

LIMITACIÓN POR NUTRIENTES EN LA PLANICIE DE INUNDACIÓN DEL BAJO RÍO PARANÁ: ANÁLISIS DE NITRÓGENO Y FÓSFORO FOLIARES EN MACRÓFITAS

Natalia S. Morandeira^{1,3,*} , Maira P. Gayol^{2,3,*}  & Darío S. Ceballos⁴

¹ Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental, Escuela de Hábitat y Sostenibilidad, Universidad Nacional de General San Martín - CONICET, 25 de Mayo y Francia, Campus Miguelete, B1650CBG General San Martín, Buenos Aires, Argentina; nmorandeira@unsam.edu.ar (autora corresponsal).

² Instituto de Astronomía y Física del Espacio, Universidad de Buenos Aires - CONICET, Ciudad Universitaria, Casilla de Correo 67, C1428ZAA Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Godoy Cruz 2290, C1425FQB Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

⁴ Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, P. de las Palmas y C. L. Comas, Casilla de Correo 14, 2804 Campana, Buenos Aires, Argentina.

* Las autoras N. S. Morandeira y M. P. Gayol contribuyeron en igual medida a este trabajo.

Abstract. Morandeira, N. S.; M. P. Gayol & D. S. Ceballos. 2023. Nutrient limitation in the Lower Paraná River floodplain: leaf nitrogen and phosphorus analyses in macrophytes. *Darwiniana*, nueva serie 11(1): 155-166.

Nitrogen (N) and phosphorus (P) are the most limiting nutrients in natural freshwater wetlands. Flooded marshes dominate in the freshwater wetlands of the Lower Paraná River floodplain (Argentina). The leaf N and P concentration and the N:P ratios were assessed as a first approach to evaluate the nature of nutrient limitation. A total of 96 sites and 131 dominant plant populations (belonging to 50 herbaceous macrophyte species) were sampled in medium hydrometric level conditions. The interspecific variability of leaf nutrients was higher than the intraspecific variability. Foliar N ranged from 0.5% to 5.3%, while foliar P ranged from 0.1% to 0.5%. Leaf N:P was 9.3 ± 4.3 (mean \pm standard deviation), suggesting N-limitation for most of the plant populations –under the assumption of the validity of the critical N:P thresholds previously proposed (N:P < 10 for N limitation, N:P > 20 for P limitation). Neither the leaf nutrients nor the N:P were affected by the flooding frequency, hydrometric water level, or wetland landscape unit/subunit location. The species identity accounted for most of the leaf nutrient and N:P variability, followed by the sampling date for P and N:P levels. This study provides a baseline on the nature of nutrient limitation, mainly by N, in plants of the Lower Paraná River floodplain. Future surveys or experiments could address the variations of leaf nutrients and nutrient limitation in contrasting hydrological conditions.

Keywords. Ecological stoichiometry; fluvial wetlands; leaf nutrients; macrophytes; nutrient limitation; Paraná River Delta.

Resumen. Morandeira, N. S.; M. P. Gayol & D. S. Ceballos. 2023. Limitación por nutrientes en la planicie de inundación del Bajo Río Paraná: análisis de nitrógeno y fósforo foliares en macrófitas. *Darwiniana*, nueva serie 11(1): 155-166.

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son los nutrientes más limitantes en humedales naturales de aguas dulces. En la planicie de inundación del Bajo Río Paraná (Argentina) predomina la vegetación herbácea inundable. Como primer abordaje para conocer la naturaleza de la limitación por nutrientes, se evaluaron las concentraciones de N y P foliar y los cocientes N:P. En condiciones hidrométricas medias, se relevaron 96 sitios y 131 poblaciones dominantes pertenecientes a 50 especies de macrófitas. La variabilidad interespecifica de los nutrientes foliares fue mayor que la variabilidad intraespecifica. El N foliar varió entre 0,5% y 5,3%, mientras que el P foliar varió entre 0,1% y 0,5%. El N:P fue de $9,3 \pm 4,3$ (media \pm desvío estándar). La mayor parte de las poblaciones estarían limitadas por N, bajo el supuesto de que los umbrales críticos de N:P propuestos en estudios previos son válidos en estos ecosistemas (N:P < 10 para

limitación por N; $N:P > 20$ para limitación por P). Ni los nutrientes foliares ni el N:P fueron afectados por la frecuencia de inundación histórica, el nivel hidrométrico en la fecha de muestreo o la localización del sitio en una dada unidad/subunidad de paisaje de humedal. La mayor variabilidad en los niveles de nutrientes foliares fue explicada por la identidad de las especies, seguida de la fecha de muestreo para P y N:P. El presente estudio representa una línea de base sobre la naturaleza de la limitación por nutrientes, principalmente por N, en humedales del Bajo Río Paraná. En futuros relevamientos o experimentos, sería de interés analizar cómo varían los nutrientes foliares y la limitación por nutrientes en condiciones hidrológicas contrastantes.

Palabras clave. Delta del Paraná; estequiometría ecológica; humedales fluviales; limitación por nutrientes; macrófitas; nutrientes foliares.

INTRODUCCIÓN

Las comunidades de plantas de humedales de agua dulce están controladas principalmente por el régimen hidrológico. La vegetación que ocurre en humedales presenta adaptaciones para tolerar las condiciones de anoxia de los suelos saturados (Keddy, 2010), tales como la presencia de aerénquima en las raíces. La disponibilidad de nutrientes en los sedimentos y en el agua también es relevante para este tipo de vegetación, debido a sus efectos en las tasas de crecimiento y de producción primaria, a los impactos en las interacciones interespecíficas de competencia y a las alteraciones en la riqueza y composición de especies (Koerselman & Meuleman, 1996). El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son los nutrientes que más frecuentemente limitan la producción primaria en humedales naturales (Kirk, 2004), y en menor medida se ha encontrado evidencia de limitación por potasio (Koerselman & Meuleman, 1996).

Además del ingreso de nutrientes directamente desde el canal principal del río, las planicies de inundación tienden a establecer sus propios ciclos biogeoquímicos, influenciados por los organismos y las condiciones ambientales locales (Junk et al., 1989). En planicies de inundación y humedales de agua dulce aluviales, la historia y patrones de inundación condicionan la disponibilidad de nutrientes: a medida que disminuye la frecuencia de inundación, usualmente el P disponible disminuye y el N disponible y total aumentan (Trémolières et al., 2009). A su vez, la fase hidrológica del río (aguas altas versus aguas bajas, de acuerdo al momento en el pulso de inundación) condiciona la carga de N y su disponibilidad dentro de la planicie (Mayora et al., 2017).

La estequiometría ecológica se ha propuesto como una herramienta para predecir la limitación por nutrientes y puede constituir una aproximación al estudio de los ciclos biogeoquímicos en humedales (Elser et al., 2000; Koerselman & Meuleman, 1996; Sardans et al., 2012; Van de Waal et al., 2018). A partir de la revisión de 40 experimentos de fertilización en humedales de Europa, Koerselman y Meuleman (1996) postularon que el cociente entre N y P (de aquí en adelante N:P) en tejidos foliares es un indicador de la disponibilidad relativa de estos nutrientes en ecosistemas de humedales. Según los autores citados, las plantas con un N:P foliar menor a 14 están limitadas por N, las plantas con N:P mayor a 16 están limitadas por fósforo y las plantas con un cociente intermedio están co-limitadas por N y por P. Koerselman y Meuleman (1996) enunciaron que los N:P foliares reflejan diferencias en las proporciones de suministro de N y P más que la disponibilidad absoluta de N y P. Posteriormente, Güsewell (2004) señaló como más adecuados a los $N:P < 10$ y $N:P > 20$ para indicar que la producción de biomasa está limitada por N y P, respectivamente. Consistentemente, en un análisis sobre las incertezas asociadas al uso de umbrales N:P para detectar la naturaleza de la limitación por nutrientes, Yan et al. (2017) informan que el riesgo de error es menor con el uso de umbrales de 10 y 20 que con umbrales de 14 y 16. Además, Güsewell (2004) indicó que si bien hay acuerdo con que N:P bajos implicarían limitación por N, algunos autores asignan N:P altos a limitación por P o colimitación por ambos nutrientes (Downing & McCauley, 1992; Olde Venterink et al., 2003).

El enfoque de evaluar la naturaleza de la limitación relativa por nutrientes a partir del N:P fue propuesto como un método menos costoso (en

tanto demanda de tiempo, de recursos humanos y económicos) que los experimentos de fertilización (Güsewell et al., 2003). Una de las mayores críticas a esta aproximación es que los umbrales de N:P previamente publicados no necesariamente son indicadores válidos de limitación por N o por P en otros ecosistemas o para otro conjunto de especies vegetales (Vitousek et al., 2010). Asimismo, Yan et al. (2017) señalan que los umbrales definidos tanto por Koerselman y Meuleman (1996) como por Güsewell (2004), validados por experimentos de fertilización, fueron propuestos para determinar los nutrientes limitantes a nivel de comunidad. A pesar de ello, los N:P se han utilizado en estudios globales en múltiples ecosistemas (por ejemplo, Wardle et al., 2004; Wassen et al., 2005), y en 450 estudios relevados por Yan et al. (2017). En el análisis de las incertidumbres asociadas al uso de los umbrales de N:P, Yan et al. (2017) concluyen que, si bien el riesgo en la detección del nutriente limitante no es despreciable, la tendencia general es válida como referencia: cuanto mayor sea N:P, las plantas tienden a estar limitadas por P; cuanto menor sea N:P, las plantas tienden a estar limitadas por N. Por lo tanto, disponer de N:P de referencia para la vegetación de un determinado ecosistema podría ser de utilidad para evaluar cambios en el balance de N y P ante impactos ambientales asociados a procesos naturales y antropogénicos (Güsewell, 2004; Vitousek et al., 2010; Yan et al., 2017).

En la planicie de inundación del Paraná no se cuenta con estudios sobre la validez de los umbrales N:P propuestos para otros humedales, ni con relevamientos extensivos sobre los niveles de nutrientes en la vegetación natural. Como antecedentes del uso de N:P, se han encontrado evidencias de limitación por N para dos especies dominantes: el junco *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják y el camalote *Pontederia crassipes* Mart., con N:P en tallos de entre 4,26 y 10,23 de acuerdo a la especie y a la distancia al río Paraná (Bonetto et al., 1994). Se cuenta también con una caracterización nutricional de las especies forrajeras del sector silvopastoril del Bajo Delta del Paraná (Rossi et al., 2014), en la que se documentan indicadores de valor nutritivo y palatabilidad de trece especies herbáceas de las familias Poaceae, Cyperaceae, Amaranthaceae y Fabaceae.

Finalmente, el N:P se ha utilizado para comparar pastizales anegadizos que fueron reemplazados por plantaciones de álamos con suelos drenados (Ceballos, 2011). En dicho análisis, se observó que el N:P foliar era de 7 en pajonales naturales de *Cyperus byssaceus* Pereira-Silva (Cyperaceae), mientras que en rodales forestales de *Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall (Salicaceae), aumentó a 18, lo cual se asoció a cambios en la disponibilidad de N y P debido al drenaje y a la forestación.

En el presente estudio nos propusimos evaluar la naturaleza de la limitación por nutrientes en la planicie de inundación del Bajo Río Paraná (Delta Medio y Delta Superior), para lo cual relevamos los N:P de plantas herbáceas. Dado que los pulsos de inundación y el ingreso de agua a la planicie pueden afectar la disponibilidad de nutrientes, analizamos si las concentraciones de N y P foliares difieren de acuerdo con la frecuencia de inundación histórica de cada sitio, las unidades de paisaje de humedales y los niveles hidrométricos en el río Paraná. Consideramos también la variabilidad aportada por la identidad de las especies o de las familias a las que pertenecen y por la fecha de muestreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El Paraná es un río de gran extensión y tamaño de cuenca, el segundo en Sudamérica luego del Amazonas en términos de su longitud (Neiff et al., 1994). El presente estudio fue realizado en la región del Complejo Fluvio-Litoral del Bajo Paraná, también conocido como Delta del Paraná, que presenta un extenso mosaico de humedales de 19,500 km² (Fig. 1). En particular, se trabajó en la porción superior y media del Delta del Paraná. En el área se han identificado unidades de paisaje de humedales con base en los patrones geomorfológicos e hidrológicos (Kandus et al., 2019) (Fig. 1B).

La región tiene un clima templado húmedo, con una temperatura anual media de 17,1 °C. El mes más frío es julio y el más cálido es enero (temperatura media de 10 °C y 24 °C, respectivamente), mientras que la precipitación anual media es de 1052 mm (1965-2011, estación agrometeorológica San Pedro, INTA). Los suelos dominantes se clasifican como Molisoles (Hapludoles y Haplaquoles).

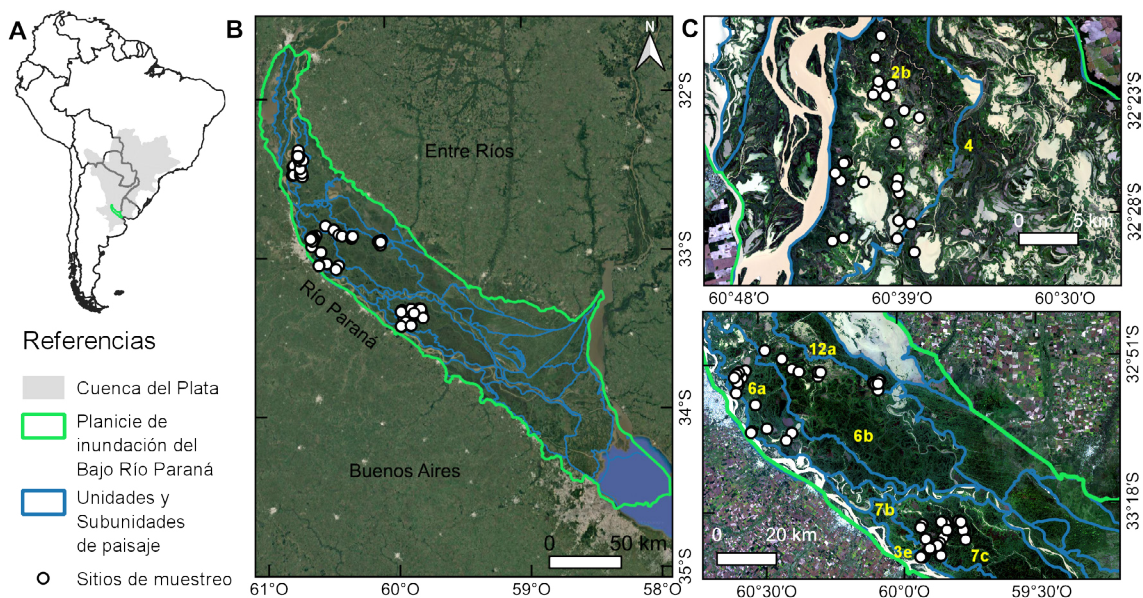


Fig. 1. Área de estudio y sitios de muestreo. **A**, ubicación del área de estudio en Sudamérica y la Cuenca Del Plata. Las imágenes de fondo fueron tomadas de Google, © 2020 y corresponden a escenas de los satélites Landsat/Copernicus. **B**, complejo Fluvio-Litoral del Bajo Paraná (también conocido como Delta del Paraná) y sus Unidades de Paisaje de Humedal (UPH) y Subunidades de Paisaje de Humedal (SUPH). **C**, detalle de la localización de los sitios de muestreo de las UPH y SUPH. Las etiquetas siguen la nomenclatura de Kandus et al. (2019): el número romano (I, II, III) corresponde al Sistema de Paisaje; el número arábigo a la UPH; y la letra minúscula a la SUPH, excepto para la UPH I.4 en la que Kandus et al. (2019) no definieron subunidades. En el panel superior, la imagen de fondo corresponde a una escena Landsat 8-OLI de fecha 29 de abril de 2017; en el panel inferior, a una escena Landsat 8-OLI de fecha 6 de abril de 2017. Figura en color en la versión en línea <http://www.ojs.darwin.edu.ar/index.php/darwiniana/article/view/1100/1294>

El régimen hidrológico actual de la planicie está dominado principalmente por el régimen de pulsos del río Paraná. El Paraná tiene un caudal anual de unos $16.000 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$, con valores mínimos de $7.700 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ y máximos de hasta $51.200 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ (período 1931-2001, para la sección Paraná-Santa Fe del Paraná Medio, Jaime & Menéndez, 2002). El caudal máximo del Paraná se observa usualmente entre marzo y abril, y el mínimo entre septiembre y octubre. Sin embargo, y por la influencia de los pulsos de inundación, la variabilidad interanual es más destacable que la estacionalidad. Durante los eventos El Niño, el área es afectada por crecientes extendidas; en cambio, durante periodos La Niña, el área presenta condiciones más secas. La influencia fluvial y la escasa pendiente regional resulta en suelos pobremente drenados, que usualmente presentan signos de reducción química como un horizonte gley o la presencia de moteados rojizos o amarillos (Pereyra et al., 2004).

Con respecto a la vegetación, predominan las comunidades herbáceas como pastizales, pajonales, juncales y praderas de herbáceas latifoliadas (Gayol et al., 2022; Morandeira & Kandus, 2015), intercaladas con lagunas someras y cursos de agua (Borro et al., 2014; Gayol et al., 2019) y con bosques nativos en las posiciones altas del Delta Superior (Aceñolaza et al., 2008; Kandus et al., 2019).

Obtención de datos. Durante tres estaciones de primavera-verano (2010-2011, 2011-2012 y 2017-2018), se relevaron 96 sitios distribuidos en seis unidades de paisaje de humedal y ocho subunidades (Fig. 1C). Se relevó cada sitio en una única ocasión. Los niveles hidrométricos del río Paraná en la estación de Rosario variaron entre 218 y 469 cm (datos del Instituto Nacional del Agua), que se corresponden con alturas hidrométricas medias, por debajo de los niveles de alerta y evacuación.

En cada sitio, se realizaron censos de vegetación en cuadrantes de 1 m² y se identificaron las especies dominantes (Morandeira & Kandus, 2015; Gayol et al., 2022). Se cosecharon hojas de individuos de las poblaciones dominantes de cada sitio (en total se analizaron 131 poblaciones dominantes). Para la selección de las hojas se siguieron los criterios propuestos por Pérez-Harguindeguy et al. (2013). Se cosecharon dos hojas de al menos cinco individuos (o ramets) adultos de cada población seleccionados al azar. Para algunas especies se tomó un mayor número de hojas para poder alcanzar el peso mínimo requerido para realizar los análisis. Se seleccionaron hojas verdes jóvenes (presumiblemente fotosintéticamente activas), completamente expandidas, que se encontraban en la parte de la planta más expuesta a luz solar directa. Se evitaron las hojas con síntomas evidentes de ataque de patógenos y de herbívoros.

En laboratorio, se secaron las hojas en estufa durante dos días a 72 °C y luego se molieron a 2 µm, de manera que se obtuvo una muestra compuesta para cada población. Para cada nutriente se analizaron 500 mg de material molido y seco. El N foliar fue determinado en todas las poblaciones y el P en 91 poblaciones. El nitrógeno total foliar fue cuantificado con el método Kjeldahl y el fósforo total foliar por medio de incineración en seco seguida del método de Barton (determinación del complejo vanadomolibdofosfórico con espectrofotómetro a 440 nm) (Ritas & Melida, 1990). Las concentraciones de N y P foliar se expresan como mg de nutriente por cada 100 mg de tejido foliar y los N:P se expresan en masa (mg/mg).

Análisis de datos. Se computaron los N:P en las poblaciones de plantas y se compararon con los valores umbral indicadores de limitación por N o P informados en estudios previos (Koerselman & Meuleman, 1996; Villar et al., 1996; Bedford et al., 1999; Güsewell & Koerselman, 2002; Güsewell, 2004; Reich y Oleksyn, 2004). Para las 25 especies en las que se midió más de una población (Tabla 1), los coeficientes de variación (CV) de N, P y N:P fueron usados como indicadores de la variabilidad intraespecífica. Se utilizó un test de Student de una cola para evaluar si la variabilidad intraespecífica de cada una de estas variables era mayor que la variabilidad interespecífica (Morandeira & Kandus, 2016).

En el marco de este análisis, y de modo de comparar al mismo grupo de especies, para estimar la variabilidad interespecífica se consideraron sólo a las especies con más de una población.

Se caracterizó cada sitio de muestreo por su pertenencia a una unidad y subunidad de paisaje de humedales (Kandus et al., 2019) y por su frecuencia de inundación histórica, utilizando herramientas de Sistemas de Información Geográfica. La frecuencia de inundación histórica de cada sitio fue extraída de la capa producida por Borro et al. (2014) y Gayol et al. (2019), asignando a cada sitio el valor de uno de los píxeles de esta capa. En esos trabajos, las autoras utilizaron un enfoque basado en la frecuencia de cobertura de agua estimada sobre la serie temporal del período 1987-2014 del Índice de Vegetación de la Diferencia Normalizada (NDVI) derivado de imágenes de los satélites Landsat 5-TM y Landsat 8-OLI (resolución del píxel: 30 m).

Se evaluó el efecto de estas variables sobre los niveles de N, P y N:P foliar con modelos lineales generalizados mixtos (GLMM) (Zuur et al., 2009). La familia e identidad de las especies vegetales fueron incluidas como variables aleatorias, y su significancia se evaluó con pruebas de razón de verosimilitud (prueba *anova*, Kuznetsova et al., 2017). Del mismo modo se incluyó como variable aleatoria la fecha de muestreo (año y estación: 2010-primavera, 2011-verano, 2012-verano, 2028-verano). Se evaluaron los supuestos de normalidad de los residuos y de homogeneidad de las varianzas, y se analizó la existencia de *outliers* (Hartig, 2022). Para cada modelo final, se calcularon los coeficientes de determinación marginales (R^2_m) y condicionales (R^2_c): el R^2_m representa la varianza explicada por los efectos fijos y el R^2_c se interpreta como la varianza explicada por el modelo completo incluyendo efectos fijos y aleatorios (Nakagawa & Schielzeth, 2013; Barton, 2023). Los residuos de los modelos ajustados fueron analizados para descartar la existencia de estructura espacial en la variabilidad no explicada, utilizando las coordenadas planas de cada sitio de acuerdo con la proyección UTM Zona 20 S. Para los análisis estadísticos, se utilizó el programa R (R Core Team, 2020) y las librerías *lme4* (Bates et al., 2015), *lmerTest* (Kuznetsova et al., 2017), *MuMIn* (Barton, 2023), *DHARMA* (Hartig, 2022), *gstat* (Pebesma, 2004) y *ggplot2* (Wickham, 2016).

Tabla 1. Especies y número de poblaciones analizadas en la planicie de inundación del Bajo Río Paraná.

Familia	Especie	Nº poblaciones
Aizoaceae	<i>Sesuvium</i> sp. ¹	1
Alismataceae	<i>Sagittaria montevidensis</i> Cham. & Schldtl.	3
Amaranthaceae	<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	1
Araceae	<i>Pistia stratiotes</i> L.	1
Asteraceae	<i>Aspilia silphioides</i> (Hook. & Arn.) Benth. & Hook. f.	1
	<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz & Pav.) Pers.	4
	<i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist	1
	<i>Eclipta prostrata</i> (L.) L.	1
	<i>Enydra anagallis</i> Gardner	2
	<i>Plagiocheilus tanacetoides</i> Haenke ex DC.	1
	<i>Senecio brasiliensis</i> (Spreng.) Less.	1
Cleomaceae	<i>Tarenaya houtteana</i> (Schldtl.) Soares Neto & Roalson	1
Convolvulaceae	<i>Evolvulus sericeus</i> Sw.	1
Cyperaceae	<i>Bolboschoenus robustus</i> (Pursh) Soják	2
	<i>Cyperus giganteus</i> Vahl	1
	<i>Eleocharis bonariensis</i> Nees	1
	<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	7
Haloragaceae	<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc.	1
Hydrocharitaceae	<i>Limnobium laevigatum</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Heine	1
Menyanthaceae	<i>Nymphoides indica</i> (L.) Kuntze	2
Onagraceae	<i>Ludwigia peruviana</i> (L.) H. Hara	11
	<i>Ludwigia elegans</i> (Cambess.) H. Hara	9
	<i>Ludwigia peploides</i> (Kunth) P.H. Raven	1
Poaceae	<i>Coleataenia prionitis</i> (Nees) Soreng	2
	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	4
	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	3
	<i>Echinochloa helodes</i> (Hack.) Parodi	2
	<i>Echinochloa polystachya</i> (Kunth) Hitchc.	9
	<i>Hemarthria altissima</i> (Poir.) Stapf & C.E. Hubb.	1
	<i>Hymenachne amplexicaulis</i> (Rudge) Nees	1
	<i>Hymenachne pernambucense</i> (Spreng.) Zuloaga	6
	<i>Leersia hexandra</i> Sw.	1
	<i>Diplachne fusca</i> (L.) P. Beauv. ex Roem. & Schult.	1
	<i>Luziola peruviana</i> Juss. ex J.F. Gmel.	1
	<i>Oplismenopsis najada</i> (Hack. & Arechav.) Parodi	3
	<i>Louisiella elephantipes</i> (Nees ex Trin.) Zuloaga	4
	<i>Paspalum repens</i> Bergius	5
	<i>Paspalum vaginatum</i> Sw.	2
	<i>Phalaris aquatica</i> L.	1
	<i>Poa pilcomayensis</i> Hack.	1
	<i>Setaria geminata</i> (Forssk.) Veldkamp	1
	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	3
Polygonaceae	<i>Polygonum acuminatum</i> Kunth	6
	<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx.	3
	<i>Polygonum lapathifolium</i> L.	2
	<i>Polygonum punctatum</i> Elliott	5
	<i>Polygonum stypticum</i> Cham. & Schldtl.	1
	<i>Rumex argentinus</i> Rech. F.	1
Pontederiaceae	<i>Pontederia azurea</i> (Sw.) Kunth	5
	<i>Pontederia crassipes</i> Mart.	2

¹ Probablemente *Sesuvium sessile* Pers., inicialmente determinada como *Sesuvium portolacastrum* (L.) L., excluido recientemente de la Flora del Cono Sur (ver Minué & Jocou, 2021).

RESULTADOS

Las 131 poblaciones dominantes analizadas corresponden a 50 especies y 15 familias (Tabla 1). La variabilidad interespecífica fue mayor que la intraespecífica para N ($t = -6,22$; $gl = 24$; $p < 0,0001$), P ($t = -2,98$; $gl = 19$; $p = 0,0039$) y N:P ($t = -1,92$; $gl = 19$; $p = 0,0352$). La concentración foliar de N varió entre 0,47% en *Pontederia azurea* (Sw.) Kunth (Pontederiaceae) y 5,29% en *Oplismenopsis najada* (Hack. & Arechav.) Parodi (Poaceae) (Fig. 2A). Por otro lado, la concentración foliar de P varió entre 0,06% en *Coleataenia prionitis* (Nees) Soreng (Poaceae) y 0,52% en *Enydra anagallis* Gardner (Asteraceae) (Fig. 2B).

El N:P varió entre 2,18 y 25,02, con un valor medio de 9,30 y un desvío estándar de 4,29 (N=91 poblaciones) (Fig. 3). El valor mínimo de N:P fue encontrado en una población de *Cyperus*

giganteus Vahl (Cyperaceae) y el valor máximo en una población de *Tarenaya houtteana* (Schltdl.) Soares Neto & Roalson (Cleomaceae). Según los valores umbral de Güsewell (2004), la población de *Tarenaya houtteana* (N:P = 25,02; N = 4,9% y P = 0,20%) estaría potencialmente limitada por P. Un total de 55 poblaciones tienen N:P < 10, lo que sugiere limitación por N. Entre ellas, 21 poblaciones de 11 especies son de la familia Poaceae y 9 poblaciones de tres especies son de la familia Cyperaceae. Las restantes 35 poblaciones ($10 < N:P < 20$), pertenecientes a 23 especies, tienen valores intermedios de N:P (Fig. 3).

Los resultados de los modelos lineales generalizados mixtos se resumen en la Tabla 2. Ni los nutrientes foliares ni el N:P estuvieron significativamente afectados por la frecuencia de inundación, el nivel hidrométrico medio en la fecha de muestreo, ni por la ubicación en una unidad o subunidad de paisaje de humedales.

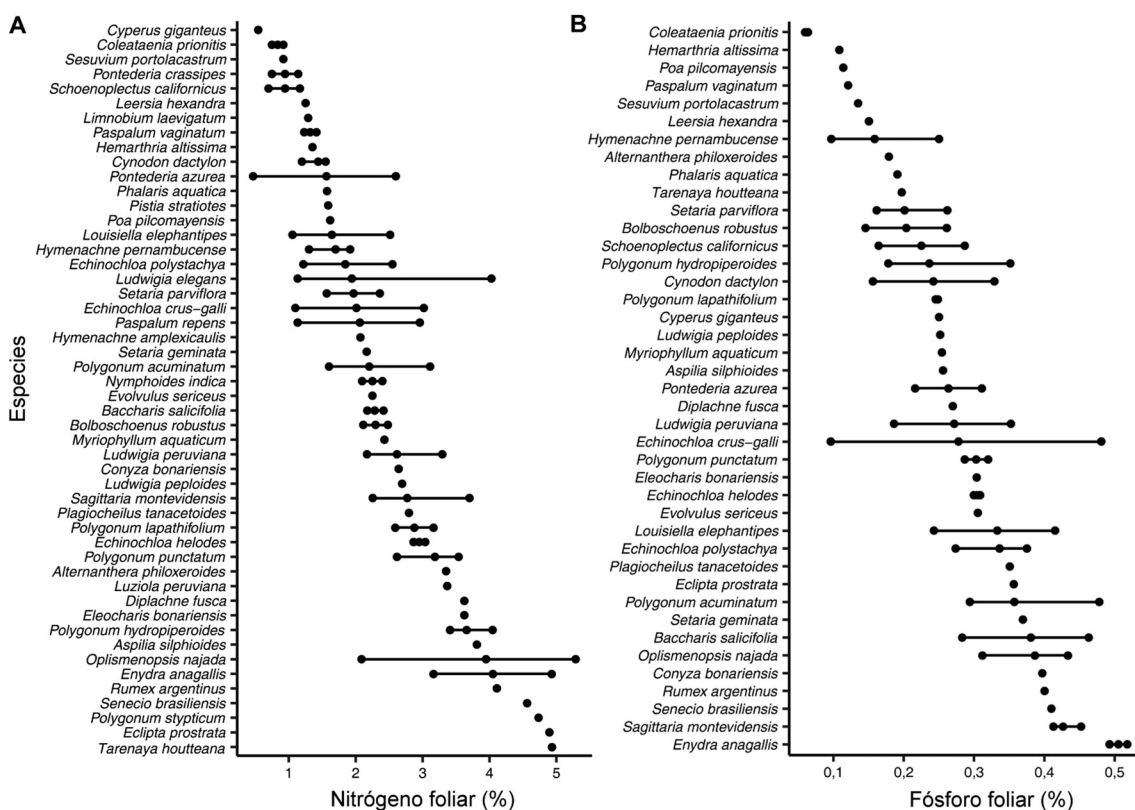


Fig. 2. Concentración de nutrientes foliares por especie. Se presentan los valores porcentuales (mg/mg x 100) mínimos, medios y máximos por especie (1 a 11 poblaciones por especie), ordenados de menor a mayor valor medio. **A,** nitrógeno foliar (%), medido en 50 especies. **B,** fósforo foliar (%), medido en 41 especies.

En el caso del N, la identidad de las especies contribuyó a explicar la mayor parte de la varianza ($R^2_c = 73,4\%$ de la variabilidad de N; $p < 0,0001$ en la prueba *anova*). En el caso de P y N:P, contribuyeron a explicar la variabilidad tanto la identidad de las especies como la fecha de muestreo ($p < 0,0001$ y $p = 0,0004$ respectivamente), y en ambos casos la identidad de las especies fue la que explicó la mayor parte de la variación. La familia a la que pertenece la especie fue en todos los casos menos explicativa de la variabilidad que la identidad de las especies, por lo cual no se incluyó en los modelos. El coeficiente de determinación del modelo final para el fósforo foliar P fue $R^2_c = 66,5\%$ (porcentaje de la varianza explicada por la identidad de las especies y por la fecha de muestreo, ver detalle en Tabla 2), mientras que sólo las especies explicaron 56,3% y sólo la fecha de muestreo explicó el 12,8% de la variabilidad total. Para el N:P, el R^2_c fue 53,6% (Tabla 2) (sólo las especies explicaron el 53,6% y sólo la fecha de muestreo explicó el 36,4% de la variabilidad total).

No se observó la presencia de un patrón espacial en el N ni en los residuos de los modelos ajustados para P y para N:P, es decir, los nutrientes foliares de poblaciones geográficamente cercanas no son más similares o menos similares entre sí que lo esperado por azar.

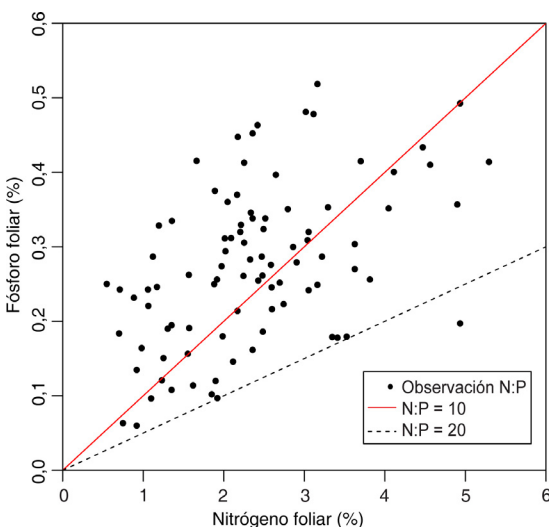


Fig. 3. N:P foliares medidos en 91 poblaciones de 41 especies, y valores críticos postulados por Güsewell (2004): limitación por N para $N:P < 10$; limitación por P para $N:P > 20$.

Tabla 2. Resumen de los modelos lineales generalizados mixtos para N, P y N:P. En los tres casos los factores fijos evaluados no tuvieron efecto significativo, por lo que se informa la contribución a la varianza de los factores aleatorios Identidad de las especies y Fecha de muestreo. NS indica que el resultado no es estadísticamente significativo; R^2_c es el coeficiente de determinación condicional.

Modelo	N	P	N:P
Nº poblaciones analizadas	131	91	91
R^2_c (%)	73,4	66,5	60,1
Identidad de las especies			
Nº especies	50	41	41
Varianza	0,9814	0,0066	6,171
% Varianza	73,4	51,2	31,5
Valor p	< 0,0001	< 0,0001	0,0004
Fecha de muestreo			
Nº fechas	4	3	3
Varianza	0,062 (NS)	0,002	5,559
% Varianza	4,56 (NS)	15,3	28,5
Valor p	0,1091 (NS)	0,0059	< 0,0001

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El valor medio del N:P (9,3, con un desvío estándar de 4,3) observado en este estudio es comparable al valor de referencia de otros humedales de agua dulce no forestados ($N:P = 13,3$, con alta variabilidad, en humedales de Europa tales como turberas, pastizales húmedos, interdunas o brezales húmedos; Güsewell & Koerselman, 2002). Sin embargo, para especies de plantas de marismas se han encontrado N:P más bajos ($N:P = 7,5 \pm 0,68$; Bedford et al., 1999). Si se supone que los valores umbrales críticos propuestos por Koerselman & Meuleman (1996) son válidos para los humedales de la planicie de inundación del Paraná, la limitación por N afectaría al 86,8% de las poblaciones, mientras que –como criterio más conservador– si consideramos los umbrales de Güsewell (2004) el 60,4% de las poblaciones estaría limitada por N. Como indicador adicional, Güsewell y Koerselman (2002) encontraron que las plantas con concentraciones de P menores a 0,05 % (lo cual no observamos en nuestro estudio) siempre estaban limitadas por P, mientras que las plantas con concentración de P mayor a 0,10 % nunca estaban limitadas por P (lo cual sería cierto para el 95% de las poblaciones estudiadas). En el caso de *Tarenaya houtteana*, el N:P es alto (> 20) y la concentración de P es de 0,20%, por lo que sería necesario

conducir experimentos de fertilización para evaluar si efectivamente está limitada por fósforo.

El potencial patrón predominante de limitación por N sería consistente con el informado en marismas en estudios previos (Bedford et al., 1999), así como con lo esperado en suelos jóvenes de clima templado (Reich & Oleksyn, 2004) y con los valores previamente encontrados en tejidos de *Cyperus giganteus* (Cyperaceae) en el Delta Frontal (Villar et al., 1996). La limitación por N podría estar asociada con una menor eficiencia de uso de N en humedales, debido a la competencia entre la absorción por las plantas y los procesos biogeoquímicos (denitrificación y volatilización de amonio, entre otros) (Reddy et al., 1984). Sin embargo, es necesario tener cautela con las conclusiones sobre la potencial limitación de nutrientes, ya que resulta relevante validar los umbrales de N:P en la planicie del Paraná: los umbrales difieren en diferentes tipos de ecosistemas (cf. Koerselman & Meuleman, 1996; Verhoeven et al., 1996; Güsewell et al., 2003; Olde Venterink et al., 2003; Tessier & Raynal, 2003; Dijk et al., 2012) o incluso entre especies con distintas estrategias de vida (McJannet et al., 1995; Willby et al., 2001).

La potencial limitación por N en gran parte de las poblaciones de macrófitas sería, además, particular para las condiciones hidrológicas en las que se ha realizado el estudio. Cabe señalar que para P y N:P aportó variabilidad no sólo la identidad de las especies sino también la fecha de muestreo. Futuros estudios deberían considerar la fenología de la vegetación, así como condiciones climáticas e hidrológicas contrastantes. Por ejemplo, ¿la sequía extrema de los años 2020-2021 impactó en la disponibilidad de P o en el N:P? En un contexto de cambios hidrológicos y climáticos, conocer la dinámica en la disponibilidad de nutrientes en los sedimentos y el agua mejoraría nuestro conocimiento sobre los posibles cambios en las propiedades de las comunidades de plantas, por ejemplo, en su estructura y en la distribución de especies. Asimismo, sería relevante analizar si ocurren cambios en los nutrientes foliares asociados a impactos antrópicos como las quemadas, la fumigación o la construcción de canales y terraplenes que alteran el impacto local del régimen hidrológico. Este estudio provee una línea de base para futuros relevamientos o experimentos de fertilización.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Silvia López y a Mariana Malter Terrada por la supervisión y a Olga Martín y Antonio Solís por la asistencia técnica durante la determinación de nutrientes foliares en el Grupo Agronómico, Centro Atómico Ezeiza, Comisión Nacional de Energía Atómica, en 2012. Agradecemos a Patricia Kandus por sus valiosos comentarios y sugerencias. Los niveles hidrométricos del río Paraná fueron provistos por el Instituto Nacional del Agua. El estudio no hubiera sido posible sin la ayuda y guía de los isleños Luis Bello y su familia (Islas Lechiguanas) y Armando (Barrancas Coloradas). El trabajo en campos se realizó con autorización de los pobladores isleños y/o de Gabriel Manero, Juan Nazar y Abel Matera, según el sitio. Marta Borro, Agustín Rearte, Facundo Schivo, Carolina Hernando, Fabricio Baronetti, Sol Varela y Martín Schoo colaboraron con el trabajo de campo. Varios revisores/as anónimos/as y el Dr. Bjorn Robroek contribuyeron con comentarios y sugerencias en versiones anteriores del manuscrito. El estudio fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica (PICT 2017-1256, PICT 2014-1984). Lamentablemente parte del área de estudio en el Delta Medio (Islas Lechiguanas) fue alterada luego de los relevamientos que conforman este estudio, tanto por la construcción de terraplenes y canales desde 2013, como por la transformación de uso de suelo de grandes extensiones de humedales a agricultura intensiva en 2020.

BIBLIOGRAFÍA

- Aceñolaza, P. G.; L. P. Zamboni, W. Sione & F. A. Kalesnik. 2008. Caracterización de la región superior del Complejo Litoral del Río Paraná: grandes unidades de ambiente. *Miscelánea INSUGEO* 17(2): 293-308.
- Barton, K. 2023. MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.47.5, <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Bates, D.; M. Mächler, B. Bolker & S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67(1): 1-48. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bedford, B. L.; M. R. Walbridge & A. Aldous. 1999. Patterns in nutrient availability and plant diversity of temperate North American wetlands. *Ecology* 80(7): 2151-2169. DOI: [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1999\)080\[2151:PINAA P\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1999)080[2151:PINAA P]2.0.CO;2)

- Bonetto, C.; L. de Cabo, N. Gbellone, A. Vinocur, J. Donadelli & F. Unrein. 1994. Nutrient dynamics in the deltaic floodplain of the Lower Parana River. *Archiv Fur Hydrobiologie* 131(3): 277-295. DOI: <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/131/1994/277>
- Borro, M. M.; N. S. Morandeira, P. Kandus, M. M. Salvia, P. G. Minotti & P. Perna. 2014. Mapping shallow lakes in a large South American floodplain: a frequency approach on multitemporal Landsat TM/ETM data. *Journal of Hydrology* 512: 39-52. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10104-009-0019-7>
- Ceballos, D. S. 2011. *El reemplazo de pastizales anegadizos por plantaciones de álamos con suelos drenados en el Bajo Delta del río Paraná: cambios físicos y biogeoquímicos en el suelo y el ecosistema*. Tesis de Maestría en Recursos Naturales, Escuela para Graduados, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- Dijk, J.; B. Robroek, I. Kardel & M. Wassen. 2012. Combined effects of nitrogen enrichment, sulphur pollution and climate change on fen meadow vegetation N:P stoichiometry and biomass. *Biogeochemistry* 111(1-3): 139-150. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9694-8>
- Downing, J. A. & E. McCauley. 1992. The nitrogen : phosphorus relationship in lakes. *Limnology and Oceanography* 37(5): 936-945. DOI: <https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.5.0936>
- Elser, J. J.; R. W. Sterner, E. Gorokhova, W. F. Fagan, T. A. Markow, J. B. Cotner, J. F. Harrison, S. E. Hobbie, G. M. Odell & L. W. Weider. 2000. Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecology Letters* 3(6): 540-550. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2000.00185.x>
- Gayol, M. P.; N. S. Morandeira, E. B. Gonzalez & P. Kandus. 2022. Distribution patterns of macrophytes in shallow lakes of the lower Paraná River floodplain : Associations with environmental conditions. *Freshwater Biology* 67: 2100-2112. DOI: <https://doi.org/10.1111/fwb.13999>
- Gayol, M. P.; N. S. Morandeira & P. Kandus. 2019. Dynamics of shallow lake cover types in relation to Paraná River flood pulses: assessment with multitemporal Landsat data. *Hydrobiologia* 833(1): 9-24. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3847-x>
- Güsewell, S. 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist* 164(2): 243-266. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01192.x>
- Güsewell, S. & W. Koerselman. 2002. Variation in nitrogen and phosphorus concentrations of wetland plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 5(1): 37-61. DOI: <https://doi.org/10.1078/1433-8319-0000022>
- Güsewell, S.; W. Koerselman & J. T. A Verhoeven. 2003. Biomass N:P ratios as indicators of nutrient limitation for plant populations in wetlands. *Ecological Applications* 13(2): 372-384. DOI: [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2003\)013\[0372:BNRAIO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2003)013[0372:BNRAIO]2.0.CO;2)
- Hartig, F. 2022. DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.6. <http://florianhartig.github.io/DHARMA/>
- Jaime, P. R. & Á. N. Menéndez. 2002. *Análisis del régimen hidrológico de los ríos Paraná y Uruguay*. Instituto Nacional del Agua, Laboratorio de Hidráulica.
- Junk, W. J.; P. B. Bayley & R. E. Sparks. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences* 106(1): 110-127.
- Kandus, P.; P. G. Minotti, N. S. Morandeira & M. P. Gayol. 2019. *Inventario de Humedales de la Región del Complejo Fluvio-Litoral del Bajo Paraná*. Buenos Aires, Argentina.
- Keddy, P. A. 2010. *Wetland ecology: principles and conservation*, 2ª edición. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press.
- Kirk, G. 2004. *The biogeochemistry of submerged soils*. John Wiley & Sons, Ltd. pp. 282. DOI: <https://doi.org/10.1002/047086303X>
- Koerselman, W. & A. F. M. Meuleman. 1996. The vegetation N:P ratio: a new tool to detect the nature of nutrient limitation. *Journal of Applied Ecology* 33(6): 1441-1450. DOI: <https://doi.org/10.2307/2404783>
- Kuznetsova, A.; P. B. Brockhoff & R. H. B. Christensen. 2017. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* 82(13): 1-26. DOI: <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Mayora, G.; M. Devercelli & M. dos Santos Afonso. 2017. Effects of the hydrosedimentological regime on nitrogen transport and speciation in a large subtropical floodplain river. *Inland Waters* 7(4): 461-472. DOI: <https://doi.org/10.1080/20442041.2017.1393899>
- McJannet, C. L.; P. A. Keddy & F. R. Pick. 1995. Nitrogen and phosphorus tissue concentrations in 41 wetland plants: a comparison across habitats and functional groups. *Functional Ecology* 9: 231-238. DOI: <https://doi.org/10.2307/2390569>
- Minué, C. R. & A. I. Jocu. 2021. The genus *Sesuvium* (Aizoaceae, Sesuvioideae) in the Southern Cone. *Hacquetia* 20(1): 33-48. DOI: <https://doi.org/10.2478/hacq-2021-0006>

- Morandeira, N. S. & P. Kandus. 2015. Multi-scale analysis of environmental constraints on macrophyte distribution, floristic groups and plant diversity in the Lower Paraná River floodplain. *Aquatic Botany* 123: 13-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2015.01.006>
- Morandeira, N. S. & P. Kandus. 2016. Plant functional types and trait values in the Paraná River floodplain: modelling their association with environmental features. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 220: 63-73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.02.007>
- Nakagawa, S. & H. Schielzeth. 2013. A general and simple method for obtaining R² from generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution* 4: 133-142. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2012.00261.x>
- Neiff, J. J.; M. H. Iriondo & R. Carignan. 1994. Large tropical South American wetlands: an overview. *Proceedings of the International Workshop on The Ecology and Management of Aquatic-Terrestrial Ecotones*: 156-165. Seattle, United States.
- Olde Venterink, H. G. M.; M. J. J. Wassen, A. W. M. Verkroost, P. C. de Ruiter & H. O. Venterink. 2003. Species richness-productivity patterns differ between N-, P-, and K-limited wetlands. *Ecology* 84(8): 2191-2199. DOI: <https://doi.org/10.1890/01-0639>
- Pebesma, E. J. 2004. Multivariable geostatistics in S: the gstat package. *Computers & Geosciences* 30(7): 683-691.
- Pereyra, F. X.; V. Baumann, V. Altinier, J. Ferrer & P. Tchilinguirian. 2004. Génesis de suelos y evolución del paisaje en el delta del río Paraná. *Revista de La Asociación Geológica Argentina* 2(59): 229-242.
- Pérez-Harguindeguy, N.; S. Díaz, E. Garnier, S. Lavorel, H. Poorter, P. Jaureguiberry, M. S. Bret-Harte, W. K. Cornwell, J. M. Craine, D. E. Gurvich, C. Urcelay, E. J. Veneklaas, P. B. Reich, L. Poorter, I. J. Wright, P. Ray, L. Enrico, J. G. Pausas, A. C. de Vos, N. Buchmann, G. Funes, F. Quétier, J. G. Hodgson, K. Thompson, H. D. Morgan, H. ter Steege, M. G. A. van der Heijden, L. Sack, B. Blonder, P. Poschlod, M. V. Vaieretti, G. Conti, A. C. Staver, S. Aquino & J. H. C. Cornelissen. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 61: 167-234. DOI: <https://doi.org/10.1071/BT12225>
- R Core Team. 2020. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria.
- Reddy, K. R.; W. H. Patrick & F. E. Broadbent. 1984. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *CRC Critical Reviews in Environmental Control* 13(4): 273-309.
- Reich, P. B. & J. Oleksyn. 2004. Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(30): 11001-11006. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0403588101>
- Ritas, J. L. & J. L. Melida. 1990. Determinaciones analíticas sobre material vegetal. En J. Ritas & J. Melida (eds.), *El diagnóstico de suelos y plantas (métodos de campo y laboratorio)*, pp. 297-323. Madrid, España.
- Rossi, C. A.; A. A. De Magistris, G. L. González, N. E. Carou & E. P. De Loof. 2014. *Plantas de interés ganadero de la región del Bajo Delta del Paraná (Argentina)*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Sardans, J.; A. Rivas-Ubach & J. Peñuelas. 2012. The elemental stoichiometry of aquatic and terrestrial ecosystems and its relationships with organismic lifestyle and ecosystem structure and function: a review and perspectives. *Biogeochemistry* 111(1-3): 1-39. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9640-9>
- Tessier, J. T. & D. J. Raynal. 2003. Use of nitrogen to phosphorus ratios in plant tissue as an indicator of nutrient limitation and nitrogen saturation. *Journal of Applied Ecology* 40(3): 523-534. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2003.00820.x>
- Tremolières, M.; V. Noël & B. Hérault. 2009. Phosphorus and nitrogen allocation in *Allium ursinum* on an alluvial floodplain (Eastern France). Is there an effect of flooding history? *Plant and Soil* 324: 279-289. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9955-7>
- Van de Waal, D. B.; J. J. Elser, A. C. Martiny, R. W. Sterner & J. B. Cotner (eds.). 2018. *Progress in Ecological Stoichiometry*. Lausanne: Frontiers Media.
- Verhoeven, J. T. A.; W. Koerselman & A. F. M. Meuleman. 1996. Nitrogen-or phosphorus-limited growth in herbaceous, wet vegetation: relations with atmospheric inputs and management regimes. *Trends in Ecology and Evolution* 11(12): 494-497. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(96\)10055-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(96)10055-0)
- Villar, C. A., L. de Cabo & C. A. Bonetto. 1996. Macrophytic primary production and nutrient concentrations in a deltaic floodplain marsh of the Lower Paraná River. *Hydrobiologia* 330: 59-66.
- Vitousek, P. M.; S. Porder, B. Z. Houlton & O. A. Chadwick. 2010. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms,

- implications, and nitrogen-phosphorus interactions. *Ecological Applications* 20(1): 5-15.
- Wardle, D. A.; L. R. Walker & R. D. Bardgett. 2004. Ecosystem properties and forest decline in contrasting long-term chronosequences. *Science* 305(5683): 509-513. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1098778>
- Wassen, M. J.; H. O. Venterink, E. D. Lapshina & F. Tanneberger. 2005. Endangered plants persist under phosphorus limitation. *Nature* 437(22): 547-550. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature03950>
- Wickham, H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Willby, N. J.; I. D. Pulford & T. H. Flowers. 2001. Tissue nutrient signatures predict herbaceous-wetland community responses to nutrient availability. *New Phytologist* 152(3): 463-481. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.0028-646X.2001.00274.x>
- Yan, Z.; D. Tian, W. Han, Z. Tang & J. Fang. 2017. An assessment on the uncertainty of the nitrogen to phosphorus ratio as a threshold for nutrient limitation in plants. *Annals of Botany* 120(6): 937-942. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcx106>
- Zuur, A. F.; E. N. Ieno, N. J. Walker, A. A. Saveliev & G. M. Smith. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, New York, US.