



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



FACULTAD DE  
**CIENCIAS**  
UDELAR | [fcién.edu.uy](http://fcién.edu.uy)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE CIENCIAS

**Tesis para optar al título de Licenciado en Ciencias  
Biológicas**

**EFFECTOS DEL ESTADO TRÓFICO Y AMBIENTE LUMÍNICO  
SOBRE EL PERIFITON FOTOSINTÉTICO EN LAGOS  
SOMEROS SUBTROPICALES**

**Lucía González Madina**

**Orientador:** MSc. Juan Pablo Pacheco

Departamento de Ecología y Gestión Ambiental

Centro Universitario de la Región Este – Facultad de Ciencias

Montevideo, Uruguay

Agosto 2017



## **AGRADECIMIENTOS**

A todo el equipo del Grupo de Ecología y Gestión Ambiental del CURE en quienes encontré grandes compañeros de trabajo y un hermoso grupo humano. A Claudia Fosalba, Carlos Iglesias, Juan María Clemente, Mariana Meerhoff, Franco Texeira de Mello, Guillermo Goyenola, Anahí Lopez, Clementina Calvo, Paula Levrini, Maite Burwood y Nestor Mazzeo.

En especial a mi tutor Juan Pablo Pacheco, quien me guio y me dedico todo el tiempo del mundo y más, y con muchísima paciencia. Hoy en día es un gran amigo y compañero de trabajo.

A mi familia y amigos por bancarme cada momento de crisis, en especial a mi hermano Federico quién me alentó en las etapas más difíciles de la carrera cuando daban un poco de ganas de abandonar y a mis padres Laura y Odemar que siempre fueron mi sostén.

A esas tremendas amigas que me dejó la carrera (Caro, Sara, Flo, Mai) y a mi compañero de siempre Agustín!

## **TABLA DE CONTENIDOS**

Resumen.....	5
1. Introducción.....	6
1.1 Estados estables y eutrofización de lagos someros.....	7
1.2 Mecanismos estabilizadores de los estados estables.....	7
1.3 Rol del perifiton en el funcionamiento y estabilidad de estados en lagos someros.....	9
1.4 Factores ambientales que regula la abundancia y composición del perifiton fotosintético.....	11
1.5 Composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético.....	12
2. Objetivo general.....	13
2.1 Objetivos específicos.....	14
3. Preguntas que pretende responder el proyecto.....	14
4. Materiales y métodos.....	15
4.1 Área de estudio.....	15
4.2 Parámetros fisicoquímicos <i>in situ</i> .....	17
4.3 Muestreo y análisis fisicoquímicos de agua.....	17
4.4 Muestreo biológico.....	18
4.5 Medición, conteo y clasificación taxonómica y funcional del perifiton fotosintético.....	19
4.6 Análisis de datos.....	21
5. Resultados.....	24
5.1 Variables limnológicas.....	24
5.2 Biomasa de la comunidad perifítica.....	27
5.3 Composición de la comunidad perifítica.....	31
6. Discusión.....	42
6.1 Patrones de biomasa del perifiton fotosintético.....	43
6.2 Composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético.....	47
6.3 Excepción a los patrones.....	50
7. Conclusiones.....	51
8. Referencias bibliográficas.....	52

## **RESUMEN**

El perifiton fotosintético es un componente fundamental dentro de los productores primarios en lagos someros donde existe una gran influencia de la zona litoral-bentónica. Asimismo, el perifiton fotosintético puede afectar la estabilidad de los estados de aguas claras hacia el pasaje a aguas turbias, durante el proceso de eutrofización. Tanto la abundancia como la composición de esta comunidad suele estar influenciada en gran medida por factores ambientales como: el estado trófico, el ambiente lumínico, la herbívora y el sustrato, entre otros. El presente trabajo tiene como objetivo principal analizar los patrones de biomasa y composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético en relación al estado trófico y ambiente lumínico en lagos someros subtropicales. Para ello se seleccionó un conjunto de 6 lagos someros de la costa uruguaya con características morfológicas similares y con condiciones contrastantes de estado trófico y turbidez. Los lagos se clasificaron en tres categorías: lagos claros, lago turbio por fitoplancton y lago turbio por resuspensión de sedimentos. En estos, se tomaron parámetros fisicoquímicos *in situ* y muestras de agua para análisis químicos y de pigmentos en laboratorio, así como muestras de perifiton para análisis cualitativo y cuantitativo.. La biomasa fue cuantificada a través de tres estimadores: PSLC (Peso seco libre de cenizas), Clo a y biovolumen. Se registraron mayores biomásas de perifiton en condiciones de baja turbiedad, tanto por resuspensión como por fitoplancton, mientras que en condiciones de alta turbiedad la biomasa de perifiton fue más variable. A su vez, aquellos lagos de mayor estado trófico presentaron menor biomasa de perifiton. La evidencia de campo sugiere que ambos factores (luz y estado trófico) son claves en la determinación de la biomasa del perifiton fotosintético en estos lagos. Se encontraron diferencias significativas en cuanto a la composición (taxonómica y

funcional) entre sistemas claros y turbios y a su vez pudieron observarse diferencias entre aquellos sistemas turbios por fitoplancton y turbios por resuspensión, que no se evidenciaron al analizar la biomasa. Los lagos claros estuvieron dominados por especies filamentosas de Chlorophyta, seguidas de cianobacterias (también filamentosas). Los lagos turbios presentaron gran representación de Chlorophyta y Charophyta, en particular grupos fitoplanctónicos (e.g. Desmidiaceae), probablemente debido a la constante mezcla de la columna de agua y al solapamiento de las zonas bentónica y pelágica propia de lagos someros. La clasificación taxonómica resultó más explicativa que los grupos funcionales para los sistemas analizados y las variables ambientales consideradas.

**Palabras clave:** perifiton, eutrofización, turbidez, biomasa, grupos funcionales, estados estables alternativos.

## **1. INTRODUCCIÓN:**

### **1.1 Estados estables alternativos y eutrofización de lagos someros**

El aumento en la carga de nutrientes lleva a cambios en el funcionamiento de los lagos y en su estructura trófica (Wetzel, 2001). A medida que este proceso avanza, disminuye la transparencia, se produce un déficit de oxígeno disuelto y aumenta la frecuencia y duración de floraciones de fitoplancton potencialmente tóxicas (Wetzel, 2001; Khan & Ansari, 2005; Schindler, 2006; Smolders *et al.*, 2006). En los lagos someros, la eutrofización se evidencia inicialmente por el aumento de productores primarios, desde un estado denominado de aguas claras, hacia otro de aguas turbias (Scheffer *et al.*, 1993). El estado de aguas claras, se caracteriza por la dominancia de macrófitas sumergidas, con alta transparencia del agua y baja biomasa fitoplanctónica. Las plantas proveen hábitat y refugio a peces y zooplancton (Scheffer *et al.*, 1993). En el estado de agua turbia, la biomasa fitoplanctónica es alta, mientras que la de macrófitas sumergidas se ve drásticamente reducida.

Ambos estados, de aguas claras con mayor representación de macrófitas o aguas turbias con dominancia de fitoplancton, pueden ocurrir en forma alternativa sobre un rango intermedio de nutrientes en el sistema, dependiendo de las condiciones precedentes en el sistema y diversos mecanismos asociados con la estabilidad de uno u otro estado (Scheffer *et al.*, 1993).

### **1.2 Mecanismos estabilizadores de los estados estables alternativos**

La estabilidad del estado estable alternativo está mediada por diversos mecanismos fisicoquímicos y biológicos (Scheffer & Van Nes, 2007; Hargeby *et al.*, 2004). El pasaje de un estado a otro, que ocurre de forma repentina, está asociado a

perturbaciones externas o modificaciones en su estructura trófica (Hargeby *et al.*, 2004; Brönmark *et al.*, 2010).

En los estados de aguas claras, las macrófitas estabilizan la columna de agua aumentando la tasa de sedimentación de partículas suspendidas incluyendo al fitoplancton (Scheffer *et al.*, 1993; Jeppesen *et al.*, 1998). Esta estabilización, también reduce la resuspensión de sedimentos, disminuyendo esta vía de aportes de nutrientes para el fitoplancton (Scheffer *et al.*, 1993; Jeppesen *et al.*, 1998). Las plantas acuáticas pueden proveer de refugio contra los peces al zooplancton herbívoro favoreciendo así el consumo de fitoplancton (Meerhoff *et al.*, 2006). Además, las macrófitas pueden suprimir el crecimiento fitoplanctónico a través de la liberación de sustancias alelopáticas (Vanderstukken *et al.*, 2011). Otros mecanismos como la competencia por nutrientes y luz han sido extensamente estudiados (ej: Balls *et al.*, 1989; Jeppesen *et al.*, 1998).

Por otra parte, en estados de aguas turbias, el fitoplancton alcanza alta biomasa, limitando por sombreado la abundancia de plantas sumergidas y su capacidad de reclutamiento (Brönmark *et al.*, 2010).

Si bien los mecanismos relacionados a la estabilidad de los estados estables alternativos han sido descritos clásicamente en relación a la interacción entre las plantas sumergidas y el fitoplancton, existen otros mecanismos potencialmente muy importantes, que continúan siendo escasamente estudiados. Uno de ellos, es el rol del perifiton como facilitador de pasaje de estado en el proceso de eutrofización y su interacción con el fitoplancton (Philips *et al.*, 1978; Liboriussen & Jeppesen, 2003; Vadeboncouer & Steinman, 2002).



### 1.3 Rol del perifiton en el funcionamiento y estabilidad de estados en lagos someros

El perifiton es definido por Wetzel (1983) como una compleja comunidad de microorganismos (algas, bacterias, hongos y animales), detritos orgánicos e inorgánicos adheridos a sustratos inorgánicos u orgánicos, vivos o muertos. Dentro de esta comunidad, el término perifiton fotosintético hace referencia al componente fotoautotrófico del perifiton, constituido principalmente por algas (también denominado ficoperifiton) y bacterias. A su vez la alta dependencia del perifiton al sustrato de adherencia determina distintas denominaciones según el tipo de sustrato (epipelon: sustrato limoso; epipsamon: sustratos arenosos; epiliton: rocas; epifiton: plantas) (Stevenson, 1996; Burliga & Schwarzbald 2013). El perifiton tiene un rol fundamental en el funcionamiento de los lagos someros, donde el área de desarrollo potencial es mayor en relación a lagos profundos (Vadeboncouer *et al.*, 2008). En estos sistemas, el perifiton como productor primario, constituye la base energética para los niveles tróficos más altos (Vadeboncouer *et al.*, 2001; Liboriussen & Jeppesen, 2003; 2009) facilitando la transferencia de nutrientes entre la zona bentónica y pelágica (Vander Zanden & Vadeboncouer, 2002).

Algunos autores sugieren que el perifiton fotosintético puede modificar el umbral donde ocurre la transición desde el estado de aguas claras hacia el de aguas turbias (Phillips *et al.*, 1978). En este proceso, el desarrollo del perifiton sobre las macrófitas (Perifiton epífito fotosintético) llevaría a un colapso en las poblaciones de estas últimas por efecto de sombreado, mayor incorporación de nutrientes disponibles, entre otros. Esto favorecería competitivamente el desarrollo del fitoplancton, el cual a su vez por sombreado y competencia por nutrientes disueltos pasaría a limitar el desarrollo de las macrófitas y el perifiton epífito fotosintético (Vadeboncouer & Steinman, 2002; Jones *et al.*, 2002; Liboriussen & Jeppesen, 2009; Sayer, 2010).

En este sentido, se ha observado en experimentos de laboratorio que la adición de nutrientes favorece de modo preferencial al perifiton fotosintético sobre las macrófitas en detrimento de éstas últimas (Jones *et al.*, 2002). Se ha propuesto que un rápido incremento en la concentración de nutrientes disueltos en agua, genera un rápido crecimiento del perifiton, impidiendo el crecimiento de plantas lo que facilitaría el reemplazo de plantas por fitoplancton (Jones *et al.*, 2002).

Evidencia paleolimnológica indica la ocurrencia de estados con altas biomásas de perifiton previamente al pasaje a estado de aguas turbias (Phillips *et al.*, 1978; Jones *et al.*, 2002). Todos estos antecedentes sugieren mecanismos de facilitación de pasaje hacia estados de aguas turbias por parte del perifiton en lagos someros. Sin embargo, otros estudios (ej: Vadeboncouer *et al.*, 2001) indican que el perifiton fotosintético juega un papel fundamental limitando el desarrollo del fitoplancton por competencia o limitación por nutrientes. Mediante el secuestro de gran cantidad de nutrientes de la columna de agua (Sanchez *et al.*, 2010), se estima que el perifiton es responsable de aproximadamente el 60% del fósforo capturado en zonas vegetadas (Dodds, 2003). Además, su actividad aumenta el pH del agua pudiendo generar precipitación de fósforo hacia los sedimentos en forma de fosfato de calcio (Dodds, 2003) disminuyendo así su disponibilidad para el fitoplancton. Adicionalmente, la elevada actividad fotosintética del perifiton asociado al sedimento oxigena la interfase agua-sedimento evitando la liberación del fósforo asociado con metales (liberación de la carga interna). En este sentido, Van Lujin *et al.* (1995) observaron que los sedimentos con perifiton liberan cantidades de nutrientes mucho menores que aquellos sin perifiton, limitando la disponibilidad de nutrientes en la columna de agua utilizable por el fitoplancton.

#### 1.4 Factores ambientales que regulan la abundancia y composición del perifiton fotosintético

El desarrollo del perifiton depende de factores como, la densidad de macrófitas, la morfometría del sistema, la hidrodinámica, luz y temperatura, química del agua, herbivoría, cantidad y tipo de sustrato y su composición química, y alelopatía (Rodrigues *et al.*, 2013).

La luz que penetra en el agua favorece el desarrollo de macrófitas acuáticas y es el factor regulador más importante en la distribución de plantas sumergidas y de sus epífitos. Asimismo, el ambiente lumínico es un recurso crítico para el perifiton fotosintético y se ha demostrado que tiene influencia sobre la estructura, biomasa y metabolismo de esta comunidad (Steinman & McIntre, 1987). La distribución vertical del perifiton fotosintético responde a las propiedades cuali-cuantitativas de la luz, lo que se refleja en la presencia y proporción de pigmentos fotosintéticos de los grupos taxonómicos de microalgas (Rodrigues *et al.*, 2013).

El estado trófico, asociado a determinadas condiciones ambientales, también ha sido propuesto como determinante de la riqueza de especies y abundancia del perifiton. Según Lakatos (1978), la mayor riqueza de especies estaría asociada a lagos mesotróficos, y la menor diversidad de especies a lagos oligotróficos (Rodrigues *et al.*, 2013). Por otro lado, estudios experimentales han demostrado que la influencia del suministro de nutrientes en el perifiton se reduce bajo condiciones de baja intensidad lumínica, probablemente porque bajas tasas de fotosíntesis conducen a la reducción en la demanda de nutrientes (Vadeboncouer & Steinman, 2002). La heterogeneidad en estos y otros factores ambientales como la composición del sustrato de colonización, pueden influenciar de manera significativa

la abundancia y composición diferencial del perifiton fotosintético (Vadeboncouer & Steinman, 2002).

Si bien los estudios que analizan la composición del perifiton en función del estado trófico y ambiente lumínico son escasos, estudios de campo indican que los valores más altos de riqueza en la comunidad epipélica se observaron durante las fases de aguas claras y con una clara dominancia de cianobacterias filamentosas (Casco et al., 2009). Asimismo Sanchez et al., 2010 hallaron que bajo un escenario de limitación lumínica (causada por el fitoplancton), la biomasa perifítica es baja y dominada por el componente heterotrófico. Estos estudios sugieren que estos factores ambientales (luz y estado trófico) son claves en la regulación de la biomasa y composición del perifiton fotosintético en lagos someros.

### 1.5 Composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético

En estudios de estructura de las comunidades, una aproximación útil para asociar la composición a las características ambientales es la clasificación funcional. Los distintos esquemas de clasificación funcional han mostrado un alto potencial de uso debido a que asocian más directamente la composición con las características ambientales, mediante los atributos que consideran los requerimientos ecológicos de cada grupo (Mc Gill *et al.*, 2006). Estos esquemas de grupos funcionales (tanto para la comunidad de fitoplancton como de perifiton) pueden contribuir en la comprensión de patrones ambientales que no serían fácilmente evidenciados mediante la clasificación taxonómica clásica (Mc Gill *et al.*, 2006; Trigal *et al.*, 2013). En el caso particular del perifiton, el estudio de su composición a través de grupos funcionales ha mostrado la capacidad de reflejar procesos ecológicos no evidenciados mediante la clasificación taxonómica clásicamente utilizada (Steinman

*et al.*, 1992). En este contexto, resulta pertinente señalar que estos rasgos funcionales son propiedades de los organismos que pueden ser medidas (largo total, relación superficie/volumen, presencia de mucílago, etc.) y que influyen una o más funciones esenciales, tales como reproducción, crecimiento, entre otros (Weithoff, 2003).

El escaso conocimiento acerca de los patrones comunitarios del perifiton fotosintético y su rol como productor primario en relación al estado trófico, pueden llevar a una subestimación del papel del perifiton fotosintético y en general de los procesos bentónicos-litorales en el funcionamiento ecosistémico de lagos someros. Considerando la importancia del perifiton en el funcionamiento de los lagos someros, resulta fundamental profundizar en el conocimiento de su estructura comunitaria vinculada al estado trófico. Esta información, sumamente escasa en lagos someros subtropicales, puede contribuir hacia un mayor entendimiento del rol del perifiton en los mecanismos estabilizadores de los estados alternativos. Asimismo puede contribuir a la elaboración de modelos y predicciones acerca del funcionamiento de estos ecosistemas ante el proceso de eutrofización.

## **2. OBJETIVO GENERAL:**

Analizar los patrones de biomasa y composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético en 6 lagos someros con condiciones contrastantes de estado trófico y ambiente lumínico (claras, turbia por fitoplancton y turbia por resuspensión de sedimentos).

## 2.1 Objetivos específicos:

- Objetivo específico 1: Analizar comparativamente los patrones de biomasa del perifiton fotosintético en 6 lagos someros en relación al estado trófico y ambiente lumínico.
- Objetivo específico 2: Analizar comparativamente la composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético en 6 lagos someros en relación al estado trófico y ambiente lumínico.
- Objetivo específico 3: Evaluar la capacidad explicativa de los diferentes esquemas de clasificación (taxonómico y funcional) utilizados en relación a la variabilidad de estado trófico y ambiente lumínico.

## **3. PREGUNTAS QUE PRETENDE RESPONDER EL PROYECTO:**

¿Qué patrones de biomasa del perifiton fotosintético se observan en relación al gradiente trófico y el ambiente lumínico?

¿Cuál es la composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético en lagos someros subtropicales de la costa uruguaya?

¿Cómo influye el estado trófico y el ambiente lumínico en la composición del perifiton en estos lagos?

¿Qué esquema de clasificación, taxonómico o morfo-funcional, puede reflejarnos de mejor manera las condiciones ambientales a los que se asocian la composición perifítica?

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 Área de estudio**

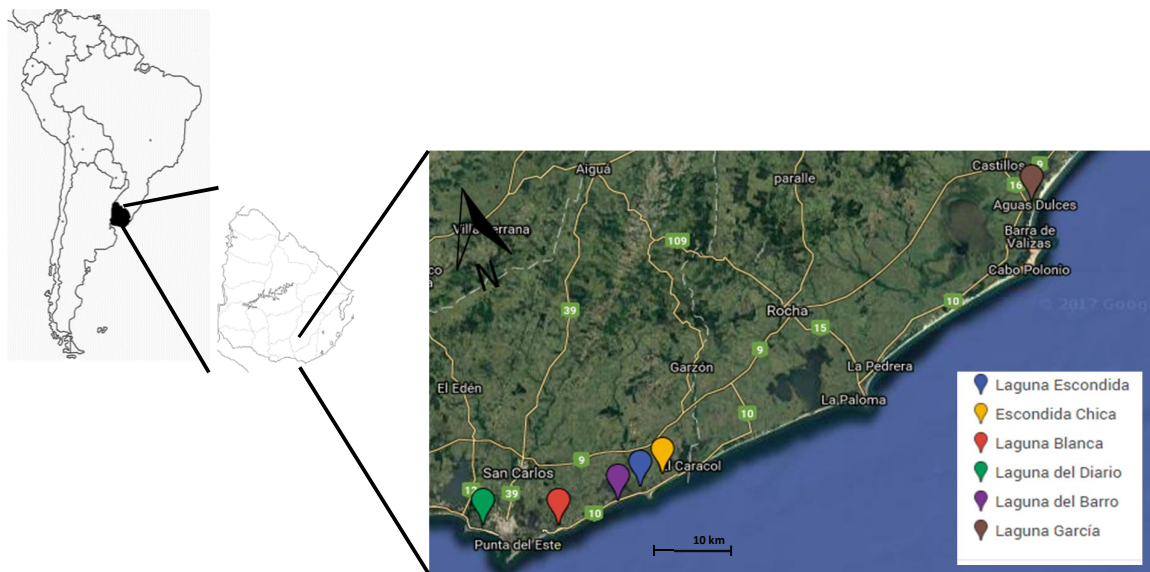
Fueron seleccionados 6 lagos someros de la costa Este de Uruguay intentando comprender condiciones contrastantes de estados tróficos y turbidez, según descripciones previas de Kruk *et al.* (2009), Mazzeo *et al.* (2010) y Pacheco *et al.* (2010). Estos lagos, ubicados en los departamentos de Maldonado y Rocha (Fig. 1) se originaron en su mayoría mediante transgresiones marinas durante el Cuaternario, siendo característicos de la zona costera (García-Rodríguez *et al.*, 2004) definiendo así la extensión territorial del área de estudio. Todos los lagos son sistemas someros y de pequeño tamaño, se ubican en zonas de baja pendiente, están rodeadas de bañados y muestran un gradiente en la cobertura de macrófitas sumergidas (Kruk *et al.*, 2009) (Tabla I).

Los lagos fueron seleccionados en base a las condiciones previamente descritas en la bibliografía mencionada así como en observaciones de campo previas, intentando abarcar condiciones de:

- i. alta transparencia y baja biomasa fitoplanctónica: Diario, Escondida, Blanca y García.
- ii. turbios con alta biomasa fitoplanctónica: Escondida Chica.
- iii. turbios por sedimentos resuspendidos: Barro.

Se realizó un muestreo de estos sistemas al final de la temporada de mayor crecimiento del perifiton (fines del verano) durante el 2014. Los 6 sistemas fueron muestreados en 2 días consecutivos, ambos días presentaron condiciones climáticas similares, siendo días cálidos con ausencia de precipitaciones. Cabe destacar que los días previos al muestreo se registraron precipitaciones de

magnitud similar en el área de estudio, por lo que las lagunas presentaban un alto el nivel de agua. En cada sistema se midieron parámetros *in situ*, se tomaron muestras de agua para análisis fisicoquímicos, y muestras cuantitativas y cualitativas del perifiton epifito fotosintético sobre *Schoenoplectus californicus* (Cyperaceae) en cada lago. La elección del sustrato vegetal, respondió a que era una especie frecuente en todos los lagos estudiados, por lo cual permitía compara la comunidad perifítica en un sustrato homogéneo entre sistemas.



**Figura 1.** Localización geográfica de los lagos someros estudiados en la costa Este de Uruguay  
Fuente: Google Maps.

**Tabla I.** Principales características morfológicas y morfométricas de los lagos estudiados, basados en Kruk *et al.* (2006), Pacheco *et al.* (2010) y datos de campo sin publicar.

	<b>Diario</b>	<b>Blanca</b>	<b>Escondida</b>	<b>Esc. Chica</b>	<b>Barro</b>	<b>García</b>
<b>Ubicación</b>	34°54'S; 55°00'W	34°54'S; 54°50'W	34°49'S; 54°37'W	34°49'S; 54°37'W	34°51'S; 54°42'W	34°17'S; 53°48'W
<b>Origen</b>	Natural- Embalsada	Natural	Natural	Artificial	Natural	Natural
<b>Área (ha)</b>	61.8	28.7	10.8	1.12	13.5	5.2
<b>Área de la cuenca (ha)</b>	2462.2	540.6	479.9	15.5	33.8	89.0
<b>Zmáx (m)</b>	1.8	3.3	5.4	2.5	2	2.4
<b>PVI (%)</b>	34	13	16	0	0	5



#### 4.2 Parámetros fisicoquímicos *in situ*

Se midieron diferentes parámetros fisicoquímicos en campo, medidos mediante sonda multiparamétrica YSI 650 MDS: temperatura (T), concentración de oxígeno disuelto (OD), conductividad, pH y sólidos totales disueltos (TDS). La penetración lumínica (transparencia del sistema) fue medida como profundidad de disco de Secchi (SD). Estos parámetros se midieron en un sitio al azar en zona de aguas abiertas.

#### 4.3 Muestreo y análisis fisicoquímicos de agua

Se tomaron muestras sub-superficiales de agua en botellas plásticas que fueron almacenadas a 4°C para los análisis físico-químicos en laboratorio. Estas fueron tomadas en un sitio al azar en zona de aguas abiertas. A partir de una fracción de estas muestras de agua, fueron estimados los sólidos suspendidos totales (SST) por diferencia de peso luego de secado a 105°C por 12 horas y la materia orgánica (MO), como la diferencia de peso entre el material secado y quemado en los filtros a 500°C por 2 horas (APHA, 2005). Mediante el filtrado de un volumen conocido de estas muestras por filtro Whatman® GF/C y posterior extracción con etanol frío, fue estimada por espectrofotometría la concentración de clorofila a en agua (Clo a Fito) (Jespersen & Christoffersen, 1987) como indicador de la biomasa de fitoplancton, corrigiéndose los feopigmentos por acidificación con ácido clorhídrico 0,02N para evitar errores de interpretaciones por material en descomposición. Otra fracción de estas muestras, fue utilizada para la determinación de nutrientes: fósforo reactivo soluble (SRP), fósforo (TP) y nitrógeno total (NT), amonio (NH<sub>4</sub>) y nitrato (NO<sub>3</sub>) siguiendo las metodologías de: Murphy & Riley (1962), Valderrama (1981), Koroleff (1970) y Müller & Widemann (1955), respectivamente.

#### 4.4 Muestreo biológico

El perifiton epífito fotosintético (en adelante referido como perifiton fotosintético) fue muestreado en cada lago en 3 puntos de la zona litoral tomados al azar, donde en cada uno se tomaron a su vez tres muestras. Con el fin de comparar entre las distintas lagunas se tomaron muestras del mismo tipo de sustrato, juncos de la especie *Schoenoplectus californicus*. Dicha especie es una macrófita palustre que se encontró en todos los sistemas de estudio, que posee una cutícula gruesa y es altamente resistente a las fluctuaciones en el nivel del agua y la salinidad. Cada muestra de perifiton, fue obtenida mediante el raspado de la superficie de un tramo de 5 centímetros de *Schoenoplectus californicus* a 10 cm de profundidad, considerándose ejemplares de diámetros similares de modo de que las áreas consideradas fueran comparables. Fracciones de estas muestras, correspondientes a áreas de raspado conocidas, fueron tomadas por separado para los diferentes análisis en laboratorio. Una alícuota de estas muestras correspondiente a un área conocida, fue tomada para la determinación de clorofila a, como estimador de la biomasa de perifiton fotosintético, siguiendo la metodología antes mencionada para la clorofila en agua. Otra fracción, fue destinada a la estimación de peso seco (PS) y peso seco libre de cenizas (PSLC), estimadores de la biomasa total de perifiton (fracción total y fracción orgánica respectivamente) mediante diferencias de peso por secado a 105°C por 12 horas y quemado a 500°C por 2 horas (APHA, 2005). Otra fracción de estas muestras fue conservada con lugol acidificado al 5% para la identificación del perifiton fotosintético (análisis cualitativo), conteo (análisis cuantitativo), y medición de los organismos (ancho y largo).

Por otro lado, se tomó una muestra sub-superficial de agua en cada laguna para análisis cualitativo de fitoplancton. Dichas muestras fueron tomadas en puntos al

azar en zonas de aguas abiertas mediante botellas plásticas y fijadas con lugol acidificado al 5% para la identificación del fitoplancton a nivel de grandes grupos taxonómicos. Si bien estos datos, no fueron incluidos en los análisis como una variable explicatoria, sí fueron tomados en cuenta para conocer posibles implicancias de la composición fitoplanctónica asociada al estado trófico y/o su influencia sobre el perifiton fotosintético.

#### 4.5 Medición, conteo y clasificación taxonómica y funcional del perifiton fotosintético

La identificación y medición de organismos (células o cenobios) se realizó en microscopio directo a 100-1000X aumentos, utilizando el software *Micrometrics SE* asociado a la cámara fotográfica del microscopio para el registro fotográfico y mediciones. A partir de las mediciones de al menos 30 organismos por grupo identificado, se calculó el biovolumen del perifiton según Hillebrand *et al.* (1999). Los conteos de perifiton fueron realizados en microscopio invertido a 100-400X aumentos utilizando cámaras de sedimentación de volumen conocido (Utermöhl, 1958) y siguiendo el método de conteo por campos al azar según Uhelinger (1964). Todas las variables del perifiton fueron relativizadas respecto al área promedio de sustrato raspada.

Para la clasificación taxonómica fueron utilizadas claves regionales e internacionales específicas (Bourrelly, 1972; 1981; Franceschini, 2013; Ludwig & Tremarin 2013; Biggs & Kilroy, 2000). La clasificación morfológica-funcional fue realizada en base a la morfología (tipo de agrupación o morfología del cenobio) y tamaño del organismo dentro de los principales grupos taxonómicos del perifiton fotosintético en: Cyanobacteria, Bacillariophyta (diatomeas), Chlorophyta, Conjugatophyceae, Xantophyta, Chrysophyta y Dinophyta (Pacheco *et al. In prep.*; Pacheco 2016) (Tabla II). Este sistema de clasificación, considera los principales

grupos taxonómicos, los cuales integran a su vez los principales atributos funcionales y morfológicos (e.g. composición de pigmentos, movilidad, pared celular), en conjunto con atributos morfológicos fácilmente evidenciables, como el tamaño o la forma de agrupación. Dentro de los principales grupos taxonómicos, la definición de los grupos funcionales está basada en los propuesto por Salmaso & Padisák (2007) para fitoplancton, añadiendo aspectos particulares del perifiton, tales como forma de vida y presencia de mucilago (Pacheco 2016). Esta combinación, genera grupos con características fisiológicas y morfológicas diferenciales que se reflejan en el comportamiento funcional, de esta manera los atributos utilizados (como tamaño o forma de agrupación) afectan directamente la capacidad de reproducción y sobrevivencia de los organismos (acceso a nutrientes, capacidad de evadir la herbívora) (Mc. Gill et al., 2006).

**Tabla II.** Grupos morfológicos-funcionales considerados para el perifiton fotosintético (Pacheco 2016)

<b>Afiliación taxonómica</b>	<b>Morfo</b>	<b>Código</b>
1- Cyanobacteria	1a – Filamentos simples	1aFilUnb
	1b – Filamentos con células especializadas	1bFilNos
	1c – Filamentos ramificados sin mucilago	1cFilBran
	1d – Filamentos ramificados mucilaginosos	1dFilMuc
	1e – Colonias mucilaginosas	1eCyaMuc
	1f – Unicelular	1fCyaUni
2- Diatomea (Bacillariophyta)	2a – Unicelular chica <30 µm	2a SmDia
	2b – Unicelular grande >30 µm	2b LDia
	2c – Colonias en empalizada	2c PalDia
	2d – Filamentos	2d FilDia
	2e – Colonias en ramilletes	2e BouqDia
3- Chlorophyta	3a – Unicelular chica < 30 µm	3a SmChlo
	3b – Unicelular grande > 30 µm	3b LChlo
	3c – Flagelados unicelulares	3c FlaUni
	3d – Flagelados coloniales	3d FlaCol
	3e – Colonias desnudas pequeñas <30 µm	3e SmNaCol
	3f – Colonias desnudas grandes >30 µm	3f LNaCol
	3g – Colonias pequeñas mucilaginosas <30 µm	3g SmMucCol
	3h – Colonias grandes mucilaginosas >30 µm	3h LMucCol
	3i – Filamentos simples	3i UnbChlo
3j – Filamentos ramificados	3j BranChlo	

4- Conjugatophyceae	4a – Unicelulares	4a DesUni
	4b – Filamentosas	4b DesFil
5- Xantophyta	5a – Unicelular	5a XanUni
	5b – Filamentosas	5b XanFil
6- Chrysophyta	6a – Unicelulares	6a ChrUni
	6b – Colonias	6b ChrCol
7- Dinophyta		7 Dino

#### 4.6 Análisis de datos

##### *Análisis de variables ambientales*

A modo de caracterizar los principales gradientes ambientales en cada uno de los lagos estudiados, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) considerando particularmente aquellas variables asociadas al estado trófico y ambiente lumínico. Las variables explicatorias consideradas fueron: penetración lumínica como profundidad de zona eufótica o de fotosíntesis potencial (Zeu), calculada como:  $Zeu = 2,4 \text{ SD}$  (siendo SD la profundidad del Disco de Secchi); sólidos totales en suspensión (SST) como estimador de turbiedad por resuspensión de sedimentos; clorofila a en agua (Clo a) como estimador de la biomasa fitoplanctónica, y las formas mayormente biodisponibles de nutrientes: fósforo reactivo soluble (SRP) y amonio ( $\text{NH}_4$ ). A partir del PCA se caracterizaron los lagos en “claros” y “turbios” y dentro de la categorización “turbios” se diferenciaron en “turbios por resuspensión” y “turbios por fitoplancton”.

La categorización por estado trófico de los lagos fue realizada mediante el índice de estado trófico (TSI) de Carlson (1977), tomando en cuenta para ello la Clorofila a, el fósforo total (TP) y la profundidad de disco de Secchi (SD), categorizando aquellos lagos con un TSI mayor a 60 como hipereutróficos y aquellos con un TSI menor a 60 como eutróficos.

### *Biomasa de perifiton-variables ambientales*

Para analizar los patrones de biomasa de perifiton (objetivo específico 1) se realizaron en primer lugar regresiones entre los estimadores de biomasa perifítica (PSLC, biovolumen y clorofila a de perifiton) para determinar si éstos mostraban colinealidad. Además se analizó la biomasa de perifiton para cada sistema estudiado a través de gráficas, para todos los indicadores de biomasa utilizados.

El análisis de los patrones de biomasa en función del ambiente lumínico fue realizado *a priori* mediante la inspección visual de los datos conjuntos de estimadores de biomasa en función de la turbiedad, tanto por resuspensión como fitoplanctónica. De igual manera, para evaluar la biomasa de perifiton en función del estado trófico, se realizó un gráfico descriptivo de la biomasa para aquellos sistemas eutróficos y para aquellos hipereutróficos. Posteriormente fueron realizados análisis de varianza de una vía (ANOVA) para evaluar la significancia estadística de los patrones de biomasa observados, considerándose la varianza entre aquellos sistemas claros vs. turbios, así como entre aquellos eutróficos vs. hipereutróficos con un intervalo de confianza del 95% (p valor<0,05). Se calculó el índice autotrófico para cada lago para determinar la naturaleza trófica de la comunidad estudiada permitiendo evaluar la proporción fotosintética presente en la biomasa total del perifiton, en relación a la biomasa heterotrófica (Bicudo, 1990; Eaton *et al.*, 1995) como:

$$\text{IA} = \text{Peso seco libre de cenizas (PSLC)} / \text{Clorofila a de perifiton (Clo a Peri)}$$

Para este índice, frecuentemente utilizado como indicador de contaminación orgánica en los ecosistemas, se consideró que valores mayores a 50 y menores a

200 indicarían una comunidad predominante autotrófica, y valores mayores a 200 indican una comunidad predominante heterotrófica o con alta proporción de detrito orgánico (Biggs & Kilroy, 2000; APHA, 2005; Lowe & Pan, 1996).

### *Composición de perifiton – variables ambientales*

Para analizar los patrones de composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético en relación al estado trófico y ambiente lumínico (Objetivo específico 2 y 3), se realizó en primer lugar un análisis de agrupamiento (cluster) mediante el método de ordenación de Ward utilizando el índice de Jaccard, testeándose la significancia de cada nodo de agrupación generado (Suzuki & Shimodaira, 2006; <https://stat.ethz.ch/pipermail/bioconductor/attachments/20080114/>). La significancia estadística de los agrupamientos generados fue expresada mediante p valor (“au”) y significancia por bootstrapping (“bp”).

Posteriormente mediante un análisis de matrices traspuestas y representación gráfica de Heatmap (Ploner, 2012, paquete Heatplus, <https://github.com/alexploner/Heatplus>), utilizando como atributos la composición taxonómica y funcional del perifiton, se analizó la eventual existencia de grupos (especies o grupos funcionales) particulares de los diferentes tipos de lagos, en relación tanto al estado trófico como ambiente lumínico. Para evaluar la existencia de diferencias significativas en cuanto a la composición del perifiton entre sistemas de diferente estado trófico y ambiente lumínico se realizó un análisis de similitud (ANOSIM) de dos vías entre grupos de lagos claros vs. turbios y lagos eutróficos vs. hipereutróficos, considerando la composición tanto taxonómica como funcional del perifiton fotosintético. En base a los resultados de las agrupaciones de tipos de lagos en relación a la composición testeadas mediante el ANOSIM (Clarke 1993) se

realizó posteriormente un análisis de correspondencia canónica (CCA) (Ter Braak & Smilauer. 2006), para analizar la causalidad de las agrupaciones composicionales en relación a las distintas variables ambientales relacionadas con el estado trófico y ambiente lumínico ambos mediante el paquete Vegan de R (R CoreTeam, 2016). Para esto se consideraron por separado los datos de composición taxonómica y funcional del perifiton, en cada caso en relación a las variables fisicoquímicas. Estas fueron testeadas en cuanto a la significancia general del modelo, de los ejes de ordenación y de las variables por separado, considerándose para el CCA final solo aquel modelo significativo, donde todas las variables consideradas y ejes de ordenación tuvieran significancia estadística. La significancia de los análisis fue testada considerando de manera independiente los datos: con y sin ser centrados y estandarizados (para variables fisicoquímicas y con y sin transformación logarítmica ( $\log x+1$ ) para datos de biomasa y composicionales). Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el uso del software R (R CoreTeam, 2016) con los paquetes indicados para cada análisis.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Variables limnológicas:**

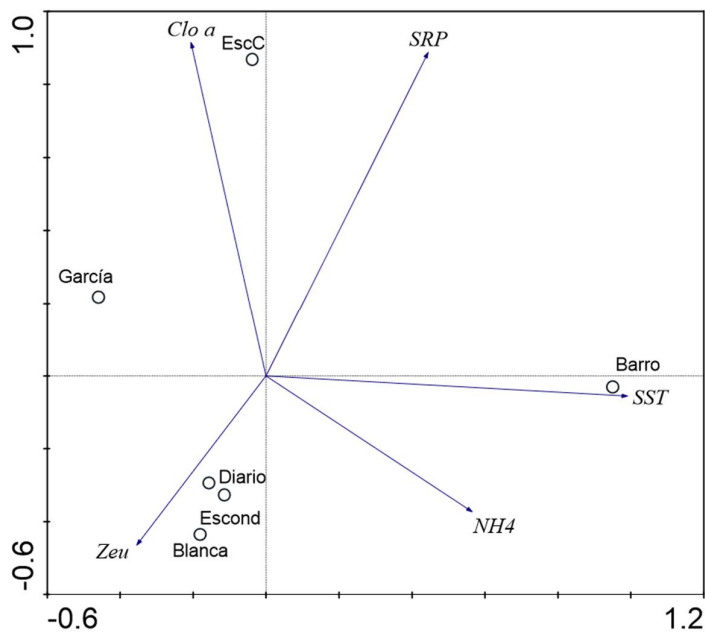
El conjunto de información limnológica relevada y el análisis exploratorio de componentes principales (PCA) permiten identificar tres grupos de sistemas :1) lagos claros, con alta profundidad de la zona eufótica y bajos niveles de Clo a Fito y SST (Diario, Escondida, Blanca y García); 2) lago turbio por fitoplancton, con baja profundidad de la zona eufótica, altos niveles de Clo a Fito y bajos de SST (Escondida Chica); 3) lago turbio por resuspensión de sedimentos, con baja



profundidad de la zona eufótica, altos niveles de SST y bajos de Clo a Fito (Barro) (Tabla II, Figura 2).

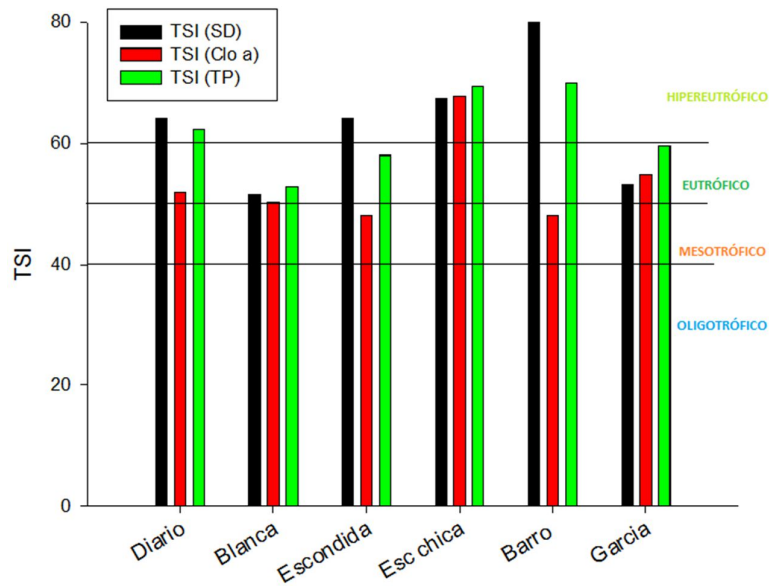
**Tabla II.** Principales características limnológicas de los lagos estudiados. profundidad máxima del sistema (Zmax), temperatura (Temp), oxígeno disuelto (OD), porcentaje de saturación de oxígeno disuelto (OD %), conductividad (Cond), profundidad de disco de Secchi (SD), fósforo total (TP), fósforo reactivo soluble (SRP), nitrógeno total (TN), amonio (NH<sub>4</sub>), nitrato (NO<sub>3</sub>), relación nitrógeno total-fósforo total (TN:TP), sólidos totales disueltos medidos *in situ* (TDS), sólidos totales suspendidos obtenidos en laboratorio (SST) y clorofila a de fitoplancton (Clo a Fito).

	Diario	Blanca	Escondida	Esc. Chica	Barro	García
Temp(°C)	17.7	20.3	20.8	21.3	18.8	20.9
Ph	7.9	7.6	7.5	7.6	7.4	7.5
OD (µg.L <sup>-1</sup> )	10.1	9.3	6.6	10.9	27.4	6.2
OD (%)	105.4	102.0	73.1	121.6	79.2	69.5
Cond (µS.cm <sup>-1</sup> )	275	211	126	100	201	108
SD (m)	0.8	1.8	0.8	0.6	0.3	1.6
TP (µg.L <sup>-1</sup> )	56.2	29.4	41.9	92.4	95.6	46.7
SRP (µg.L <sup>-1</sup> )	7.5	5.9	5.9	25.1	17.1	10.7
TN (µg.L <sup>-1</sup> )	520.6	558.5	653.2	274.3	804.8	549.0
NH <sub>4</sub> (µg.L <sup>-1</sup> )	49.6	21.3	18.7	16.9	46.9	20.4
NO <sub>3</sub> (µg.L <sup>-1</sup> )	238.4	101.2	183.5	87.5	389.2	197.2
TN:TP	9.3	19.0	15.6	2.9	8.4	11.8
TDS (g.L <sup>-1</sup> )	0.21	0.15	0.09	0.07	0.15	0.08
SST (mg.L <sup>-1</sup> )	4.2	6.0	6.7	6.7	62.9	1.7
Clo a Fito (µg.L <sup>-1</sup> )	8.9	7.4	5.9	44.4	5.9	11.8



**Figura 2.** Biplot del análisis de componentes principales (PCA) de lagos en relación a las variables vinculadas a descriptores de estado trófico. Las flechas indican las variables ambientales usadas para caracterizar los sistemas según su estado trófico: clorofila a de fitoplancton (Clo a), concentración de fósforo reactivo soluble (SRP), concentración de amonio (NH<sub>4</sub>), sólidos suspendidos totales (SST) y profundidad de la zona eufótica (Zeu).

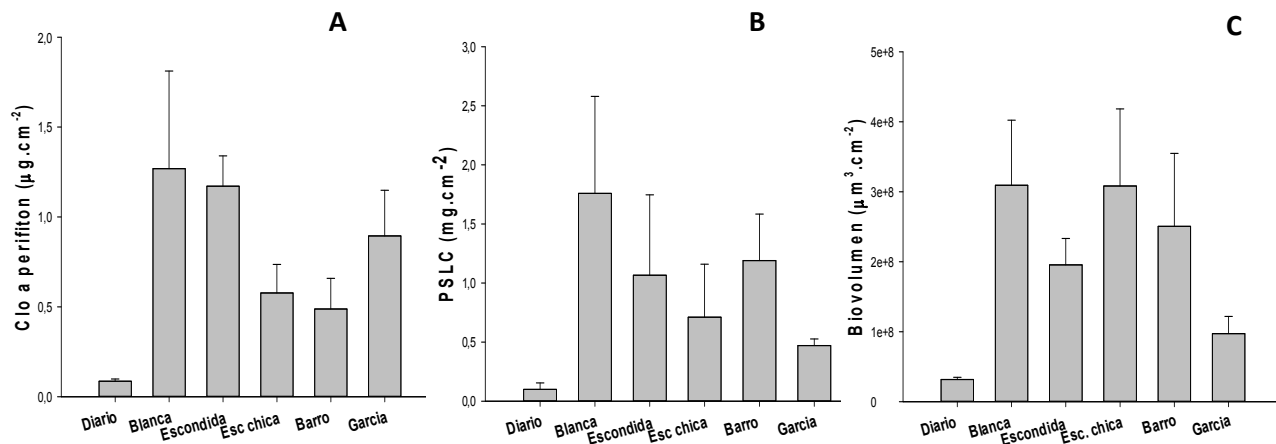
Los sistemas estudiados presentaron estados tróficos contrastantes. Los lagos claros, a excepción de Laguna del Diario, fueron clasificados como eutróficos (Blanca, Escondida y García). Mientras que los lagos turbios (por fitoplancton y por resuspensión), más Laguna del Diario, fueron clasificados como hipereutróficos (Esc. Chica, Barro y Diario). El TSI calculado a partir de la clorofila (Clo a) presentó valores más bajos a los calculados a partir de los otros dos estimadores (SD y TP), en todos los lagos a excepción de García (Tabla II, Figura 3).



**Figura 3.** Índice de estado trófico (TSI) de Carlson para tres estimadores, profundidad de disco de Secchi (SD), clorofila a de fitoplancton (Clo a) y concentración de fósforo total (TP). Límite eutrofia-hipereutrofia: TSI=60 considerando al menos dos estimadores.

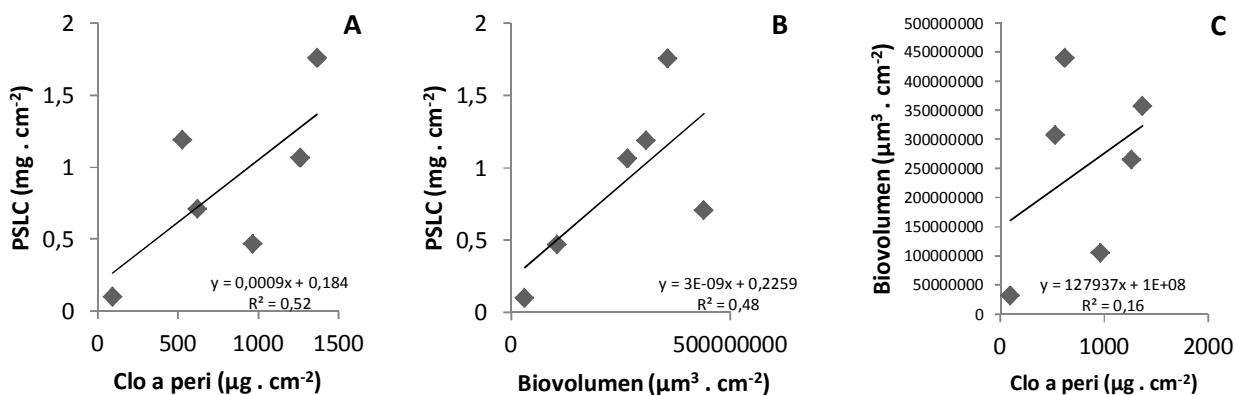
### 5.1 Biomasa de la comunidad perifítica

Los lagos claros (Blanca, Escondida y García) presentaron mayor biomasa de perifiton (estimada por Clo a) en relación a los turbios tanto por fitoplancton (Escondida Chica) como por sólidos en suspensión (Barro). Laguna del Diario, una de los lagos claros, fue la excepción presentando biomasa muy bajas de perifiton (Figura 4A). Los otros estimadores de biomasa de perifiton, peso seco libre de cenizas (PSLC) y biovolumen, presentaron un patrón diferente al de Clo a peri, con valores un tanto mayores para los lagos turbios, pero manteniéndose en todos los casos las bajas biomasa en Laguna del Diario (Figuras 4B y 4C).



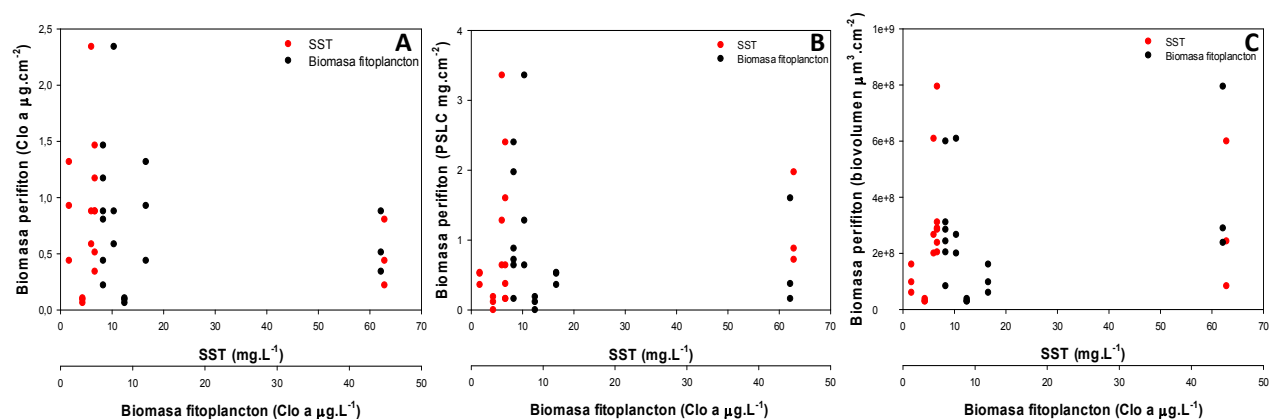
**Figura 4.** Biomasa de perifiton para cada uno de los sistemas estudiados. A) Clo a perifiton. B) PSLC. C) Biovolumen. Barras: error estándar.

Los tres estimadores de biomasa utilizados, presentaron en las regresiones lineales valores bajos de  $R^2$  (Figura 5), indicando complementariedad en la información que proveyeron respecto a la biomasa de perifiton en los sistemas.



**Figura 5.** Regresiones lineales entre los estimadores de biomasa de perifiton utilizados. A) Peso seco libre de cenizas (PSLC) vs. clorofila a de perifiton (Clo a peri), se observa una correlación positiva entre ambos estimadores de biomasa. B) PSLC vs. biovolumen, se constata una correlación positiva entre ambos estimadores de biomasa. C) Biovolumen vs. clo a peri, no se observa correlación positiva entre ambos estimadores de biomasa.

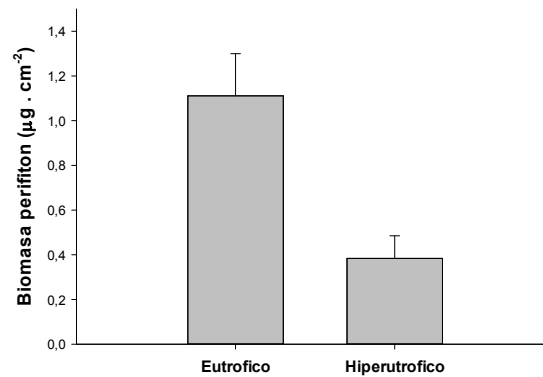
Por otra parte, las regresiones lineales entre los estimadores de biomasa (PSLC, Clo a peri y biovolumen) y los estimadores de turbiedad (SST y Clo a fito) mostraron en todos los casos la ausencia de relaciones entre la biomasa y la turbiedad. Asimismo, los análisis de varianza cruzando estas variables de biomasa vs turbiedad, no mostraron diferencias significativas entre los tres tipos de lagos identificados (turbio por fitoplancton, turbio por resuspensión y claros). Sin embargo, al considerar a los lagos turbios tanto por fitoplancton como por resuspensión de sedimentos como un único grupo (sin importar el origen de la turbiedad) fueron encontradas diferencias significativas en la biomasa de perifiton entre lagos claros y turbios (ANOVA  $F = 5, 42$ ;  $p = 0,036$ ). En este análisis fue excluido Laguna del Diario. Por otro lado, si bien no existió una relación entre la turbiedad del sistema y la biomasa de perifiton, se observó un patrón donde los lagos claros pueden presentar valores de biomasa variables, mientras que aquellas con alta turbiedad, tanto por fitoplancton como por resuspensión (Escondida Chica y Barro) sólo presentaron baja biomasa de perifiton (excepto en términos de biovolumen) (Figura 6).



**Figura 6.** Dispersión de los datos de biomasa de perifiton en función de la turbiedad por resuspensión (SST) y la turbiedad por fitoplancton (Clo a fitoplancton) para cada estimador de

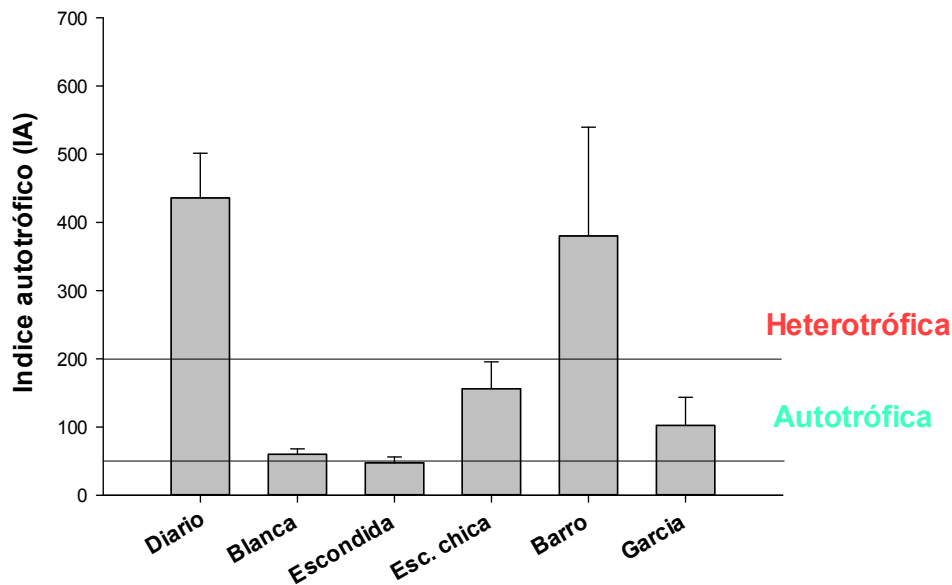
biomasa considerado. A) Clorofila a de perifiton (Clo a peri). B) Peso seco libre de cenizas (PSLC). C) Biovolumen.

El análisis de la biomasa de perifiton en relación al estado trófico indicó que los sistemas de mayor estado trófico presentaron biomazas significativamente menores que aquellos de menor estado trófico (Figura7) (ANOVA F = 11,57; p = 0,003).



**Figura 7.** Biomasa de perifiton (Clo a peri) en función del estado trófico. Sistemas eutróficos: García, Blanca y Escondida. Sistemas hipereutróficos: Barro, Escondida Chica y Diario. Barras: error estándar.

Los resultados del cálculo del Índice Autotrófico indican que la mayoría de los sistemas estudiados presentaron una comunidad dominada por organismos fotosintéticos indicando un tipo de perifiton autotrófico. El lago turbio por resuspensión y Laguna del Diario (lago claro con baja biomasa de perifiton) fueron los únicos sistemas que presentaron una composición predominantemente heterotrófica (Figura 8).

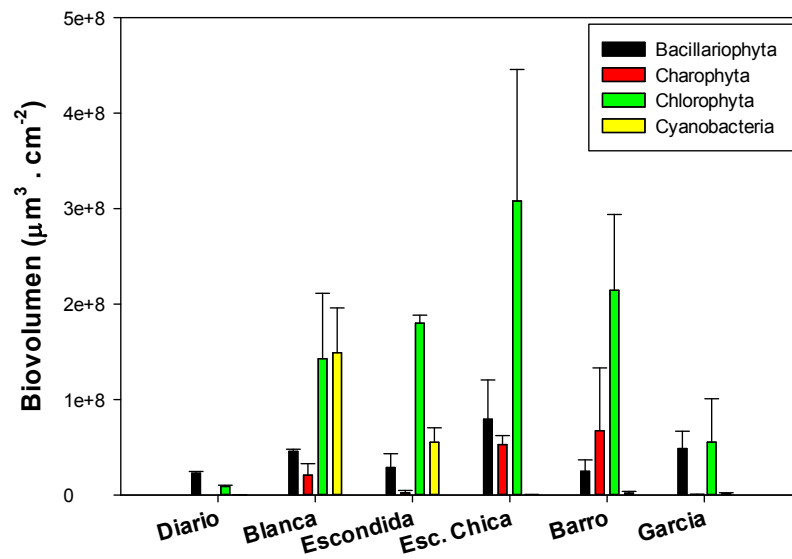


**Figura 8.** Índice autotrófico para cada uno de los sistemas estudiados.  $IA = PSLC / Clo$  a peri. Verde: Comunidad predominante autotrófica:  $50 > IA < 200$ . Rojo: Comunidad predominante heterotrófica:  $IA > 200$ . Barras: error estándar.

### 5.3 Composición del perifiton fotosintético

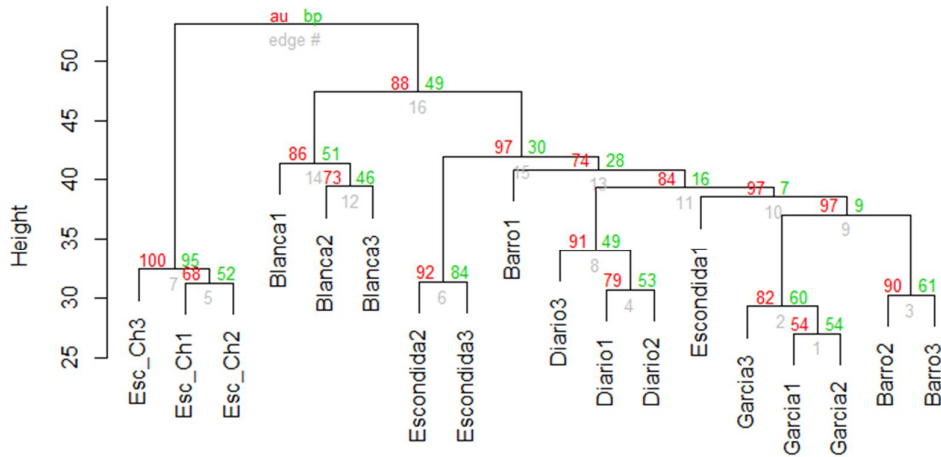
En la mayoría de los sistemas estudiados el grupo dominante fue el de Chlorophyta, especialmente de especies filamentosas como *Bulbochaete sp*, *Oedogonium sp* y *Stigeoclonium sp*. Asimismo el grupo Bacillariophyta (diatomeas) también se presentó en todos los sistemas estudiados, aunque en biovolúmenes menores. Además de este patrón compartido por todo el set de lagos, se observaron algunas diferencias entre los lagos claros y turbios: los lagos turbios presentaron mayor representación de Charophyta (Desmidiaceae: *Staurastrum sp*, *Staurodesmus sp*. y *Cosmarium sp.*) mientras que las cianobacterias se restringieron a algunos de los lagos claros (Escondida y Blanca). Este grupo estuvo representado principalmente por Nostocales filamentosas del género *Gloeotrichia sp*. (Figura 9).

El análisis de agrupamiento en base a la composición taxonómica del perifiton solo presentaron diferencias entre el lago turbio por fitoplancton en relación a los otros lagos, no mostrando diferencias entre categorías de lagos claros y turbio por resuspensión, ni entre aquellos de diferente estado trófico, indicando composiciones similares entre estos grupos (Figura 10).



**Figura 9.** Composición taxonómica de grupos del perifiton fotosintético en los sistemas estudiados. Barras: error estándar.

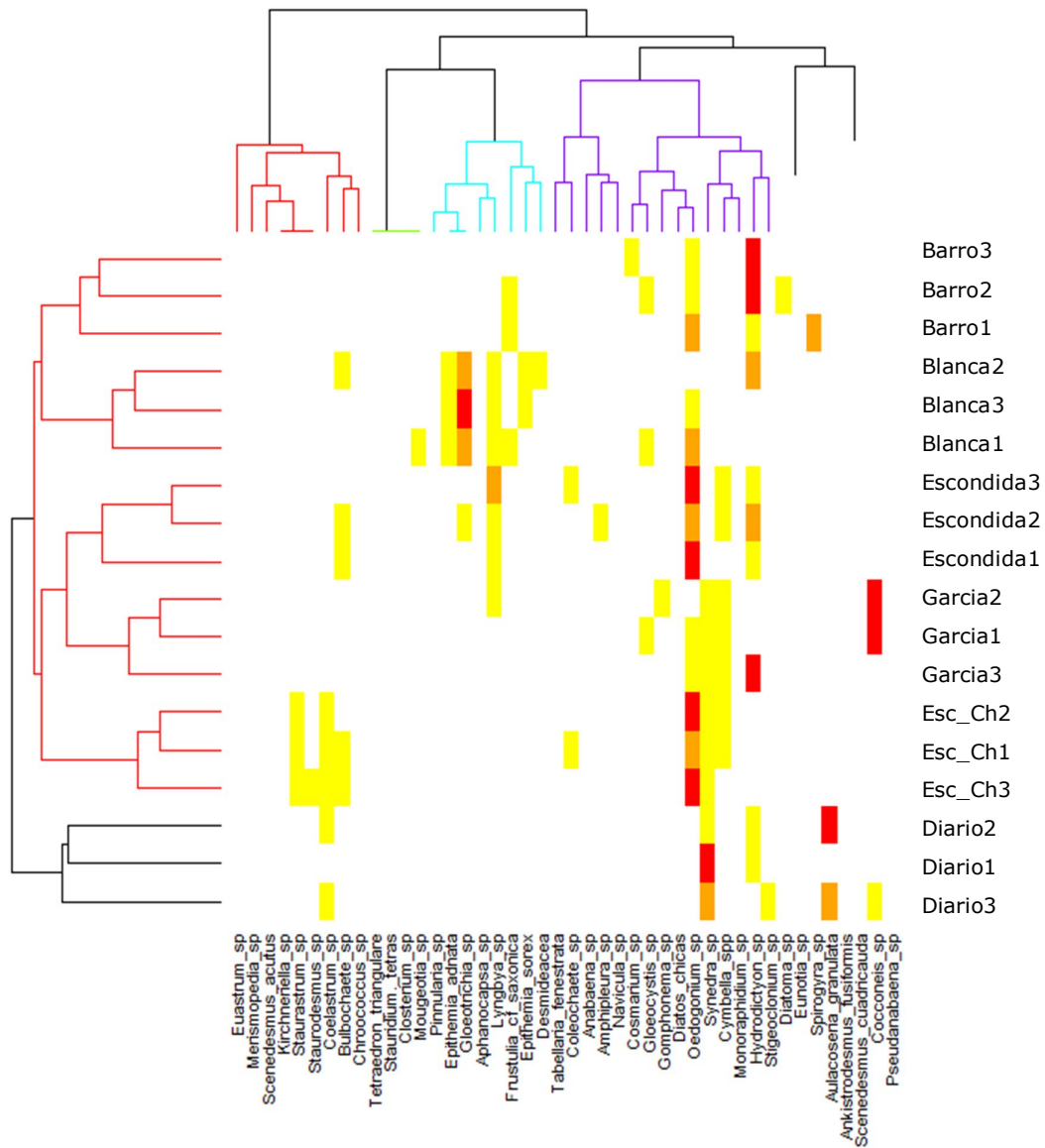




**Figura 10.** Dendrograma de similitud basado en la composición taxonómica de especies de perifiton, mediante el índice de similitud de Jaccard. Las réplicas de cada lago se indican con el nombre del lago y los números1-3. Los números en los nodos indican orden de agrupamiento en el análisis, los valores de “au” (rojo) indican el p-valor aproximado (“approximately unbiased p-value”), los valores “bp” (verde) indican la probabilidad de asociación por bootstrap en cada nodo. Valores mayores a 50 indican significancia estadística en las agrupaciones generadas.

Asimismo, el análisis de similitud de composición por heatmap no mostró una composición sustancialmente diferencial del perifiton en relación a su estado trófico o ambiente lumínico. De todos modos, fueron identificadas algunas especies características de algunos tipos de sistemas, por ejemplo en el caso de Laguna Blanca (lago claro) se distingue la cianobacteria perifítica *Gloeotrichia sp* y en García (lago claro) la diatomea perifítica *Cocconeis sp*. En este sentido, los lagos turbios (Barro y Escondida Chica) presentaron especies características diferentes al resto de los lagos pero también diferentes entre ellos, en el caso de Escondida Chica *Staurastrum sp*. y en el caso de Barro *Hydrodyction sp*. Además se observaron especies que se repiten en la mayoría de los sistemas y además aparecen en altas biomásas, como la chlorophyta filamentosa *Oedogonium sp*. y el grupo de las diatomeas chicas (menores a 20 µm) (Figura 11).

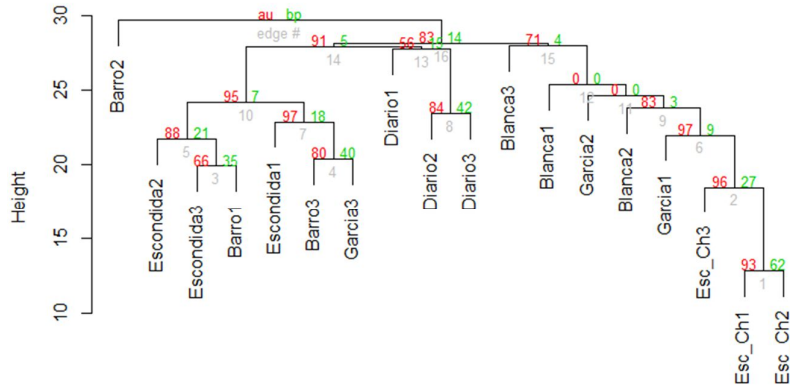
El dendograma basado en la composición de grupos funcionales no mostró relaciones significativas ni asociaciones según ambiente lumínico o estado trófico. Dicho análisis tampoco mostró agrupaciones similares a las observadas con la composición taxonómica de especies (Figura 12). Asimismo el heatmap para la composición funcional tampoco reveló una composición característica de los sistemas con ambiente lumínico y estado trófico contrastantes (Figura 13).



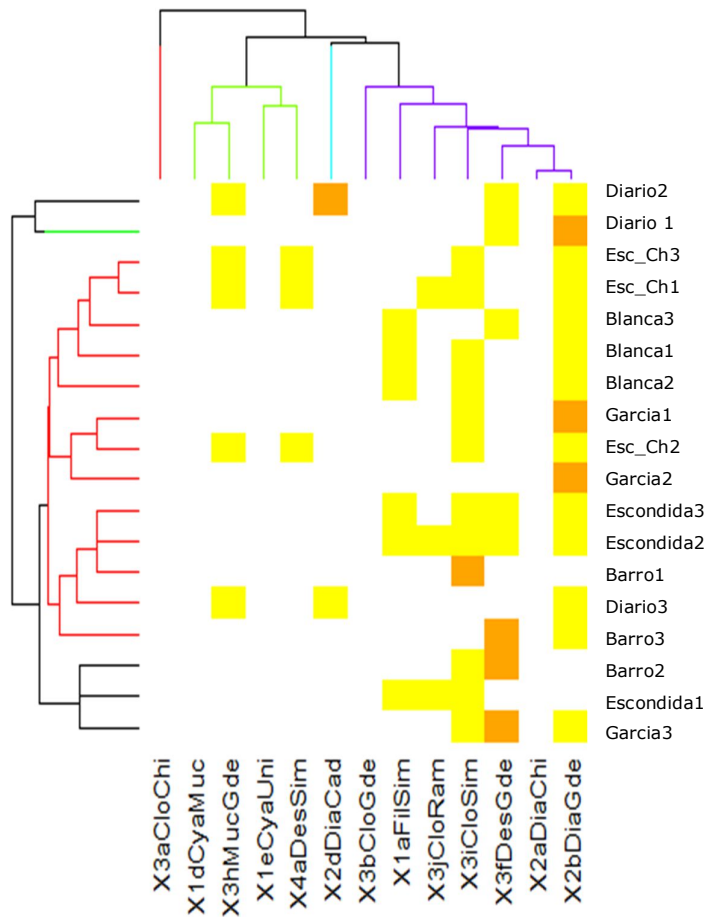
**Figura 11.** Heatmap basado en la composición taxonómica de especies por sistema utilizando el índice de Jaccard. La escala de colores indica la particularidad en la ocurrencia de una especie en un sistema dado, donde los colores mas rojos indican mayor particularidad (biomasas mas altas en lagos determinados).

El análisis de similitud en la composición del perifiton (ANOSIM) en base a la composición taxonómica mostró diferencias significativas entre los sistemas claros y turbios (ANOSIM:  $R_A=0,2622$ ;  $p=0,025$ ) (Figura 14A). Asimismo, en este análisis de

composición, fueron encontradas diferencias significativas entre sistemas eutróficos e hipereutróficos (ANOSIM:  $R_A=0,17$ ;  $p=0,036$ ) (Figura 14B).



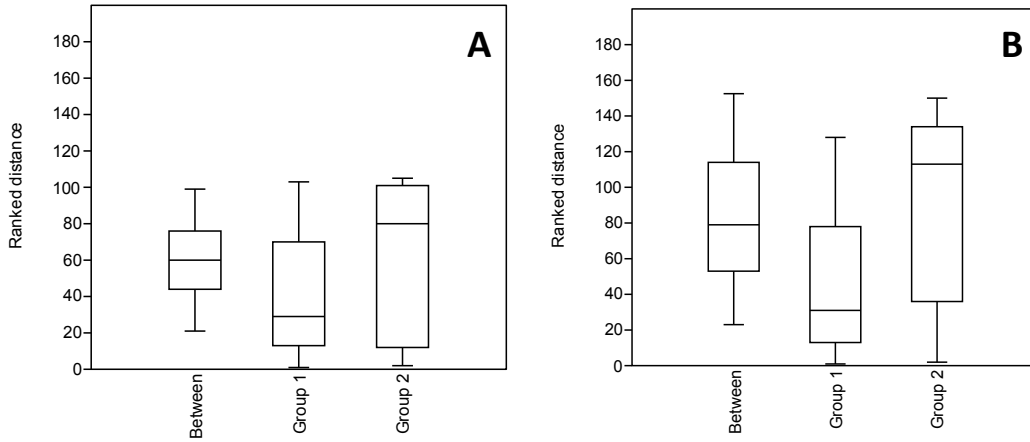
**Figura 12.** Dendrograma similitud basado en la composición funcional del perifiton, mediante el índice de similitud de Jaccard. Las réplicas de cada lago se indican con el nombre del lago y los números 1-3. Los números en los nodos indican orden de agrupamiento en el análisis, los valores de “au” (rojo) indican el p-valor aproximado (“approximately unbiased p-value”), los valores “bp” (verde) indican la probabilidad de asociación por bootstrap en cada nodo. Valores mayores a 50 indican significancia estadística en las agrupaciones generadas.



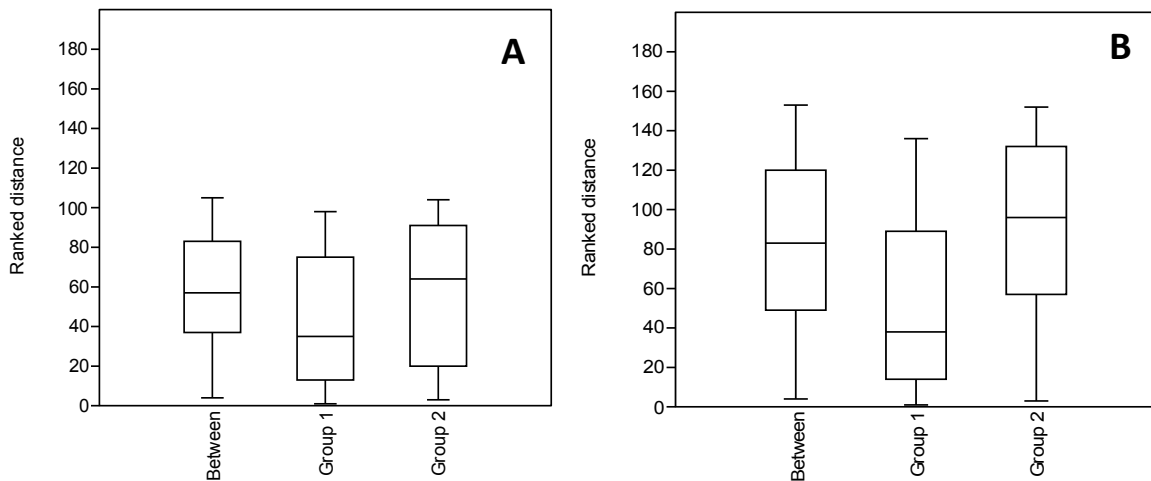
**Figura 13.** Heatmap basado en la composición de grupos funcionales. Utilizando el índice de Jaccard. La escala de colores indica la particularidad en la ocurrencia de una especie en un sistema dado, donde los colores mas rojos indican mayor particularidad (biomasas mas altas en lagos determinados).

Cabe destacar que, en los análisis siguientes no fue considerada Laguna del Diario debido a las características antes mencionadas.

En cuanto a la composición funcional, los resultados fueron similares a los obtenidos para la composición taxonómica, el análisis de similitud mostró diferencias significativas entre los sistemas claros y turbios (ANOSIM:  $R_A=0,2128$ ;  $p=0,0393$ ) (Figura 15A).



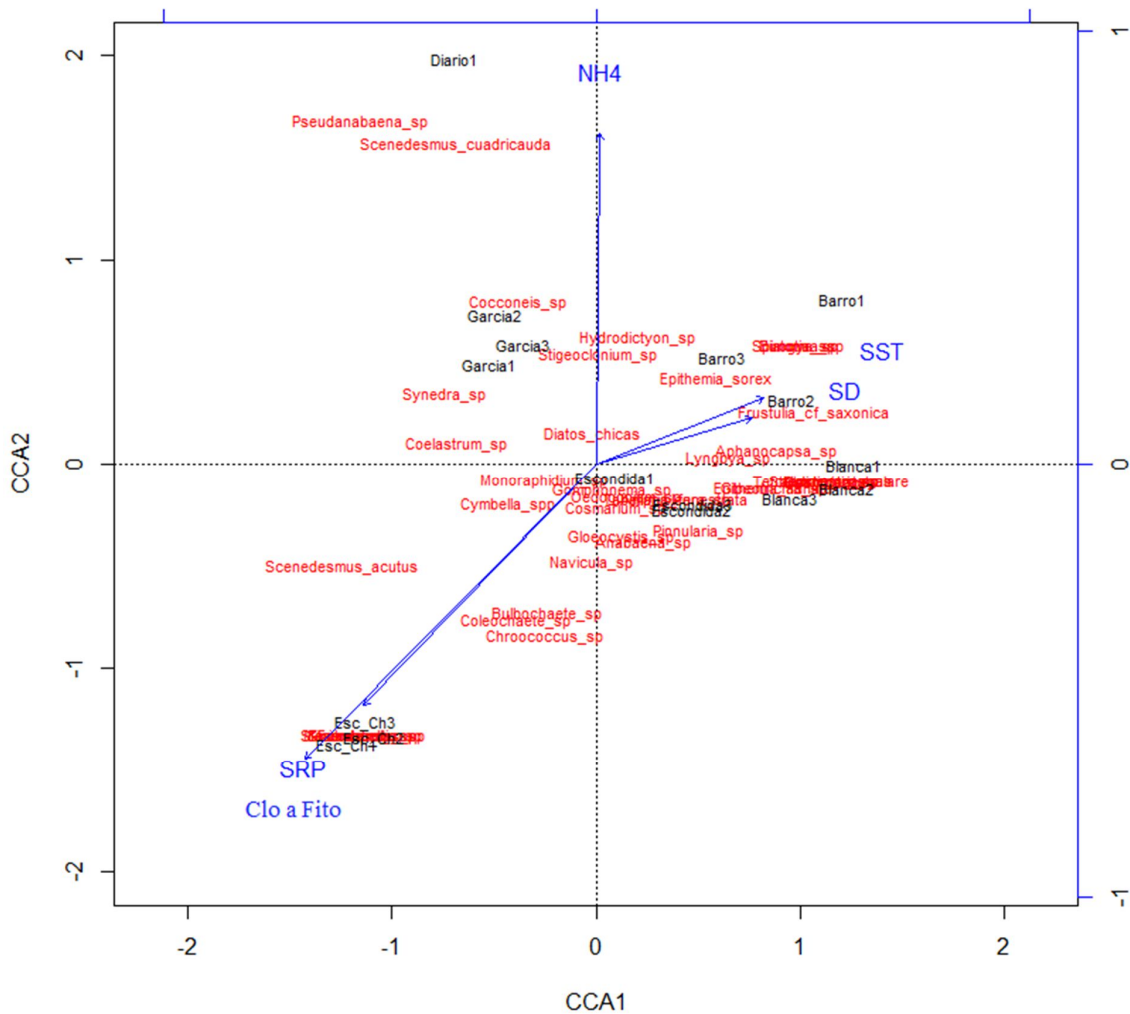
**Figura 14.** Box plot del análisis de similitud (ANOSIM) en base a la composición taxonómica de especies. A) Entre sistemas claros y turbios. Grupo 1: sistemas turbios (Barro y Escondida Chica), Grupo 2: sistemas claros (Blanca, Escondida y García). B) Entre sistemas eutróficos e hipereutróficos. Grupo 1: sistemas hipereutróficos, Grupo 2: sistemas eutróficos.



**Figura 15.** Box plot del análisis de similitud (ANOSIM) en base a la composición de grupos funcionales, A) entre sistemas claros y turbios (Grupo 1: sistemas turbios, Grupo 2: sistemas claros). B) entre sistemas eutróficos e hipereutróficos (Grupo 1: sistemas hipereutróficos, Grupo 2: sistemas eutróficos).

Asimismo el análisis de similitud fue significativo al comparar los sistemas eutróficos vs hipereutróficos, pero utilizando los datos sin estandarizar (ANOSIM:  $R_A=0,1612$ ;  $p=0,041$ ) (Figura 15B).

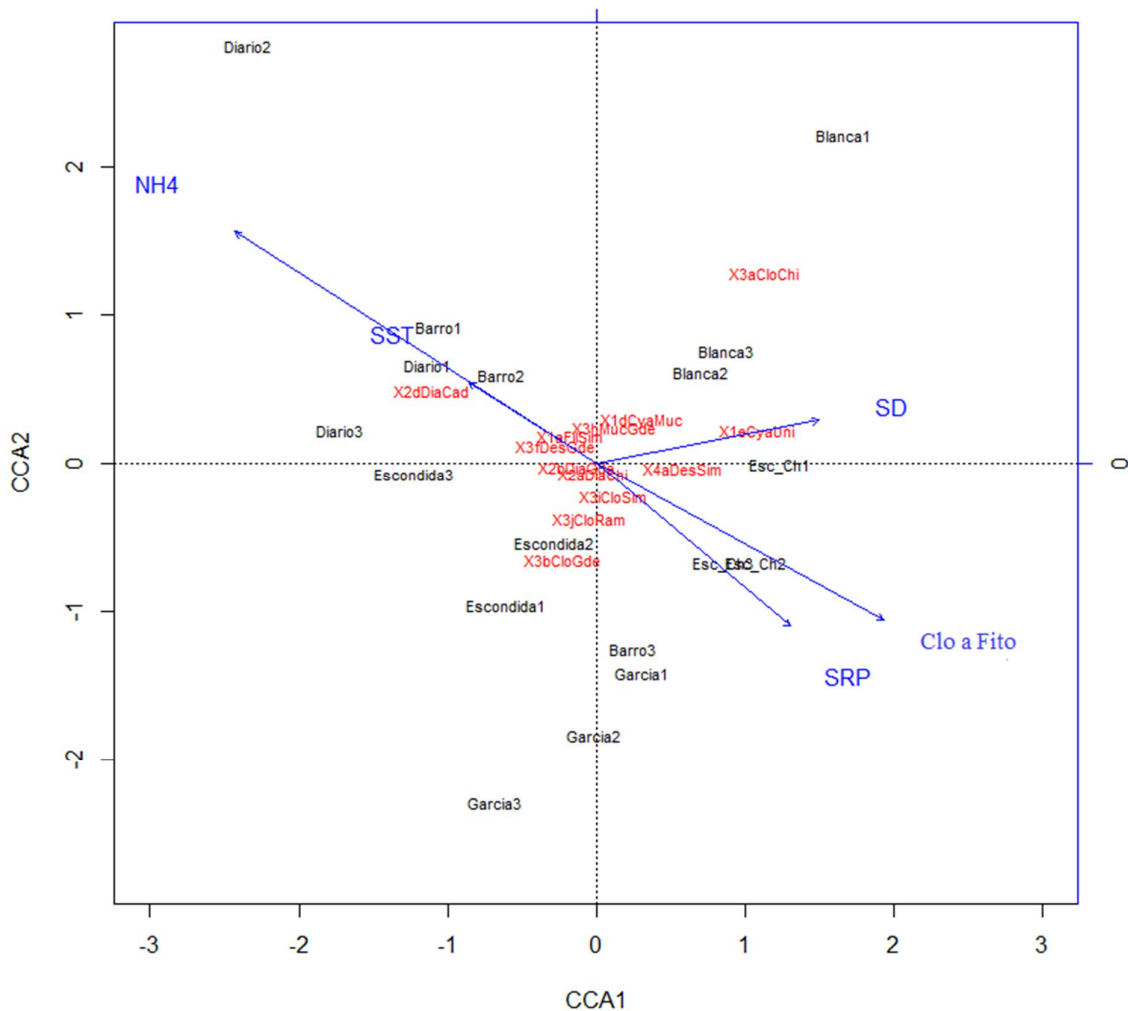
El análisis de correspondencia canónica basado en la composición taxonómica de especies indicó que las variables ambientales consideradas (NH<sub>4</sub>, SRP, SST, DS y Clo a fito) fueron los factores que explicaron la composición taxonómica del perifiton, explicando el 63,3% de la varianza total ( $\lambda_1 = 41,16\%$  y  $\lambda_2 = 28,14\%$ ).



**Figura 16.** Triplot del análisis de correspondencia canónica para la composición taxonómica de especies de perifiton, variables ambientales y sistemas estudiados. En los ejes se presentan las variables ambientales consideradas: DS= profundidad de disco de Secchi, SST= sólidos suspendidos totales, NH<sub>4</sub>= amonio, SRP= fósforo reactivo soluble, Clo a Fito= Clorofila a de fitoplancton. En rojo se representan las especies taxonómicas del perifiton fotosintético y en negro los nombres de los sistemas estudiados con sus respectivas réplicas.

Dicho modelo fue significativo con un  $F = 4,15;5$  y un  $p < 0,001$ . Se observó que la Clo a de fitoplancton se asoció con el SRP, y negativamente con la SST, transparencia (profundidad de DS) y  $NH_4$ . El lago turbio por fitoplancton (Escondida Chica) presentó asociación con altos valores de SRP y Clo a de fitoplancton, condiciones a las que se asociaron las especies *Staurastrum sp* y *Staurodesmus sp*. En el caso del lago turbio por resuspensión de sedimentos (Barro), se asoció a altos niveles de SST y bajo fitoplancton, donde se asocian a su vez las especies: *Epithemia sorex*, *Frustulia sp*. e *Hydrodyction sp*. Dentro de los lagos claros, García se asoció a altos valores de  $NH_4$ , mientras que Blanca y Escondida a altos valores de SD (Figura 16).





**Figura 17.** Plot del análisis de correspondencia canónica para la composición de grupos funcionales de perifiton, variables ambientales y sistemas estudiados. En los ejes se presentan las variables ambientales consideradas: DS= profundidad de disco de Secchi, SST= sólidos suspendidos totales, NH4= amonio, SRP= fósforo reactivo soluble, Clo a Fito= Clorofila a de fitoplancton. En rojo se representan los grupos funcionales del perifiton fotosintético y en negro los nombres de los sitios estudiados con sus respectivas réplicas.

El análisis de correspondencia canónica basado en la composición funcional mostró que las variables ambientales utilizadas (NH4, SRP, SST, DS y Clo a fito) fueron los factores que explicaron la composición funcional del perifiton con un 52,7% de la varianza total ( $\lambda_1 = 14,24\%$  y  $\lambda_2 = 7,35\%$ ). Dicho modelo fue significativo con un

$F=2,68;5$  y un  $p<0,001$ . Se observó, al igual que con la composición taxonómica, que la Clo a de fitoplancton se asoció en gran medida con el SRP y negativamente con el  $NH_4$  pero positivamente con la profundidad de DS. En el caso de la composición funcional (Figura 17) no se encontraron asociaciones claras de los grupos funcionales en relación a las lagunas ni a las variables ambientales utilizadas, a pesar de que el modelo fue significativo mostrando que la asociación en grupos funcionales no presentó una capacidad de discernimiento de las condiciones ambientales iguales o mayores a las de la aproximación taxonómica.

## **6. DISCUSIÓN**

Los resultados evidencian patrones generales en cuanto a la biomasa y composición del perifiton fotosintético. Los lagos claros presentan mayores biomasa de perifiton que aquellos turbios y de mayor estado trófico. Esto indica que ambos factores, el ambiente lumínico y el estado trófico son factores claves en el control de la biomasa del perifiton fotosintético en lagos someros de la costa Atlántica del Uruguay. Además, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la composición tanto taxonómica como funcional del perifiton entre sistemas claros y turbios, y a su vez pudieron observarse diferencias entre aquellos sistemas turbios por fitoplancton y turbios por resuspensión, que no se evidenciaron al analizar la biomasa. De acuerdo a ello, el análisis de la composición del perifiton, ya sea en términos taxonómicos como funcionales, permite evidenciar patrones subyacentes del perifiton en relación al estado trófico y el ambiente lumínico las cuales no serían observadas al analizar exclusivamente los patrones de biomasa entre tipos de sistemas. En cuanto a las aproximaciones de clasificación utilizadas para analizar la composición, la clasificación taxonómica presentó un mayor nivel de asociación con

las variables ambientales consideradas en relación a la aproximación de grupos funcionales propuesta.

### 6.1 Patrones de biomasa del perifiton fotosintético

Los resultados obtenidos en relación a la biomasa se corresponderían con lo encontrado por Sánchez *et al.* (2010) para lagos someros en Argentina, quienes encontraron que en lagos turbios, la limitación lumínica causada por el fitoplancton determina una biomasa de la comunidad perifítica baja, mientras que en lagos claros vegetados el perifiton alcanzaba mayores biomásas. Sin embargo, a diferencia del estudio anterior, se observó que tanto los lagos turbios por fitoplancton como los turbios por sólidos suspendidos presentaron biomásas de perifiton bajas, evidenciando que la turbidez es un factor clave en la determinación de la biomasa de perifiton. Estos resultados sugieren que la biomasa del perifiton fotosintético está controlada en gran medida por la disponibilidad de luz. Este mismo patrón fue evidenciado en otros estudios, por ejemplo Stephens *et al.* (2012) encontraron que la disponibilidad lumínica es el principal factor limitando el crecimiento del perifiton en un arroyo en Hawái. Por otro lado, si bien estos resultados coinciden con lo esperado existiendo biomásas menores a altos valores de turbiedad, en situaciones de baja turbiedad la biomasa no necesariamente resultó alta, existiendo una mayor variabilidad. Esto reafirma la idea de que la disponibilidad lumínica sería el principal factor que controla la biomasa de perifiton en situación de alta turbiedad, mientras que a baja turbiedad hay muchos otros controles que podrían estar generando las diferencias en biomasa (Biggs *et al.*, 2000; Liboriussen *et al.*, 2005). Cabe destacar que en este estudio no se tuvieron en cuenta otros posibles controles que pudieran estar actuando en conjunto con la turbiedad, como la herbivoría, tasa de sedimentación, entre otros.

El mismo patrón se observó con respecto al estado trófico, los lagos de mayor estado trófico (hipereutróficos) presentaron menores biomasa que aquellos de menor estado trófico. Esto se corresponde con lo encontrado por McCormick *et al.* (1998), quienes determinaron que la eutrofización resulta en la disminución de la biomasa de perifiton y por tanto de su contribución a la producción primaria. Sin embargo, Liboriussen & Jeppesen (2006) encontraron que la concentración de nutrientes es un predictor pobre de la biomasa de perifiton en lagos someros y que la biomasa presentó situaciones variables con los mayores valores en el rango de los 60 a 200µg.L<sup>-1</sup> TP. En este sentido las diferencias en cuanto a la biomasa de perifiton en lagos de distinto estado trófico pueden deberse a los efectos secundarios de la eutrofización, como la baja disponibilidad lumínica, más que al efecto directo del aumento en la concentración de nutrientes.

Los patrones de biomasa fueron evidenciados al utilizar el estimador de biomasa Clo a de perifiton, pero al utilizar otros estimadores de biomasa este patrón no resultó tan claro. Esto podría deberse a que el PSLC puede incluir organismos no fotosintetizadores que forman parte del perifiton, por ejemplo las grandes cantidades de mucilago presentes en algunos grupos.

Como era esperado, las biomasa de perifiton fotosintético registradas fueron menores en los lagos de mayor nivel trófico. Sin embargo, en trabajos previos se observó que la limitación por nutrientes para el crecimiento del perifiton solo se evidencia en lagos muy poco productivos, mientras que en lagos muy productivos (donde el fitoplancton tiene acceso a los nutrientes) el perifiton fotosintético estaría limitado por la cantidad de luz disponible (Hansson, 1992). Cabe destacar que todos los sistemas estudiados presentaron altas concentraciones de nutrientes, clasificándose como eutróficos o hipereutróficos. Es decir que dentro de los

sistemas estudiados la productividad es suficiente para que el perifiton fotosintético no se encuentre limitado por nutrientes, pero sí por la disponibilidad lumínica como se explicó anteriormente. En este sentido, Sierszen *et al.* (2003) sugieren que la importancia del perifiton como productor primario en lagos árticos se debe a la extrema oligotrofia de esos sistemas, que resulta en recursos planctónicos insuficientes para soportar consumidores.

Los resultados tanto en relación a la turbiedad como al estado trófico coinciden con lo encontrado en otros trabajos, donde se establece que al aumentar el estado trófico aumenta la biomasa de fitoplancton y por lo tanto disminuye la transparencia del agua, que afecta negativamente al perifiton (Hansson 1992; Vadeboncouer *et al.*, 2001). De esta manera, la interacción entre la luz y los nutrientes, así como la importancia relativa de estos factores en los lagos someros de diferente estado trófico y turbidez podrían explicar los distintos patrones observados respecto a la biomasa de la comunidad perifítica. En este sentido, Hill & Fanta (2008) presentaron evidencia de la co-limitación de estos dos factores en el crecimiento del perifiton fotosintético. Nuestros resultados indican además niveles tróficos más altos asociados a una mayor turbiedad, tanto mayor presencia de fitoplancton pero también asociado a la resuspensión como en el caso de Laguna del Barro, por tanto una limitación lumínica para el perifiton en aquellos sistemas de mayor nivel trófico. Esto indicaría que en la conjunción de factores asociados (estado trófico y luz) la disponibilidad lumínica se asocia al estado trófico y es el principal condicionante de la biomasa perifítica.

Por otro lado, los lagos claros, con más luz disponible para el proceso de fotosíntesis, presentaron una comunidad perifítica mayormente autotrófica, mientras que aquellos turbios, con poca luz disponible presentaron una comunidad perifítica

heterotrófica predominante, así como lo observado en estudios previos para lagos subtropicales (Sánchez *et al.*, 2010). En el caso de los sistemas turbios, fue más evidente en el lago turbio por sólidos resuspendidos que en el lago turbio por fitoplancton, el cual quedó en el límite considerado (límite inferior IA=50). Esto puede deberse a que si bien la limitación lumínica condiciona una comunidad dominada por el componente heterotrófico, otro componente involucrado en la composición de la comunidad es la gran cantidad de material orgánico no vivo proveniente de la columna de agua que se hunde y pasa a formar parte de la comunidad adherida, como es el caso del sistema turbio por sólidos resuspendidos. En el caso de la composición perifítica del lago turbio por fitoplancton, parte de esta comunidad puede pasar a formar parte del perifiton (pseudoperifiton) (Goldsborough & Robinson, 1996). En este sentido, los valores tan altos de IA en Laguna del Barro probablemente se deban a la gran cantidad de materia orgánica en la columna de agua debido a la resuspensión de sedimentos, ya que valores mayores a 100 indicarían el aumento en la proporción de detritus orgánico (Lowe & Pan, 1996; Sanchez *et al.*, 2010; Pizarro & Alemanni, 2005).

En el marco de lo establecido en la teoría de estados estables alternativos y el rol del perifiton en la estabilización de los estados estables alternativos las mayores biomásas de perifiton en lagos altamente vegetados podría indicar una situación similar a la descrita por Phillips *et al.* (1978) donde en estados de aguas claras y alta cobertura sumergida, el perifiton puede desarrollarse en gran medida, pudiendo desencadenar el colapso de la vegetación sumergida. En este sentido Laguna Blanca, la cual es una Laguna clara con alta densidad de macrófitas sumergidas, fue la que presentó las mayores biomásas de perifiton fotosintético de todo el set de lagos. Asimismo esta Laguna presentó una alta dominancia de cianobacterias, esto

en el marco dicha teoría podría además explicarse como una respuesta al aumento del estado trófico.

## 6.2 Composición taxonómica y funcional del perifiton fotosintético

La composición taxonómica mostró diferencias significativas en relación al estado trófico y ambiente lumínico como se esperaba según la hipótesis de trabajo. Se encontró que en todos los sistemas predominó el componente de Chlorophyta, principalmente Chlorophyta filamentosas, las cuales suelen ser dominantes de la comunidad perifítica en rangos de nutrientes intermedios (Liboriussen & Jeppesen, 2006). Asimismo las diatomeas (Bacillariophyta) estuvieron presentes en todos los sistemas estudiados, aunque en biovolúmenes menores. Estos grupos algales son característicos del perifiton ya que poseen diferentes estructuras de fijación que le permiten adherirse a los sustratos (e.g. pies y almohadillas de mucílago). En particular, el rafe de las diatomeas les permite adherirse a sustratos y moverse dentro de la matriz perifítica cuando varían las condiciones ambientales (Stevenson, 1996). Los lagos claros estuvieron dominados por especies de Chlorophyta filamentosas (e.g. *Oedogonium sp.*, *Bulbochaete sp.*, *Stigeochlonium sp.*), seguidas de especies de cianobacterias también filamentosas (e.g. *Gloeotrichia sp.*, *Lyngbya sp.*). Esto coincide con lo establecido por Goldsborough & Robinson (1996), quienes señalan que los principales grupos de perifiton presentes en los ensamblajes de las comunidades adheridas de los humedales son típicamente las diatomeas, Chlorophyta y las cianobacterias.

A diferencia de lo esperado por Hill (1996), los sistemas turbios no estuvieron dominados por el grupo Bacillariophyta y Cyanophyta (grupos adaptados a tolerar bajas intensidades lumínicas), sino que estos presentaron, además de dominancia

de Chlorophyta, gran proporción de organismos del phylum Charophyta (principalmente Desmidiaceae). En el caso del lago turbio por altas biomasa fitoplanctónicas (Escondida Chica) este patrón puede deberse a la presencia de especies fitoplanctónicas desmidiales que quedaron adheridas a la matriz perifítica, como suele ocurrir en sistemas someros donde los hábitat pelágico y bentónico se solapan (Goldsborough & Robinson, 1996). Sin embargo en el caso del lago turbio por sólidos resuspendidos, la explicación de la presencia de este mismo patrón no es tan claro, pero podría estar asociado a que la gran mezcla de la columna de agua no permitiría el desarrollo y establecimiento de dos comunidades microalgales bien diferenciadas, registrándose muchas especies planctónicas en las muestras perifíticas.

Al considerarse la composición perifítica, se observaron patrones que no pudieron ser detectadas al analizar exclusivamente los patrones generales de biomasa. Como se explicó anteriormente, los resultados en relación a la biomasa presentaron diferencias significativas entre claros y turbios sin importar el origen de la turbiedad, mientras que al analizar la composición taxonómica si hubo diferencias entre los sistemas turbios por fitoplancton vs turbios por resuspensión. En este sentido, la composición de la comunidad perifítica del sistema turbio por fitoplancton (Escondida Chica) presentó dominancia de grupos fundamentalmente fitoplanctónicos como *Staurastrum sp*, *Stauroidesmus sp*, entre otros. Probablemente estas especies se encontraron dentro del perifiton embebidas en la matriz mucilaginosa y no por presentar adaptaciones a la vida bentónica. Esto es típico de lagos someros, debido a que no existe un límite estricto entre los hábitat pelágicos y bentónicos (Goldsborough & Robinson, 1996). Estos resultados deben ser considerados sin embargo en referencia a un solo lago en cada condición de



turbiedad, dentro de los lagos analizado, por lo cual sería necesario profundizar el análisis de estos patrones en otros lagos con similares condiciones lumínicas.

Por otro lado la composición de grupos funcionales no mostró resultados evidentes en relación al ambiente lumínico, probablemente debido a que al ser menos grupos que los taxonómicos estos se encuentran representados en prácticamente todos los sistemas analizados, no permitiendo así ver diferencias significativas en cuanto a la composición funcional. Los resultados no permiten aceptar la hipótesis planteada, donde se establecía que la clasificación funcional presentaría una alta capacidad predictiva en comparación con la clasificación clásica (taxonómica). En este trabajo, la clasificación funcional no permitió evidenciar patrones composicionales, los cuales sí pudieron ser observados a través de la clasificación taxonómica. Esto difiere de lo encontrado por Pacheco (2016) quienes encontraron que esta misma clasificación funcional exhibió una alta capacidad predictiva, similar a la obtenida mediante la clasificación taxonómica clásica. Esto puede deberse, o bien a que la clasificación utilizada no es del todo correcta para analizar patrones composicionales comunitarios, o bien a que no resultó adecuada para las condiciones y gradientes ambientales que se analizaron en este estudio. En este sentido, el presente trabajo consideró un gradiente ambiental acotado, con lagos eutróficos e hipereutróficos y un solo sistema turbio por fitoplancton y otro turbio por resuspensión. Esto pudo condicionar la predictibilidad del sistema de clasificación funcional para el perifiton, ya que en el trabajo donde se propone esta clasificación (Pacheco 2016) el set de lagos utilizado es más amplio (16 lagos) y con un gradiente ambiental también más amplio. Cabe destacar que los grupos utilizados en la clasificación funcional fueron generados a partir de la mayor cantidad de datos que se pudo disponer y de algunos atributos morfológico-taxonómicos lo cual

determina un esquema sencillo que puede ser mejorado incluyendo otros atributos y disponiendo de una mayor cantidad de datos. De todas formas este tipo de clasificación constituye un primer acercamiento a la identificación de patrones de composición funcional que debe ser testeado en otros sistemas. Si bien la aproximación funcional ha sido considerada de suma importancia en el estudio de gradientes ambientales, presentando mayor asociación que la composición taxonómica (McGill *et al.*, 2006), en el presente estudio, la conjunción de otros factores que no hayan sido considerados como grado de herbivoría (Steinman, 1996) o los disturbios físicos (Steinman & McIntire, 1990) podrían estar influenciando la composición a nivel de los atributos funcionales considerados pero no así en relación al estado trófico o turbiedad.

Por otro lado cabe destacar la existencia de métodos nuevos que podrían utilizarse a modo de mejorar la clasificación utilizada. Estos métodos permiten identificar cuáles son los rasgos más importantes definidos por la variabilidad ambiental. Entre ellos se distingue el RLQ analysis (Dolédec *et al.*, 1996) y Machine Learning models. Sin embargo, este tipo de métodos requiere una gran cantidad de información base acerca de las características ambientales y composición de perifiton para analizar con significancia estadística los patrones que asocian los rasgos a las variables ambientales.

### 6.3 Excepción a los patrones

Un caso particular representó Laguna del Diario, donde no se cumplieron los patrones descritos previamente. Las diferencias registradas para este sistema, posiblemente derivan de su particular funcionamiento, fundamentalmente la alta cobertura de vegetación sumergida y un programa sistemático de cosecha

mecánica. Si bien las condiciones fisicoquímicas y biológicas de este lago lo ubicaron en estado de aguas claras, éste presentó biomasa muy bajas y composición de perifiton característica de estado de agua turbia. Este patrón, podría asociarse a que se trata de un sistema con una fuerte limitación por nutrientes y luz (la mayor parte del tiempo) debido a una cobertura extrema de vegetación sumergida. Además Laguna del Diario presentó una composición predominante heterotrófica (típica de sistemas turbios), esto también puede sustentar lo mencionado anteriormente, teniendo en cuenta la gran producción de materia orgánica de la vegetación sumergida, que probablemente se acumula en la comunidad perifítica asociada a la vegetación. En este sentido Giorgi & Feijoó (2010) encontraron para un arroyo pampeano que los cambios en la biomasa de perifiton se relacionan con los factores que afectan al desarrollo de heterótrofos y autótrofos tales como las lluvias, velocidad del agua, temperaturas y biomasa de macrófitas.

## **7. CONCLUSIONES**

En el presente estudio pudieron evidenciarse patrones de biomasa y composición del perifiton fotosintético en relación a un gradiente de estado trófico y turbiedad en 6 lagos someros subtropicales de la costa uruguaya, en los cuales no se contaba con información previa al respecto. Estos resultados pueden aportar al entendimiento del funcionamiento de estos sistemas así como a un mayor conocimiento de los patrones ecológicos del perifiton fotosintético en lago someros subtropicales, donde la información continúa siendo escasa.

Los resultados de este estudio indicarían que en estos lagos, la biomasa de perifiton estaría condicionada por la disponibilidad lumínica, mientras que la composición

estaría particularmente influenciada por el estado trófico y la biomasa fitoplanctónica.

Por otra parte, si bien el uso de grupos funcionales no resultó tan explicativo como la aproximación taxonómica en este estudio, es necesario evaluar este tipo de aproximaciones funcionales en relación a gradientes ambientales mayores y en consideración de otros controles no considerados en este estudio, como ser los diferentes tipos de herbivoría ejercidos por macroinvertebrados o peces.

## **9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

APHA, American Public Health Association, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters. Washington DC.

Balls, H., B. Moss & K. Irvine, 1989. The loss of submerged plants with eutrophication. I. Experimental design, water chemistry, aquatic plant and phytoplankton biomass in experiments carried out in ponds in the Norfolk Broadland. *Freshwater Biology*, 22: 71-87.

Bicudo, D.C., 1990. Considerações sobre metodologias de contagem de algas do perifiton. *Acta Limnológica Brasiliensis*, 3: 459-475.

Biggs, B. J., & C. Kilroy, 2000. Stream periphyton monitoring manual. Niwa.

Biggs, B.J.F., S.N. Francoeur, A.D. Huryn, R. Young, C.J. Arbuckle & C.R. Townsend, 2000. Trophic cascades in streams: effects of nutrient enrichment on autotrophic and consumer benthic communities under two different fish predation regimes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67(7): 1380– 1394.

- Brönmark, C., J. Brodersen, B.B. Chapman, A. Nicolle, P.A. Nilsson, C. Skov & L.A. Hansson, 2010. Regime shifts in shallow lakes: the importance of seasonal fish migration. *Hydrobiologia* 646(1): 91-100.
- Bourelly P. (1972) Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome I: Les algues vertes. Editions N. Boubée & Cie, Paris, 572 pp
- Bourelly P. (1981) Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tome II: Les algues jaunes et brunes. Chrysophycées, Phéophycées, Xanthophycées et Diatomées. Société Nouvelle des éditions Boubée, Paris, 517 pp
- Burliga, A.L. & A. Schwarzbald, 2013. Perifiton: Diversidade Taxonomica e Morfológica. En: Schwarzbald, A., A.L. Burliga, L.C. Torgan (eds). Ecología do perifiton. Sao Carlos (SP).
- Carlson, R.E., 1977. Atrophic state index for lakes. *Limnology & Oceanography* 22, 361-369.
- Clarke, K. R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Austral ecology*, 18(1): 117-143.
- Casco M. A., Mac Donagh M. E., Cano M. G., Solari L. C., Claps M. C. y Gabellone N. A., 2009. Phytoplankton and epipelon responses to clear and turbid phases in a seepage lake (Buenos Aires, Argentina). *Hydrobiologia*. 94: 153-168
- Dodds, W.K., 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic system. *Journal of Phycology* 39: 840-849.

- Dolédec, S., D. Chessel, C.J.F. ter Braak, S. Champely, 1996. Environmental and Ecological Statistics (3): 143-166.
- Eaton, A.D, L.S. Clesceri & A.F. Greenberg, 1995. Standard methods for the examination of water and freshwater. Washington: American Public Health Association.
- Franceschini, I.M. 2013. Chave de identificacao dos generos de algas (exceto Bacillariophyceae) mais comumente encontrados no perifiton e metafiton de ambientes aquaticos continentais. En: Ecologia do Perifiton. Editorial RiMa. Sao Carlos, SP.
- García-Rodríguez, F., P. Sprechmann, D. Metzeltin, L. Scafati, D.L. Melendi, W. Volkheimer, N. Mazzeo, A. Hiller, W.Jr. von Tumpling & F. Scasso, 2004. Holocene trophic state changes in relation to sea level variation in lake Blanca, SE Uruguay. *Journal of Paleolimnology*, 31: 99-115.
- Giorgi, A. & C. Feijoó, 2010. Variación temporal de la biomasa de perifiton de *Egeria densa* Planc. en un arroyo pampeano. *Limnetica* 29 (2): 269-278.
- Glodsborough, L.G. & G.G.C. Robinson, 1996. Pattern in wetlands. In: Stevenson, R.J., M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds). Algal ecology: freshwater bentic ecosystems. San Diego: Academic Press, 78-117.
- Hansson, L.A., 1988. Effects of competitive interactions on the biomass development of planktonic and periphytic algae in lakes. *Limnology & Oceanography* 33 (1): 121-128.

- Hansson, L.A., 1992. Factors regulating periphytic algal biomass. *Limnology & Oceanography* 37(2): 322-328.
- Hargeby, A., I. Blindow & L.A. Hansson, 2004. Shifts between clear and turbid states in a shallow lake: multicausal stress from climate, nutrients and biotic interactions. *Archiv für Hydrobiologie* 161: 433-454.
- Hill, W.R., 1996. Factors affecting benthic algae. En: Stevenson, R.J., M.L. Bothell & R.L. Lowe. (eds). Algal ecology, freshwater benthic ecosystem. Academic press, London. 121-148.
- Hillebrand, H., C.D. Durselen, D. Kirschtel, U. Pollinger & T. Zohary, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journey of phycology*. 35: 403-424.
- Jeppesen, E., M. Søndergaard & K. Christoffersen, 1998. The structuring role of submerged macrophytes in lakes. Springer-Verlag, New York, USA.
- Jespersen, A.M & K. Christoffersen, 1987. Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Hydrobiologia* 109 (3): 445-454.
- Jones, J.I., J.O. Young, J.W. Eaton & B. Moss, 2002. The influence of nutrient loading, dissolved inorganic and higher trophic levels on the interaction between submerged plants and periphyton. *Journal of Ecology* 90: 12-24.
- Koroleff, F., 1970. Revised version of direct determination of ammonia of natural waters as indophenol blue. Int. Con. Explor. Sea C.M 1969/C9. ICES, Information on techniques and methods for sea water analysis. *Interlab. Rep.* 3:19-22.

- Kruk, C., L. Rodríguez-Gallego, M. Meerhoff, F. Quintans, G. Lacerot, N. Mazzeo, F. Scasso, J.C. Paggi, E.T.H.M. Peeters & M. Scheffer, 2009. Determinants of biodiversity in subtropical shallow lakes (Atlantic coast, Uruguay). *Freshwater Biology* 12: 2628-2641.
- Libouriussen, L. & E. Jeppesen, 2003. Temporal dynamics in epipelagic, pelagic and epiphytic photosynthetic production in a clear and turbid shallow lake. *Freshwater Biology* 48: 418-431.
- Libouriussen, L., E. Jeppesen, M.E. Bramm & M.F. Lassen, 2005. Periphyton-macroinvertebrate interactions in light and fish manipulated enclosures in a clear and a turbid shallow lake. *Aquatic Ecology* 39: 23-39.
- Libouriussen, L. & E. Jeppesen, 2009. Periphyton biomass, potential production and respiration in a shallow lake during winter and spring. *Hydrobiologia* 636 (1): 201-210.
- Lowe, R. & Y. Pan, 1996. Benthic algal communities as biological monitors. 705-739. in: Stevenson, R.J., M.L. Bothwell & R.J. Lowe (Eds.). *Algal ecology. Freshwater Benthic Ecosystems*. Academic press. San Diego, New York, Boston, Sydney, Tokio, Toronto, 753 pp.
- Ludwig, T.A.V. & P.I. Tremarin, 2013. Chave de identificação dos gêneros de diatomáceas (Diatomeae – Ochrophyta) mais comumente encontrados no perifiton e metafiton de ambientes aquáticos continentais. En: *Ecologia do Perifiton*. Editorial RiMa. São Carlos, SP
- Mazzeo, N., F. García-Rodríguez, A. Rodríguez, G. Méndez, C. Iglesias, H. Inda, G. Goyenola, S. García, C. Fosalba, S. Marroni, C. Crisci, L. del Puerto, J.



Clemente, J.P. Pacheco, C. Carballo, A. Kroger, M. Vianna, M. Meerhoff, M. Steffen, J.J. Lagomarsino, M. Masdeu, N. Vidal, F. Teixeira de Mello, I. González & D. Larrea, 2010. Estado trófico de Laguna del Sauce y respuestas asociadas. Pags. 31-51. En: Bases técnicas para el manejo integrado de Laguna del Sauce y cuenca asociada. H. Inda & M. Steffen editores. 150pp.

McCormick, P.A. & M.B. O'Dell, 1996. Quantifying periphyton responses to phosphorus in the Florida Everglades: a synoptic-experimental approach. *Journal of the North American Benthological Society*, Schamburg, 15 (4): 450-468.

Mc Gill, B.J., B.J. Enquist, E. Weiher & M. Westoby, 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21 (4) 178-184.

Meerhoff, M., C. Fosalba, C. Bruzzone, N. Mazzeo, W. Noordoven & E. Jeppesen, 2006. An experimental study of habitat choice by *Daphnia*: plants signal danger more than refuge in subtropical lakes. *Freshwater Biology* 51: 1320-1330.

Murakami E. A., D.C. Bicudo & L. Rodrigues, 2009. Periphytic algae of the Garças Lake, Upper Paraná River floodplain: comparing the years 1994 and 2004. *Brazilian Journal of Biology*. 69: 459-468.

Müller, R. & O. Wiedemann, 1955. Die Bestimmung des Nitrat-Ions in Wasser. *Von Wasser* 22: 247.

- Murphy, J. & J.P. Riley, 1962. A modified single-solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta* 27: 31-36.
- Pacheco, J.P., 2016. Efectos de la estructura trófica sobre el fitoplancton y perifiton en lagos someros subtropicales y templados. Tesis de maestría en PEDECIBA - Ecología. Universidad de la República. 132pp.
- Pacheco, J.P., C. Iglesias, M. Meerhoff, C. Fosalba, G. Goyenola, F. Teixeira de Mello, S. García, M. Gelós & F. García-Rodríguez, 2010. Phytoplankton community structure in five subtropical shallow lakes with different trophic state (Uruguay): a morphology based approach. *Hydrobiologia* 646 (1): 187-197.
- Padisak, J., L.O. Crossetti & L. Naselli-Flores, 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*. 621 (1): 1-19.
- Phillips, G.L., D. Eminson & B. Moss, 1978. A mechanism to account for macrophyte decline in progressively eutrophicated freshwaters. *Aquatic Botany* 4: 103-126.
- Ploner, A., 2012. Heatplus: Heatmaps with row and/or column covariates and colored clusters. *R package version*, 2(0).
- R Core Team, 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

- Rodrigues, L. & D.C. Bicudo, 2001. Similarity among periphyton algal communities in a lentic- lotic gradient of the upper Paraná river floodplain, Brazil. *Revista brasileira de Botanica* 24: 235-248.
- Rodrigues, L., V.M. Algarte, N.S. Siqueira & E.M.N. Machado, 2013. Fatores envolvidos na distribuição e abundância do perifiton e principais padrões encontrados em ambientes de planícies de inundação. En: *Ecologia do Perifiton*. Editorial RiMa. São Carlos, SP.
- Salmaso, N. & J. Padisák, 2007. Morpho-Functional Groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578: 97-112.
- Sanchez, M.L., H. Pizarro, G. Tell & I. Izaguirre, 2010. Relative importance of periphyton and phytoplankton in turbid and clear vegetated shallow lakes from the Pampa Plain (Argentina): a comparative experimental study. *Hydrobiologia* 646: 271-280.
- Sayer, C.D, T.A Davidson & J.I. Jones, 2010. Seasonal dynamics of macrophytes and phytoplankton in shallow lakes: a eutrophication-driven pathway from plants to plankton? *Freshwater Biology* 55: 500-513.
- Scheffer, M., S. Hosper, M. Meijer, B. Moss & E. Jeppesen, 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 275-279.
- Scheffer, M. & E. Van Nes, 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia* 584 (1): 455-466.

- Sierszen, M.E., M.E. McDonald & D.A. Jensen, 2003. Benthos as the basis for arctic lake food webs. *Aquatic Ecology* 37: 437–445.
- Steinman, A.D. & C.D. McIntire, 1987. Effects of irradiance on the community structure and biomass of fotosintético assemblages in laboratory streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 1640–1648.
- Steinman A. D., J. P. Mulholland & R.W. Hill, 1992. Functional responses associated with growth form in stream algae. *Journal of the North American Benthological Society* 11(2): 229-243.
- Stevenson R. J., 1996. An introduction to algal ecology in freshwater benthic habitats. En: Stevenson R. J., M.L. Bothwell & R.L. Lowe (eds.) *Algal Ecology, freshwater benthic ecosystems*. Academic Press, Londres 3-30.
- Suzuki, R., & Shimodaira, H., 2006. Pvclust: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. *Bioinformatics*, 22 (12): 1540-1542.
- Uhelinger, V., 1964. Étude statistique des méthodes de dénombrement planctonique. *Archive de Science* 17 (2): 121–123.
- Ütermohl, H., 1958. Zur vervollkommung der quantitativen phytoplanktonmethodik. *Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1-38.
- Vadeboncoeur, Y., D.M. Lodge & S.R. Carpenter, 2001. Whole-lake fertilization effects on distribution of primary productions between benthic and pelagic habitats. *Ecology* 82: 1065-1077.

- Vadeboncoeur, Y., M.J. Vander Zanden & D.M. Lodge, 2002. Putting the lake back together: reintegrating benthic pathway into lake food web models. *BioScience* 52:44- 54.
- Vadeboncoeur, Y. & A. Steinman, 2002. Periphyton function in lake ecosystems. *The Scientific World Journal* 2: 1449-1468.
- Vadeboncoeur, Y., G. Peterson, M.J. Vander Zanden & J. Kalff, 2008. Benthic photosynthetic production across size lake gradients: interactions among morphometry, nutrients and light. *Ecology* 89 (9): 2543-2552.
- Valderrama, J.C., 1981. The simultaneous analysis of total N and total P in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109-122.
- Van Luijn, F., D.T. Ban der Molen, W.J. Luttme & P.C.M. Boers, 1995. Influence of benthic diatoms on the nutrient release from sediments of shallow lakes recovering from eutrophication. *Water Science and Technology* 32: 89-97.
- Vanderstukken, M., N. Mazzeo, W. Van Colen, S.A.J. Declerck & K. Muylaert, 2011. Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illinoensis*: a mesocosm study. *Freshwater Biology* 56: 1837-1849.
- Wetzel, R. G., 1983. Opening remarks. En: Wetzel R. G. (ed.) *Periphyton of Freshwater Ecosystems*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, Netherlands, 346.
- Wetzel, R.G., 2001. *Limnology: Lake and river ecosystems*. Academic Press. San Diego.