh	5, 6, 26	27, 28, 30, 72, 74, 156
	<i>Cladophora glomerata</i> (Linnaeus) Kützinger	7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 18, 26	31, 32, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 72, 74, 156
	<i>Draparnaldia glomerata</i> (Vaucher) C. Agardh	10, 12, 15, 16, 27	13, 36, 37, 38, 40, 157
	<i>Draparnaldia mutabilis</i> (Roth) Bory	5, 6, 27	27, 28, 30, 72, 74, 157
	<i>Hydrodictyon reticulatum</i> (Linnaeus) Bory	17, 18, 27	13, 47, 48, 49, 157
	<i>Oedogonium</i> sp.	6, 8, 12, 14, 16, 18	28, 30, 32, 34, 36, 39, 40, 41, 43, 44, 46, 47, 49
	<i>Pithophora roettleri</i> (Roth) Wittrock	17, 18, 27	13, 47, 48, 49, 157
	<i>Sphaeroplea annulina</i> (Roth) C. Agardh	17, 18, 28	47, 48, 49, 158
	<i>Stigeoclonium subsecundum</i> (Kützinger) Kützinger	12, 28	36, 40, 158
	<i>Ulva flexuosa</i> Wulfen	10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 28	31, 34, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 72, 74, 158
	<i>Ulva intestinalis</i> Linnaeus	7, 8, 12, 14, 28	31, 32, 34, 38, 40, 41, 42, 43, 72, 74, 158
STREPTOPHYTA	<i>Chara baltica</i> Bruzelius	12, 29	37, 40, 159
	<i>Chara braunii</i> C. C. Gmelin	17, 18, 29	47, 48, 49, 159
	<i>Chara globularis</i> Thuiller	17, 18, 29	13, 47, 48, 49, 159
	<i>Chara hispida</i> Linnaeus	12, 29	37, 40, 159
	<i>Coleochaete scutata</i> Brébisson	16, 29	44, 45, 159
	<i>Mougeotia</i> sp.	6, 12, 16, 18	28, 37, 38, 44, 47
	<i>Nitella confervacea</i> (Brébisson) A. Braun ex Leonhardi	16, 29	44, 45, 46, 159
	<i>Nitella hyalina</i> (De Candolle) C. Agardh	16, 30	44, 45, 46, 160
	<i>Spirogyra</i> sp.	6, 8, 12, 14, 16	32, 34, 36, 37, 38, 39, 41, 44, 47, 45, 46
	<i>Zygnema</i> sp.	18	47, 48

DIVISIÓN	TAXÓN	FIGURAS	PÁGINAS
HETEROKONTOPHYTA	<i>Botrydium granulatum</i> (Linnaeus) Greville	14, 30	41, 43, 160
	<i>Chlorosaccus fluidus</i> Luther	16, 30	44, 45, 160
	<i>Vaucheria compacta</i> (Collins) Collins	8, 14, 30	32, 41, 43, 160
	<i>Vaucheria dichotoma</i> (Linnaeus) Martius	6, 12, 30	28, 36, 38, 40, 160
	<i>Vaucheria dillwynii</i> (Weber & Mohr) C. Agardh	14, 30	41, 43, 160
	<i>Vaucheria frigida</i> (Roth) C. Agardh sensu T. A. Christensen	14	41, 43
	<i>Vaucheria geminata</i> (Vaucher) De Candolle	14	41, 43
	<i>Vaucheria sessilis</i> (Vaucher) De Candolle	14	13, 41, 43

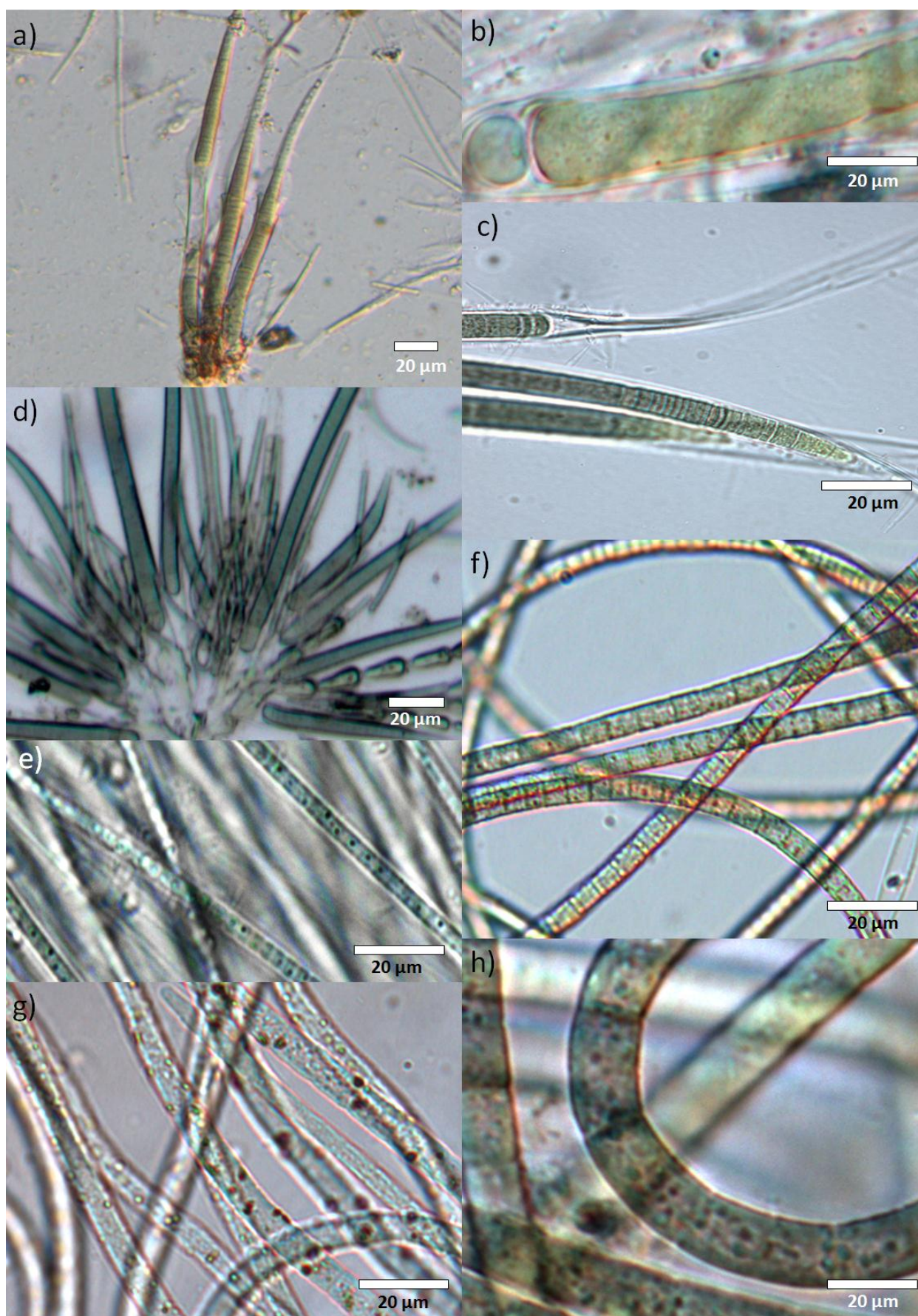


Figura 21. a) Filamentos de *Calothrix parietina*. b) *C. pulvinata*, detalle del heterocito basal. c-d: *Homoeothrix juliana*. c) Ápices de los tricomas atenuados. d) Filamentos dispuestos de forma radial. e) *Leptolyngbya angustissima*. f) *Microcoleus autumnalis*. g) *Phormidium formosum*. h) *P. tergestinum*.

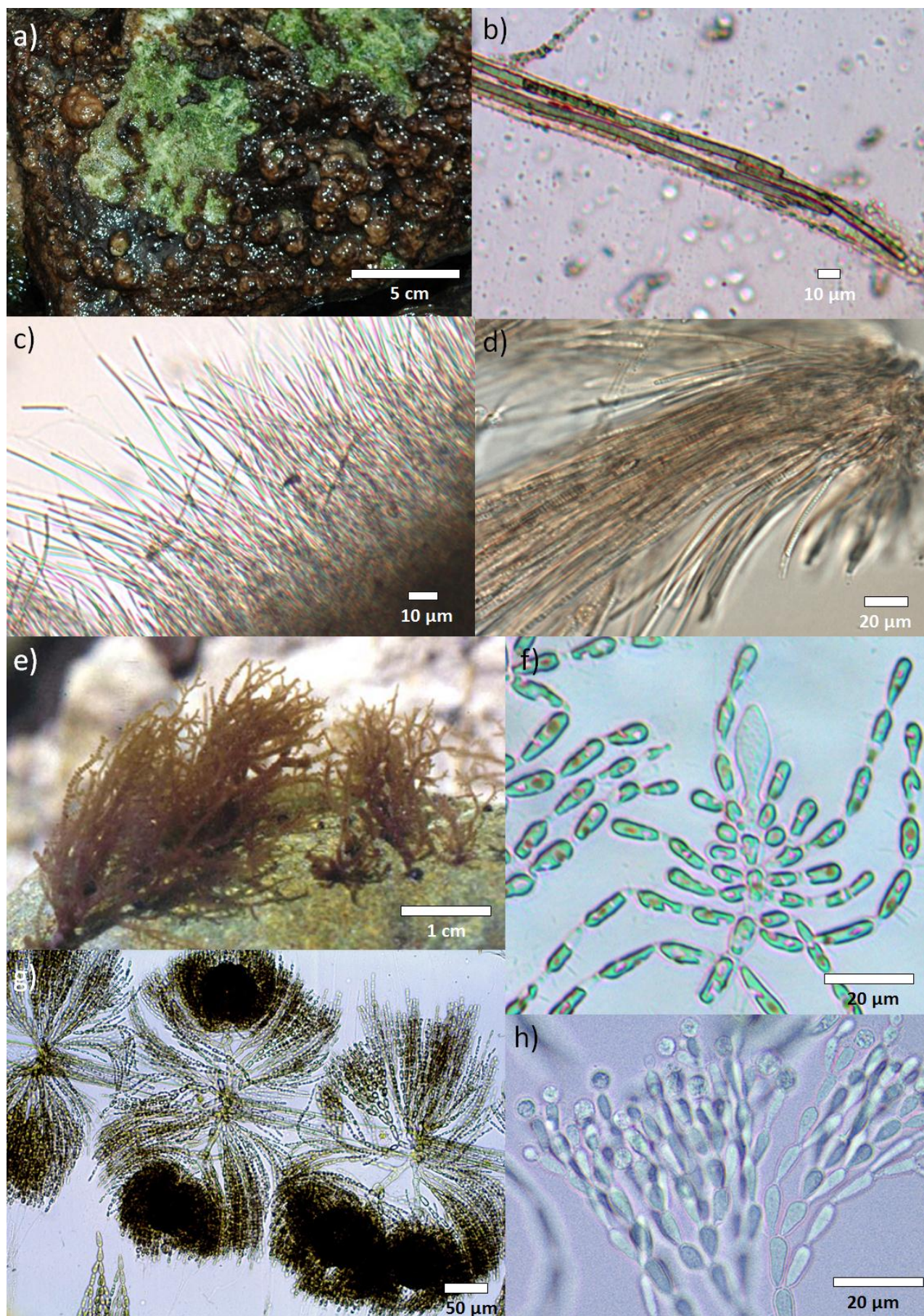


Figura 22. a-b: *Schizothrix fasciculata*. a) Aspecto macroscópico. b) Filamento con varios tricomas. c) Tapete de *Tapinothrix crustacea*. d) *T. violacea*. e-h: *Batrachospermum* cf. *gelatinosum* e) Aspecto macroscópico de *B. cf. gelatinosum*. f) Rama carpogonial con tricógina claviforme. g) Verticilos esféricos. h) Espermacios apicales.

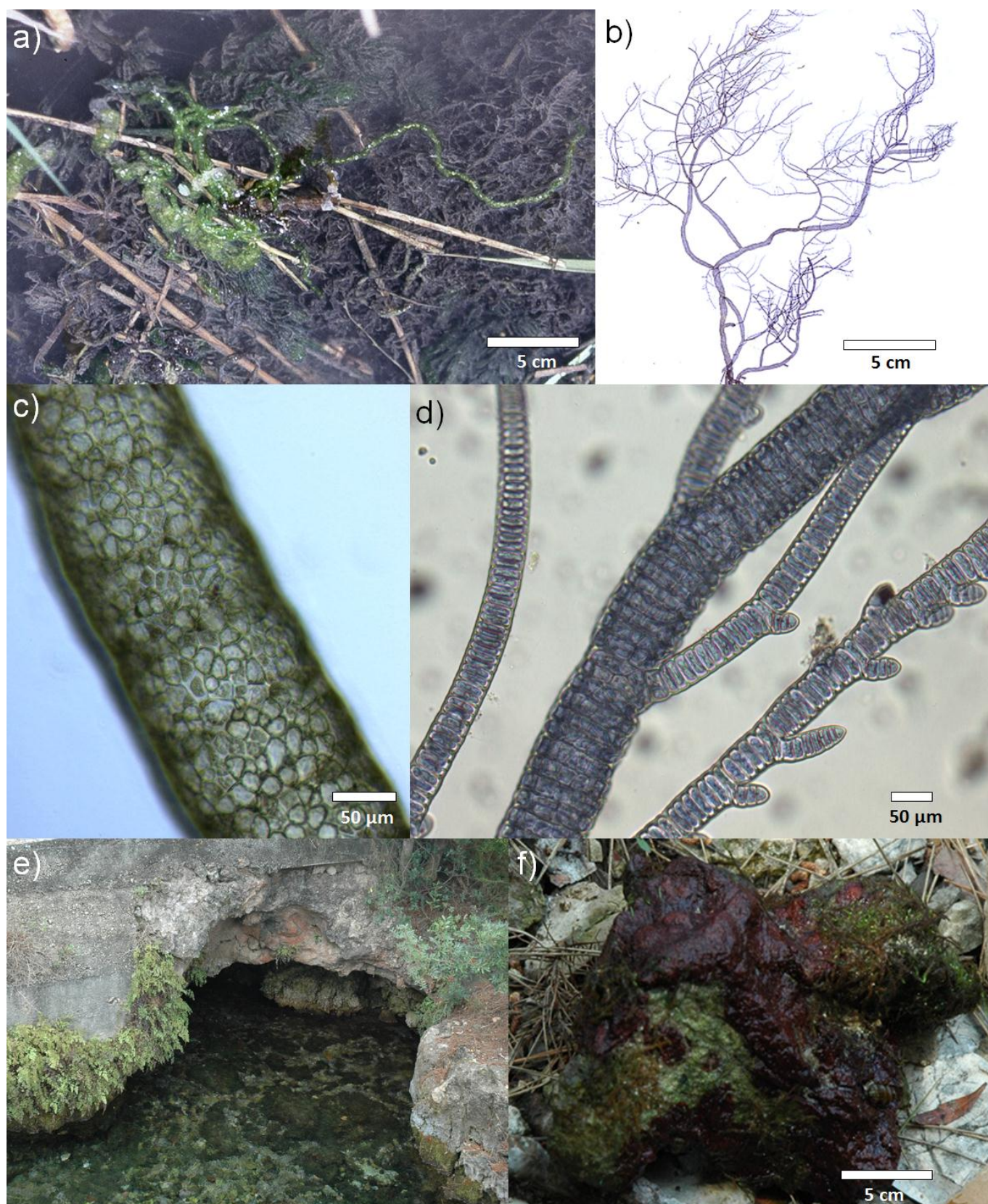


Figura 23. a-d: *Compsopogon coeruleus*. a) Aspecto macroscópico junto con *Ulva intestinalis*. b) Pliego de herbario. c) Células corticales del eje principal. d) Ramas apicales. e) Ullal con cueva con *Hildenbrandia angolensis* epilítica. f) Aspecto macroscópico de *H. angolensis*.

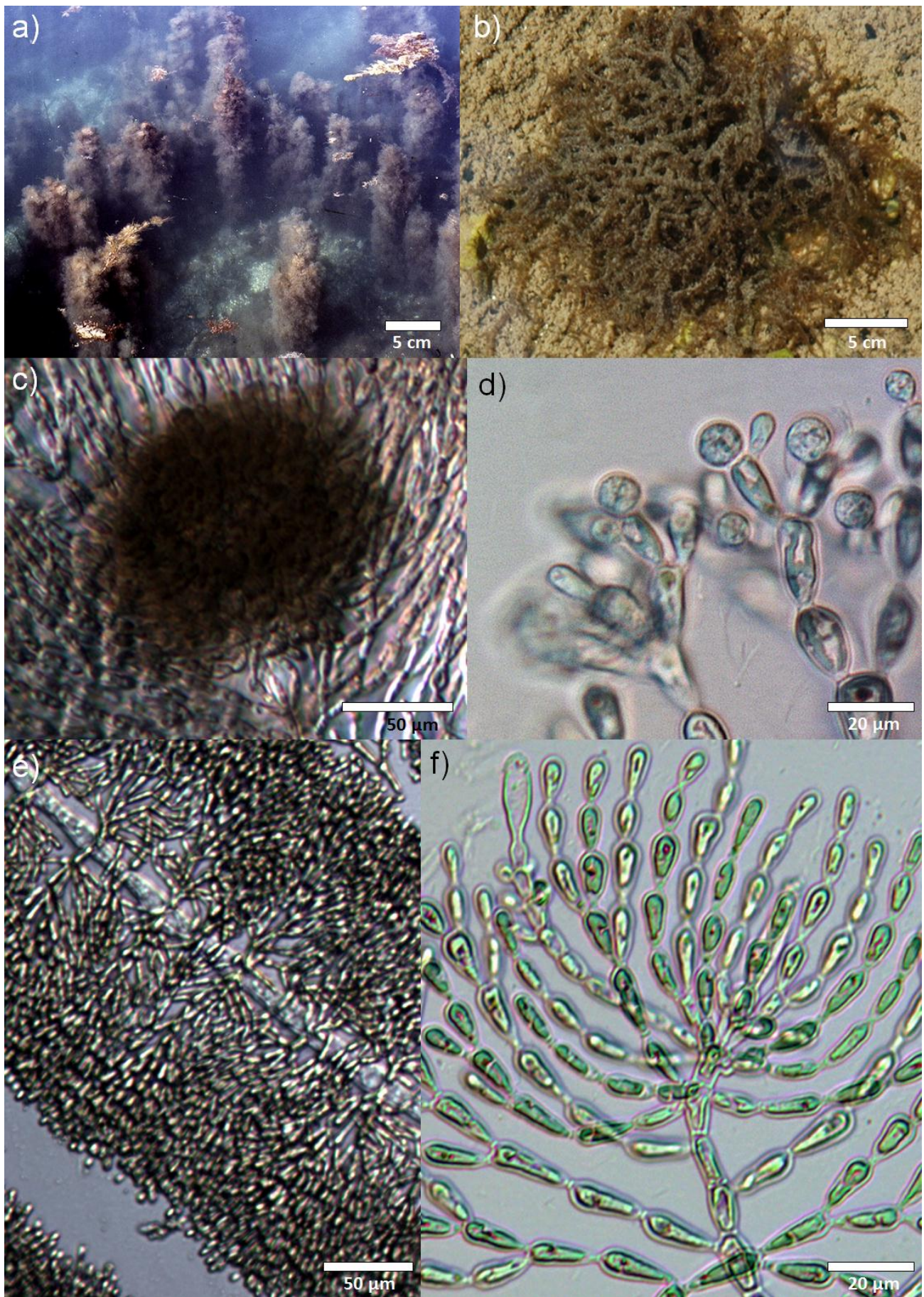


Figura 24. a) *Polysiphonia subtilissima* en la Font Salada. b-f) *Sheathia arcuata*. b) Aspecto macroscópico. c) Carposporófito con forma esférica. d) Espermacios. e) Verticilos confluentes. f) Rama carpogonial con tricógina claviforme.



Figura 25. a-b: *Thorea hispida*. a) Aspecto macroscópico. b) Detalle de los filamentos asimiladores. c-d: *T. violacea*. c) Aspecto macroscópico. d) Monosporangios. e-f: *Chaetophora elegans*. e) Aspecto macroscópico. f) Ramificación.

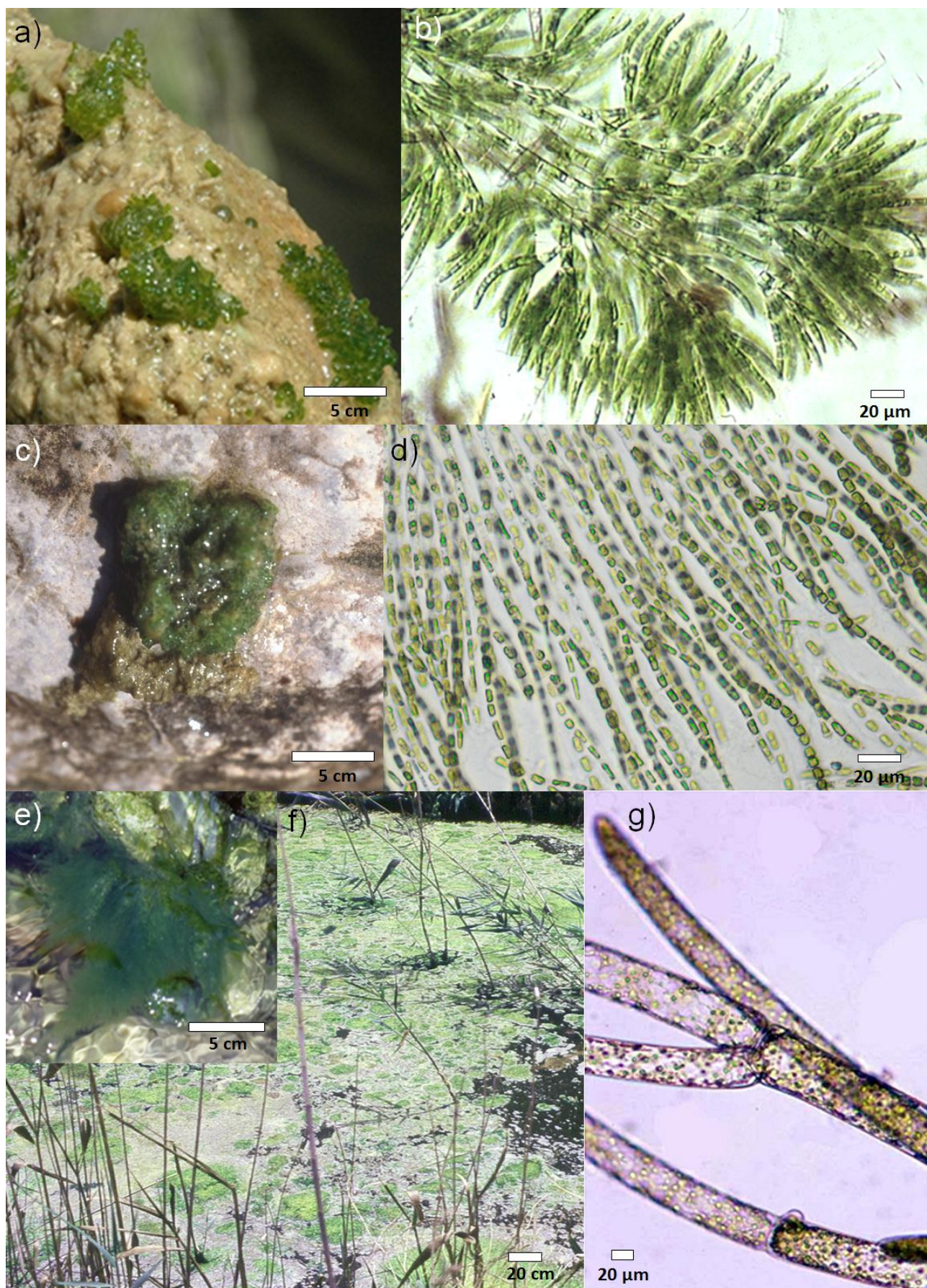


Figura 26. a-b: *Chaetophora lobata*. a) Aspecto macroscópico. b) Ramificación. c-d: *C. tuberculosa*. c) Aspecto macroscópico. d) Detalle de la ramificación. e-g: *Cladophora glomerata*. e) Aspecto macroscópico. f) Masa de filamentos en el río Racons. g) Ramificación.

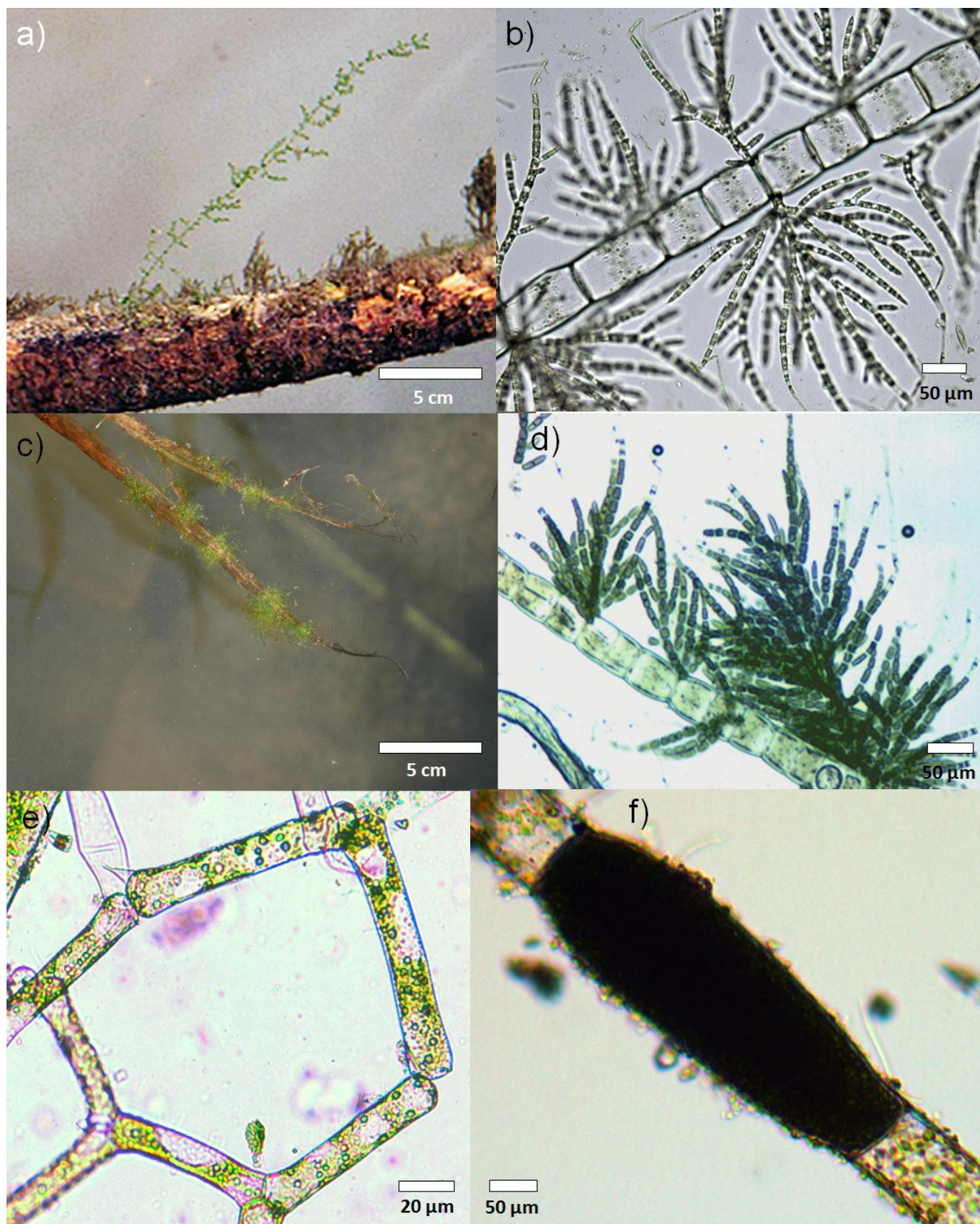


Figura 27. a-b: *Draparnaldia glomerata* a) Aspecto macroscópico. b) Detalle de un filamento. c-d: *D. mutabilis* c) Aspecto macroscópico. d) Detalle de un filamento. e) *Hydrodictyon reticulatum*. f) Filamento de *Pithophora roettleri* con acinetos.

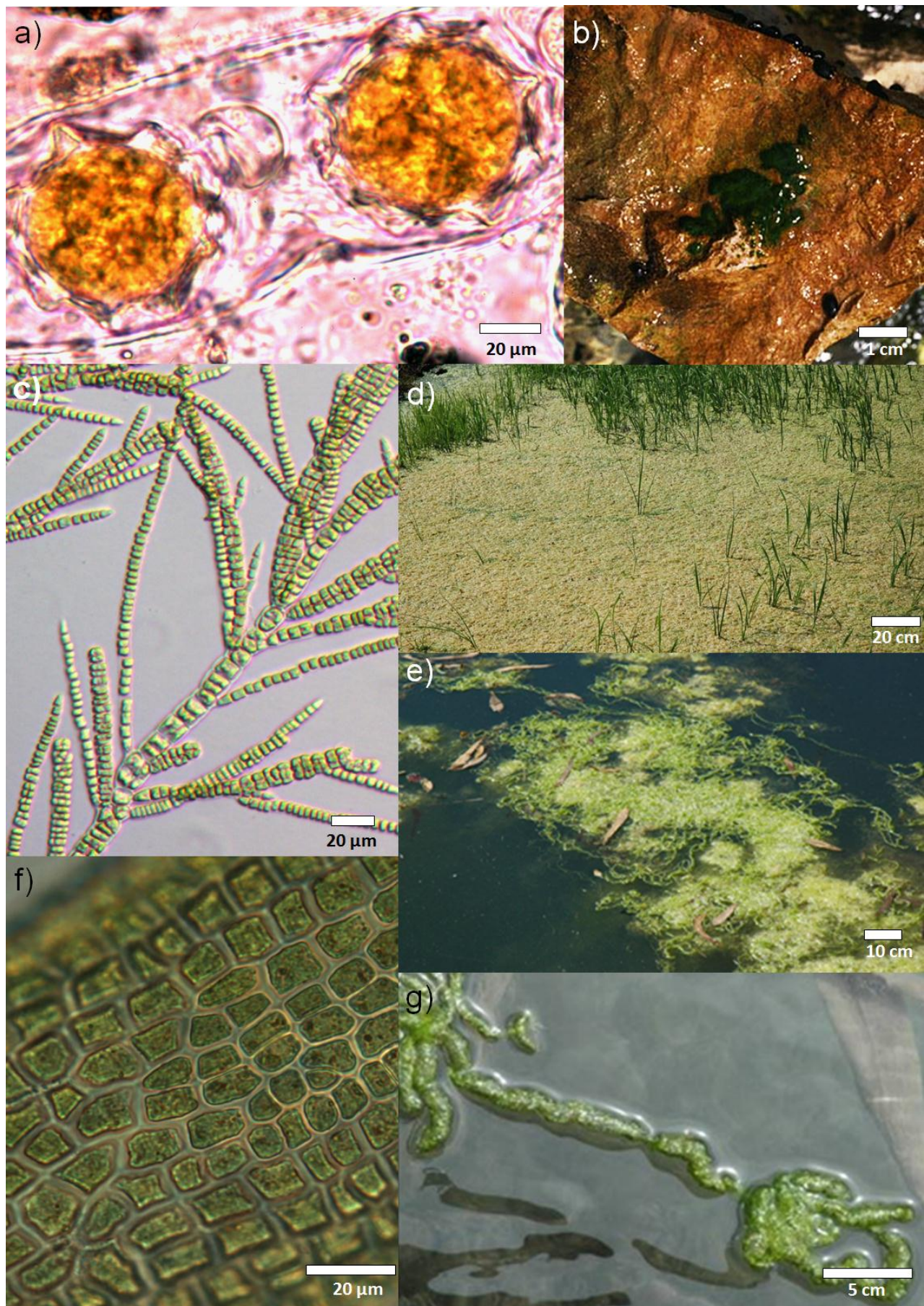


Figura 28. a) Detalle de las oósporas de *Sphaeroplea annulina*. b-c: *Stigeoclonium subsecundum*. b) Aspecto macroscópico. c) Ramificación. d-f: *Ulva flexuosa*. d) *U. flexuosa* en arrozal tradicional. e) *U. flexuosa* en el tramo medio del río Racons. f) Detalle de la ordenación celular. g) Aspecto macroscópico de *U. intestinalis*.

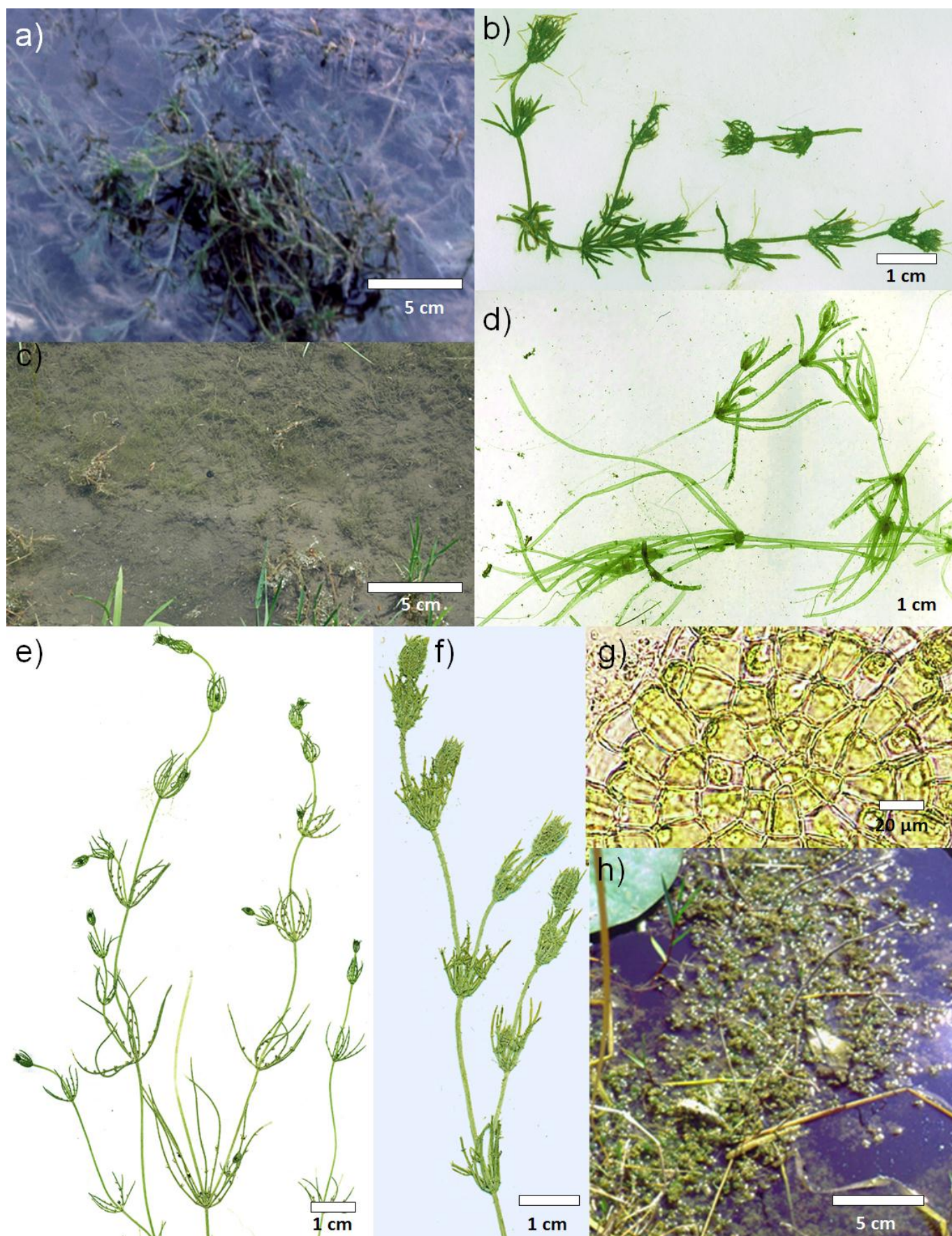


Figura 29. a-b: *Chara baltica*. a) Aspecto macroscópico. b) Pliego de herbario. c-d: *C. braunii*. c) *C. braunii* en el medio. d) Pliego de herbario. e) Pliego de herbario de *C. globularis*. f) Pliego de herbario de *C. hispida*. g) Detalle del talo de *Coleochaete scutata*. h) *Nitella confervacea* en un azarbe.

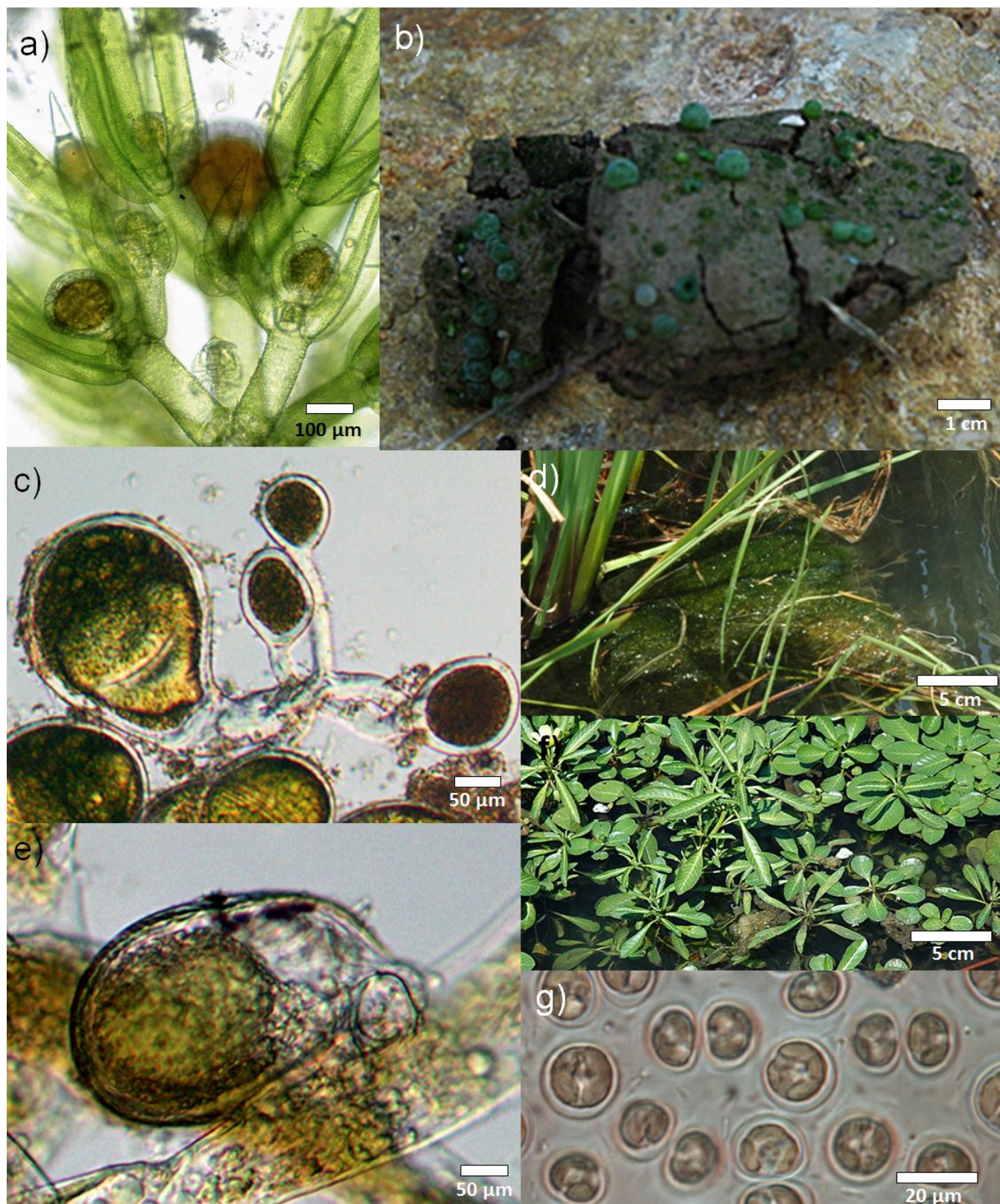


Figura 30. a) Ramificación de *Nitella hyalina* con anteridios en distintos grados de maduración. b) Aspecto macroscópico de *Botrydium granulatum*. c) *Vaucheria compacta* con oogonios. d) Aspecto macroscópico de *V. dichotoma* en el tramo medio del río Bullent. e) Detalle del oogonio y anteridio de *V. dillwynii*. f-g: *Chlorosaccus fluidus*. f) Aspecto macroscópico sobre *Ludwigia grandiflora*. g) Detalle de las células.

6.6 Muestras herborizadas del marjal de Pego-Oliva

6.6.1 Muestras preservadas en formaldehído al 4%

TAXONES	Nº HERBARIO
<i>Batrachospermum</i> cf. <i>gelatinosum</i> (Linnaeus) de Candolle	1490, 1534, 1535, 1630, 4743, 4744
<i>Botrydium granulatum</i> (Linnaeus) Greville	4795
<i>Calothrix parietina</i> Thuret ex Bornet & Flahault	1324, 1539, 1379, 1396, 4769, 5044
<i>Calothrix pulvinata</i> C. Agardh ex Bornet & Flahault	4788, 4897, 4948
<i>Chaetophora elegans</i> (Roth) C. Agardh	1353, 1502, 5010
<i>Chaetophora lobata</i> Schrank	1439, 4747, 5546
<i>Chaetophora tuberculosa</i> (Roth) C. Agardh	1384, 1440, 1536, 1539, 4846, 4847
<i>Chara baltica</i> Bruzelius	1496, 1632, 4811, 4812
<i>Chara braunii</i> C. C. Gmelin	4876, 4992, 5514, 5515, 5520, 5521, 5524
<i>Chara globularis</i> Thuiller	5514, 5515, 5521, 5524
<i>Chara hispida</i> Linnaeus	1496, 1632, 4806, 4811, 4812
<i>Chlorosaccus fluidus</i> Luther	3666, 4989
<i>Cladophora glomerata</i> (Linnaeus) Kützinger	1309, 1370, 1507, 1557, 1558, 1600, 1601, 1602, 1603, 1604, 1605, 2732, 3641, 3666, 4777, 4790, 4791, 4834, 4868, 4936, 4986, 4988
<i>Compsopogon coeruleus</i> (Balbis ex C. Agardh) Montagne	1302, 1370, 1381, 1606, 1607, 1451, 3641, 4791, 4835, 4836, 4840, 4946, 4991, 5005
<i>Coleochaete scutata</i> Brébisson	1527, 4786, 4860, 4862, 4882
<i>Draparnaldia glomerata</i> (Vaucher) C. Agardh	1297, 1350, 4879
<i>Draparnaldia mutabilis</i> (Roth) Bory	1435, 1536, 1539, 4775, 4847, 5042
<i>Hildenbrandia angolensis</i> Welwitsch ex W. West & G. S. West	1673, 4889, 4894, 4903, 5149
<i>Homoeothrix juliana</i> (Bornet & Flahault) Kirchner	1538, 4815, 4887, 4896, 4902, 5043
<i>Hydrodictyon reticulatum</i> (Linnaeus) Bory	1993, 4878, 4994, 4995
<i>Leptolyngbya angustissima</i> (W. West & G. S. West) Anagnostidis & Komárek	1312, 1441, 1442, 4770, 4815, 4870, 4871, 4873, 4887, 4900, 4955
<i>Kumanoa mahlacensis</i> (Kumano & W. A. Bowden-Kerby) M. L. Vis, Necchi, W. B. Chiasson & Entwisle	1535, 4895
<i>Microcoleus autumnalis</i> (Trevisan ex Gomont) Strunecký, Komárek & Johansen	4864, 5032, 5529, 5530
<i>Mougeotia</i> sp.	1385, 1405, 1453, 4875, 4994, 5035, 5518
<i>Nitella confervacea</i> (Brébisson) A. Braun ex Leonhardi	3599, 5527, 5542
<i>Nitella hyalina</i> (De Candolle) C. Agardh	1361, 5528, 5542
<i>Oedogonium</i> sp.	1365, 1370, 1381, 1384, 1385, 1490, 1493, 4765, 4769, 4785, 4789, 4792, 4794, 4868, 4878, 4883, 4946, 4986, 4994, 5035
<i>Oscillatoria</i> sp.	1493, 4751, 4755, 4799, 5013
<i>Phormidium formosum</i> (Bory ex Gomont) Anagnostidis & Komárek	4799, 5013, 5501

<i>Phormidium tergestinum</i> (Kützinger) Anagnostidis & Komárek	1328, 1362, 1437, 1452, 4788, 4852, 4897, 4948
<i>Pithophora roettleri</i> (Roth) Wittrock	1577, 4876, 4877
<i>Polysiphonia subtilissima</i> Montagne	1289, 1290, 1292, 1296, 1298, 1318, 1354, 1378, 1397, 1460, 1509, 1669, 2711, 2718, 2731, 3641, 4748, 4749, 4759, 4760, 4764, 4765, 4767, 4776, 4814, 4823, 4840, 4841, 4950, 5008, 5027, 5028, 5029, 5046, 5299, 5499
<i>Schizothrix fasciculata</i> Gomont ex Gomont	1311, 1317, 1344, 1379, 4758, 4817, 4874, 4885, 4886, 4896
<i>Sheathia arcuata</i> (Kylin) Salomaki & M. L. Vis	1299, 1326, 1330, 1331, 1332, 1341, 1401, 1402, 1433, 1434, 1461, 1494, 1495, 1510, 1540, 1654, 1662, 1663, 1665, 1672, 2726, 4750, 4753, 4756, 4768, 4771, 4772, 4773, 4774, 4796, 4869, 4870, 4881, 4900, 4954, 4955, 5009, 5041, 5150
<i>Sphaeroplea annulina</i> (Roth) C. Agardh	4878
<i>Spirogyra</i> sp.	1365, 1384, 1385, 1453, 4760, 4789, 4792, 4814, 4818, 4819, 4822, 4825, 4826, 4856, 4867, 4872, 4985, 4994, 4996, 4997, 5035
<i>Stigeoclonium subsecundum</i> (Kützinger) Kützinger	4751, 4755, 4898, 5018
<i>Tapinothrix crustacea</i> (Voronichin) Bohunická & Johansen	1344, 1657, 4817
<i>Tapinothrix violacea</i> (Bornet & Flahault) Bohunická & Johansen	1367, 4897, 4948
<i>Thorea hispida</i> (Thore) Desvaux	4757, 5028
<i>Ulva flexuosa</i> Wulfen	1302, 1349, 1393, 1431, 1511, 1513, 1516, 1557, 2713, 2714, 3639, 4741, 4760, 4761, 4762, 4790, 4792, 4793, 4837, 4838, 4839, 4877, 4883, 4936, 4944, 4991, 5005, 5024, 5033, 5034
<i>Ulva intestinalis</i> Linnaeus	1364, 1372, 1458, 3653, 4820, 4946, 4949, 5006, 5045
<i>Vaucheria compacta</i> (Collins) Collins	4795
<i>Vaucheria dichotoma</i> (Linnaeus) Martius	1299, 1501, 1507, 1628, 4740, 4810, 5102
<i>Vaucheria dillwynii</i> (Weber & Mohr) C. Agardh	4795
<i>Vaucheria frigida</i> (Roth) C. Agardh sensu T. A. Christensen	1628
<i>Vaucheria geminata</i> (Vaucher) De Candolle	1628
<i>Vaucheria sessilis</i> (Vaucher) De Candolle	4795
<i>Zygnema</i> sp.	4878, 4993, 4994, 4996, 4997

6.6.2 Pliegos de herbario

TAXONES	Nº HERBARIO
<i>Batrachospermum</i> cf. <i>gelatinosum</i> (Linnaeus) de Candolle	935, 2097
<i>Chaetophora elegans</i> (Roth) C. Agardh	2185
<i>Chara baltica</i> Bruzelius	634
<i>Chara braunii</i> C. C. Gmelin	287, 1507
<i>Cladophora glomerata</i> (Linnaeus) Kützing	2098, 2099, 2102, 2105, 2107, 2251, 2252, 2345, 2353, 2354, 2945, 5157
<i>Compsopogon coeruleus</i> (Balbis ex C. Agardh) Montagne	64, 65, 303, 304, 307, 308, 309, 310, 551, 934, 1161, 2109, 2249, 2324, 2346, 2348, 3279, 3280, 5151
<i>Draparnaldia mutabilis</i> (Roth) Bory	2186
<i>Hydrodictyum reticulatum</i> (Linnaeus) Bory	2343
<i>Kumanoa mahlacensis</i> (Kumano & W. A. Bowden-Kerby) M. L. Vis, Necchi, W. B. Chiasson & Entwisle	5152
<i>Nitella confervacea</i> (Brébisson) A. Braun ex Leonhardi	936
<i>Polysiphonia subtilissima</i> Montagne	1162, 1357, 1358, 2101, 2327, 2340, 2347, 5148, 5153
<i>Sheathia arcuata</i> (Kylin) Salomaki & M. L. Vis	2078, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2326, 2903, 2905, 5150
<i>Thorea hispida</i> (Thore) Desvaux	284, 285, 286, 2322, 2323
<i>Thorea violacea</i> Bory	1472, 1473, 2902
<i>Ulva flexuosa</i> Wulfen	2325, 3975
<i>Ulva intestinalis</i> Linnaeus	818, 2103, 2104, 2106, 2108, 2329, 2341, 2342, 2349, 2946
<i>Vaucheria dichotoma</i> (Linnaeus) Martius	2100