



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY



UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA  
Centro Universitario Regional Este

Tesis para optar al título de Magíster en Ciencias Biológicas, Subárea Ecología y Evolución

# DETERMINANTES METABOLICOS DE LA RELACION ENTRE DENSIDAD Y TAMAÑO CORPORAL EN EL PLANCTON

Lic. Lia Sampognaro (l.sampognaro@hotmail.com)

Director de Tesis: Dr. Angel Manuel Segura (asegura@cure.com)

Co-Director: Dr. Danilo Calliari (danilocalliari@gmail.com)

ROCHA, URUGUAY

2018

Universidad de la República

Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

Subárea Ecología y Evolución

La tesis de maestría “DETERMINANTES METABOLICOS DE LA RELACION ENTRE DENSIDAD Y TAMAÑO CORPORAL EN EL PLANCTON” de la Lic. Lia Sampognaro ha sido aprobada con Mención por la siguiente Comisión de Evaluación:

Dr. Matias Arim (CURE, UdelaR)

Dra. Claudia Piccini (IIBCE, MEC)

Dra. Lucia Ziegler (CURE, UdelaR)

Fecha: 10 de Julio de 2018

## AGRADECIMIENTOS

A Angel y Danilo por su apoyo, tiempo y dedicación en mi formación como investigadora.

A Matias, Claudia y Lucia por haber aceptado conformar el tribunal de la tesis y por sus aportes y sugerencias que contribuyeron a enriquecer el trabajo.

Al “Proyecto Inter-Institucional Algas” en el cual participaron el CURE, IIBCE y LATU y a todxs sus integrantes por brindar los datos para ser analizados en esta tesis.

A lxs Compañerxs del CURE.

Al CURE Rocha por ofrecer el espacio de trabajo y los laboratorios.

A la Universidad de la República y al programa PEDECIBA Ciencias Biológicas.

A la ANII por la financiación de la beca para realizar la maestría.

A mi familia de acá y de allá, a djur, a mis amis y los amigos.

# INDICE

<b>RESUMEN GENERAL</b> .....	<b>5</b>
PALABRAS CLAVE.....	5
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>7</b>
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>10</b>
<b>INTRODUCCION</b> .....	<b>12</b>
<b>METODOS</b> .....	<b>21</b>
APROXIMACIÓN GENERAL.....	21
ANÁLISIS ELECTRÓNICO DE ESTRUCTURA DE TAMAÑOS .....	24
ANÁLISIS DE DATOS .....	25
PREDICCIONES Y SUPUESTOS DE LA TME.....	28
TÉCNICA DE MICROSCOPIA TRADICIONAL, UTERMHÖL .....	30
MODELOS DE PREDICCIÓN .....	31
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
CARACTERIZACIÓN AMBIENTAL .....	33
ESTRUCTURA COMUNITARIA .....	40
ESPECTROS DE TAMAÑOS DE NANO Y MICRO PLANCTON.....	41
RELACIÓN CON LAS CONDICIONES AMBIENTALES.....	47
DESCRITORES DE LA COMUNIDAD FITOPLANCTÓNICA POR MICROSCOPIA TRADICIONAL.....	49
ESTRUCTURA DE TAMAÑOS DEL FITOPLANCTON .....	53
TÉCNICAS DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO PARA PREDECIR LA ESTRUCTURA DE TAMAÑOS .....	55
<b>DISCUSION</b> .....	<b>62</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>71</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>72</b>
<b>ANEXO I</b> .....	<b>85</b>

## RESUMEN GENERAL

Analizar como la variabilidad ambiental modula los mecanismos que estructuran las comunidades planctónicas es fundamental pues nos permite avanzar en la comprensión del funcionamiento de los ecosistemas acuáticos. Los patrones que relacionan la densidad con el tamaño corporal integran los principales atributos de la organización de las comunidades ecológicas. En el marco de la teoría metabólica de la ecología (TME) se predice que el efecto de condicionantes como la temperatura ambiental y/o la concentración de los recursos determinan el límite superior de la densidad poblacional. El presente trabajo describió la estructura de tamaños de comunidades planctónicas naturales (2 a 250  $\mu\text{m}$ ) en el continuo Río Uruguay-Río de la Plata analizando los mecanismos determinantes de la densidad máxima de individuos. Se evaluaron en el marco de la TME las predicciones específicas sobre las pendientes e interceptos de la relación densidad-tamaño comparando una base de datos extensa que abarcó las cuatro estaciones del año y una amplia gama de ecosistemas (embalse, río, estuario y estuario externo) con características ambientales contrastantes respecto a la hidrodinámica, temperatura, salinidad y turbidez. Las pendientes fueron más negativas que el  $-\frac{3}{4}$  esperado según las restricciones metabólicas, pero similares a lo esperado si la comunidad planctónica está compuesta por más de un nivel trófico (promedio=-1.2; rango=-1.9 a -0.86). Los interceptos no presentaron relación significativa con la temperatura ni la concentración de nutrientes (nitrógeno y fósforo inorgánicos disueltos) en los seis sitios analizados, no brindando apoyo a la TME. A nivel regional, la turbidez y el coeficiente de atenuación de la luz en la columna de agua se correlacionaron con pendientes más negativas e interceptos más elevados. Los resultados sugieren las variables asociadas al ambiente lumínico influyen en las estructuras de tamaños de las comunidades planctónicas y están condicionadas por la hidrodinámica y confluencia de aguas marinas y dulces en el área de estudio.

**Palabras clave:** teoría metabólica de la ecología, espectros de tamaños, comunidades planctónicas, sistema Río-Uruguay-Río de la Plata.

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AA:** Estación de muestreo en aguas abiertas; **CO:** Estación de muestreo en costa

**Analizador:** Se refiere al instrumento de conteo automático (o electrónico) de partículas

**DEE:** Diámetro esférico equivalente

**DMR:** Relación masa-densidad (siglas en inglés, Density-Mass Relationship)

**ISD:** Distribución de tamaño individual (siglas en inglés, Individual Size Distribution)

**K~M:** Relación entre el tamaño corporal (M) y densidad poblacional máxima (K)

**PPMR:** Relación de masa depredador-presa (siglas en inglés, Prey-Predator Mass Relationship)

**RP:** Río Paraná

**RU-RdIP:** Sistema Río Uruguay-Río de la Plata

**SG:** Salto Grande; **FB:** Fray Bentos; **CA:** Carmelo; **CO:** Colonia; **MO:** Montevideo; **MOAA:** Montevideo Aguas Abiertas; **MOCO:** Montevideo Costa; **PE:** Punta del Este

**TE:** Transferencia energética entre niveles tróficos

**TME:** Teoría metabólica de la ecología

**Uthermöl:** Se refiere a la técnica de conteo de fitoplancton por microscopía tradicional

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Sitios de muestreo a lo largo de un gradiente ambiental desde los sistemas correspondientes al embalse de Salto Grande hasta el límite exterior de las aguas estuarinas del Río de la Plata, incluyendo el código para cada sitio donde AA y CO corresponden a las estaciones aguas abiertas y costa respectivamente.....**23**

**Figura 2.** Cambios en profundidad (m; metros) de salinidad, temperatura (°C; grados Celsius) y fluorescencia (URF; unidades relativas de fluorescencia) medidos con CTD en la zona de aguas abiertas para los seis sitios de estudio en Junio del 2013. Los gráficos A y B corresponden al tipo de ambiente de embalse; C y D al río; E y F al ambiente estuarino incluyendo el estuario externo. A la izquierda (A, C y D), se observa el perfil físico de salinidad y temperatura; y a la derecha (B, D y F), el perfil de fluorescencia para cada tipo de ecosistema. Se distinguen los casos en que hubo diferencias de las variables analizadas entre sitios dentro de cada ambiente. Sitios: FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este.....**39**

**Figura 3.** Espectros representativos de la relación tamaño individual-densidad observada, tipo ISD, de comunidades planctónicas en escala  $\text{Log}_{10}$ , analizados para los extremos del gradiente geográfico ajustando el modelo óptimo. El gráfico A, representa el ajuste de un modelo lineal simple en la zona estuarina externa de Punta del Este. El gráfico B, un modelo segmentado con su valor del punto quiebre (PQ) en el tamaño corporal en el embalse de Salto Grande. Los círculos (o) corresponden a los datos estimados con el tamaño de orificio del analizador de partículas igual a  $95 \mu\text{m}$  y las cruces (+) al orificio de  $380 \mu\text{m}$ .....**42**

**Figura 4.** Distribución de las pendientes estimadas del espectro de tamaños de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; MOAA, Montevideo Aguas Abiertas; MOCO, Montevideo Costa; PE, Punta del Este. El gráfico A, representa todas las pendientes estimadas a partir del ajuste de los modelos estadísticos lineal y en segmentos (b). El gráfico B, representa las pendientes que corresponden al segmento previo al punto de quiebre

resultado del ajuste del modelo segmentado ( $b_2$ ). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N). La línea a rayas roja indica el valor de pendiente teóricamente esperado ( $-\frac{3}{4}$ ); la línea punteada negra indica el valor medio para el total de casos en cada gráfico respectivamente ( $b_1 \sim -1.2$ ;  $b_2 \sim -0.54$ ).....46

**Figura 5.** Distribución de los interceptos estimados del espectro de tamaños de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este. El gráfico representa los valores de densidad derivados del ajuste de un modelo lineal y en segmentos para la menor clase de tamaño cuando  $\text{Log}_{10}M=0.64$  (A). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N).....47

**Figura 6.** Variación regional del logaritmo de la densidad total  $\text{Log}_{10}(\text{Densidad}; \text{ind.mL}^{-1})$  a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este. El gráfico A, representa las estimaciones de densidad obtenidas del análisis con microscopía tradicional (Densidad Uthermö). El gráfico B, representa las estimaciones de densidad derivadas del instrumento de conteo electrónico de partículas (Densidad Analizador). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N).....50

**Figura 7.** Comparación del biovolumen total  $\text{Log}_{10}(\text{Biovolumen}; \mu\text{m}^3\text{mL}^{-1})$  entre las dos técnicas de conteo para los 72 casos analizados en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. El eje x, representa las estimaciones derivadas del instrumento de conteo electrónico de partículas (Biovolumen Analizador). El eje y, representa las estimaciones obtenidas del



análisis con microscopía tradicional (Biovolumen Uthermöl). La línea punteada representa la relación 1:1.....51

**Figura 8.** Comparación de las pendientes (gráfico A) e interceptos (gráfico B) (correspondientes a  $\beta$  y  $\alpha$  respectivamente en la ecuación 2 propuesta por la TME), derivados de los espectros de tamaños de comunidades planctónicas en los seis sitios analizados a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Los mismos corresponden aquellos casos que fueron significativos con las técnicas de microscopía tradicional (Pendientes Uthermöl e Interceptos Uthermöl) y los correspondientes a los mismos casos obtenidos del instrumento de conteo electrónico de partículas (Pendientes Analizador e Interceptos Analizador). Número de observaciones N=13. La línea punteada representa la relación 1:1.....55

**Figura 9.** Árbol de regresión óptimo para las pendientes (b) de la relación K~M. Cada nodo raíz e intermedio está representado por una variable ambiental, entre las que se incluyen: coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ , metros<sup>-1</sup>), salinidad, turbidez (NTU) y el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann ( $1/kT$ , kelvin; 39 kelvin~22°C). Los nodos finales detallan el promedio de la variable de respuesta (b) asociado a cada perfil de variables predictoras.....58

**Figura 10.** Árbol de regresión óptimo para los interceptos (A) de la relación K~M. Cada nodo raíz e intermedio está representado por una variable ambiental, entre las que se incluyen el coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ , metros<sup>-1</sup>), la salinidad, turbidez (NTU) y concentración de fósforo inorgánico disuelto ( $PO_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Los nodos finales detallan el promedio de la variable de respuesta (A) asociado a cada perfil de variables predictoras.....59

**Figura 11.** Distribución de errores de muestra de prueba para las tres aproximaciones estadísticas empleadas (GLM, CART y RF) para el caso de las pendientes (b) (gráfico A) e interceptos (A) (gráfico B) de la relación K~M. Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores detectados.....61

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Valores medios y rangos (mínimo-máximo) por sitios de las principales variables ambientales medidas en el sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Variables: sitio y tipo de ecosistema (embalse, río, estuario y estuario externo), profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ;  $\text{metros}^{-1}$ ) y concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ )). \*Ind=indetectable.....**34**

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) entre las variables fisicoquímicas analizadas a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. En negrita se destaca las correlaciones que fueron significativas. Las variables incluidas son: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ;  $\text{metros}^{-1}$ ) y concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), fósforo total ( $\text{P}_T$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), nitrógeno total ( $\text{N}_T$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y sílice ( $\text{SiO}_2$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 '.'. Número de observaciones en cada caso  $N=72$ .....**36**

**Tabla 3.** Valores medios y rangos de máximos de las variables estimadas mediante el análisis electrónico de los espectros de tamaño de comunidades planctónicas de seis sitios a lo largo del RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. El rango representa la diferencia de máximos observadas en las 12 estaciones con que cuenta cada sitio. Variables: diámetro esférico equivalente (DEE;  $\mu\text{m}$ ), tamaño individual ( $\mu\text{m}^3$ ), densidad observada (partículas  $\text{mL}^{-1}$ ) y biovolumen ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ )...**41**

**Tabla 4.** Resultados de los espectros de tamaños de comunidades planctónicas derivados del ajuste de modelos estadísticos lineales y en segmentos en escala  $\text{Log}_{10}$  por sitios combinando todas las zonas y fechas de muestreo. Se detalla: el sitio y el porcentaje de casos con ajuste lineal y en segmentos (LIN:SEG%) y los valores medios y rangos (mínimo a máximo) de los coeficientes de las ecuaciones para cada uno de los modelos propuestos. Dónde:  $y$  es la densidad observada;  $x$  el tamaño individual;  $b$  es el escalamiento esperado por TME (y considera tanto las pendientes del

modelo lineal como las de los segmentos posteriores al punto de quiebre);  $b_2$  son las pendientes de los segmentos previos al punto de quiebre;  $a$ ,  $a_1$  y  $a_2$  son las constantes de las regresiones (sus valores no se muestran); A es el intercepto estimado cuando  $\text{Log}_{10}M=0.64$ ; PQ es el punto de quiebre en la regresión segmentada en escala log y  $R^2$  es el coeficiente de determinación promedio de los 12 modelos ajustados por sitio. Asumimos que  $b$  y  $A$  corresponden a las pendientes ( $\beta$ ) y los interceptos ( $\alpha$ ) respectivamente definidos en la ecuación 2 propuesta por la TME.....44

**Tabla 5.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) entre las variables fisicoquímicas analizadas a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014, y la densidad total (Densidad;  $\text{ind.mL}^{-1}$ ) así como el biovolumen total (Biovolumen;  $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ) estimados a partir de los conteos por microscopía tradicional (Uthermö) y análisis electrónico de partículas (Analizador). Las variables incluidas son: profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ;  $\text{metros}^{-1}$ ), el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann (TEMP.;  $1/kT$ , kelvin), la fluorescencia (FLUOR.; URF, unidades de fluorescencia relativa) y la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y sílice ( $\text{SiO}_2$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*\*'; 0.01 '\*\*\*'; 0.05 '\*\*'; 0.1 ' '. Se muestran solo los casos significativos al nivel de 0.05. Número de observaciones en cada caso  $N=72$ .....53

**Tabla 6.** Resultados de los modelos lineales generalizados construidos para evaluar el efecto de las variables fisicoquímicas analizadas sobre las pendientes ( $b$ ) e interceptos ( $A$ ) de la relación  $K\sim M$  de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Los modelos seleccionados incluyen las variables de turbidez (TURB.; NTU), profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), salinidad (SAL.), abundancia de zooplancton (ZOO.;  $\text{ind.mL}^{-1}$ ) y concentración de fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). En la tabla se detallan los coeficientes de cada modelo, el nivel de significancia (p-valor) y la deviancia explicada del modelo (Dev. Exp %). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*\*'; 0.01 '\*\*\*'; 0.05 '\*\*'; 0.1 ' '. Número de observaciones  $N=72$ .....57

## INTRODUCCION

### *Aproximación macroecológica*

Los patrones ecológicos generales son indicadores de procesos centrales en la organización de la naturaleza, y su reconocimiento permite avanzar en el entendimiento de los mecanismos que estructuran las comunidades (Kleiber 1932; Brown & Maurer 1989). Comprender estos mecanismos y ver como varían por cambios en el ambiente es un tema clásico y central en ecología (Hutchinson 1959; Tilman 1982). La búsqueda de relaciones estadísticas (e.g. regularidades, patrones) entre atributos medidos a diferentes niveles de organización permite derivar reglas generales y universales (Kleiber 1947; Brown & Maurer 1989; Brown *et al.* 2004; Hatton *et al.* 2015) así como proponer y evaluar los mecanismos generadores, y es una rama de la ecología conocida como Macroecología (Brown & Maurer 1989; Li 2002).

La evidencia empírica propone que el tamaño corporal es un poderoso descriptor de diversos atributos ecológicos y fisiológicos de los individuos (Elton 1927). Debido al carácter objetivo y repetitivo de su medida (Rodríguez 1994), el tamaño corporal ha sido empleado exitosamente como criterio de agregación para reducir la complejidad de los modelos acuáticos (Baird & Suthers 2007) asociada a la aproximación multiespecífica (Rodríguez 1994, 2005). Además, está asociado a la existencia de regularidades emergentes (Peters 1983; Brown & Gillooly 2003) que incluyen relaciones fuertes con las características de historia de vida y la densidad poblacional entre otras (Woodward *et al.* 2005; White *et al.* 2007), permitiendo la síntesis e integración a través de los distintos niveles de organización biológica (Brown *et al.* 2004; Reynolds 2006; Litchman & Klausmeier 2008; Woodward & Warren 2007). Ampliamente se ha vinculado la distribución de tamaños con la actividad metabólica y se ha propuesto un escalamiento universal respecto al tamaño individual según una ecuación alométrica (Kleiber 1932; Peters 1983).

### *Teoría Metabólica de la Ecología (TME)*

Con Brown y colaboradores (2004) resurge el interés por explicar las relaciones ubicuas entre el tamaño corporal de los individuos y la demanda metabólica (West *et al.* 1997, 1999; Deng *et al.* 2012). Con el foco puesto en los patrones a escala global, se destaca entre las teorías macroecológicas, la denominada “Teoría Metabólica de la Ecología (TME)”, en la que se asume que el metabolismo individual, entendido como los procesos mediante los cuales los individuos transforman la materia y energía y la canalizan para satisfacer sus necesidades, rige la estructura y dinámica de los sistemas ecológicos (Brown *et al.* 2004). Actualmente las aproximaciones basadas en la relación del metabolismo con el tamaño corporal han demostrado un gran poder predictivo (Allen *et al.* 2002; Brown *et al.* 2004; Savage *et al.* 2004), con ecuaciones derivadas de forma mecanicista que predicen los exponentes de escalamiento observados en las relaciones empíricas y alométricas desde los individuos a los ecosistemas (Brown *et al.* 2004). Desde su formulación, esta teoría ha recibido apoyo empírico (e.g. Savage *et al.* 2004; Segura *et al.* 2015) y dado lugar a nuevos desarrollos teóricos, pero también ha sido el foco de numerosas críticas por las inconsistencias de ajuste con respecto a los patrones observados y los desvíos en los supuestos (Damuth 1981; Dodds *et al.* 2001; Marquet *et al.* 1995; Marquet *et al.* 2004; Cyr & Walker 2004; Bokma 2004).

Un desarrollo significativo, es que en el marco de la TME se formulan dependencias explícitas del metabolismo individual (I) con el tamaño corporal (M), la temperatura (T) y los recursos (Gillooly *et al.* 2001; Brown *et al.* 2004; Savage *et al.* 2004) como:

$$I = i_0 e^{\left(\frac{-E}{kT}\right)} M^\beta \quad (1)$$

Donde se presenta la dependencia con la temperatura de los procesos bioquímicos al cambiar la proporción de moléculas con suficiente energía cinética (Brown *et al.* 2004) descrita con el factor de Boltzmann ( $k=8.617 \times 10^{-5}$  eV K<sup>-1</sup>) en la relación de Vant-Hofft-Arrhenius ( $e^{E/kT}$ ) (Gillooly *et al.* 2001), con T medida en kelvin. La energía de activación, E, para el metabolismo autotrófico ( $E \sim 0.32$  eV) es expresada en electrón voltios, e  $i_0$  es una constante taxón específica e independiente del tamaño corporal y la temperatura e incluye el efecto de los recursos. El

escalamiento de M con l se eleva a la potencia con un  $\beta=3/4$ , y su valor se hipotetiza está dado por limitaciones geométricas en la distribución de materiales y energías a las células a través de redes internas de distribución de recursos (West *et al.* 1997). Es así, que partiendo de principios básicos de la física, química y biología, utilizando estas reglas de escalamiento y algunos supuestos ecológicos, es posible derivar una serie de predicciones a niveles de organización biológica más complejos (e.g. población, comunidad y ecosistema) (Allen *et al.* 2002; Brown *et al.* 2004), lo cual implica un avance de la TME respecto a hipótesis previas (Arim *et al.* 2007).

#### *Patrones densidad-tamaño corporal*

El escalamiento entre densidad y tamaño corporal es un aspecto clave de la organización de la biodiversidad (Brown & Maurer 1989), y uno de los patrones más estudiados en ecología (DMR; relación masa-densidad) (White *et al.* 2007; Arim *et al.* 2011). La densidad poblacional es el resultado de múltiples procesos operando a distintas escalas ecológicas y evolutivas (Sheldon *et al.* 1972; Damuth 1981), reflejando el balance entre las fuerzas que la reducen (e.g. consumo y competencia) y aquellas que la aumentan (e.g. adquisición de R y generación de biomasa), a través de un amplio rango de tamaños corporales (Savage *et al.* 2004). Se ha hallado en numerosos ecosistemas que la densidad poblacional varía de acuerdo a una ley de potencia con el tamaño corporal y con un exponente generalmente negativo (Cermeño *et al.* 2014), aunque su valor específico ha sido ampliamente discutido (Lewis *et al.* 2008). Damuth (1981) describió la DMR para mamíferos, y halló que el exponente era cercano a  $-3/4$ . En base a esto y a la observación de que el escalamiento del metabolismo con el tamaño corporal era similar, se planteó que el determinante último de la densidad estaba dado por restricciones metabólicas. Desde entonces, numerosos artículos han sido publicados reportando patrones similares y describiendo su implicancia ecológica (Enquist *et al.* 1998; Marquet *et al.* 2005; White *et al.* 2007; Reuman *et al.* 2014).

#### *DMR y TME*

A nivel poblacional, si se considera un suministro constante de recursos externos (R) disponible para todos los individuos, un aumento alométrico en la demanda metabólica con el

tamaño corporal (M) y el efecto de la temperatura en la tasa metabólica como  $e^{(E/kT)}$ , se deriva una relación explícita para la capacidad de carga o número de individuos en equilibrio de una población (K) en el marco de la TME (Brown *et al.* 2004; Savage *et al.* 2004) como sigue:

$$K = [R]e^{\left(\frac{E}{kT}\right)}M^{-\beta} \quad (2)$$

La ecuación 2 refleja la relación entre los recursos disponibles y la demanda energética de cada individuo (Savage *et al.* 2004). Esta relación implica que a mayor concentración de recursos, menor tamaño y menor temperatura, habrá una mayor capacidad de carga. Debe tenerse en cuenta que si tomamos el logaritmo de la ecuación 2, es un modelo lineal simple en función del tamaño (M), donde el exponente de escalamiento ( $\beta$ ) está determinado por la escala en la demanda metabólica, y condicionantes como la temperatura y la disponibilidad de recursos, afectan al intercepto (que denominaremos  $\alpha$ ) pero no al valor del escalamiento. Un supuesto crítico es que el suministro de R es constante e independiente de T y M, y que el metabolismo individual está limitado únicamente por redes de transporte internas (Savage *et al.* 2004). Sin embargo la disponibilidad de recursos externos puede limitar seriamente la actividad metabólica, y por lo tanto modificar la relación K~M esperada (López-Urrutia & Morán 2015). En particular, los análisis dirigidos a comprender el efecto de M y T en la capacidad de carga han sido abundantes, pero el efecto de R ha tenido un lugar menos relevante tanto en su evaluación teórica como empírica (Cermeño & Figueiras 2008; Huete-Ortega *et al.* 2012).

#### *Antecedentes de la DMR en comunidades planctónicas*

La relación entre densidad y tamaño corporal es bien conocida, ha sido corroborada en numerosos grupos y puede ser considerada como un patrón universal (Cermeño *et al.* 2014; Kruk *et al.* 2010). Sin embargo existe confusión en torno a su definición en la literatura (Edwards *et al.* 2012) y numerosas inconsistencias metodológicas en cómo se construye y estiman sus parámetros (White *et al.* 2007; Edwards *et al.* 2012; Ziegler *et al.* 2014; Sprules & Barth 2016) con predicciones diferentes según la escala a analizar. Es por tanto necesario prestar atención explícita a los mecanismos ecológicos involucrados en cada uno de los enfoques alternativos y los vínculos entre ellos, así como a los instrumentos estadísticos que pueden utilizarse para su

detección (Arim *et al.* 2011; Sprules & Barth 2016). Actualmente, el renovado interés en las relaciones biológicas de escalamiento ha llevado a la reevaluación de la relación densidad-tamaño y del valor exacto de la pendiente con diferentes métodos estadísticos (White *et al.* 2007; Sprules & Barth 2016; Edwards *et al.* 2016) y en diferentes grupos taxonómicos y funcionales (De Long *et al.* 2010).

En este sentido, se recomienda que los espectros de tamaños sean abordados desde la aproximación que se enfoca en la distribución de individuos entre las distintas clases de tamaño de una comunidad sin considerar su identidad (ISD; distribución de tamaño individual) (White *et al.* 2007; Edwards *et al.* 2016; Sprules & Barth 2016) y la cual resulta de procesos que implican como los recursos se dividen a través de los tamaños corporales (White *et al.* 2007; Thibault *et al.* 2011; Edwards *et al.* 2016). En el marco de la teoría se han generado predicciones específicas de los procesos que pueden causar cambios en el tamaño y la densidad de individuos para este tipo de aproximación (ISD). La investigación en sistemas acuáticos se ha enfocado en la ISD (Sheldon & Parsons 1967; Thibault *et al.* 2011), dentro y entre niveles tróficos (White *et al.* 2007). Dentro de un grupo funcional que comparte un recurso común, se predice que el escalamiento de  $M$  con la densidad poblacional será igual a  $-3/4$  y la tasa de flujo de energía por unidad de área de las poblaciones combinadas de individuos de diferentes tamaños será independiente del tamaño (Brown *et al.* 2004).

Para una comunidad planctónica organizada por tamaños en posiciones tróficas, creciente y continua, se proponen una relación de densidad poblacional con el tamaño de los individuos con una potencia de  $\beta \sim -1$  (Cyr 2000; Kerr & Dickie 2001; Boudreau & Dickie 1992; Gaedke 1992; San Martin *et al.* 2006; López-Urrutia *et al.* 2006). El valor del exponente viene de la conjetura de Sheldon y colaboradores (1972) y las estimaciones teóricas y empíricas son a menudo cercanos a este valor (Platt & Denman 1977; San Martin *et al.* 2006). Este patrón se explicaría por las eficiencias metabólicas de depredadores y presas entre niveles tróficos sucesivos y la presencia de los individuos más grandes en los niveles tróficos superiores, con lo que la teoría del escalamiento metabólico predice una pendiente más pronunciada que  $-3/4$  (Brown & Gillooly 2003).



### *El plancton como modelo de estudio*

El plancton es un grupo polifilético y cosmopolita que posee altos valores de diversidad (Falkowski *et al.* 2004). El tamaño individual de los organismos planctónicos no gelatinosos se extiende desde células de tamaño inferior a 2 micras (picoplancton), a 20 micras (nanoplancton), a 200 micras (microplancton), hasta organismos superiores a 2000 micras (macroplancton), tamaños a los que corresponden tiempos de renovación entre horas (Hillebrand & Azovsky 2001; Reynolds 2006) hasta meses (Beers 1986). A su vez, dada toda la información fisiológica y de estructura de la comunidad planctónica que hay disponible a lo largo de amplios gradientes ecológicos (e.g. abundancia, tasas de consumo, incorporación de nutrientes, crecimiento, etc.), así como su relativa simplicidad estructural, se conocen adecuadamente las relaciones entre los rasgos (e.g. tamaño, forma, etc.) y las funciones (e.g. respuestas a los cambios ambientales y efectos en el ambiente) (Reynolds 1984; Kruk *et al.* 2010; Litchman *et al.* 2007; Kruk & Segura 2012), por lo que representan un modelo excepcional para evaluar hipótesis y teorías ecológicas (Kruk & Segura 2012; Segura *et al.* 2011; Litchman *et al.* 2007; Cermeño *et al.* 2008; Hutchinson 1961; Tilman 1982).

### *Técnicas de conteo automático de las comunidades planctónicas*

El advenimiento de las técnicas de muestreo y otros avances ha permitido contar y dimensionar de manera automática una amplia variedad de materiales orgánicos e inorgánicos en suspensión en un medio acuoso (e.g. principio Coulter) (Graham 2003). Este principio hace referencia al hecho de que partículas moviéndose en un campo eléctrico causan cambios mensurables en ese campo y que la magnitud de estos cambios son proporcionales al tamaño de las partículas inmersas en el campo. El empleo de esta técnica, introducido por Sheldon y Parsons (1967) en las aguas superficiales de los océanos Atlántico y Pacífico en los años 1960-70, resultó un enfoque efectivo para resumir y cuantificar la distribución de abundancia de tamaños a través de una comunidad acuática (Sheldon & Parsons 1967; Parsons 1969; Belgrano *et al.* 2002; Cermeño *et al.* 2008; Rodriguez 2005; Kerr & Dickie 2001), y condujo a las primeras observaciones de la constancia y desviaciones alométricas en el espectro de tamaño (Sheldon *et*

*al.* 1972; Platt & Denman 1977). Postulándose así como una herramienta ecológica que podría revelar patrones en la estructura comunitaria del plancton no detectables previamente (Sheldon & Parsons 1967; Sheldon *et al.* 1972; Azam *et al.* 1983; Kerr & Dickie 2001).

### *Estructura de las comunidades planctónicas y las condiciones ambientales*

Los antecedentes vinculan la distribución de tamaños de las comunidades planctónicas con aspectos clave del funcionamiento ecosistémico, como la caracterización de los flujos de energía y materiales o la actividad metabólica (Platt & Denman 1977; Azam *et al.* 1983; Platt 1985; Rodriguez & Mullin 1986; Quiñones *et al.* 2003; Brown *et al.* 2004, Lopez-Urrutia & Morán 2007; Pitcher *et al.* 1992). La variabilidad en procesos ecosistémicos claves puede ser interpretada como resultado de estrategias biológicas dependientes del tamaño (e.g. la absorción de nutrientes (Malone 1980) y la velocidad de sedimentación (Legendre & Le Fèvre 1989; Chisholm 1992)), bajo diferentes condiciones hidrodinámicas (Margalef 1978; Legendre & Le Fèvre 1995). Los espectros de tamaño tienen una estructura regular y persistente (Marquet *et al.* 2005) y en general las relaciones halladas apoyan las predicciones de la teoría. Sin embargo está ampliamente reportado que la estructura comunitaria planctónica es además modulada por procesos oceanográficos como estructura y estabilidad de la columna de agua (e.g. difusión vertical turbulenta y mezcla) (Chushing 1989; Kiørboe 1993; Huisman 1999).

A escala local, la modificación del régimen hidrológico, como el embalsado de ríos, modifica el tiempo de retención del agua, favoreciendo el crecimiento del fitoplancton (Cloern 2001), y a su vez, la variación en su producción interactúa con la del micro zooplancton debido al estrecho acoplamiento entre dichas comunidades (Irigoien *et al.* 2005; Kiørboe 1993). La salinidad y su variabilidad, especialmente en zonas de transición como son los estuarios, afecta diferencialmente el crecimiento y la sobrevivencia de los individuos, así como los procesos metabólicos, condicionando en última instancia la estructura de la comunidad planctónica (Mc Lachlan 1961; Kirst 1990). Asimismo las variaciones sistemáticas asociadas a cambios en la temperatura y regímenes de nutrientes limitantes como nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo inorgánico disuelto (PO<sub>4</sub>) generan cambios en el metabolismo individual del plancton y pueden alterar la

densidad poblacional (Cermeño & Figueiras 2008; Cermeño *et al.* 2008) y estructura comunitaria en respuesta a la disponibilidad de recursos (Navarro & Thompson 1995; Gillooly *et al.* 2001; Brown *et al.* 2004). En el marco de la TME, y particularmente a partir de la ecuación 2 se generan predicciones específicas de cómo debería ser esa variación en las pendientes e interceptos de la relación K~M.

La presente tesis pretende contribuir al conocimiento de las estructuras de tamaño, poniendo a prueba las hipótesis teóricas de la relación K~M generadas en el marco de la TME en comunidades planctónicas naturales. Para ello se utilizan bases de datos existentes de gran calidad y se genera nueva información a partir del procesamiento de las muestras en un instrumento de conteo automático de partículas. Un aspecto relevante es que en este marco se generan y evalúan hipótesis formales concretas y con supuestos bien definidos. La TME requiere de supuestos fuertes, pero a pesar de las críticas (Price *et al.* 2012), es un modelo deductivo y consistente, con predicciones que dan cuenta de una plausible generalidad empírica. Es en el análisis riguroso de las predicciones y la evaluación sistemática de los supuestos donde se puede ayudar a entender algunas de las desviaciones encontradas en el pasado, aportando a la construcción de una teoría sólida (Brown 1995; Enquist & Niklas 2001; Marquet *et al.* 2014).

## HIPOTESIS

La hipótesis general de esta tesis plantea que la concentración de recursos y la temperatura ambiental, a través de su efecto en el metabolismo individual, determinan el límite superior de la densidad de individuos en las diferentes clases de tamaño en los ecosistemas.

## PREDICCIONES

- I. La relación K~M en la escala log-log será lineal (ec. 2).
- II. La pendiente de dicha relación será negativa ( $\beta = -\frac{3}{4}$ ) para las comunidades planctónicas del área de estudio en condiciones de recursos constantes y no limitantes (ec. 2).

- III. Condiciones ambientales de temperaturas más altas y/o menores concentraciones de recursos disminuirán el valor del intercepto ( $\alpha$ ) (ec. 2).

## OBJETIVOS

Los objetivos de esta tesis son:

- describir la estructura de tamaños de las comunidades del nano y micro plancton en el sistema Río Uruguay-Río de la Plata y su variabilidad ambiental;
- evaluar formalmente los mecanismos que modulan la relación K~M y determinan la estructura comunitaria en el marco de la TME.

Para alcanzar los objetivos propuestos se cuenta con una base de datos que incluye información de variables fisicoquímicas y biológicas medidas in situ en diferentes ecosistemas con una frecuencia de muestreo bimensual en un amplio gradiente de condiciones ambientales.

## METODOS

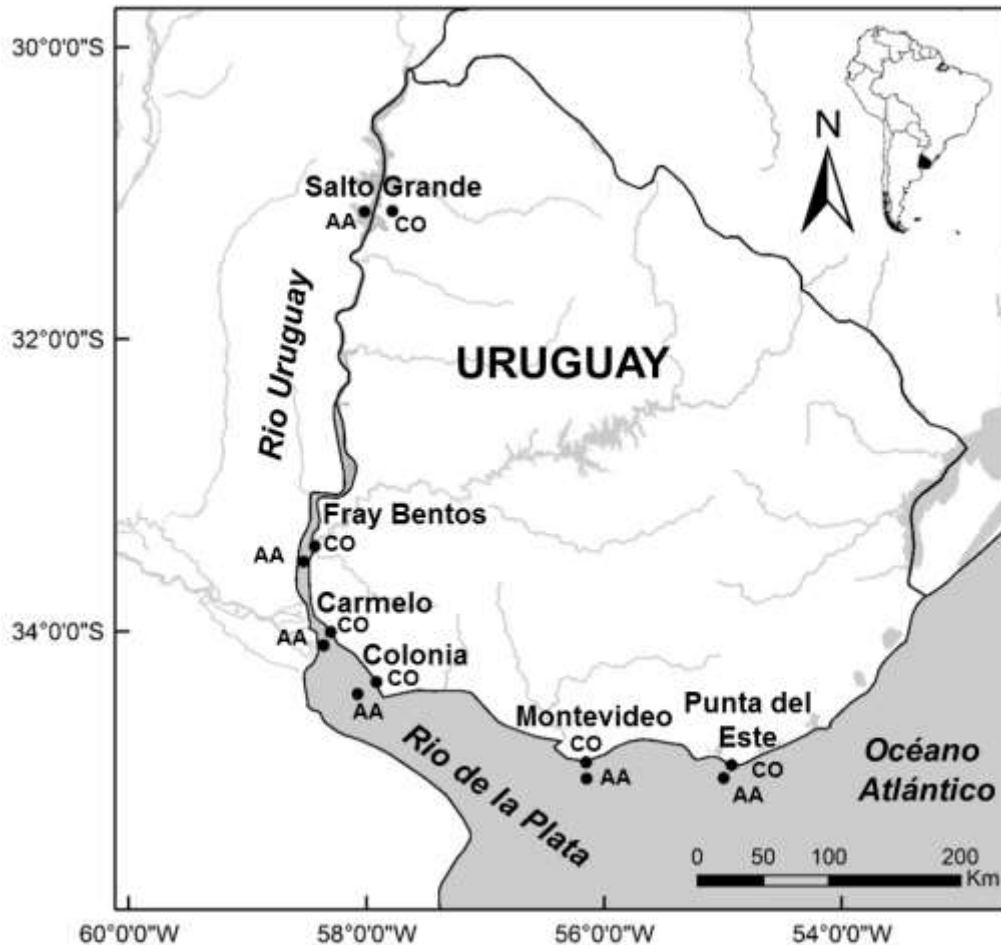
### Aproximación general

Se utilizaron bases de datos provenientes de la toma de muestras realizada bimensualmente en seis sitios entre el 20 de enero de 2013 y el 30 de marzo de 2014 cubriendo las cuatro estaciones del año desde el embalse de Salto Grande en el Río Uruguay (RU) hasta el límite exterior del Río de la Plata (RdlP) en Punta del Este, en el marco del “Proyecto Inter-Institucional Algas” en el cual participaron el CURE, IIBCE y LATU (Kruk *et al.* 2015). Se realizaron seis campañas en cada sitio (Salto Grande (SA), Fray Bentos (FB), Carmelo (CA), Colonia (CO), Montevideo (MO) y Punta del Este (PE)) abarcando un gradiente geográfico de 800 km, donde se tomaron muestras en dos estaciones correspondientes a aguas abiertas (AA) y costa (CO), excepto en Salto, donde las estaciones de AA y CO corresponden a los brazos del embalse generados por los ríos Gualeguaycito e Itapebí respectivamente (Figura 1). Se registró un total de 72 casos, considerando el mes, el sitio y la estación de muestreo. Se generó una variable categórica denominada *Tipo de Ecosistema* con cuatro niveles para caracterizar a los sitios en *Embalse* para Salto Grande, *Río* para la zona de Fray Bentos, Carmelo y Colonia, *Estuario* para Montevideo y *Estuario Externo* se definió para Punta del Este.

Utilizando un sensor electrónico HORIBA U-50 se tomaron medidas de variables físicas en la superficie del agua (temperatura (°C), salinidad, turbidez (NTU, unidades nefelométricas de turbidez)). La salinidad se midió en la escala práctica y se reportó sin unidades. La profundidad de la columna de agua se midió con ecosonda (metros) y se realizaron perfiles en profundidad en cada estación de muestreo de la temperatura, salinidad y fluorescencia (URF, unidades relativas de fluorescencia) utilizando un fotoradiómetro y un CTD SeaBird 19 plus. Los datos del fotoradiómetro se utilizaron para estimar los coeficientes de atenuación de la luz en la columna de agua ( $K_D$ ;  $\text{metros}^{-1}$ ) a partir de la ley de Lambert-Beer donde  $I_0$  es irradiancia de superficie ( $\mu\text{mol fotonos m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) e  $I_z$  es intensidad de luz a profundidad  $z$ :

$$K_D = \frac{\ln\left(\frac{I_0}{I_z}\right)}{z} \quad (3)$$

Se colectaron muestras de agua con botellas Hydrobios PWS (sub-superficialmente) en las cuales se determinó la concentración de nutrientes totales y disueltos (nitrógeno total (NT), amonio ( $\text{NH}_4$ ), nitrato ( $\text{NO}_3$ ), fósforo total (PT), fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ), sílice ( $\text{SiO}_2$ )) y cuantificaron las comunidades biológicas para el total de casos. De las botellas se obtuvieron alícuotas para el análisis de la estructura de tamaños de las comunidades planctónicas en las estaciones de muestreo de cada sitio. De esta manera se cuenta con información de gran calidad y con frecuencias de muestreos que contribuyen al número total de casos y ampliar el gradiente de condiciones ambientales, lo que en conjunto permite evaluar las predicciones propuestas de forma robusta. Por más detalles del muestreo y las variables ambientales registradas, así como las técnicas empleadas para analizar los nutrientes, referirse a Kruk *et al.* (2015), Martínez de la Escalera *et al.* (2017) y Segura *et al.* (2017).



**Figura 1.** Sitios de muestreo a lo largo de un gradiente ambiental desde los sistemas correspondientes al embalse de Salto Grande hasta el límite exterior de las aguas estuarinas del Río de la Plata, incluyendo el código para cada sitio donde AA y CO corresponden a las estaciones aguas abiertas y costa respectivamente.

Se generaron además, matrices de variables fisicoquímicas a partir de medidas y registros in situ a lo largo del sistema Río Uruguay-Río de la Plata (RU-RdIP) desde Salto Grande hasta Punta del Este para una caracterización ambiental del área. Ello incluyó controles de calidad para depurar inconsistencias y chequear unidades. La obtención de datos para construir los espectros de tamaño de las comunidades de nano y micro plancton se realizó mediante análisis de conteo automático de partículas. Esta técnica se ha introducido cada vez más en la investigación como una herramienta ecológica y una aproximación cuantitativa adecuada, en la cual la distribución de tamaños se determina analizando cada partícula de un subconjunto representativo de la muestra

(Lines 1992; Graham *et al.* 2001). Luego se describió la forma de la relación entre la densidad poblacional y el tamaño corporal, estimándose el valor de sus coeficientes y analizando el efecto de las condiciones ambientales sobre los mismos. Finalmente, se evaluó la existencia de patrones no lineales entre los parámetros de la relación K~M de las comunidades planctónicas del sistema RU-RdIP y las condiciones ambientales mediante técnicas de aprendizaje automático.

### **Análisis electrónico de estructura de tamaños**

La distribución de tamaños para los 72 casos de estudio se cuantificó mediante un analizador electrónico de partículas, Elzone 5390. El principio de medición consiste en la generación de un flujo laminar de electrolito conteniendo las partículas (la muestra) que pasa a través de un capilar embebido en un campo magnético, de forma que cuando las partículas lo atraviesan de forma ordenada desplazan un volumen de electrolito equivalente al volumen sumergido de la partícula (Lines 1992). El desplazamiento del electrolito dentro del campo magnético afecta el flujo de corriente entre los electrodos y produce un impulso eléctrico, cuya amplitud es proporcional al volumen de la partícula (Lines 1992). El instrumento cuenta los pulsos y los ordena por amplitud y ancho de pulso, proporcionando los datos a partir de los cuales se calcula la población de partículas (número de partículas y el volumen de cada partícula individual) (Coulter & Hogg 1976). Esta aproximación enfatiza la estimación del volumen y el rango de tamaños medidos depende del tamaño del orificio del tubo por el cual pasa la muestra en forma de flujo laminar, por lo cual resulta un factor crítico del análisis.

Una desventaja de este método es que el conteo incluye partículas vivas e inertes. Como ventaja se destaca que mide directamente un volumen de una forma irregular que generalmente se reporta como un diámetro esférico equivalente (DEE). Este DEE corresponde al diámetro de una esfera de volumen equivalente al de la partícula medida, y por tanto mide sin sesgo por la forma de dicha partícula. Además cuenta y dimensiona con alta rapidez, resolución, sensibilidad y reproducibilidad un número muy grande de partículas (Rodríguez & Li 1994; Lines 1992), lo cual reduce en gran medida el esfuerzo exigido para la recopilación de datos en comparación con la



enumeración microscópica tradicional y permite una frecuencia de muestreo espacio temporal mucho mayor así como la comparación entre sistemas (Rodríguez 2005).

En las muestras de cuerpos de agua dulce correspondientes al embalse y el río la fuerza iónica no permite aplicar este método directamente. Antes debe aumentarse la concentración de iones en solución, lo que se realizó diluyendo la muestra con una solución electrolítica de agua de mar artificial de salinidad 30. Luego del conteo, el número de partículas en la muestra original se calculó corrigiendo por la dilución y descontando las partículas presentes en la solución electrolítica medidas de forma independiente.

En la presente tesis se pasaron las muestras por tubos con orificios de 95 y 380  $\mu\text{m}$  de diámetro para informar una distribución continua de una amplia gama de tamaños de partículas entre 2-260  $\mu\text{m}$  (rango efectivo de medición de los tubos utilizados). A partir de ello se generó una matriz de datos con los reportes de densidad (partículas  $\text{mL}^{-1}$ ) y volumen (como Diámetro Esférico Equivalente, DEE;  $\mu\text{m}$ ) en más de 300 clases de tamaños. El contador automático genera recuentos sobre intervalos de ancho creciente hacia clases de mayor tamaño en escala lineal de DEE, para minimizar el número de clases que tienen cero conteos y ganar por lo tanto precisión (Newman 2005). El ancho de las clases de tamaño considerado en la presente investigación fue de 0.07  $\mu\text{m}$  y aumentando gradualmente con el valor nominal de la clase hasta valores de 3.8  $\mu\text{m}$ ; y fueron constantes en escala  $\text{Log}_{10}$ . Los volúmenes de muestra efectivamente contados fueron de  $\sim 1$  y  $\sim 30$  mL para los orificios de tamaño de 95 y 380  $\mu\text{m}$  respectivamente. Mediante una prueba de Student (t) con comparaciones pareadas entre sitios, se corrigió por el método de Bonferroni las contrastaciones múltiples y se evaluó si existían diferencias en los descriptores comunitarios a lo largo del gradiente ambiental analizado (Zar 2010). Siendo el p-valor mayor que 0.05, entonces se aceptó la hipótesis nula de igualdad en las medias entre sitios.

## **Análisis de datos**

Se analizaron las relaciones bivariadas entre las variables ambientales mediante técnicas no paramétricas, empleando la correlación de Spearman ( $\rho$ ) para estimar una medida de

asociación basada en los valores de rango de las variables cuantitativas (Zar 2010). Las variables fueron consideradas significativamente correlacionadas con un nivel de  $p < 0.05$ .

En el marco de la teoría, el tamaño corporal hace referencia a la masa individual, mientras que en este trabajo se usa volumen como proxy de masa. Ambas variables deberían comportarse de forma casi idéntica bajo el supuesto que la densidad de masa en los individuos es constante. En este sentido, a partir de las estimaciones de tamaño derivadas del análisis en el contador automático como diámetro esférico equivalente (DEE) se calculó el volumen individual ( $V$ ;  $\mu\text{m}^3$ ) como:

$$V = \frac{4}{3} \pi \left( \frac{\text{DEE}}{2} \right)^3 \quad (4)$$

El biovolumen de cada clase de tamaño ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ) se calculó multiplicando la densidad de individuos (partículas  $\text{mL}^{-1}$ ) registrada para dicha clase de tamaño por su volumen individual, y fue analizado para cada sitio de muestreo. En el caso que las variables no cumplieron con los supuestos para realizar test paramétricos, se utilizó la prueba de rangos Kruskal-Wallis (Zar 2010).

Actualmente se propone estimar los parámetros de la relación entre densidad y tamaño corporal con métodos de máxima verosimilitud por ser los más consistentemente precisos (White *et al.* 2008; Arim *et al.* 2011; Ziegler *et al.* 2014; Edwards *et al.* 2016), sin embargo éstos se utilizan en los casos en que los datos se encuentran en forma individual. Mientras que en la presente investigación el método de análisis electrónico de partículas brinda los datos distribuidos en intervalos de tamaño corporal, que corresponden al límite inferior del intervalo. Por lo que se construyeron espectros de tamaño de tipo ISD (White *et al.* 2007; Edwards *et al.* 2016; Sprules & Barth 2016), y se ajustó la regresión de conteos dentro de un intervalo de tamaño corporal contra el límite inferior del intervalo de tamaño corporal en escala  $\text{Log}_{10}$  por el método de mínimos cuadrados. Este tipo de espectro de tamaño fue propuesto por Edwards *et al.* (2016) por su precisión en los casos que los datos se encuentran agrupados, como sucede con los datos que brinda el analizador electrónico. En este trabajo incorporamos además la ponderación de la

variable de respuesta con el número de observaciones presentes en cada clase de tamaño corporal.

A cada uno de los 72 casos disponibles, se le aplicó un modelo lineal simple de la forma:

$$y = a + bx + e \quad (5)$$

Donde las variables  $x$  e  $y$  corresponden al  $\text{Log}_{10}$  del tamaño individual y al  $\text{Log}_{10}$  de la densidad de individuos observada respectivamente, siendo  $a$  el punto de intercepción en la ordenada,  $b$  el escalamiento con el tamaño esperado por TME (correspondiente a  $\beta$  según ec. 2), y  $e$  la parte estocástica del modelo. Se estimaron los valores de los parámetros,  $a$  y  $b$ , que minimizan las diferencias entre el valor observado y el valor esperado según la recta (Zar 2010).

Otro enfoque estadístico que se utilizó para explorar los cambios en la escala de la relación fue el ajuste de regresiones segmentadas con un punto de quiebre y ajuste de dos rectas a ambos lados del quiebre, con el paquete “segmented” de R (Muggeo 2003). El método halla los parámetros de las ecuaciones siguientes:

$$y = a_1 + bx + e \quad \text{para } x \geq \text{PQ} \quad (6)$$

$$y = a_2 + b_2x + e \quad \text{para } x < \text{PQ} \quad (7)$$

Según esta parametrización,  $a_1$  y  $a_2$  son las constantes de regresión en los segmentos posterior (ec. 6) y previo (ec. 7) al punto de quiebre PQ, mientras que  $b$  y  $b_2$  son los coeficientes de los espectros de tamaños indicando la inclinación del segmento correspondiente y  $e$  los errores aleatorios de la relación. Los modelos segmentados permiten determinar de forma objetiva rangos de la variable con respuestas lineales similares y se ajusta a toda la gama de valores dejando de lado la necesidad de arbitrariamente predefinir subconjuntos de datos donde se aplicaría una regresión única (Muggeo 2003). Han sido aplicados exitosamente para resolver problemas biológicos (Segura *et al.* 2013; Segura *et al.* 2015; Ziegler *et al.* 2014) y además se pueden combinar con la estimación de escalamiento de modelos lineales entre puntos de quiebre, maximizando así el uso de los datos disponibles y la extracción de información biológica significativa de los datos disponibles (Segura *et al.* 2015). La combinación de estos métodos

permite detectar patrones más complejos, así como probar y validar supuestos teóricos (Arim *et al.* 2011).

La selección de modelo lineal o segmentado se basó en el criterio de información de Akaike (AIC) (Burnham & Anderson 2002). Una diferencia de dos unidades de AIC entre modelos competidores indica un apoyo relevante al modelo con menor AIC. De esta manera se determinaron los coeficientes de los espectros de tamaño para cada caso. El procedimiento estadístico utilizado para establecer la diferencia de medias entre las pendientes e interceptos estimados para las dos estaciones muestreadas dentro de cada sitio (referidas como aguas abiertas (AA) y costa (CO)) fue una prueba de t de muestras pareadas, donde las observaciones se definen como las diferencias entre dos conjuntos de valores. Las diferencias entre sitios respecto a los coeficientes estimados se evaluó con comparaciones pareadas utilizando pruebas t con ajuste de los valores p con el método Bonferroni (Zar 2010).

## **Predicciones y supuestos de la TME**

Como se propone en la hipótesis de la presente tesis, se predice que la relación  $K \sim M$  en escala log-log es lineal y negativa con una pendiente de  $-\frac{3}{4}$  para las comunidades planctónicas. Para su evaluación se analizaron las pendientes,  $b$ , estimadas a partir de las ecuaciones 5 y 6 que asumimos son equivalentes al escalamiento con  $M$  propuesto por la TME en la ecuación 2 definidas como  $\beta$ . La comparación entre los valores de pendientes obtenidos y el esperado según los antecedentes se llevó a cabo para el total de casos (a escala regional) y para cada sitio (a escala local) mediante la prueba t de muestra única por el cual se comprueba si la media de los coeficientes tiene el valor especificado en una hipótesis nula ( $\mu = -\frac{3}{4}$ ) (Zar 2010). También se evaluaron las relaciones con  $\mu = -1$  que podrían ser compatibles con el modelo de la TME y se utilizó el criterio de un valor de p mayor a 0.05 para aceptar lo propuesto por teoría en los casos de relaciones no significativas.

Además, se postula que son las condiciones ambientales de temperatura y/o recursos, las que determinan la densidad máxima de individuos de un tamaño dado que puede haber en un

cierto ecosistema estructurando la comunidad. Para su evaluación en los 72 casos de estudio se estimó el valor del intercepto para la clase de tamaño mínima registrada por el instrumento de conteo automático de partículas, 2.0  $\mu\text{m}$  de DEE, y los definimos como, A, asumiendo que son equivalentes al intercepto ( $\alpha$ ) propuesto por la TME e incluyen el efecto de la temperatura y los recursos. De este modo se analizó independientemente el efecto del inverso de la temperatura superficial del agua por la constante de Boltzmann ( $1/kT$ ) sobre la densidad de individuos. El efecto de los recursos ambientales en la forma del espectro de tamaños se evaluó considerando a la concentración de nutrientes como variable explicativa; representada por la suma de las formas inorgánicas del nitrógeno (NID= nitratos + amonio); y complementariamente se exploró la concentración de fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ) medido in situ para los seis sitios durante un año. Por otra parte, dado que la disponibilidad de luz aparece como un factor preponderante que controla la estructura de las comunidades planctónicas (Cole & Cloern 1984; Kruk *et al.* 2014), el entorno de luz en la columna de agua también fue considerado durante el análisis como recurso. Estuvo representado por el coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ) obtenido por mediciones discretas de irradiancia a lo largo de la columna de agua, y por un estimador indirecto de la turbidez del agua medido en superficie.

Para el total de los 72 casos de estudio y dentro de cada sitio, es decir a escala regional y local respectivamente, las predicciones fueron evaluadas empelando un modelo lineal simple con el fin de cuantificar la relación entre las variables de respuesta en escala  $\text{Log}_{10}$  (pendientes e interceptos) y las variables explicativas independientemente ( $1/kT$ , NID,  $\text{PO}_4$ , turbidez,  $K_D$ ) usando una base de datos completa en un amplio gradiente de condiciones ambientales. La significancia de ajuste del modelo lineal se evaluó con el coeficiente de determinación,  $R^2$  y la linealidad se verificó mediante el análisis de residuos contra los valores estimados de las regresiones. A su vez, se estimó la asociación entre cada una de las variables explicativas y las pendientes e interceptos mediante el coeficiente de correlación de Spearman, identificado como  $\rho$  en el texto, a nivel regional y local. Más allá de analizar las decisiones discretas (compatibles o no con la teoría) para cada conjunto de datos, se consideran las desviaciones de las expectativas de la TME.

## Técnica de microscopía tradicional, Utermöhl

La mayoría de las partículas en aguas superficiales son organismos planctónicos, incluidas bacterias, protistas fototróficos y heterótrofos, y metazoos, sin embargo, las partículas no vivas, detritus e inorgánicas también son abundantes en las aguas superficiales costeras. En estos casos el riesgo de sobreestimar la densidad de los individuos planctónicos podría ser alto con la técnica de análisis electrónico. Por ello en forma complementaria se consideraron los datos en Kruk *et al.* (2015) y Nogueira (2017), quienes estimaron la densidad de fitoplancton (Densidad; individuos mL<sup>-1</sup>) a partir del recuento de microscopía invertida usando cámaras de sedimentación según la técnica de Utermöhl (1958) y el volumen individual (V;  $\mu\text{m}^3$ ) estimado según Hillebrand *et al.* (1999). El biovolumen en cada caso de estudio (Biovolumen;  $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ) se calculó multiplicando el volumen individual por su densidad. Las tendencias regionales se evaluaron mediante pruebas no paramétricas (e.g. Kruskal Wallis) para detectar diferencias entre sitios (Zar 2010). Por más detalles de los métodos empleados para la identificación y análisis cuantitativo de la comunidad fitoplanctónica en el área de estudio referirse a Kruk *et al.* (2015) y Nogueira (2017).

La información derivada del análisis de microscopía tradicional (técnica de Utermöhl) permitió construir nuevos espectros de tamaño, representados por las abundancias totales de individuos dentro de ocho clases de tamaño (V) logarítmicas (rango 1 a 9 en escala Log<sub>10</sub>) en función del tamaño mínimo de cada clase. Los espectros de tamaño fueron ajustados mediante modelos lineales simples según la ecuación 5 y los parámetros se estimaron con métodos de mínimos cuadrados. Se ponderó además la variable de respuesta con el número de observaciones presentes en cada clase de tamaño.

La interdependencia entre las variables estimadas (densidad y biovolumen) con ambas técnicas de conteo (analizador electrónico de partículas y microscopía tradicional), así como el efecto de la estructura fisicoquímica de la columna de agua en los descriptores comunitarios se evaluó con una prueba de correlación ( $\rho$ ) al nivel de confianza del 95%. Además, la relación entre los descriptores comunitarios, así como entre pendientes e interceptos, estimados mediante conteo automático y por microscopía se analizaron respecto a la relación 1:1.

## Modelos de predicción

Se emplearon potentes técnicas no lineales para evaluar desviaciones del patrón esperado por la TME para los coeficientes (pendientes e interceptos) de la relación K~M del nano y micro plancton del sistema RU-RdIP, en función de las variables ambientales más relevantes. Se utilizaron las aproximaciones estadísticas de árboles de regresión y clasificación (CART, (De'ath & Fabricius 2000)) y los modelos agregados de bosques aleatorios (RF, (Breiman 2001)). Se empleó para ello la librería "rpart" (Therneau *et al.* 2015) y "randomForest" respectivamente disponibles en el programa estadístico R (Liaw & Wiener 2002). Los árboles de regresión y clasificación (CART) son creados por partición binaria recursiva de la variable de respuesta en regiones ramificadas cada vez más homogéneas (nodos), hasta construir los nodos finales con la menor varianza posible (De'ath & Fabricius 2000). Para los casos presentes en los nodos finales (hojas) se asigna el promedio de la variable predicha (pendientes e interceptos). Mientras que la técnica RF combina las predicciones de varios árboles de regresión obtenidos de muestras bootstrap del set de datos, donde un pequeño número aleatorio de variables predictoras se usa para la partición binaria en cada nodo, hasta que se construye un árbol completo (Cutler *et al.* 2007). Los métodos de aprendizaje automático son muy utilizados por ser flexibles y tener gran poder predictivo, siendo una herramienta robusta y con gran aplicación a problemas ambientales (Cutler *et al.* 2007; Kruk & Segura 2012; Segura *et al.* 2017). En este caso, nos permitirán capturar patrones (no lineales) que modifican la estructura comunitaria y avanzar en el entendimiento de posibles causas de los cambios en las pendientes e interceptos de la relación K~M, lo cual es clave para comprender aspectos ecológicos importantes.

Para comparar estas técnicas con las tendencias lineales se construyó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución de la familia gaussiana y función de enlace identidad utilizando como variable explicativa pendientes e interceptos. La elección de los modelos se hizo mediante selección por pasos en ambas direcciones (direction="both") con el comando "step" del programa estadístico R, por AIC y análisis de los residuales (Burnham & Anderson 2002). Para detectar colinealidad entre las variables, se calculó el factor de inflación de la varianza (VIF) que

proporciona un índice que mide cuánto se incrementa la varianza de un coeficiente de regresión estimado debido a la colinealidad. La correlación entre las variables explicativas reduce la precisión con que se estiman los coeficientes, por lo que se recomienda remover aquellas variables cuyo valor de VIF sea mayor a cinco (Zar 2010).

En todas las técnicas empeladas se siguió el mismo proceso de modelización, construyendo primero el modelo saturado con todas las variables y evaluando su ajuste a los datos obteniendo el modelo óptimo de acuerdo a cada técnica. Luego se evaluó el desempeño del modelo con un método de validación por muestra de prueba, en el cual se divide al azar el set de datos en dos grupos (uno para entrenar al modelo y otro para evaluar el error de generalización). Este procedimiento se iteró 100 veces, obteniendo así una distribución de errores para cada caso. Esto permite una evaluación más adecuada de la capacidad predictiva del modelo evitando el sobreajuste y la comparación entre modelos de distinta naturaleza como los lineales y los de aprendizaje automático (Crisci *et al.* 2012). Las variables explicativas incluidas inicialmente fueron el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann ( $1/kT$ , kelvin), la salinidad y la profundidad de la columna de agua (metros). El  $K_D$  ( $\text{metros}^{-1}$ ) y la turbidez (NTU) se incluyeron como indicadores del ambiente lumínico, además se consideró la concentración de los nutrientes en forma de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ). La variable biológica abundancia de zooplancton ( $\text{individuos mL}^{-1}$ ) estimada por Kruk *et al.* (2015) para el área de estudio fue incluida con el fin de detectar si los cambios en las pendientes e interceptos estaban asociados a este grupo de organismos.

Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico R utilizando la interfaz de RStudio (versión 1.0.136, 2016).



## RESULTADOS

### **Caracterización ambiental**

Se observaron amplios gradientes espaciales tanto de las variables físicas como químicas (Tabla 1). La profundidad de los distintos sistemas analizados varió entre 1.5 y 17 metros, siendo los sitios más profundos los correspondientes al embalse de Salto Grande y a la estación aguas abiertas en Punta del Este (Tabla 1). La temperatura superficial del agua presentó un rango de 11.0 a 33.6 °C mostrando un patrón temporal de variación estacional alcanzando los máximos en verano y un patrón regional con una tendencia de valores mayores en Salto Grande y menores en Montevideo y Punta del Este, independientemente de la época del año (Tabla 1). Los cambios en la salinidad y turbidez fueron marcados en el gradiente espacial. La salinidad fue cero en todos los meses de muestreo para las estaciones de Salto Grande, Fray Bentos, Carmelo y Colonia (correspondientes al tipo de ecosistema de embalse y río), y aumentó hacia Montevideo, con valores máximos de 33.5 en la zona correspondiente al estuario externo en Punta del Este (Tabla 1). La mayor variabilidad estacional de la salinidad se observó en Montevideo con un rango de 5.3 a 31.3. La turbidez varió entre sitios en un rango de 0 a 187 NTU registrándose los valores más bajos en Punta del Este y los superiores en Colonia y Carmelo, donde también se detectaron mayores coeficientes de atenuación de la luz en la columna de agua (Tabla 1).

Espacialmente la concentración de fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ) no presentó una tendencia clara y varió entre valores indetectables y un máximo de  $2.23 \mu\text{molL}^{-1}$  en Montevideo, siendo Colonia el sitio con valores medios superiores de fósforo (Tabla 1). El fósforo total ( $\text{P}_T$ ) fue máximo en Montevideo y la concentración de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) presentó una tendencia a disminuir espacialmente desde Salto Grande hasta Punta del Este al igual que el nitrógeno total ( $\text{N}_T$ ) (Figura 1, Anexo I). La misma tendencia presentó el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) descendiendo desde el embalse de Salto Grande hacia los sitios con más influencia marina (Tabla 1). El mayor rango de NID se observó en Fray Bentos (Tabla 1). Cabe destacar que los antecedentes para el

RdIP reportan valores de NID que discrepan respecto a los altos valores detectados en este estudio (Kruk *et al.* 2014; Calliari *et al.* 2005). La concentración de amonio fue mayor en Salto y Montevideo (Figura 1, Anexo I). En el plano temporal no hubo tendencias claras en las variables medidas a excepción de la temperatura y la irradiancia que fueron mayores en verano y menores en los muestreos de invierno.

**Tabla 1.** Valores medios y rangos (mínimo-máximo) por sitios de las principales variables ambientales medidas en el sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Variables: sitio y tipo de ecosistema (embalse, río, estuario y estuario externo), profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), temperatura (°C), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ;  $m^{-1}$ ) y concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $PO_4$ ;  $\mu molL^{-1}$ ) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu molL^{-1}$ )). \*Ind=indetectable.

SITIO	TIPO de ECO-SISTEMA	PROF. (m)	TEMPERATURA (°C)	SALINIDAD	TURBIDEZ (NTU)	$K_D$ ( $m^{-1}$ )	$PO_4$ ( $\mu molL^{-1}$ )	NID ( $\mu molL^{-1}$ )
Salto Grande	Embalse	10.6	22.2	0	23	3.1	0.86	134
		7–14	14.2–33.6	–	9.3–39.9	2.2–4.7	Ind–1.71	30–274
Fray Bentos	Río	4.7	21.2	0	17.9	2.9	0.71	128
		1.5–7.5	12.9–27.7	–	0.9–40.9	2.0–4.7	Ind–1.91	1.4–268
Carmelo	Río	3.9	20.2	0	63.6	4.2	0.98	126
		1.7–7.4	12.3–25.6	–	10.8–187	1.8–7.8	Ind–2.07	81–232
Colonia	Río	5.5	19.4	0	72.9	4.0	1.1	123
		2–10	11.0–24.8	–	16.2–159	2.5–6.2	Ind–2.16	101–181
Montevideo	Estuario	5.1	17.4	17.5	28.1	2.0	0.77	46
		1.8–9.2	11.0–22.9	5.3–31.3	5.6–89.6	1.0–4.2	0.1–2.23	2–106
Punta del Este	Estuario Ext.	9.2	17.5	25.6	4.2	0.7	0.84	30
		2–17	11.1–22.8	19.1–33.5	0–21.7	0.3–1.1	Ind–2.18	0.7–38

Se evaluó la relación entre las variables fisicoquímicas de los 72 casos mediante el coeficiente de correlación  $\rho$  (Tabla 2). La salinidad presentó una correlación negativa significativa con la temperatura y con la concentración de  $N_T$ , NID y  $SiO_2$  según lo esperable para una variable conservativa en un gradiente de dilución (Tabla 2). La turbidez se correlacionó positivamente con el  $K_D$ , y ambas se asociaron negativamente con la salinidad y positivamente con la temperatura

(Tabla 2). Por otra parte, la turbidez se correlacionó positivamente y en magnitud similar con la concentración de  $P_T$  y  $PO_4$ , mientras que el  $K_D$  lo hizo con la concentración de  $P_T$ ,  $SiO_2$ , NID y  $N_T$  (Tabla 2). A su vez la concentración de nutrientes en forma de NID se relacionó fuertemente y de modo positivo con la de  $N_T$  y  $SiO_2$ , las cuales a su vez se asociaron entre sí en igual sentido y magnitud similar (Tabla 2). La profundidad de la columna de agua y la concentración de amonio fueron las únicas variables que no estuvieron correlacionadas con ninguna de las variables medidas, con valores de  $p$  siempre superiores a 0.05.

Es decir que los sitios representativos de las estaciones más marinas (correspondientes al tipo de ecosistema estuarino que incluye Montevideo y Punta del Este) con mayor salinidad, registraron temperaturas más bajas, menores concentraciones de nutrientes (NID,  $N_T$  y  $SiO_2$ ) y mayor transparencia en la columna de agua. En cambio, en los sitios de las estaciones límnicas (correspondientes al tipo de ecosistema de embalse y río), se observó un gradiente de mayores temperaturas y concentración de nutrientes ( $PO_4$ ,  $N_T$ , NID y  $SiO_2$ ), así como una alta turbidez y atenuación de la luz en la columna de agua.

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) entre las variables fisicoquímicas analizadas a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. En negrita se destaca las correlaciones que fueron significativas. Las variables incluidas son: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ;  $\text{metros}^{-1}$ ) y concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), fósforo total ( $\text{P}_T$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ), nitrógeno total ( $\text{N}_T$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y sílice ( $\text{SiO}_2$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 ' '. Número de observaciones en cada caso  $N=72$ .

<i>Variables</i>	TEMPERA- TURA	SALINI- DAD	TURBI- DEZ	$K_D$	$\text{PO}_4$	NID	$\text{P}_T$	$\text{N}_T$	$\text{SiO}_2$
<i>Fisicoquímicas</i>									
<b>TEMPE- RATURA</b>	1	<b>-0.37***</b>	<b>0.24*</b>	<b>0.35**</b>	0.06	0.07	0.20	<b>0.24*</b>	0.028
<b>SALINI- DAD</b>		1	<b>-0.31**</b>	<b>-0.59***</b>	-0.14	<b>-0.65***</b>	-0.02	<b>-0.63***</b>	<b>-0.79***</b>
<b>TURBIDEZ</b>			1	<b>0.75***</b>	<b>0.30**</b>	0.17	<b>0.29**</b>	0.05	0.2
$K_D$				1	0.14	<b>0.30**</b>	<b>0.23*</b>	<b>0.36**</b>	<b>0.44***</b>
$\text{PO}_4$					1	0.1	<b>0.55***</b>	-0.07	0.05
NID						1	-0.04	<b>0.60***</b>	<b>0.80***</b>
$\text{P}_T$							1	-0.06	-0.07
$\text{N}_T$								1	<b>0.72***</b>
$\text{SiO}_2$									1

En relación a los cambios en profundidad de distintas variables en verano e invierno, observamos que la columna de agua estuvo mezclada en la mayoría de los casos en los ecosistemas correspondientes al embalse y río, mientras que en la región estuarina, particularmente en Montevideo las situaciones de estratificación ocurrieron con mayor frecuencia y los patrones fueron más variables. En la figura 2 se muestra un caso representativo para los

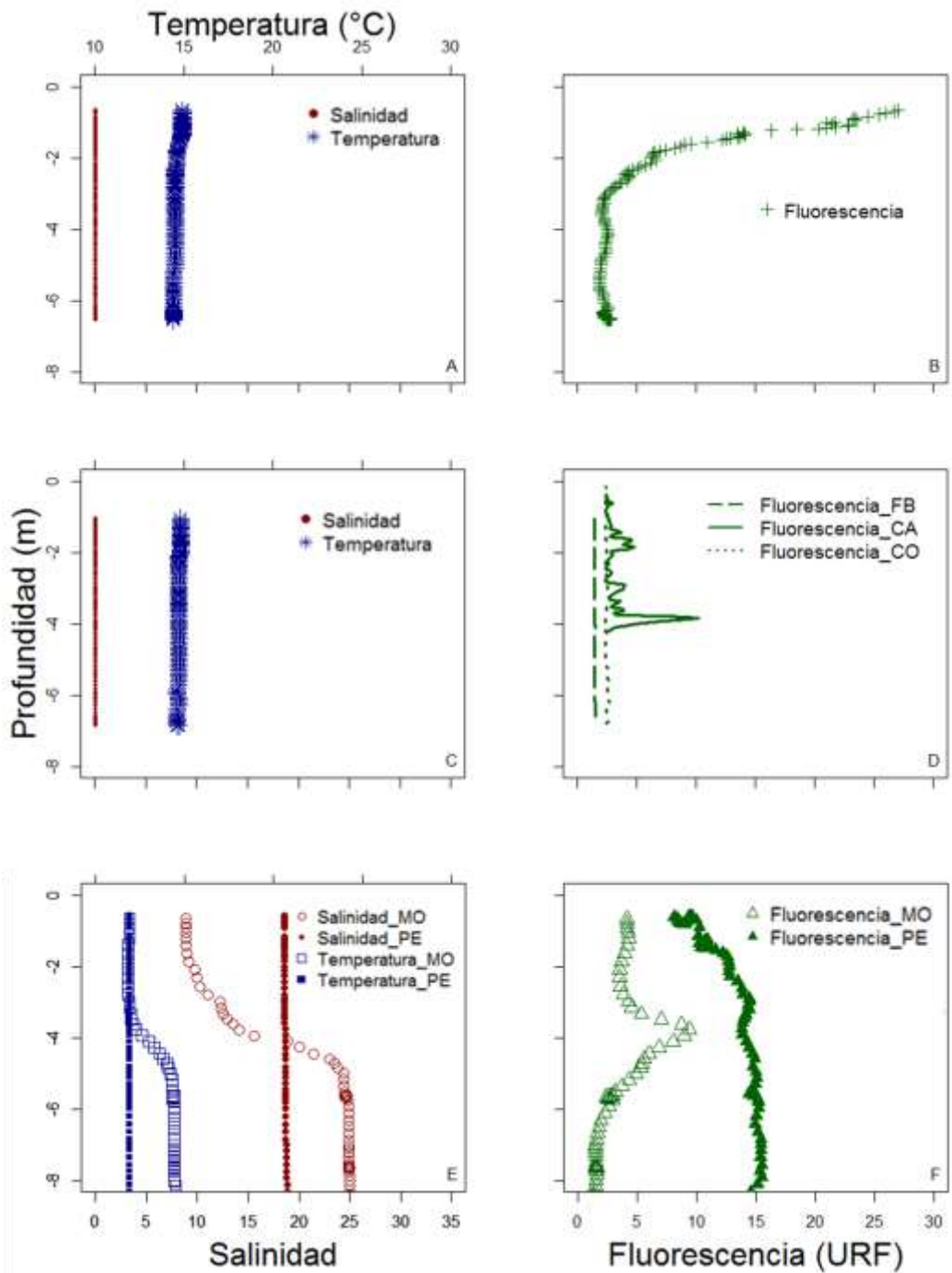
ecosistemas analizados del RU-RdIP a lo largo en la estación aguas abiertas en Junio del 2013. Los gráficos de la izquierda (A, C y E) corresponden a perfiles del medio físico (temperatura y salinidad) del embalse, río y estuario, y a la derecha se representa la fluorescencia (B, D y F) correlativa a cada tipo de ecosistema. En el extremo superior se muestra el caso del embalse, a continuación los casos del río y en el extremo inferior conjuntamente los casos del estuario y estuario externo.

En particular en el embalse de Salto Grande en la estación de aguas abiertas se observaron temperaturas en superficie más elevadas, tanto en verano como en invierno. La temperatura fue homogénea en la columna de agua, al igual que la salinidad que siempre se mantuvo en cero (Figura 2 A). En cambio la fluorescencia mostró su máximo de 27 URF cercano a 1 m de profundidad, disminuyendo abruptamente a menos de 3 URF a partir de los 3 m (Figura 2 B), la misma tendencia se observó en verano.

En la zona del río, los patrones fueron los más homogéneos. La salinidad fue cero en toda la columna de agua para los 3 sitios (Fray Bentos, Carmelo y Colonia) (Figura 2 C). La temperatura fue mayor durante el verano y cercana a los 15°C en invierno, sin variaciones entre superficie y fondo en las estaciones límnicas (Figura 2 C). En Fray Bentos la fluorescencia fue cercana a cero, mientras que en Carmelo se observan valores superiores con un pico a los 4 m que alcanza 10 URF (Figura 2 D). Colonia tuvo un perfil de fluorescencia que se mantuvo constante y cercano a 2 URF (Figura 2 D).

La región estuarina presentó situaciones de temperaturas inferiores (cercanas a 10°C en invierno) con mínimos en Punta del Este, donde se observó un perfil homogéneo de la variable en la columna de agua. Particularmente en Montevideo se detectó que la temperatura presentó valores más bajos en la superficie y un aumento a los 5 m de profundidad (Figura 2 E). Del mismo modo, la salinidad fue menor en la superficie (cercana a 8) y aumentando hacia el fondo donde alcanzó máximos de 25, observándose una estratificación inversa en junio del 2013 (Figura 2 E). Durante el verano, en el sitio de Montevideo también se vio la columna de agua estratificada con valores superficiales de temperatura y salinidad, que comenzaron a aumentar a los 4 m

alcanzando máximos en el fondo. En Punta del Este se registran los valores máximos de salinidad en superficie (cerca de 20), con un perfil homogéneo independientemente de la estacionalidad (Figura 2 E). Finalmente en Punta del Este se observan valores superiores de fluorescencia (entre 5 y 10 URF) a partir de los 5 m (Figura 2 F). De modo similar, en Montevideo se detectó un pico de fluorescencia de aproximadamente 10 URF a una profundidad de 4 m (Figura 2 F), coincidente con la clina que separa aguas menos salinas y frías por encima, de las más salinas y cálidas por debajo.



**Figura 2.** Cambios en profundidad (m; metros) de salinidad, temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ; grados Celsius) y fluorescencia (URF; unidades relativas de fluorescencia) medidos con CTD en la zona de aguas abiertas para los seis sitios de estudio en Junio del 2013. Los gráficos A y B corresponden al tipo de ambiente de embalse; C y D al río; E y F al ambiente estuarino incluyendo el estuario externo. A la izquierda (A, C y D), se observa el perfil físico de salinidad y temperatura; y a la derecha (B, D y F), el perfil de fluorescencia para cada tipo de ecosistema. Se distinguen los casos en que hubo diferencias de las variables analizadas entre sitios dentro de cada ambiente. Sitios: FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este.

## Estructura comunitaria

Se contaron y midieron un total de  $2.2E+07$  partículas en 319 clases de tamaño (DEE). Se observó un rango de variabilidad de tamaños individuales que abarca seis órdenes de magnitud, entre  $4.4$  y  $7.8E+06 \mu\text{m}^3$ , equivalente a un rango de  $2$ - $246 \mu\text{m}$  de DEE (Tabla 3). Especialmente, la media de las variables: DEE, tamaño individual, densidad y biovolumen, se estimaron considerando todas las observaciones. Además se determinó un rango que denota la diferencia de máximos registrados para el total de cada variable en las 12 estaciones por sitio a lo largo de todo el gradiente analizado.

Punta del Este fue el sitio con un promedio de individuos de tamaño más grande, mientras que Fray Bentos y Carmelo presentaron los individuos relativamente más chicos (Tabla 3), sin embargo no se observaron diferencias significativas en la distribución de medias entre sitios ( $p$ -valor ajustado  $>0.05$ ;  $N=72$ ). La densidad total de partículas fue similar en Carmelo, Colonia y Montevideo, donde a su vez se registraron los valores más altos del gradiente regional analizado (Tabla 3). Mientras que en Punta del Este se observó una densidad total significativamente distinta e inferior respecto al resto de los sitios ( $p$ -valor ajustado  $<0.05$ ;  $N=72$ ). Salto Grande y Fray Bentos presentaron una situación intermedia de densidad de partículas. El mayor rango de variabilidad de densidad (partículas  $\text{mL}^{-1}$ ) se observó en Montevideo (Tabla 3).

Los dos indicadores de abundancia estuvieron correlacionados entre sí, densidad total-biovolumen total ( $\rho=0.6$ ;  $p$ -valor  $<0.001$ ,  $N=72$ ). No hubo una tendencia temporal marcada en el biovolumen total ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ), sin embargo espacialmente se observó que en Fray Bentos fue menor que en Salto Grande ( $p$ -valor ajustado  $=0.04$ ;  $N=72$ ). Mientras que las estaciones de Punta del Este presentaron un biovolumen total inferior y valores medios significativamente distintos de Salto Grande y Carmelo ( $p$ -valor ajustado igual a  $0.003$  y  $0.01$  respectivamente;  $N=72$ ).



**Tabla 3.** Valores medios y rangos de máximos de las variables estimadas mediante el análisis electrónico de los espectros de tamaño de comunidades planctónicas de seis sitios a lo largo del RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. El rango representa la diferencia de máximos observadas en las 12 estaciones con que cuenta cada sitio. Variables: diámetro esférico equivalente (DEE;  $\mu\text{m}$ ), tamaño individual ( $\mu\text{m}^3$ ), densidad observada (partículas  $\text{mL}^{-1}$ ) y biovolumen ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ).

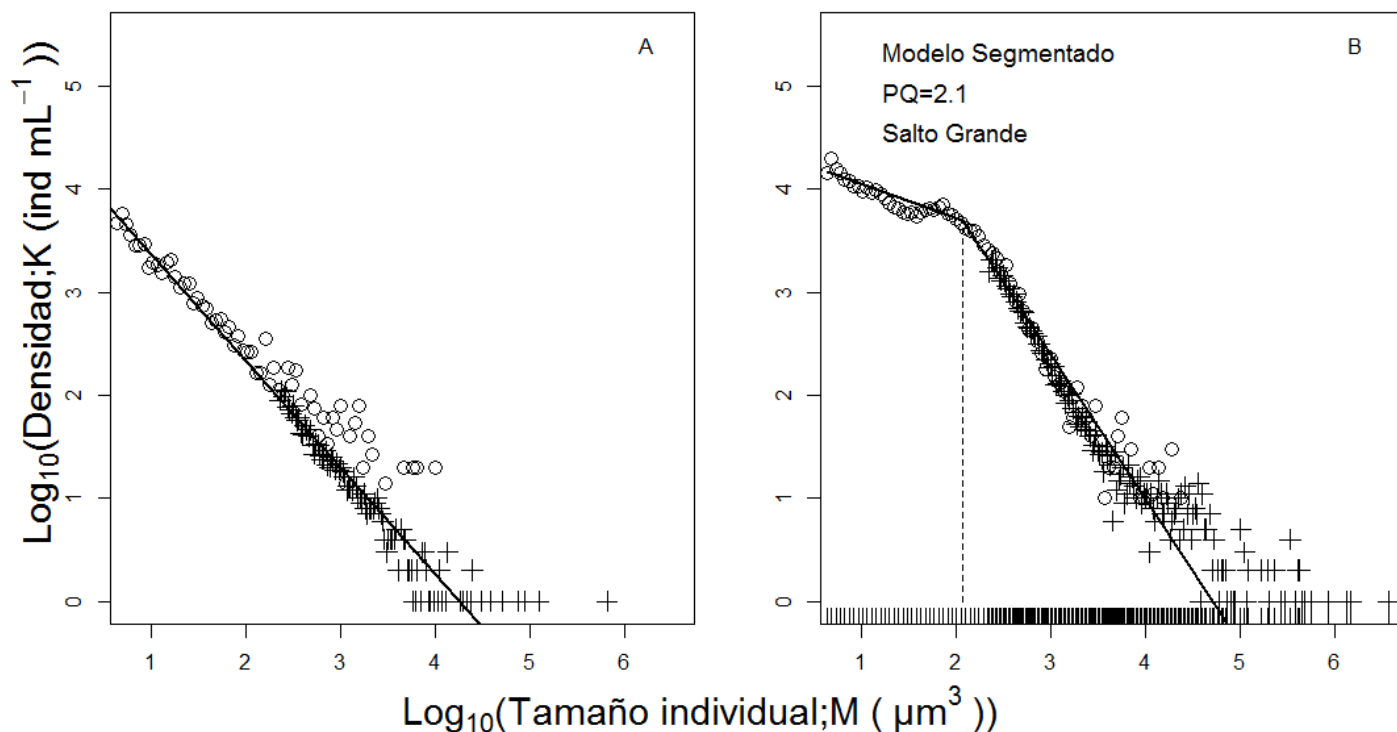
SITIO	DEE ( $\mu\text{m}$ )	TAMAÑO INDIVIDUAL ( $\mu\text{m}^3$ )	DENSIDAD (partículas $\text{mL}^{-1}$ )	BIOVOLUMEN ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ )
<b>Salto Grande</b>	43	2.7E+05	883	1.2E+05
	119 – 243	8.9E+05 – 7.5E+06	8.9E+04 – 4.0E+05	1.1E+07 – 6.5E+07
<b>Fray Bentos</b>	41	2.2E+05	771	7.8E+04
	127 – 221	1.1E+06 – 5.7E+06	8.3E+04 – 3.5E+05	1.3E+07 – 2.8E+07
<b>Carmelo</b>	42	2.4E+05	1509	1.0E+05
	118 – 239	8.5E+05 – 7.1E+06	4.6E+04 – 1.1E+06	1.3E+07 – 4.8E+07
<b>Colonia</b>	43	2.6E+05	1473	1.4E+05
	129 – 246	1.1E+06 – 7.8E+06	1.8E+05 – 7.0E+05	9.1E+06 – 1.7E+08
<b>Montevideo</b>	44	2.8E+05	1513	1.1E+05
	139 – 232	1.4E+06 – 6.5E+06	6.3E+04 – 1.8E+06	6.1E+06 – 1.2E+08
<b>Punta del Este</b>	48	3.8E+05	283	4.4E+04
	141 – 243	1.5E+06 – 7.5E+06	1.8E+04 – 1.5E+05	3.5E+06 – 2.8E+07

### Espectros de tamaños de nano y micro plancton

Se generaron y analizaron 72 espectros de tamaño a partir de seis sitios muestreados durante un año. Se halló una relación inversa significativa entre la densidad observada y el tamaño individual para todos los sitios, fechas y estaciones de muestreo (Figura 3). Para el conjunto de datos, los parámetros de escalamiento mostraron variabilidad, con valores de pendientes consistentemente menores a  $-3/4$ , disminuyendo la densidad de partículas en un modo casi continuo hacia clases de tamaños mayores.

Mediante la prueba t de muestras pareadas se observó que no hubo diferencias de medias en las pendientes entre las estaciones aguas abiertas (AA) y costa (CO) dentro de cada sitio (siempre  $p\text{-valor} > 0.05$ ;  $N=6$  en cada prueba), excepto en el caso de Montevideo ( $t=3$ , diferencia de

medias=0.45; p-valor<0.05, N=6). De esta manera, en una evaluación posterior de las predicciones por sitio, únicamente en Montevideo se consideró separadamente los efectos de las condiciones ambientales en las pendientes para AA y CO separadamente.



**Figura 3.** Espectros representativos de la relación tamaño individual-densidad observada, tipo ISD, de comunidades planctónicas en escala  $\text{Log}_{10}$ , analizados para los extremos del gradiente geográfico ajustando el modelo óptimo. El gráfico A, representa el ajuste de un modelo lineal simple en la zona estuarina externa de Punta del Este. El gráfico B, un modelo segmentado con su valor del punto quiebre (PQ) en el tamaño corporal en el embalse de Salto Grande. Los círculos (o) corresponden a los datos estimados con el tamaño de orificio del analizador de partículas igual a  $95 \mu\text{m}$  y las cruces (+) al orificio de  $380 \mu\text{m}$ .

Un resumen para los seis sitios de los modelos estadísticos ajustados para estudiar la estructura de tamaños de las comunidades planctónicas en todas las estaciones y fechas de muestreo se puede observar en la Tabla 4, con valores medios y rangos de los parámetros más relevantes, así como la proporción de casos con ajuste de modelo lineal y en segmentos. Por detalles del modelo ajustado y sus resultados en cada caso particular del total ver Tabla 1, Anexo I.

En el 70% del total de casos analizados el modelo lineal simple presentó más apoyo con una relación lineal inversa consistente entre la densidad total de partículas observadas y el tamaño corporal. En los casos restantes (el 30%) se detectó un patrón de espectro de tamaño con ajuste de dos segmentos separados por un punto de quiebre, esto incluye tres casos en Salto Grande, tres en Carmelo, siete en Colonia, ocho en Montevideo y uno en Punta del Este (Tabla 4). En la totalidad de los casos de Fray Bentos el modelo lineal simple proporcionó un ajuste óptimo. La significancia de ajuste de todos los modelos estadísticos mostró elevados valores de  $R^2$  con un promedio de 0.98 y por tanto una alta proporción de la varianza en los datos se puede atribuir solo al tamaño.

En todos los casos se estimó el valor del intercepto, A, cuando el logaritmo en base 10 del tamaño corporal es igual a 0.64, y por tanto cuando M vale  $4.4 \mu\text{m}^3$  ( $\sim 2 \mu\text{m}$  de DEE) (Tabla 4). De este modo, posteriormente se evalúan las predicciones de la TME estrictamente para tal clase de tamaño. Al considerar el conjunto de interceptos estimados (A), se observó que no hubo diferencias de medias entre las estaciones AA y CO dentro de cada sitio (siempre  $p\text{-valor} > 0.05$ ;  $N=6$  en cada prueba), por lo que se trabajó con muestras agrupadas.

Los puntos de quiebre (PQ) se detectaron entre valores de 1.40 a 3.67 en escala log, con un promedio y desvío estándar de  $2.2 \pm 0.07$  (Tabla 4). Es decir, que en promedio el patrón de quiebre se da a un tamaño equivalente a un volumen de  $158 \mu\text{m}^3$  y por tanto un DEE aproximado de  $6.7 \mu\text{m}$  en el rango de  $3.7$  a  $20.7 \mu\text{m}$ , indicando transiciones abruptas en las tasas de cambio de la densidad de partículas con el tamaño corporal, hacia pendientes más pronunciadas en las clases de mayor tamaño.

**Tabla 4.** Resultados de los espectros de tamaños de comunidades planctónicas derivados del ajuste de modelos estadísticos lineales y en segmentos en escala  $\text{Log}_{10}$  por sitios combinando todas las zonas y fechas de muestreo. Se detalla: el sitio y el porcentaje de casos con ajuste lineal y en segmentos (LIN:SEG%) y los valores medios y rangos (mínimo a máximo) de los coeficientes de las ecuaciones para cada uno de los modelos propuestos. Dónde:  $y$  es la densidad observada;  $x$  el tamaño individual;  $b$  es el escalamiento esperado por TME (y considera tanto las pendientes del modelo lineal como las de los segmentos posteriores al punto de quiebre);  $b_2$  son las pendientes de los segmentos previos al punto de quiebre;  $a$ ,  $a_1$  y  $a_2$  son las constantes de las regresiones (sus valores no se muestran);  $A$  es el intercepto estimado cuando  $\text{Log}_{10}M=0.64$ ; PQ es el punto de quiebre en la regresión segmentada en escala log y  $R^2$  es el coeficiente de determinación promedio de los 12 modelos ajustados por sitio. Asumimos que  $b$  y  $A$  corresponden a las pendientes ( $\beta$ ) y los interceptos ( $\alpha$ ) respectivamente definidos en la ecuación 2 propuesta por la TME.

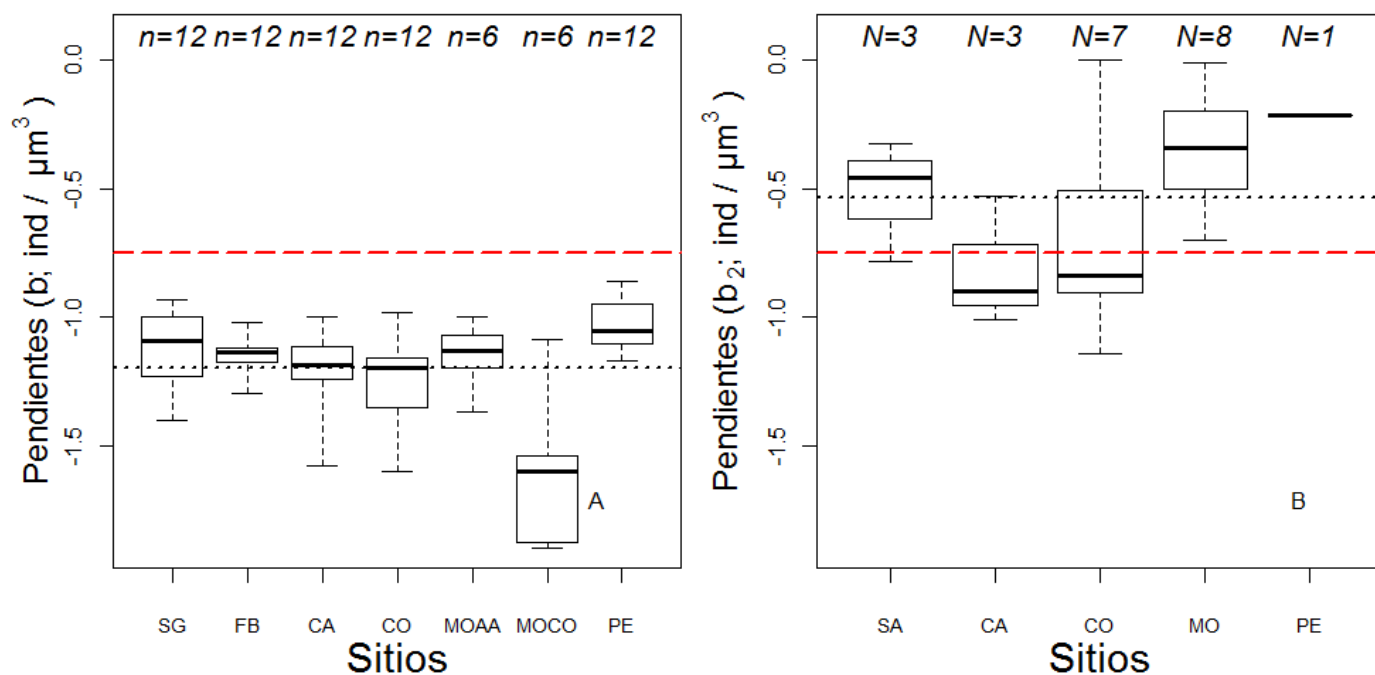
MODELO	Lineal (LIN)	Segmentado (SEG)		PARAMETROS ESTIMADOS		
	$y=a+bx$	$y=a_1+bx$ si $x \geq PQ$	$y=a_2+b_2x$ si $x < PQ$			
COEFICIENTES						
SITIO	LIN:SEG%	$b$	$b_2$	$A$	PQ	$R^2$
Salto Grande	75:25	-1.13	-0.52	4.34	2.27	0.97
		-1.40 a -0.93	-0.78 a -0.32	3.93 a 4.61	2.06 a 2.43	
Fray Bentos	100:0	-1.14	-	4.35	-	0.99
		-1.30 a -1.02	-	4.00 a 4.63	-	
Carmelo	75:25	-1.20	-0.81	4.56	2.11	0.98
		-1.58 a -1.00	-1.01 a -0.53	3.66 a 5.14	1.94 a 2.27	
Colonia	42:58	-1.25	-0.69	4.62	2.54	0.99
		-1.60 a -0.98	-1.15 a 0	4.20 a 4.99	1.88 a 3.67	
Montevideo	33:67	-1.38	-0.35	4.45	1.91	0.97
		-1.90 a - 1.00	-0.70 a 0	3.72 a 5.34	1.40 a 2.43	
Punta del Este	92:8	-1.03	-0.22	3.85	1.41	0.97
		-1.17 a -0.86	-	3.18 - 4.22	-	

Para maximizar el uso de los datos obtenidos del ajuste de ambos modelos estadísticos se combina la estimación de escalamiento de modelos lineales entre puntos de quiebre (referidos como  $b$  en la Tabla 4), observándose que en promedio la relación negativa entre densidad y

tamaño corporal fue más pronunciada que el valor esperado por las restricciones metabólicas, pendiente promedio=-1.2; rango=-1.9 a -0.86 (Figura 4 A).

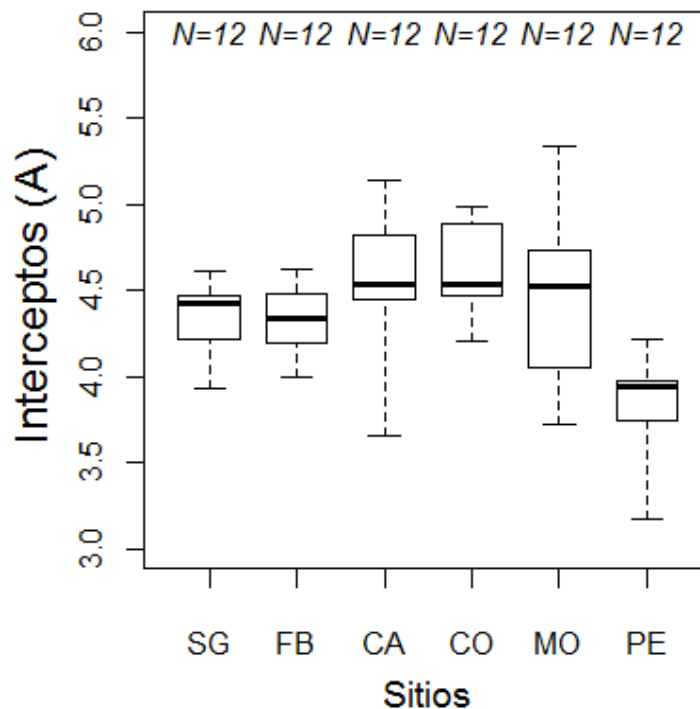
Independientemente del sitio, para todo el conjunto de datos se encontró que las pendientes fueron significativamente distintas de  $-\frac{3}{4}$  ( $\mu=-0.75$ ;  $t=-18$ ;  $p\text{-valor}<0.001$ ,  $N=72$ ), y más negativas que -1 ( $\mu=-1$ ;  $t=-7.8$ ;  $p\text{-valor}<0.001$ ,  $N=72$ ). Del mismo modo en cada sitio se observaron pendientes estadísticamente distintas a  $-\frac{3}{4}$  a lo largo de las zonas correspondientes al embalse y río, volviéndose aún más negativas hacia Montevideo donde fueron más variables, rango -1.9 y -1.0 ( $\mu=-1$ ; siempre  $p\text{-valor}>0.05$ ,  $N=12$  en cada prueba; excepto en Montevideo donde se evalúa independientemente AA y CO y por tanto  $N=6$ ). Este rango, denota el efecto de muestreo en dos estaciones distintas, observándose que las pendientes fueron más positivas en la zona de aguas abiertas (MOAA) y más negativas en la estación costera (MOCO) (Figura 4 A). Todos los sitios fueron significativamente distintos de la estación costera de Montevideo ( $p\text{-valor ajustado}<0.05$ ;  $N=72$ ). En Colonia también se observaron pendientes pronunciadas que difirieron significativamente respecto a Punta del Este ( $p\text{-valor ajustado}=0.01$ ;  $N=72$ ).

La Figura 4 B corresponde a las pendientes resultantes del ajuste del modelo segmentado para las clases de tamaño menores a los puntos de quiebre ajustados (referidos como  $b_2$  en la Tabla 4). Los resultados muestran para cada sitio pendientes medias negativas en el rango de -1.15 a 0, con valores alejados de lo esperado en todo el gradiente ambiental analizado ( $\mu=-0.75$ ; media de  $b_2=-0.52$ ;  $t=3.0$ ;  $p\text{-valor}=0.003$ ,  $N=22$ ).



**Figura 4.** Distribución de las pendientes estimadas del espectro de tamaños de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; MOAA, Montevideo Aguas Abiertas; MOCO, Montevideo Costa; PE, Punta del Este. El gráfico A, representa todas las pendientes estimadas a partir del ajuste de los modelos estadísticos lineal y en segmentos (b). El gráfico B, representa las pendientes que corresponden al segmento previo al punto de quiebre resultado del ajuste del modelo segmentado (b<sub>2</sub>). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N). La línea a rayas roja indica el valor de pendiente teóricamente esperado (-3/4); la línea punteada negra indica el valor medio para el total de casos en cada gráfico respectivamente (b̄~-1.2; b̄<sub>2</sub>~-0.54).

Los valores de los interceptos (A) mostraron una tendencia al aumento desde Salto Grande hacia Carmelo y Colonia donde se alcanza una densidad media más alta, siendo Montevideo el sitio que presentó los casos con valores máximos de densidad (Figura 5). Hacia la región exterior del Río de la Plata se observó un descenso de los interceptos con valores mínimos en Punta del Este (Figura 5) y significativamente distintos que el resto de los sitios (p-valor ajustado<0.001; N=72).



**Figura 5.** Distribución de los interceptos estimados del espectro de tamaños de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este. El gráfico representa los valores de densidad derivados del ajuste de un modelo lineal y en segmentos para la menor clase de tamaño cuando  $\text{Log}_{10}M=0.64$  (A). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N).

## Relación con las condiciones ambientales

Se detallan los valores de los coeficientes de correlación  $\rho$  y la significancia estadística entre pendientes ( $\beta \sim b$ ) e interceptos ( $\alpha \sim A$ ) de la relación  $K \sim M$  en función de cada variable predictora ( $1/kT$ ,  $\text{PO}_4$ , NID, turbidez,  $K_D$ ) en la Tabla 2 y Tabla 3 del Anexo I.

### Pendientes

Se registró la ausencia de correlación entre las pendientes y el inverso de la temperatura multiplicada por la constante de Boltzmann ( $1/kT$ ) ( $\rho=0.14$ ;  $p\text{-valor}=0.3$ ,  $N=72$ ) tanto para el total

de casos en su conjunto, como por sitios (Tabla 2, Anexo I). Al analizar la relación de las pendientes con el logaritmo en base 10 de la concentración de NID y de PO<sub>4</sub>, no se detectaron relaciones significativas a escala regional ( $\rho$  NID=-0.12; p-valor=0.3, N=72;  $\rho$  PO<sub>4</sub>=0.08; p-valor=0.5, N=72), ni local (Tabla 2, Anexo I). Los resultados hallados concuerdan con lo esperado según las expectativas teóricas propuestas por la TME específicamente para las pendientes, donde tanto las condiciones de recursos (e.g. nutrientes) como de temperatura no afectarían el valor de escalamiento en la relación densidad-tamaño corporal.

Al considerar el sistema RU-RdIP en su conjunto, los resultados muestran que la disminución de luz en el agua tuvo un efecto significativo en la distribución de tamaños individuales más grandes. Se detectó una correlación inversa entre las pendientes en su conjunto y los recursos en forma de luz, con relaciones más pronunciadas y negativas a medida que la columna de agua es menos transparente, es decir hacia altos coeficientes de atenuación de la luz ( $\rho$  K<sub>D</sub>=-0.33; p-valor<0.005, N=72) y mayor grado de turbidez ( $\rho$  turbidez=-0.28; p-valor<0.05, N=72). Los modelos lineales simples ajustados entre las variables mencionadas tuvieron pendientes negativas significativas a nivel de 0.05 de -0.20 y -0.10 para K<sub>D</sub> y turbidez respectivamente, con un R<sup>2</sup> menor al 11% en ambos casos. Al ejecutar el análisis por sitio ni el K<sub>D</sub> ni la turbidez mostraron asociación significativa alguna con las pendientes en ninguno de los seis sitios (Tabla 2, Anexo I).

### **Interceptos**

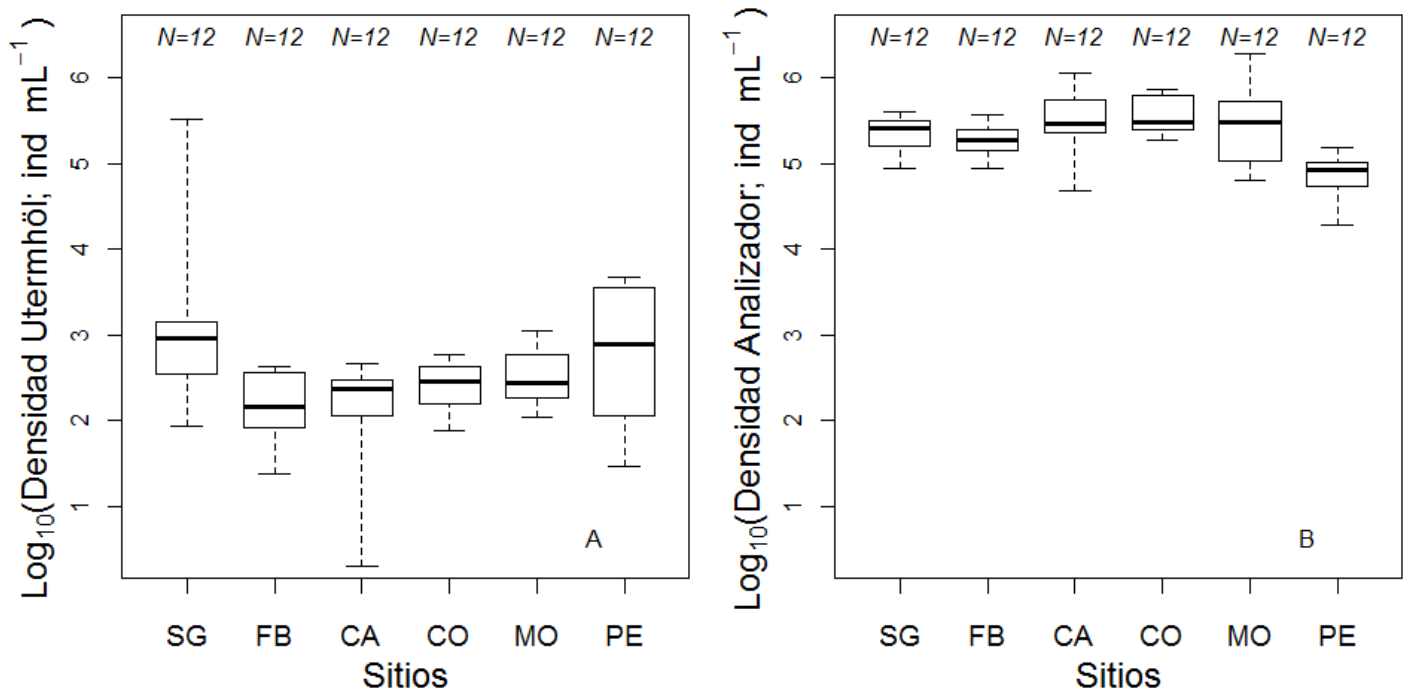
Las correlaciones de los interceptos por sitio en función de 1/kT y el Log<sub>10</sub> de la concentración de PO<sub>4</sub> y NID separadamente no fueron significativas (p-valor>0.05; N=12) (Tabla 3, Anexo I). Al ejecutar el análisis para el conjunto de los interceptos a lo largo del gradiente ambiental analizado tampoco se observaron asociaciones significativas en una evaluación independiente con 1/kT y con la concentración de nutrientes (p-valor>0.05; N=72). Sin embargo se hallaron patrones interesantes a nivel regional para el continuo RU-RdIP respecto al ambiente lumínico de la columna de agua. La relación de los interceptos en función del K<sub>D</sub> y la turbidez en escala Log<sub>10</sub> a nivel regional fue positiva y similar para las dos variables ( $\rho$  K<sub>D</sub>=0.59 y  $\rho$



turbidez=0.64; p-valor<0.001, N=72), por lo que sistemas con alto  $K_D$  y grado de turbidez en la columna de agua presentarían las densidades de individuos más altas. Los modelos lineales simples ajustados entre el total de los interceptos y el  $\text{Log}_{10}$  del  $K_D$  y la turbidez independientemente, fueron significativos con pendientes positivas de 0.79 y 0.43 respectivamente (p-valor<0.001; N=72), el  $R^2$  para la variable explicativa  $K_D$  fue de 0.39 y para la turbidez de 0.40. En un análisis por sitio, se detectó en Carmelo una alta correlación positiva con las variables del ambiente lumínico ( $\rho K_D=0.62$  y  $\rho$  turbidez=0.79; p-valor<0.05, N=12) (Tabla 3, Anexo I). Sin embargo los modelos lineales simples ajustados para los doce casos muestreados en Carmelo en función del  $K_D$  y la turbidez no fueron significativos (p-valor>0.05; N=12), por lo que la asociación detectada con el método de Spearman evidenciaría una relación entre las variables no lineal.

### **Descriptores de la comunidad fitoplanctónica por microscopía tradicional**

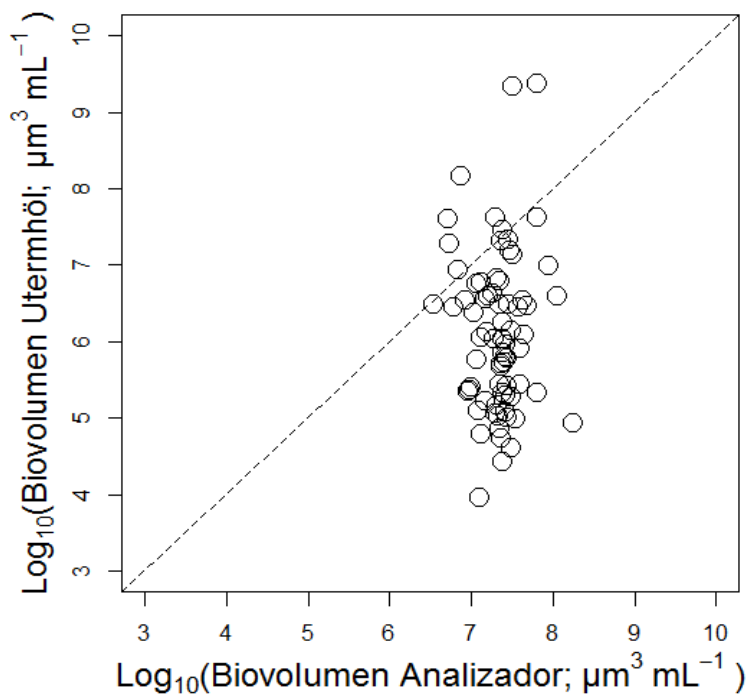
La comunidad de fitoplancton para el área de estudio mostró una considerable variabilidad en términos de las estimaciones de densidad de individuos derivadas de los conteos realizados al microscopio (Densidad Utermöhl) (Figura 6 A). Se observó un rango entre 2 y  $3.3E+05$  ind.mL<sup>-1</sup>, y en promedio el número de individuos fue máximo hacia los extremos del gradiente, en la zona del embalse y estuario externo (Figura 6 A). En las estaciones fluviales de Fray Bentos y Carmelo los registros medios de ind.mL<sup>-1</sup> fueron significativamente menores que en el embalse (p-valor ajustado=0.02 en ambos casos; N=72). Las estimaciones de densidad de abundancia con el instrumento de conteo electrónico (Densidad Analizador) y con la técnica Utermöhl no estuvieron correlacionadas entre sí ( $\rho=-0.12$ ; p-valor=0.3, N=72). Los registros detectados con el analizador fueron más altos en todo el gradiente regional analizado, excepto en el caso particular del embalse en Enero del 2013 donde la alta densidad partículas contabilizadas automáticamente también se detectó en el microscopio (Figura 6).



**Figura 6.** Variación regional del logaritmo de la densidad total  $\text{Log}_{10}(\text{Densidad; ind.mL}^{-1})$  a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Sitios: SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos; CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este. El gráfico A, representa las estimaciones de densidad obtenidas del análisis con microscopía tradicional (Densidad Utermöhl). El gráfico B, representa las estimaciones de densidad derivadas del instrumento de conteo electrónico de partículas (Densidad Analizador). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo. Se indica el número de observaciones (N).

Los indicadores de abundancia estimados por microscopía estuvieron correlacionados entre sí, densidad-biovolumen ( $p=0.56$ ;  $p\text{-valor}<0.001$ ,  $N=72$ ). El biovolumen total detectado varió entre sitios con una tendencia similar a la densidad de fitoplancton con valores significativamente superiores en el embalse respecto a Fray Bentos y Carmelo, y en Punta del Este respecto a Fray Bentos ( $p\text{-valor ajustado}<0.05$ ,  $N=72$ ). Para comparar las estimaciones derivadas de las dos técnicas empeladas en el análisis de las comunidades planctónicas (analizador electrónico de partículas y microscopía tradicional), el biovolumen ( $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ) de cada uno de los 72 casos de estudio se transformó a  $\text{Log}_{10}$  y se los contrastó con la relación 1:1. Se observó que en muchos

casos el biovolumen fue subestimado por la técnica de microscopía (o sobreestimado por el análisis electrónico), detectándose diferencias de más de dos órdenes de magnitud entre técnicas (Figura 7). En apoyo, hubo ausencia de correlación significativa de dicha variable entre técnicas en una prueba de Spearman ( $\rho=-0.02$ ; p-valor=0.8, N=72). Particularmente los puntos por encima de la línea 1:1 corresponden a casos del embalse de Salto Grande (Figura 7).



**Figura 7.** Comparación del biovolumen total  $\text{Log}_{10}(\text{Biovolumen}; \mu\text{m}^3\text{mL}^{-1})$  entre las dos técnicas de conteo para los 72 casos analizados en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. El eje x, representa las estimaciones derivadas del instrumento de conteo electrónico de partículas (Biovolumen Analizador). El eje y, representa las estimaciones obtenidas del análisis con microscopia tradicional (Biovolumen Utermöhl). La línea punteada representa la relación 1:1.

Con el fin de analizar los resultados en función de la estructura fisicoquímica de los diferentes ambientes, la densidad de individuos y el biovolumen estimado con cada técnica de conteo se correlacionó con las variables ambientales medidas en los sitios de estudio (Tabla 5). En el caso de Utermöhl se observaron respuestas claras con la profundidad del sistema y los nutrientes (Tabla 5). Ambas variables se asociaron en igual sentido y similar magnitud con la profundidad de la columna de agua ( $\rho$  densidad=0.36;  $\rho$  biovolumen=0.33), con los sitios más

profundos como el embalse y la zona de aguas abiertas de Punta del Este con gran biomasa fitoplanctónica (Tabla 5). Asimismo, la fluorescencia estuvo correlacionada positivamente con la densidad de individuos y el biovolumen total (ambos casos con  $\rho=0.60$ ) (Tabla 5). Por otra parte, el biovolumen se asoció con la salinidad positivamente ( $\rho=0.26$ ) y con la concentración de NID y  $\text{SiO}_2$  ambas en sentido negativo ( $\rho=-0.25$  y  $-0.30$  respectivamente) (Tabla 5), lo cual concuerda con el alto biovolumen observado por microscopía en la región estuarina externa a baja concentración de nutrientes.

En el caso de analizador electrónico de partículas, los descriptores comunitarios se asociaron negativamente con el aumento de la salinidad a lo largo del gradiente ambiental (Tabla 5). Se observó que los sitios con mayor transparencia en la columna de agua, es decir menor  $K_D$  y turbidez, presentaron los valores más bajos de densidad de partículas (Tabla 5). Esto concuerda con los menores interceptos detectados en Punta del Este en resultados de secciones previas. En apoyo, la misma tendencia se observó con el biovolumen, el cual a su vez estuvo correlacionado negativamente con la disminución de la temperatura hacia el ambiente estuarino externo (Tabla 5).

**Tabla 5.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) entre las variables fisicoquímicas analizadas a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014, y la densidad total (Densidad; ind.mL<sup>-1</sup>) así como el biovolumen total (Biovolumen;  $\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ ) estimados a partir de los conteos por microscopía tradicional (Uthermö) y análisis electrónico de partículas (Analizador). Las variables incluidas son: profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), salinidad, turbidez (NTU), coeficiente de atenuación de la luz (K<sub>D</sub>; metros<sup>-1</sup>), el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann (TEMP.; 1/kT, kelvin), la fluorescencia (FLUOR.; URF, unidades de fluorescencia relativa) y la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y sílice (SiO<sub>2</sub>;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 ' '. Se muestran solo los casos significativos al nivel de 0.05. Número de observaciones en cada caso N=72.

<i>Descriptor</i> <i>Comunitario</i>	PROF.	SALINIDAD	TURBIDEZ	KD	TEMP. (1/kT)	FLUOR.	NID	SiO <sub>2</sub>
<b>Densidad ind.mL<sup>-1</sup></b>								
Uthermö	0.36**	-	-	-	-	0.60***	-	-
Analizador	-	-0.28*	0.65***	0.61***	-	-	-	-
<b>Biovolumen <math>\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}</math></b>								
Uthermö	0.33**	0.26*	-	-	-	0.60***	-0.25*	-0.30**
Analizador	-	-0.37**	0.50***	0.56***	-0.29*	-	-	-

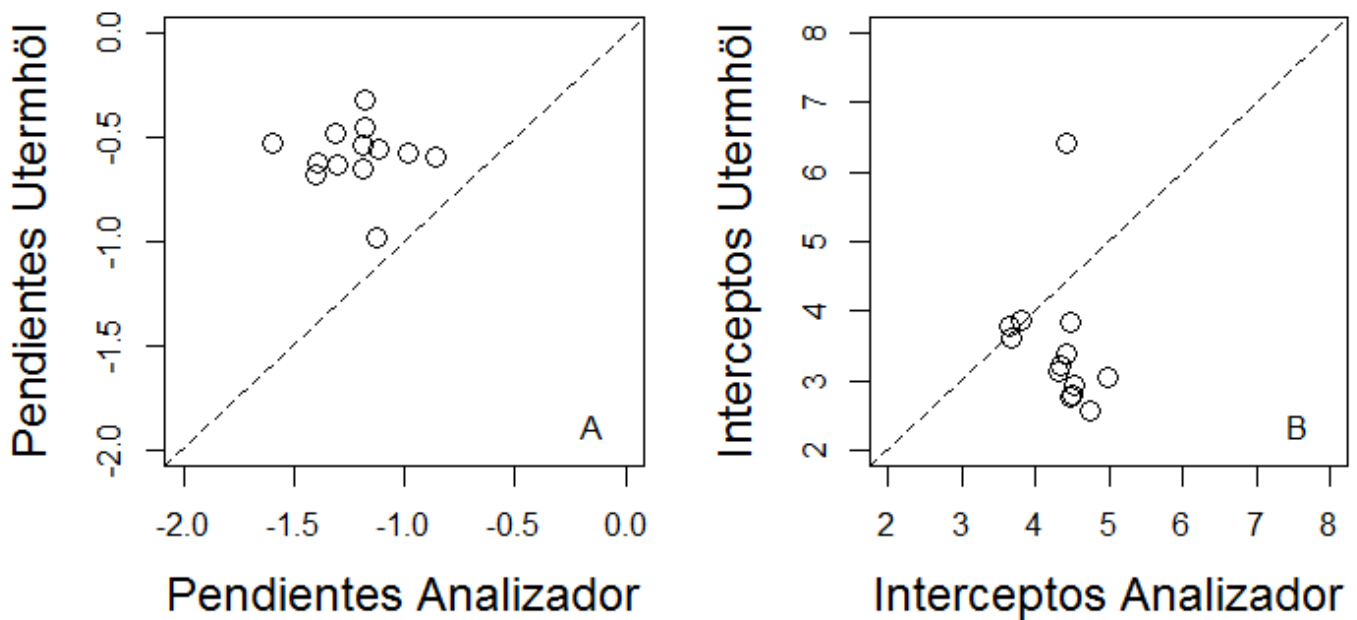
## Estructura de tamaños del fitoplancton

Los datos de conteo derivados del análisis de la comunidad fitoplanctónica mediante microscopía tradicional abarcan un amplio rango de tamaños corporales entre 3.6 y 5.9E+07  $\mu\text{m}^3$ , similar a lo registrado con el analizador electrónico de partículas. Se construyeron los espectros definiendo ocho clases de tamaño y los coeficientes estimados corresponderían al  $\beta$  y  $a_0$  esperado por la TME según la ecuación 2. Dado el bajo número de individuos en general contabilizados por la técnica Uthermö, algunas de las clases de tamaño definidas no presentaron ningún conteo. Esto se reflejó en los bajos valores de R<sup>2</sup> alcanzados en muchos casos, donde solo el 18% de los 72 modelos lineales ejecutados fueron significativos (p-valores<0.05) con un R<sup>2</sup> promedio de 0.91. Esto incluye un único caso en Montevideo y en Salto Grande, dos en los sitios de Fray Bentos y

Punta del Este, tres en Carmelo y cuatro casos en Colonia. Por detalles del modelo ajustado y sus resultados en cada caso particular que fue significativo (13 en total) ver Tabla 4, Anexo I.

En los casos mencionados, las pendientes de los espectros de tamaño para el fitoplancton tuvieron una media de -0.58 en un rango de -0.98 a -0.32, incluyendo el valor teórico predicho de escalamiento de -0.75, aunque en promedio significativamente superior ( $\mu=-0.75$ ;  $t=3.9$ ;  $p\text{-valor}=0.002$ ,  $N=13$ ). Éstas pendientes a su vez, fueron más positivas que las estimadas a partir de los datos derivados del analizador electrónico de partículas para los mismos casos, cuya media fue -1.22 ( $t=9.1$ , diferencia de media=0.63;  $p\text{-valor}<0.001$ ,  $N=13$ ). La evaluación de interdependencia entre los coeficientes estimados a partir de conteos derivados del analizador electrónico de partículas y microscopía tradicional no fue significativa para el caso de las pendientes ( $\rho=0.035$ ;  $p\text{-valor}=0.9$ ,  $N=13$ ) ni de los interceptos ( $\rho=-0.55$ ;  $p\text{-valor}=0.06$ ,  $N=13$ ). El valor medio de los interceptos en escala logarítmica estimados del conteo por la técnica Uthermöl fue de 3.49 y menor respecto a lo registrado por la técnica de conteo automático en los mismos casos, 4.34 ( $t=-2.6$ , diferencia de media=-0.84;  $p\text{-valor}=0.02$ ,  $N=13$ ).

En la figura 8, los resultados de los coeficientes correspondientes a cada técnicas se compararon con la relación 1:1 y en general se observó que los valores se distribuyeron cerca de la recta. Las pendientes con la técnica Uthermöl sin embargo fueron sobreestimadas, mientras que los interceptos en general fueron subestimados respecto a los derivados del análisis electrónico. Como excepción se destacan los casos del extremo del gradiente donde la densidad poblacional fue mayor y queda dentro de lo esperado por la relación (Figura 8 B). Los resultados concuerdan con lo hallado en la sección anterior para los descriptores comunitarios.



**Figura 8.** Comparación de las pendientes (gráfico A) e interceptos (gráfico B) (correspondientes a  $\beta$  y  $\alpha$  respectivamente en la ecuación 2 propuesta por la TME), derivados de los espectros de tamaños de comunidades planctónicas en los seis sitios analizados a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Los mismos corresponden aquellos casos que fueron significativos con las técnicas de microscopía tradicional (Pendientes Utermöhl e Interceptos Utermöhl) y los correspondientes a los mismos casos obtenidos del instrumento de conteo electrónico de partículas (Pendientes Analizador e Interceptos Analizador). Número de observaciones N=13. La línea punteada representa la relación 1:1.

### Técnicas de aprendizaje automático para predecir la estructura de tamaños

Dado que las relaciones teóricas esperadas de cambio en los interceptos respecto a las condiciones ambientales no se observaron, se evaluó la posibilidad de mejorar la performance de los modelos lineales con técnicas alternativas más flexibles donde no se asume ninguna familia de distribución a los datos. Las variables dependientes de los modelos aplicados correspondieron a las pendientes e interceptos ( $b$  y  $A$  respectivamente) estimados para los doce casos con que cuenta cada sitio de estudio, 72 en total, a partir de conteos derivados del análisis electrónico de partículas. En base a los resultados previos, se seleccionaron las variables explicativas con mayor poder predictivo y representativas de los distintos procesos que de alguna manera modularían la estructura de tamaños de las comunidades planctónicas para ser incluidas en los modelos de

predicción. Dado los resultados de la caracterización ambiental sabemos que algunas de las variables incluidas mostraron además relaciones entre si debido a que están asociadas al gradiente salino presente en el sistema de estudio. Aun así ninguna de las mismas debió ser removida por colinealidad al presentar todas, valores de factor de inflación de la varianza (VIF) menores de 5.

A continuación se detallan los resultados de las aproximaciones estadísticas empleadas.

### **I. Modelos lineales generalizados (GLM)**

Luego de la selección automatizada por AIC, el modelo seleccionado para el caso de las pendientes con una deviancia explicada del 36% fue el que retuvo a las variables de concentración de  $PO_4$  en sentido positivo, y a la turbidez, profundidad de la columna de agua, abundancia de zooplancton y salinidad todas en sentido negativo. Los parámetros estimados para las variables seleccionadas fueron significativos al nivel de confianza del 95% excepto la salinidad (Tabla 6). En el caso de los interceptos el aumento de la densidad se asoció negativamente con la salinidad y positivamente con la turbidez (Tabla 6). El modelo óptimo con una deviancia explicada del 35% seleccionó además a la profundidad como variable explicativa, sin embargo ésta no fue significativa ( $p\text{-valor}>0.05$ ) (Tabla 6).



**Tabla 6.** Resultados de los modelos lineales generalizados construidos para evaluar el efecto de las variables fisicoquímicas analizadas sobre las pendientes (b) e interceptos (A) de la relación K~M de las comunidades planctónicas en seis sitios a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Los modelos seleccionados incluyen las variables de turbidez (TURB.; NTU), profundidad de la columna de agua (PROF.; metros), salinidad (SAL.), abundancia de zooplancton (ZOO.; ind.mL<sup>-1</sup>) y concentración de fósforo inorgánico disuelto (PO<sub>4</sub>; μmolL<sup>-1</sup>). En la tabla se detallan los coeficientes de cada modelo, el nivel de significancia (p-valor) y la deviancia explicada del modelo (Dev. Exp %). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 '.'. Número de observaciones N=72.

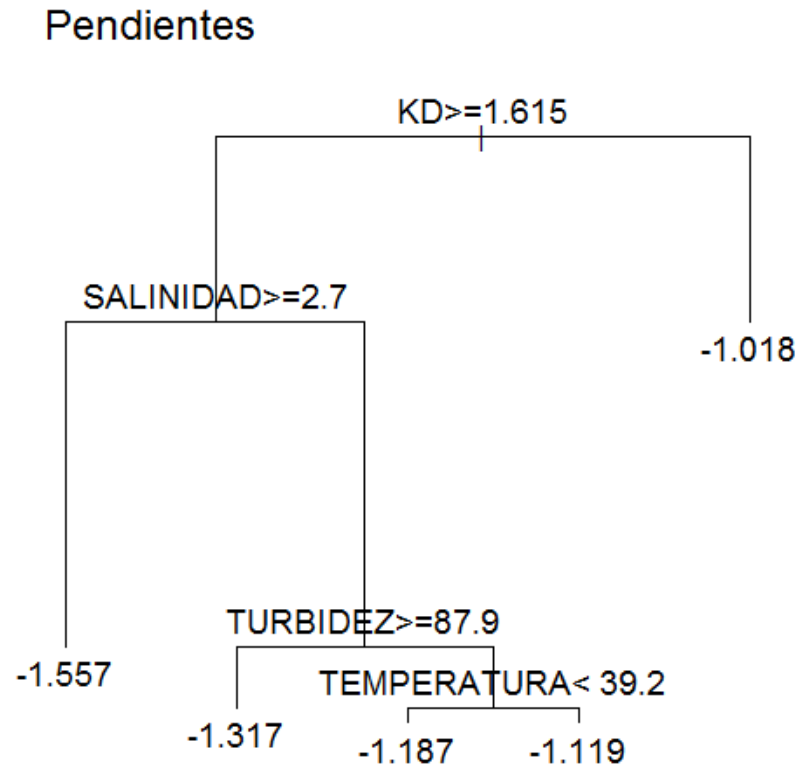
Parámetro	Modelo lineal generalizado	Dev.Exp %
Pendientes	b= -1.2 -0.002TURB*** +0.10PO4* -0.014PROF* -0.0002ZOO* -0.0035SAL	36
Interceptos	A= 4.4 +0.004TURB*** -0.011SAL** -0.015PROF	35

## II. Árboles de Clasificación y Regresión (CART)

Se consideró un criterio de poda de elegir un valor del parámetro costo complejidad lo suficientemente chico (cp=0.001) como para que se construya una secuencia anidada de árboles grande tanto para el caso de las pendientes como de los interceptos. Luego de obtenidos todos los sub árboles se utilizó la regla 1-SE para elegir el árbol óptimo, reteniendo el árbol más simple cuyo error sea menor que el del árbol con mínimo error sumado a su error estándar.

El árbol de regresión para el caso de las pendientes con una varianza explicada del 55% retuvo a las variables K<sub>D</sub> como nodo raíz, además de la salinidad, turbidez y temperatura. Se definieron cinco nodos finales asignados con el promedio de los valores de la variable dependiente para los casos que están en cada nodo final según el perfil de condiciones ambientales. Se destacó una rama principal hacia la derecha donde las pendientes más positivas estuvieron separadas del resto y fuertemente vinculadas a un bajo coeficiente de atenuación de la luz en la columna de agua (K<sub>D</sub><1.6 metros<sup>-1</sup>) (Figura 9). Mientras que las pendientes más negativas se observaron cuando los valores de K<sub>D</sub> y salinidad fueron altos. Finalmente, en condiciones de baja salinidad (≤2.7) las pendientes presentaron situaciones intermedias respecto

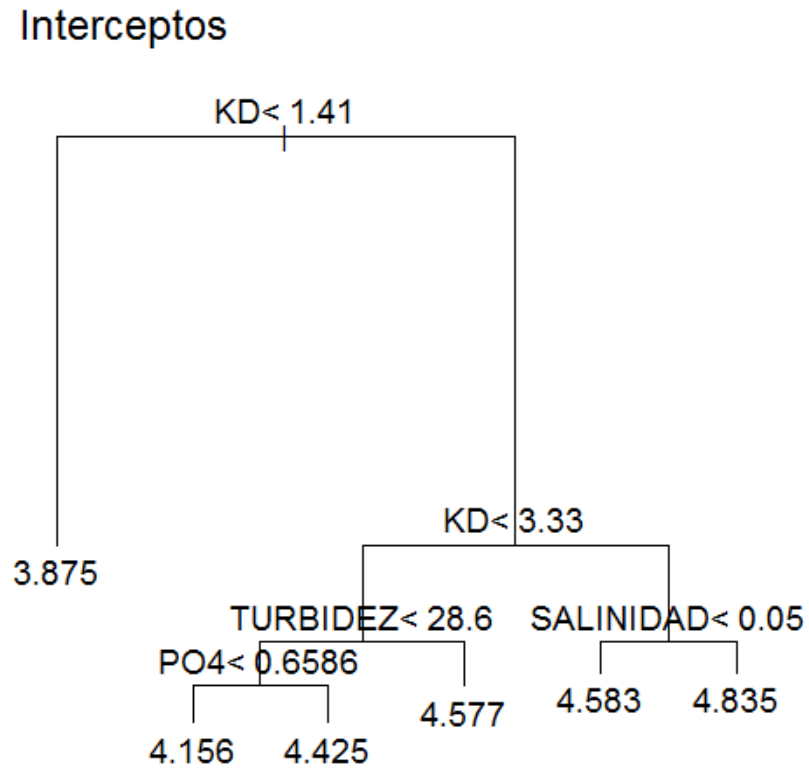
a los valores en los extremos, con una tendencia a disminuir en sistemas de turbidez superior a 87 NTU. A baja salinidad, la baja turbidez también fue importante, determinando junto con una temperatura menor a 22°C (es decir a mayor cociente  $1/kT$  y por tanto menor  $T$ ), pendientes más cercanas a -1. Los resultados concuerdan con las tendencias observadas en secciones previas para los diferentes ecosistemas definidos como embalse, río y estuario incluyendo además la parte externa de Punta del Este.



**Figura 9.** Árbol de regresión óptimo para las pendientes (b) de la relación K-M. Cada nodo raíz e intermedio está representado por una variable ambiental, entre las que se incluyen: coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ , metros<sup>-1</sup>), salinidad, turbidez (NTU) y el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann ( $1/kT$ , kelvin; 39 kelvin~22°C). Los nodos finales detallan el promedio de la variable de respuesta (b) asociado a cada perfil de variables predictoras.

En el caso de los interceptos con una varianza explicada del 60% se seleccionaron las variables  $K_D$  como nodo raíz, y turbidez, salinidad y concentración de  $PO_4$  como nodos intermedios. Se definieron seis nodos finales y se observó una rama principal a la izquierda donde

valores de  $K_D$  inferiores a  $1.4 \text{ metros}^{-1}$  se asociaron a las densidades más bajas (Figura 10). Mientras que a valores de  $K_D$  mayor a  $3.3 \text{ metros}^{-1}$  y salinidad superior a cero, los interceptos en promedio fueron los más elevados (Figura 10). En cambio en condiciones de  $K_D$  menor a  $3.3 \text{ metros}^{-1}$ , se detectaron situaciones intermedias de valores de interceptos y tanto la turbidez como la concentración de  $\text{PO}_4$  fueron importantes, observándose interceptos superiores cuando los niveles de dichas variables fueron mayores a  $28 \text{ NTU}$  y  $0.6 \mu\text{molL}^{-1}$  (Figura 10).



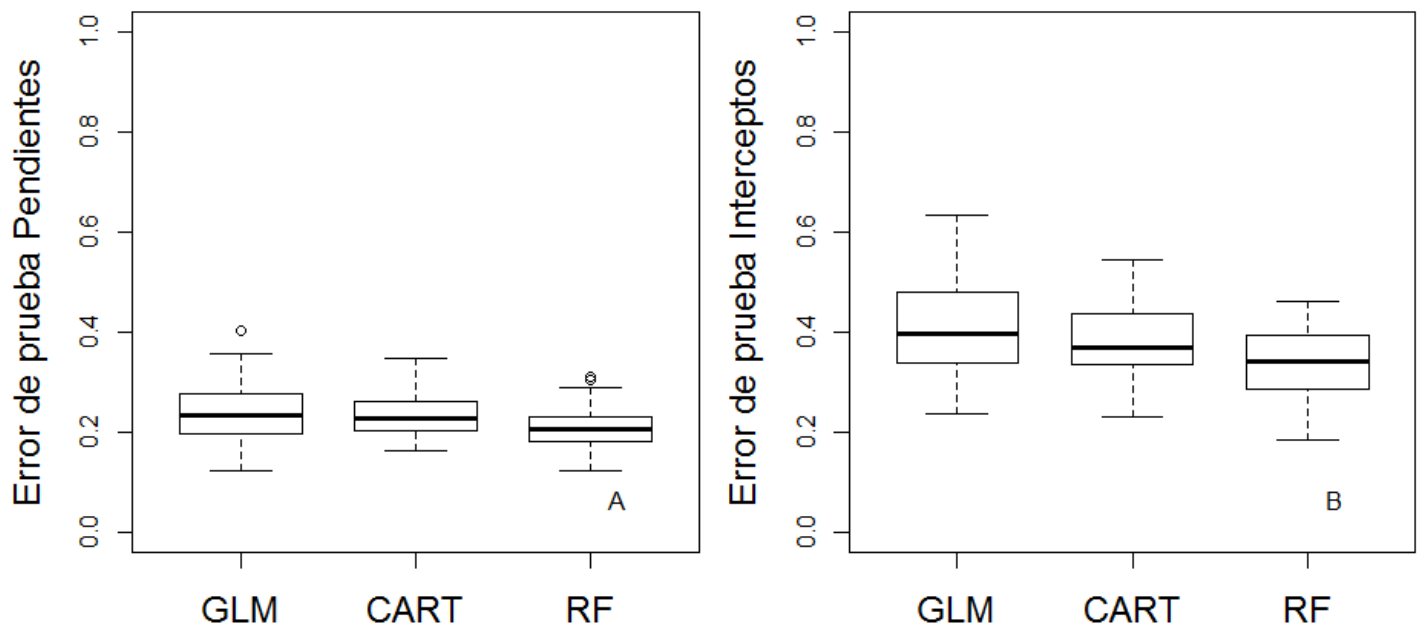
**Figura 10.** Árbol de regresión óptimo para los interceptos (A) de la relación  $K \sim M$ . Cada nodo raíz e intermedio está representado por una variable ambiental, entre las que se incluyen el coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ ,  $\text{metros}^{-1}$ ), la salinidad, turbidez (NTU) y concentración de fósforo inorgánico disuelto ( $\text{PO}_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ). Los nodos finales detallan el promedio de la variable de respuesta (A) asociado a cada perfil de variables predictoras.

### III. Bosques Aleatorios (RF)

El RF iterado con 1000 árboles y un número máximo de 2 variables usadas para cada nodo, tanto en el caso de las pendientes como de los interceptos, dio un porcentaje de varianza explicada del 12% y 35% respectivamente. La relevancia de las variables obtenidas mediante la función “VarImpPlot” permite detectar en orden decreciente la importancia de las mismas en minimizar la impureza global del árbol. En el caso de las pendientes las variables más importantes fueron el  $K_D$  en primer lugar, seguida de la turbidez y la salinidad. En el caso de los interceptos la función detectó una importancia de variables que también tiene en primer lugar al  $K_D$  y la turbidez, seguida de la salinidad además de la concentración de NID y  $PO_4$ .

#### Errores de predicción, validación por muestra de prueba

El resultado del desempeño de los modelos fue evaluado para pendientes e interceptos con el método de validación por muestra de prueba. En ambos casos se observaron leves diferencias entre técnicas para describir la relación de los parámetros  $K\sim M$  con las variables ambientales (Figura 11). Los resultados hallados muestran una capacidad predictiva baja y sin diferencias entre métodos lineales y no lineales para predecir los parámetros de la relación entre densidad y tamaño corporal en los sistemas analizados. Por lo que no hubo mejoras sustanciales y más allá de la forma de la relación con las condiciones ambientales se deben considerar otras alternativas que den cuenta de la variación detectada en los coeficientes estimados y nos permita alcanzar una mejor descripción de los determinantes de los patrones de densidad-tamaño corporal en las comunidades planctónicas. El RF fue la técnica que tuvo valores menores de error tanto en el caso de las pendientes como interceptos, siendo el mejor modelo para predecir los parámetros de la relación  $K\sim M$  con un porcentaje de error del 20% en el caso de las pendientes y 34% para la predicción de los interceptos.



**Figura 11.** Distribución de errores de muestra de prueba para las tres aproximaciones estadísticas empleadas (GLM, CART y RF) para el caso de las pendientes (b) (gráfico A) e interceptos (A) (gráfico B) de la relación K-M. Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores detectados.

## DISCUSION

En este trabajo se analizó el espectro de tamaños de comunidades del nano y micro plancton abarcando en forma simultánea el estudio del continuo RU-RdIP, y fue evaluado bajo un marco teórico coherente hacia una comprensión mecanicista en uno de los niveles de organización más complejos de la naturaleza. Se evaluaron las predicciones concretas propuestas en la TME sobre las pendientes e interceptos en una base datos que cubre un amplio gradiente de condiciones ambientales, aportando al entendimiento de los determinantes subyacentes a la relación K~M y brindando información en ecosistemas de gran importancia biológica y socio-económica para Uruguay.

### *Amplio gradiente de condiciones ambientales*

En el sistema RU-RdIP se detectaron zonas bien contrastantes en su dinámica espacial respecto a las características fisicoquímicas, de acuerdo con estudios previos realizados independientemente para el Río de la Plata (i.e. Acha *et al.* 2008; Guerrero *et al.* 1997; Mianzan *et al.* 2001) y algunas zonas del Río Uruguay (i.e. Ferrari *et al.* 2011). Los gradientes de salinidad y turbidez delimitaron las zonas con influencia dulceacuícola y marina según lo reportado con anterioridad (Framinan & Brown 1996; Guerrero *et al.* 1997; Acha *et al.* 2008; Kruk *et al.* 2014). La región del río y embalse con un bajo régimen de luz y una alta carga de partículas suspendidas se caracterizó por una alta temperatura y concentraciones elevadas de nutrientes. Mientras que en la zona estuarina con el aumento de la salinidad se observó una disminución de la concentración de NID, N<sub>T</sub> y SiO<sub>2</sub>, una mejor penetración de la luz y menor temperatura. Esta tendencia ya ha sido observado en el RdIP, en donde el aumento de la salinidad conlleva a una disminución en la concentración de nutrientes, especialmente en las formas disueltas de nitrógeno (Nagy *et al.* 2002; Calliari *et al.* 2005).

### *Teoría Metabólica de la Ecología*

Se observó un soporte parcial respecto a las predicciones propuestas por la TME. El estudio de los patrones de densidad-tamaño de las comunidades planctónicas se abordó desde la relación ISD (White *et al.* 2007; Arim *et al.* 2011), y se observó que el total (72) de las comunidades analizadas en los diferentes ecosistemas cumplieron con la disminución teóricamente esperada en la densidad poblacional con aumento del tamaño corporal, sugiriendo generalidades en la dependencia de la forma de la relación, aunque con una pendiente más negativa que  $-\frac{3}{4}$ . Además, se corroboró la ausencia de correlación entre las pendientes y las condiciones ambientales de temperatura y recursos en forma de concentración de nutrientes de NID y PO<sub>4</sub> en todos los sitios. La densidad de individuos no una función de  $1/kT$ , por lo que no se observó evidencia del papel de la temperatura en el control de la variabilidad de la estructura del tamaño de las comunidades planctónicas en el área de estudio analizada de acuerdo a las expectativas teóricas. La densidad poblacional superior esperada a mayores niveles de nutrientes tampoco se observó en los resultados, sugiriendo la importancia de procesos que están operando y no fueron incluidos en el modelo específico.

#### *Pendientes más negativas que las esperadas por la TME*

La totalidad de las pendientes detectadas para el área de estudio fueron significativamente inferiores a  $-\frac{3}{4}$  y en general más negativas que  $-1$  con un valor medio de  $-1.2$  (rango= $-1.9$  a  $-0.86$ ). Lo que indicaría una reducción en la densidad con el tamaño corporal mayor a lo que se pensaba anteriormente, y constituyendo así otro reporte que cuestiona la aplicabilidad de un exponente universal de escalamiento para dicha relación (Dodds *et al.* 2001; Issac & Carbone 2010). Esto tiene implicancias en términos de las entidades reales consideradas en la presente investigación, donde los individuos en las clases de tamaños más grandes se encontrarían sub-representados respecto a lo esperado.

Esta tendencia de pendientes más negativas que  $-\frac{3}{4}$  sugiere que podría haber más de un nivel trófico y por lo tanto deberíamos considerar las relaciones de masa depredador-presa (PPMR) y la eficiencia de transferencia de energía entre los niveles tróficos adyacentes (TE) en

escala  $\text{Log}_{10}$  (Brown & Gillooly 2003; Jennings & Blanchard 2004). Si los individuos analizados pertenecen a un único nivel trófico su espectro de tamaño debería tener una pendiente cercana al  $-3/4$  esperado, lo cual se aproxima a lo hallado en este trabajo a partir de los datos derivados de la técnica Uthermöl, con pendientes estimadas para el fitoplancton en el rango de -0.98 y -0.32. Aun así se debe destacar el amplio rango de valores detectados en este caso, el cual podría estar dado por la asignación a todos los individuos del fitoplancton a un único nivel trófico (Boyce *et al.* 2015). En cambio cuando los individuos no comparten una fuente de recursos común, la energía disponible para individuos más grandes se ve limitada (Brown & Gillooly 2003; Cyr 2000; Elton 1927). Esta limitación aumenta con el tamaño y depende de la PPMR y la TE entendida como la proporción de producción de presa convertida a producción de depredador (Cyr 2000; Jennings & Blanchard 2004). También depende de la proporción de biomasa del nivel trófico inferior que efectivamente es consumida por los depredadores, esto en general no se incluye en la TE e implica caídas aún mayores en la eficiencia.

De acuerdo a los estudios realizados por Hansen *et al.* (1994) para estimar la PPMR en redes alimentarias estructuradas por tamaño para clasificar a los depredadores planctónicos, y dado el rango de tamaños que fueron contabilizados en el analizador de partículas, en la presente investigación las posibles PPMRs que habrían estarían entre 100:1 y 8:1. Si además asumimos una TE típica de 0.1 (Lindeman 1942), dado que se estima la eficiencia de transferencia energética en un 10% de las presas convertidas a producción del depredador (Trebilco *et al.* 2013), podemos predecir entonces una escala de densidad (N) con el tamaño corporal (M) a partir de la siguiente ecuación:

$$N = M^{-3/4} M^{(\log_{10} TE / \log_{10} PPMR)} \quad (8)$$

Donde las pendientes resultantes se encontrarían en el rango de -1.25 a -1.7, lo cual es más consistente a lo reportado en la presente investigación para los distintos ecosistemas analizados ( $\sim 1.2$ ), y podría explicar las desviaciones observadas. En este sentido, el pronunciado escalamiento de  $N \sim M$  es consistente con las predicciones del modelo de la ecuación 8. De esta manera, serían los procesos ecológicos que modulan la transferencia de energía entre niveles



tróficos factores relevantes en determinar la estructura de tamaños de las comunidades planctónicas, cuando son analizadas bajo las técnicas empleadas en este trabajo. Esta afirmación debe tomarse con precaución, ya que se basa en un análisis con supuestos (i.e. TE igual a 0.1, la PPMR no depende de M) que podrían no aplicarse a todas las relaciones depredador-presa individuales. En este sentido se recomienda realizar análisis de sensibilidad de los escalamientos predichos a los cambios en las variables mencionadas (Jennings & Mackinson 2003).

### *Posibles causas de las desviaciones de los supuestos*

✓ *No se registra estado estacionario*

→ *Acceso diferencial de recursos relacionado al tamaño*

Un supuesto que subyace a las aproximaciones macroecológicas y que debe ser considerado es que el sistema se encuentra en estado estacionario, y por tanto los procesos que dirigen la transformación de materia y energía están en equilibrio. Este argumento supone que los individuos coexistentes utilizan la misma fracción de todos los recursos disponibles (Savage *et al.* 2004). Sin embargo en la presente investigación dada las aproximaciones metodológicas empleadas se analizaron distintos grupos planctónicos, los cuales accederían diferencialmente a los recursos (principalmente como consecuencia del tamaño corporal) encontrándose desviaciones de las expectativas teóricas. Un problema de la evaluación de algunas relaciones esperadas, en particular el efecto de los recursos, es que en el rango de tamaños analizado los recursos limitantes (e.g. nutrientes, luz) pueden presentar variaciones que generan desvíos sistemáticos en los espectros. Existe evidencia que sugiere que dentro del rango de tamaños analizados, hay escalamientos de las tasas de crecimiento de los organismos planctónicos con el tamaño corporal que podrían desarmar la hipótesis de equivalencia energética en amplios rango de tamaños (Marañón 2015; Ward *et al.* 2017). Además, el acceso a los recursos no sería independiente del tamaño corporal (Edwards *et al.* 2012; Aksnes & Egge 1991), y una respuesta fisiológica a la limitación de recursos por la disponibilidad de luz o nutrientes podría alterar la escala de las tasas metabólicas con el tamaño (Finkel 2001; Finkel *et al.* 2004), lo cual podría

resultar en un cambio en la estructura del tamaño de las comunidades planctónicas (Irwin *et al.* 2006) alejándolas de lo esperado por la TME.

→ *Sistema muy dinámico*

Otra consecuencia del no-equilibrio es la dificultad para relacionar los parámetros ajustados con las variables forzantes. La compleja interacción entre la disponibilidad de luz, salinidad, nutrientes y otros factores crean gradientes que son muy variables, especialmente en el plano espacial, y pueden hacer por tanto variar la estructura comunitaria en una escala chica. Como los individuos analizados son pequeños y sus tasas metabólicas son elevadas, las escalas de variación son rápidas, sugiriendo que este efecto sea aún más importante que el ya referido en el texto. Se debe tener en cuenta que la temperatura fue uno de los muchos factores que variaron entre muestreos en todos los sitios, incluidos algunos centrales para el mismo parámetro como los recursos (e.g. nutrientes, luz). En este estudio utilizamos la concentración de nutrientes como un proxy de los R disponibles y su uso, sin embargo la distribución de los nutrientes disueltos puede estar desconectada del suministro y uso de nutrientes y por lo tanto de la estructura de tamaños. Por lo que una evaluación correcta del suministro de recursos es crucial para determinar si la temperatura tiene un efecto directo sobre los espectros de tamaño de los organismos planctónicos.

✓ *Física del sistema acuático*

En los sistemas acuáticos hay factores relevantes no considerados en el marco de la teoría como la física de los sistemas acuáticos que es un gran determinante de los patrones comunitarios.

→ *Estructura vertical de la columna de agua*

Un factor difícil de ponderar pero que debe ser considerado es la estructura vertical de la columna de agua en los distintos sistemas analizados (e.g. diferencias entre sistemas débil vs fuertemente estratificados vs mezclados (Cushing 1989; Margalef 1978). En términos generales se predice una correlación negativa entre R y T, pero eso depende de la escala del análisis (e.g.

puede ser válido para un sistema dado, pero no necesariamente para análisis que agrupen ecosistemas diferentes). Además, todos los resultados referidos al plancton son de la superficie, pero frecuentemente se observaron diferencias verticales importantes en el ambiente e incluso en proxys de las comunidades fitoplanctónicas como la fluorescencia. Particularmente en Carmelo, Montevideo y Punta del Este se detectó picos de máxima fluorescencia entre los dos y cuatro metros de profundidad, coincidente con la clina que separa aguas menos salinas y frías por encima, de las más salinas y cálidas por debajo.

→ *Teoría sobre el mecanismo de coagulación-floculación*

La estabilidad de la columna de agua afecta la suspensión y el hundimiento de partículas, algo también dependiente del tamaño, así como al proceso de coagulación que genera agregación y también afecta la tasa de hundimiento (Kjørboe 1997). Lo cual podría alterar la densidad de individuos y generar cambios en la estructura comunitaria. Existe teoría que predice el número máximo de partículas en suspensión a partir de la frecuencia de encuentros (determinada por la densidad) y la facilidad de pegotearse (Kjørboe 1993).

*Patrones de quiebre en los espectros de tamaño*

Los espectros de tamaño se ajustaron correctamente con un modelo lineal simple en la mayoría de los casos, sin embargo también se detectaron relaciones segmentadas significativas. Esto concuerda con un patrón ampliamente reportado de patrones de quiebre en la distribución del tamaño corporal de varias comunidades en ecosistemas acuáticos (Arim *et al.* 2011; Ziegler *et al.* 2014; Segura *et al.* 2015), sustentando la existencia de cambios abruptos en la relación densidad-tamaño corporal. Se han propuesto mecanismos biológicos y físicos potenciales para la presencia de relaciones de este tipo dentro de un único conjunto de datos (Ziegler *et al.* 2014; Marquet *et al.* 2008; Skillen & Maurer 2008), implicando principalmente interacciones depredador-presa, restricciones metabólicas, la hidrodinámica del sistema acuático considerado, entre otros (Allen & Holling 2008; Arim *et al.* 2011).

El cambio observado en el régimen de escala de la presente investigación se da a tamaños de DEE promedio de  $\sim 6 \mu\text{m}$ , entre  $3\text{-}20 \mu\text{m}$ , y las explicaciones biológicas se basan en la evidencia de que existen cambios en las tasas de crecimiento, que es un proxy del metabolismo específico, en el mismo rango de tamaños en el que se detectaron los quiebres en los ecosistemas analizados (Ward *et al.* 2017; Marañón *et al.* 2015). Sucede que la tasa de crecimiento comienza a descender en las clases de tamaño muy pequeñas ( $<20 \mu\text{m}$ ) ya que estarían limitadas por restricciones físicas, dado que sus requerimientos mínimos ocuparían una fracción cada vez mayor de su volumen y no habría espacio para la maquinaria catalítica (Marañón *et al.* 2013). Esto generaría desviaciones de las restricciones metabólicas propuestas por la TME para las clases de tamaño más pequeñas y por ese no encontraríamos el patrón esperado en esta región del espectro.

Por otra parte, los mecanismos físicos potenciales que podrían explicar las desviaciones observadas en esa región del espectro implican aportes de partículas inorgánicas que fueron contabilizadas con el analizador electrónico de partículas, así como por cambios en las propiedades de las partículas (e.g. agregación) que podrían dar cuenta de los resultados observados.

#### *Analizador electrónico de partículas vs análisis de microscopía tradicional*

La densidad de individuos estimada a partir de datos obtenidos del analizador electrónico de partículas, sin marcadas tendencias en el gradiente espacial, no coincide con el patrón espacial estimado a partir del microscopio en estudios previos (Kruk *et al.* 2015; Nogueira 2017). En la discrepancia de resultados influyen los sesgos de los conteos microscópicos que incluyen por ejemplo menor resolución y mayor error en el extremo inferior del gradiente de tamaños, que es donde la densidad de individuos es mayor, y por lo tanto el riesgo de subestimación es particularmente grande. Las menores clases de tamaño registradas al microscopio en promedio fueron de  $100 \mu\text{m}^3$ , mientras que en el analizador de partículas fueron de  $4.4 \mu\text{m}^3$ . A demás durante los conteos de fitoplancton por microscopía tradicional se cuentan mayormente fitoplancton, mientras que en el rango de tamaños considerado abundan los nano heterótrofos los

cuales tiene bajos números de recuentos amplificando los errores anteriores. Aun así, en la región del río y estuario, las diferencias entre las técnicas Uthermöl y de análisis automático fueron elevadas, lo que sugiere que el material detrítico puede haber contribuido con un componente importante de los conteos en el segundo caso. En esa región se da la confluencia del RU y el Río Paraná (RP) (Mianzan *et al.* 2001), por lo que la carga de partículas suspendidas fue alta.

### *Características hidrodinámicas reflejaron las características de los espectros*

La descarga del RU y RP controla estacionalmente los frentes de salinidad y turbidez del RdIP que se ubican en la zona de Montevideo, donde ambas variables presentaron gran variación estacional. En Carmelo y Colonia además se observó el efecto de la descarga del RP en la turbidez que alcanzó los valores máximos. El frente de turbidez está mecánicamente vinculado con un frente de salinidad, y todos los sitios, excepto Punta del Este, pueden ser clasificados como muy turbios dados los valores de  $K_D > 2\text{m}^{-1}$  según Krik (1994). Esto podría implicar una limitación generalizada en la disponibilidad de luz en la zona que abarca desde el embalse hasta el estuario. Particularmente, en estuarios ricos en nutrientes la disponibilidad de luz aparece como un factor preponderante (Cole & Cloern 1984). En esta región del gradiente geográfico analizado se observaron los interceptos más altos, las pendientes más pronunciadas y la mayor cantidad de patrones de quiebre en los espectros de tamaño. Existe evidencia de que en condiciones muy alejadas del equilibrio o de fuerte estrés ambiental los espectros pueden presentar no-linealidades o incluso discontinuidades (Quiñones 1994). Menezes dos Santos *et al.* (2017) en base a datos recopilados de la literatura, compararon los espectros de tamaño en ecosistemas acuáticos estresados (estrés referido a que los términos de producción y transferencia de energía tienden a disminuir y los relacionados con la pérdida tienden a aumentar) y observaron que las pendientes disminuían mientras que los interceptos aumentaban en las situaciones de estrés. En la región estuarina se detectó mayor cantidad de patrones de quiebre en la estructura de tamaño y las pendientes más negativas, lo cual indica la existencia de una importante variabilidad en la relación densidad-tamaño corporal dentro de un mismo sitio de estudio y podría dar cuenta de procesos antrópicos. Montevideo fue el sitio con más variabilidad ambiental natural (e.g. respecto a

temperatura y salinidad), e impactos antropogénicos podrían reforzar ese efecto, ya que es esperable que reciba un gran aporte de la descarga de los desechos domésticos e industriales de la ciudad (Gómez 2014). Algunas señales de este impacto son las altas concentraciones de fósforo total y amonio allí detectados, estos nutrientes suelen estar relacionados con la descarga de aguas residuales urbanas (Figura 1, Anexo I) (Kruk *et al.* 2015).

Hacia Punta del Este hay un incremento de salinidad. En la región estuarina el aumento de la fuerza iónica haría que las partículas floculen y se hundan (Bianchi 2007), reduciéndose la carga de partículas y por consiguiente aumentando la transparencia en el agua (Calliari *et al.* 2005). A su vez, cuando los niveles de salinidad son altos las tasas de hundimiento se desaceleran, con lo que se espera organismos más grandes. Esto podría explicar los espectros de tamaño con las pendientes más planas detectadas en la región estuarina externa. Esta tendencia de un incremento en el tamaño de los organismos hacia la parte exterior del estuario ha sido observada en otros trabajos del área de estudio (Calliari *et al.* 2005; Segura *et al.* 2013).

En este trabajo el régimen de luz pareció responder a la variabilidad del material particulado. Se observó que independientemente del sitio la disminución de luz en la columna de agua, es decir el aumento de turbidez y  $K_D$ , estuvo asociada con pendientes más negativas e interceptos altos. En este sentido los procesos generales que controlan la estructura planctónica en los sistemas analizados seguirían estos gradientes de luz y nutrientes y estarían condicionados por la hidrodinámica y confluencia de aguas marinas y dulces.

## CONCLUSIONES

Analizamos los espectros de tamaños de las comunidades planctónicas en 72 casos de estudio a lo largo del continuo RU-RdIP, bajo condiciones contrastantes en un amplio gradiente ambiental, evaluando mecanismos en el marco de una teoría cuantitativa.

- En todos los casos se observó la relación negativa esperada entre densidad y tamaño corporal congruente con la TME, con pendientes negativa (-1.2; -1.9 a -0.86) de acuerdo a lo esperado si consideramos que en el rango de tamaños analizados se contabilizaron organismos planctónicos que pertenecen a más de un nivel trófico.
- No se brindó apoyo a las predicciones específicas de la TME respecto al efecto de la T y los R en los interceptos. Esta falta de apoyo se registró tanto para el total de casos como dentro de cada sitio, en un amplio gradiente de condiciones ambientales y rangos de tamaño corporal.
- De los análisis se deriva que las variables asociadas al ambiente lumínico y la salinidad fueron moduladores relevantes a nivel regional.

## PERSPECTIVAS

Se debe considerar los supuestos claves en el marco de la teoría y proponemos incorporar modelos dinámicos para sistemas fuera del equilibrio que den cuenta de la variación detectada en los coeficientes estimados. En estos modelos se puede incluir fenómenos de absorción de nutrientes, interacción depredador-presa, hundimiento, y obtener para diferentes combinaciones de estos factores diferentes tamaños medios de individuos que responderían a entornos cambiantes que seleccionarían diferentes valores de un rango posible. De este modo, obtener un rango de potenciales pendientes que den cuenta de estructuras espaciales más complejas y lograr así una mejor comprensión de los patrones de densidad poblacional, donde la cantidad de energía explotada y el tamaño emerja de dinámicas intrínsecas del sistema.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acha E.M., Mianzan H., Guerrero R., Carreto J., Giberto D., Montoya N. & Carignan M. 2008. An overview of physical and ecological processes in the Río de la Plata Estuary. *Continental Shelf Research* 28, 13, 1579–1588.
- Aksnes D.L. & Egge J.K. 1991. A Theoretical Model for Nutrient Uptake in Phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 70, 1, 65–72.
- Allen A.P., Brown J.H. & Gillooly J.F. 2002. Global biodiversity, biochemical kinetics, and the energetic-equivalence rule. *Science* 297, 1545–1548.
- Allen C.R. & Holling C.S. 2008. *Discontinuities in Ecosystems and Other Complex Systems*. Columbia University Press, New York.
- Arim M., Berazategui M., Barreneche J.M., Ziegler L., Zaruki M. & Abades S. R. 2011. Determinants of density-body size scaling within food webs and tools for their detection. *Advances in Ecological Research* 45, 1–40.
- Arim M., Marquet P.A. & Jaksic F.M. 2007. On the Relationship between Productivity and Food Chain Length at Different Ecological Levels. *The American Naturalist* 169, 1, 62–72.
- Azam F., Fenchel T., Field J.G., *et al.* 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 10, 257–63.
- Baird M.E. & Suthers I.M. 2007. A size-resolved pelagic ecosystem model. *Ecological Modelling* 203, 185-203.
- Beers J.K. 1986. Organisms and the Food Web. *Plankton Dynamics of the Southern California Bight* (eds. Eppley, R. W.), 84-75, Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Belgrano A., Allen A.P., Enquist B.J. & Gillooly F.J. 2002. Allometric scaling of maximum population density: a common rule for marine phytoplankton and terrestrial plants. *Ecology Letters* 5, 611–613.
- Bianchi T.S. 2007. *Biogeochemistry of Estuaries*. Eos, Transactions American Geophysical Union. Oxford University Press: New York.



- Bokma F. 2004. Evidence against universal metabolic allometry. *Functional Ecology* 18, 184–187.
- Boudreau P.R. & Dickie L.M. 1992. Biomass spectra of aquatic ecosystems in relation to fisheries yield. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49, 1528–1538.
- Boyce D.G., Frank K.T. & Leggett W.C. 2015. From mice to elephants: overturning the ‘one size fits all’ paradigm in marine plankton food chains. *Ecology Letters* 18, 1001–1011.
- Breiman L. 2001. Random forests. *Machine Learning* 45, 15–32.
- Brown J. H., Gillooly J. F., Allen A. P., Savage V. M. & West G.B. 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85, 1771–1789.
- Brown J.H. & Gillooly J.F. 2003. Ecological food webs: high-quality data facilitate theoretical unification. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 100, 1467–1468.
- Brown J.H. & Maurer B.A. 1989. Macroecology: The Division of Food and Space among Species on Continents. *Science, New Series* 243, 4895, 1145–1150.
- Brown J.H. 1995. *Macroecology*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Burnham K.P. & Anderson D.R. 2002. *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. Springer, New York.
- Calliari D., Gómez M. & Gómez N. 2005. Biomass and composition of the phytoplankton in the Río de la Plata: Large-scale distribution and relationship with environmental variables during a spring cruise. *Continental Shelf Research* 25, 2, 197–210.
- Cermeño P. & Figueiras F.G. 2008 Species richness and cell-size distribution: size structure of phytoplankton communities. *Marine Ecology Progress Series* 357, 79–85.
- Cermeño P., Marañón E., Harbour D., Figueiras F.G., Crespo B.G., Huete-Ortega M., Varela M. & Harris R.P. 2008. Resource levels, allometric scaling of population abundance, and marine phytoplankton diversity. *Limnol. Oceanogr.* 53, 1, 312–318.
- Cermeño P., Teixeira I.G., Branco M., Figueiras F.G. & Marañón E. 2014. Sampling the limits of species richness in marine phytoplankton communities. *Journal of Plankton Research* 36, 4, 1135–1139.

- Chisholm S.W. 1992. Phytoplankton size. P.G. Falkowski and A. D. Woodhead eds., Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea, Plenum Press, 213–237
- Cloern J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecological Progress Series* 210, 223–253.
- Cole B. E. & Cloern J. E. 1984. Significance of biomass and light availability to phytoplankton productivity in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* 17, 1, 15–24.
- Coulter W.H. & Hogg W.R. 1976. Method and apparatus for determining the correct percentiles of the size distribution of a particulate system. U.S. Patent No 3, 44,797, 16 Mar.
- Crisci C., Ghattas B. & Perera G. 2012. A review of supervised machine learning algorithms and their applications to ecological data. *Ecological Modelling* 240, 113–122.
- Cushing D. 1989. A difference in structure between ecosystems in strongly stratified waters and in those that are weakly stratified. *J. Plankton Res.* 11, 1–13.
- Cutler D.R., Edwards Jr. T.C., Beard K.H., Cutler A., Hess K.T., Gibson J. & Lawler J.J. 2007. Random forests for classification in ecology. *Ecology* 88, 2783–2792.
- Cyr H. & Walker S.C. 2004. An illusion of mechanistic understanding. *Ecology* 85, 1802–1804.
- Cyr H. 2000. Individual energy use and the allometry of population density. *Scaling in Biology* (eds. Brown, J.H. & West, G.B.). Oxford University Press, New York, 267–295.
- Damuth J. 1981. Population density and body size in mammals. *Nature* 290, 699–700.
- De Long J.P., Okie J.G., Moses M.E., Sibly R.M. & Brown J.H. 2010. Shifts in metabolic scaling, production, and efficiency across major evolutionary transitions of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 12941–12945.
- De'ath G. & Fabricius K.E. 2000. Classification and regression trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. *Ecology* 81, 3178–3192.
- Dell A.I. Pawar S. & Savage V.M. 2011. Systematic variation in the temperature dependence of physiological and ecological traits. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 10591–10596.

- Deng J., Zuo W., Wang Z., Fan Z., Ji M., Wang G., Ran J., Zhao C., Liu J., Niklas K.J., Hammond S.T. & Brown J.H. 2012. Insights into plant size-density relationships from models and agricultural crops. *PNAS* 109, 22, 8600–8605.
- Dodds P.S., Rothman D.H. & Weitz J.S. 2001 Reexamination of the ‘3/4-law’ of metabolism. *J. Theor. Biol.* 209, 9–27.
- Edwards A.M., Robinson J.P.W., Plank M.J., Baum J.K. & Blanchard J.L. 2016. Testing and recommending methods for fitting size spectra to data. *Methods in Ecology and Evolution*.
- Edwards K.F., Thomas M.K., Klausmeier C.A. & Litchman E. 2012. Allometric scaling and taxonomic variation in nutrient utilization traits and maximum growth rate of phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 57, 2, 554–566.
- Elton C.S. 1927. *Animal ecology*. Sidgwick and Jackson, London UK.
- Enquist B.J. & Niklas K.J. 2001. Invariant scaling relations across tree-dominated communities. *Nature* 410, 655–660.
- Enquist B.J., Brown J.H. & West G.B. 1998. Allometric scaling of plant energetics and population density. *Nature* 395, 163–165.
- Falkowski P.G., Katz M.E., Knoll A.H., Quigg A., Raven J.A., Schofield O. & Taylor F.J.R. 2004. The Evolution of Modern Eukaryotic Phytoplankton. *Science* 305, 354-360.
- Ferrari G., Perez M.C., Dabiezies M., Miguez D. & Saizar C. 2011. Planktic cyanobacteria in the lower Uruguay River, South America. *Fottea* 11, 1, 225–234.
- Finkel Z. V., Irwin A.J. & Schofield O. 2004. Resource limitation alters the 3/4 size scaling of metabolic rates in phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 273, 269–279.
- Finkel Z.V. 2001. Light Absorption and Size Scaling of Light-Limited Metabolism in Marine Diatoms *Limnology and Oceanography* 46, 1, 86–94.
- Fotheringham A.S., Brunsdon C. & Charlton M. 2002. *Geographically weighted regression: the analysis of spatially varying relationships*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Framinan M. & Brown O. 1996. Study of the Río de la Plata turbidity front. Part I: Spatial and temporal distribution. *Continental Shelf Research* 16, 10, 1259–1282.

- Gaedke U. 1992. The size distribution of plankton biomass in a large lake and its seasonal variability. *Limnol. Oceanogr.* 37, 6, 1202–1220.
- Giberto D.A., Bermeo C.A., Acha E.M. & Mianzan H. 2004. Large- scale spatial patterns of benthic assemblages in the SW Atlantic: the Río de la Plata estuary and adjacent shelf waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61, 1–13.
- Gillooly J.F., Brown J.H., West G.B., Savage V.M. & Charnov E. L. 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science* 293, 2248–2251.
- Gómez N. 2014. Phytoplankton of the Río de la Plata Estuary. *Phytoplankton from Argentina. Advances in Limnology* 65, 167–182.
- Graham M.D. 2003. "The Coulter Principle: Foundation of an Industry". *Journal of Laboratory Automation* 8, 6, 72–81.
- Graham M.D., Dunstan H.J., Graham G., Britton T., Harfield, J.G. & King J.S. 2001. Potential-sensing method and apparatus for sensing and characterizing particles by the Coulter Principle. U.S. Patent 6,175, 227.
- Guerrero R.A., Acha E.M., Framinan M.B. & Lasta C.A. 1997. Physical oceanography of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Continental Shelf Research*, 17, 7, 727–742.
- Hansen B., Bjornsen P.K & Hansen P.J. 1994. The size ratio between predators and their prey. *Limnology and Oceanography* 39, 2, 395–403.
- Hatton I.A., McCann K.S., Fryxell J.M., Davies T.J., Smerlak M., Sinclair A.R.E. & Loreau M. 2015. The predator-prey power law: Biomass scaling across terrestrial and aquatic biomes. *Science* 349, 6252.
- Hillebrand H. & Azovsky A.I. 2001. Body size determines the strength of the latitudinal diversity gradient. *Ecography* 24, 251–256.
- Hillebrand H., Dürselen C.D., Kirschtel D., Pollinger U. & Zohary T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35, 2, 403–424.

- Huete-Ortega M., Cermeño P., Calvo-Díaz A. & Marañón E. 2012. Isometric size-scaling of metabolic rate and the size abundance distribution of phytoplankton. *Proc. R. Soc. B.* 279, 1815–1823.
- Huisman J. 1999. Population dynamics of light-limited phytoplankton: Microcosm experiments. *Ecology* 80, 202-10.
- Hutchinson G. E. 1959. Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals?. *American Naturalist* 93, 145-159.
- Hutchinson G.E. 1961. The paradox of the plankton. *American Naturalist*, 95, 137-145.
- Irwin A. J., Finkel Z. V., Schofield O. M. E. et al. 2006. Scaling-up from nutrient physiology to the size-structure of phytoplankton communities. *J. Plankton Res.* 28, 459–471.
- Isaac N.J.B. & Carbone C. 2010. Why are metabolic scaling exponents so controversial? Quantifying variance and testing hypothesis. *Ecology Letters* 13, 728–735.
- Jennings S. & Blanchard J.L. 2004. Fish abundance with no fishing: predictions based on macroecological theory. *Journal of Animal Ecology* 73, 632-642.
- Jennings S. & Mackinson S. 2003. Abundance-body mass relationships in size structured food webs. *Ecology Letters* 6, 971–974.
- Kerr S.R. & Dickie L.M. 2001. *The Biomass spectrum. A predator-prey theory of aquatic production.* Columbia University Press, New York, USA.
- Kjørboe T. 1997. Small-scale turbulence, marine snow formation, and planktivorous feeding. *Scientia Marina* 61, 141–158.
- Kjørboe T., Balxter J. H. S., Southward A. J. 1993. Turbulence, phytoplankton cell size, and the structure of pelagic food webs. *Advances in Marine Biology*, 29, 1–72.
- Kirk J. 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems.* Cambridge University Press: London.
- Kirst G.O. 1990. Salinity Tolerance of Eukaryotic Marine Algae. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41, 21–53.
- Kleiber M. 1932. Body size and metabolism. *Hilgardia* 6, 315–332.

- Kleiber M. 1947. Body size and metabolic rate. *Physiological Reviews* 27, 4, 511–541
- Kruk C. & Segura A.M. 2012. The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. *Hydrobiologia* 698, 191–202.
- Kruk C., Huszar V.L.M., Peeters, E.T.H.M., Bonilla S., Costa L., Lürling M., Reynolds C.S. & Scheffer M. 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55, 614–627.
- Kruk C., Martínez A., Nogueira L., Alonso C. & Calliari D. 2014. Morphological traits variability reflects light limitation of phytoplankton production in a highly productive subtropical estuary (Río de la Plata, South America). *Marine Biology* 162, 31–34.
- Kruk C., Piccini C., Segura A.M., Nogueira L., Carballo C., Martinez de la Escalera Siri G., Calliari D., Ferrari G., Simoens M. & Cea J. 2015. Herramientas para el monitoreo y sistema de alerta de floraciones de cianobacterias nocivas: Río Uruguay y Río de la Plata. *INNOTEC* 23–39.
- Legendre L. & Le Fèvre J. 1989. Hydrodynamical singularities as control of recycled versus export production in oceans. *Productivity of the Ocean: Present and Past* (eds. Berger, W.H., Smetacek, V. S. y Wefer, G.), 49–63, John Wiley and Sons, New York, USA.
- Legendre L. & Le Fèvre J. 1995. Microbial food webs and the export of biogenic carbon in oceans. *Aquat. Microb. Ecol.* 9, 69–77.
- Lewis H.M., Law R. & McKane A.J. 2008. Abundance-body size relationships: the roles of metabolism and population dynamics. *Journal of Animal Ecology* 77, 1056–1062.
- Li W.K.W. 2002. Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature* 419, 154–157.
- Liaw A. & Wiener M. 2002. Classification and regression by randomForest. *R News* 2, 18–22.
- Lindeman R.L. 1942. The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology* 23, 399–418.
- Lines 1992. *The Electrical Sensing Zone Method (The Coulter Principle). Particle size analysis.* Edited by N. G. Stanley-Wood and R. W. Lines. Royal Society of Chemistry, Cambridge, England.

- Litchman E. & Klausmeier C. 2008. Trait-Based Community Ecology of Phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39, 1, 615–639.
- Litchman E., Klausmeier C.A, Schofield O.M. & Falkowski P.G. 2007. The role of phytoplankton functional traits in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters* 10, 1170–81.
- López-Urrutia A. & Morán X.A.G. 2015. Temperature Affects the Size-Structure of Phytoplankton Communities in the Ocean: Temperature and Phytoplankton Size. *Limnology and Oceanography* 60, 3, 733–38.
- López-Urrutia A., San Martín E., Harris R.P. & Irigoien X. 2006. Scaling the Metabolic Balance of the Oceans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 23, 8739–8744.
- Malone T.C. 1980. Algal size. *The physiological ecology of phytoplankton* (eds. Morris, I.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 433-464.
- Marañón E., Cermeño P., López-Sandoval D.C., Rodríguez- Ramos T., Sobrino C., Huete-Ortega M., Blanco J.M. & Rodríguez J. 2013. Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. *Ecology Letters* 16, 371–379.
- Marañón E. 2015. Cell size as a key determinant of phytoplankton metabolism and community structure. *Annual Review of Marine Science* 7, 241–264.
- Margalef R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta* 1, 493–509.
- Marquet P.A., Abades S., Keymer J.E. & Zeballos H. 2008. Discontinuities in Body-Size Distributions: A View from the Top. Allen C.R. & C.S. Holling (eds), *Discontinuities in Ecosystems and Other Complex Systems*. Columbia University Press, New York, 45–57.
- Marquet P.A., Allen A.P., Brown J.H., Dunne J.A., Enquist B.J., Gillooly J.F., Gowaty P.A., Green J.L., Harte J., Hubbell S.P., O'Dwyer J., Okie J.G., Ostling A., Ritchie M., Storch D. & West G.B. 2014. On Theory in Ecology, *BioScience* 64, 8, 701–710.

- Marquet P.A., Labra F.A. & Maurer B.A. 2004. Metabolic ecology: linking individuals to ecosystems. *Ecology* 85, 1794–1796.
- Marquet P.A., Quiñones R.A., Abades S., Labra F., Tognelli M., Arim M. & Rivadeneira M. 2005. Scaling and power-laws in ecological systems. *The Journal of Experimental Biology* 208, 1749-1769.
- Martínez de la Escalera G., Kruk C., Segura A.M., Nogueira L., Alcántara I. & Piccini C. 2017. Dynamics of toxic genotypes of *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) through a wide freshwater to marine environmental gradient. *Harmful Algae* 62, 73–83.
- Mc Lachlan J. 1961. The effect of salinity on growth and chlorophyll content in representative classes of unicellular marine algae. *Canadian Journal of Microbiology* 7, 1150, 399–406.
- Menezes dos Santos R., Hilbers J.P. & Hendriks A.J. 2017. Evaluation of models capacity to predict size spectra parameters in ecosystems under stress. *Ecological Indicators* 79, 114–121.
- Mianzan H.W., Lasta C., Acha E.M., Guerrero R., Machi G. & Bremec C. 2001. The Río de la Plata Estuary, Argentina, Uruguay. En: Seeliger, U., de Lacerda, L. y Kjerve, B., (eds.). *Ecological studies: coastal marine ecosystems of Latin America*. Berlin: Springer 185-204.
- Muggeo V.M.R. 2003. Estimating regression models with unknown break-points. *Statistics in Medicine* 22, 3055–3071.
- Nagy G.J., Gómez-Erache M., López C.H. & Perdomo A.C. 2002. Distribution patterns of nutrients and symptoms of eutrophication in the Río de la Plata River Estuary System. *Hydrobiologia* 475, 476, 125–139.
- Navarro J.M. & Thompson R.J. 1995. Seasonal fluctuations in the size spectra, biochemical composition and nutritive value of the seston available to a suspension feeding bivalve in a subarctic environment. *Marine Ecology Progress Series* 125, 95–106.
- Newman M.E.J. 2005. Power laws, Pareto distributions and Zipf's law. *Contemporary Physics* 46, 323–351.



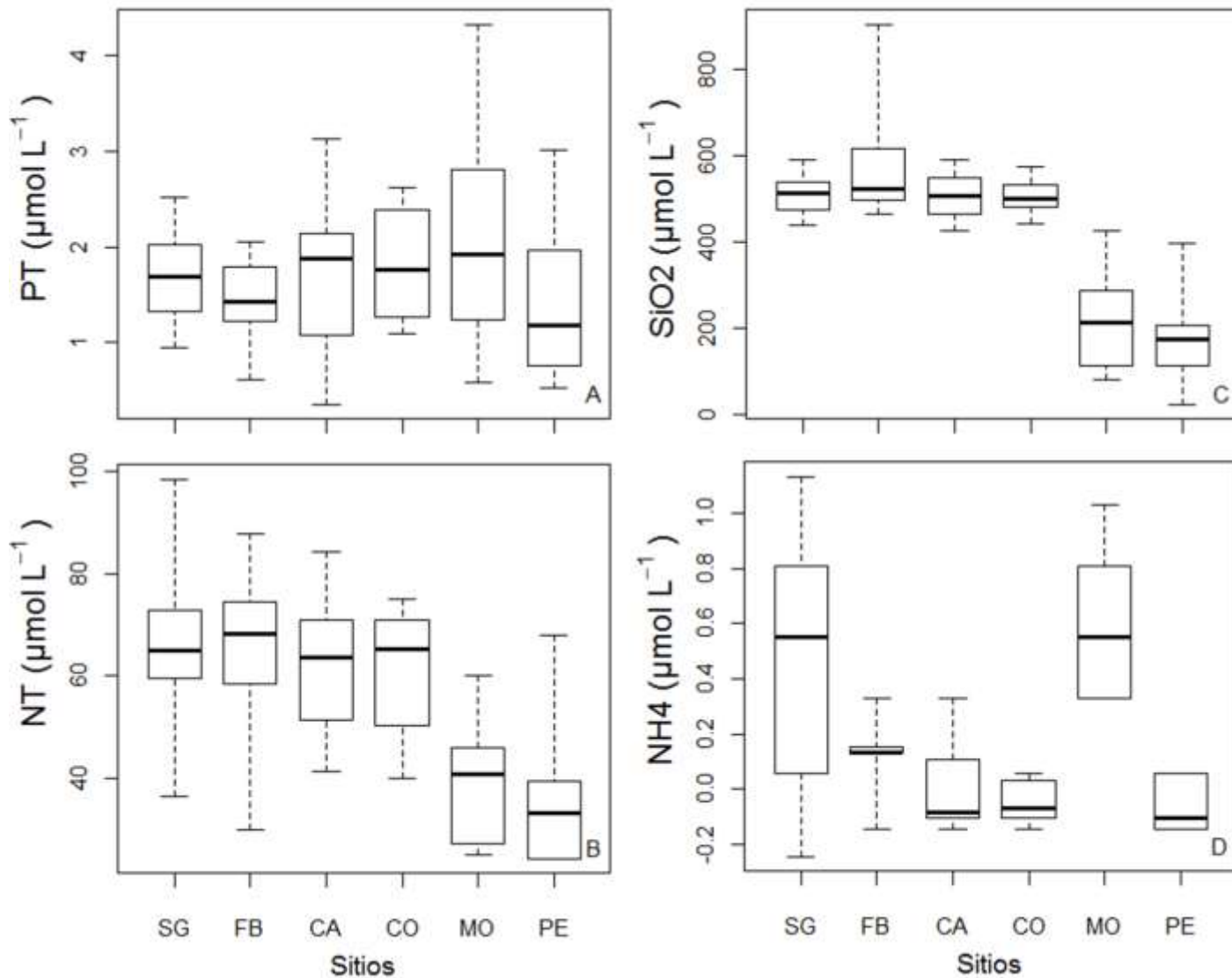
- Nogueira L. 2017. Efectos del gradiente ambiental sobre floraciones fitoplanctónicas en el sistema Río Uruguay-Río de la Plata: una aproximación funcional. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias. Universidad de la República 86p.
- Parsons T.R., LeBrasseur R.J., Fulton J.D. & Kennedy O.D. 1969. Production studies in the Strait of Georgia. Part 2. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 3, 39-50.
- Peters R.H. 1983. The Ecological Implications of Body Size. Cambridge University Press, USA.
- Pitcher G., Brown P. & Mitchell-Innes B. 1992. Spatio-temporal variability of phytoplankton in the southern Benguela upwelling system. S. Afr. J. Marine Sci. 12, 439–456.
- Platt T. & Denman K.L. 1977. Organization in the pelagic ecosystem. Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen 30, 575-581.
- Platt T. 1985. Structure of the marine ecosystem: Its allometric basis. Ecosystem theory for biological oceanography (eds. Ulanowicz, R E. Y Platt, T.), 55-64, Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences 213.
- Price C.A., Weitz J.S., Savage V.M. *et al.* 2012. Testing the metabolic theory of ecology. Ecology Letters 15, 1465–1474.
- Quiñones R.A. 1994. A comment on the use of allometry in the study of pelagic ecosystem processes. Scientia Marina 58, 11–16.
- Quiñones R.A. *et al.* 2003. Patterns of biomass-size spectra from oligotrophic waters of the Northwest Atlantic. Progress in Oceanography 57, 405–427.
- Reuman D.C., Holt R.D. & Yvon-Durocher G. 2014. A metabolic perspective on competition and body size reductions with warming. Journal of Animal Ecology 83, 59–69.
- Reynolds C.S. 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds C.S. 2006. Ecology of phytoplankton. Ecology, biodiversity and conservation. Cambridge University Press. Cambridge.
- Rodriguez J. & Li W.K.W. 1994. The size structure and metabolism of the pelagic ecosystem. Scientia Marina 58, 1-2.

- Rodriguez J. & Mullin M.M. 1986. Relation between biomass and body weight of plankton in a steady state oceanic ecosystem. *Limnology and Oceanography* 31, 361-370.
- Rodriguez J. 1994. Some comments on the size-based structural analysis of the pelagic ecosystem. *The size structure of pelagic ecosystems* (eds. Rodríguez, J. y Li, W. K. W.), *Scientia Marina* 58, 1-2, 1-10.
- Rodriguez J. 2005. La estructura de tamaños del plancton: un tópico interdisciplinar y Margalefiano. *Ecosistemas* 14, 1, 40-51.
- RStudio Team 2016. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc. Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- San Martin E., Irigoien X., Harris R.P., Lopez-Urrutia A., Zubkov M.V. & Heywood J.L. 2006. Variation in the transfer of energy in marine plankton along a productivity gradient in the Atlantic Ocean. *Limnology and Oceanography* 51, 2084–2091.
- Savage V.M., Gillooly J.F., Brown J.H., West G.B. & Charnov E.L. 2004. Effects of Body Size and Temperature on Population Growth. *American Naturalist* 163, 429-441.
- Segura A.M., Calliari D., Kruk C., Conde D., Bonilla S. & Fort H. 2011. Emergent neutrality drives phytoplankton species coexistence. *Proceedings of the Royal Society B* 278, 2355-2361.
- Segura A.M., Calliari D., Kruk C., Fort H., Izaguirre I., Saad J. F. & Arim M. 2015. Metabolic dependence of phytoplankton species richness. *Global Ecology and Biogeography* 24, 4, 472–482.
- Segura A.M., Kruk C., Calliari D., García-Rodríguez F., Conde D., Widdicombe C. E. & Fort H. 2013. Competition drives clumpy species coexistence in estuarine phytoplankton. *Scientific Reports* 3, 1037.
- Segura A.M., Piccini C., Nogueira L., Alcántara I., Calliari D. & Kruk C. 2017. Increased sampled volume improves *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) colonies detection and prediction using Random Forests. *Ecological Indicators* 79, 347–354
- Sheldon R.W. & Parsons T.R. 1967. A continuous size spectrum for particulate matter in the sea. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 24, 909-915.

- Sheldon R.W., Prakash A. & Sutcliffe J.H. 1972. The size distribution of particles in the ocean. *Limnology and Oceanography* 17, 3, 327-340.
- Skillen J.J. & Maurer B.A. 2008. The Ecological Significance of Discontinuities in Body–Mass Distributions. Allen C.R. & C.S. Holling (eds), *Discontinuities in Ecosystems and Other Complex Systems*. Columbia University Press, New York: 193–218.
- Sprules W.G. & Barth L.E 2016. Surfing the biomass size spectrum: some remarks on history, theory, and application. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 73, 477–495
- Therneau T., Atkinson B. & Ripley B. 2015. rpart: Recursive Partitioning and Regression Trees. R package version 4.1-10.
- Thibault K.M., White E.P., Hurlbert A.H. & Ernest S.K. 2011. Multimodality in the individual size distributions of bird communities. *Global Ecology and Biogeography* 20, 145–153.
- Tilman D. 1982. Resource competition and community structure. *Monogr. Pop. Biol.* 17. Princeton University Press, Princeton, N.J. 296
- Trebilco R., Baum J.K., Salomon A.K. & Dulvy N.K. 2013. Ecosystem ecology: size-based constraints on the pyramids of life. *Trends. Ecol. Evol.* 28, 7, 423–31.
- Utermöhl H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9, 1–38.
- Ward B.A., Marañón E., Sauterey B., Rault J. & Claessen D. 2017. The size dependence of phytoplankton growth rates: a trade-off between nutrient uptake and metabolism. *Am. Nat.* 189, 170–177.
- West G.B., Brown J.H. & Enquist B.J. 1997. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* 276, 122–126.
- West G.B., Brown J.H. & Enquist B.J. 1999. A general model for the structure and allometry of plant vascular systems. *Nature* 400, 664–667.
- White E. P., Ernest S. K. M., Kerkhoff A. J. & Enquist B. J. 2007. Relationships between body size and abundance in ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 22, 323-330.

- White E.P., Enquist, B.J. & Green J.L. 2008. On estimating the exponent of power-law frequency distributions. *Ecology* 89, 905-912.
- Woodward G. & Warren P.H. 2007. Body size and predatory interactions in freshwaters: Scaling from individuals to communities. *Body Size: The Structure and Function of Aquatic Ecosystems* (Ed. by A.G. Hildrew, D. Raffaelli and R. Edmonds-Brown), Cambridge University Press, Cambridge, 98–117.
- Woodward G., Ebenman B., Emmerson M., Montoya J.M., Olesen J.M., Valido A. & Warren P.H. 2005. Body size in ecological networks. *Trends in Ecology & Evolution* 20, 402–409.
- Zar Jerrold H. 2010. *Biostatistical Analysis*. 5th ed. Upper Saddle River, N.J: Prentice-Hall/Pearson.
- Ziegler L., Arim M. & Bozinovic F. 2016. Intraspecific scaling in frog calls: the interplay of temperature, body size and metabolic condition. *Oecologia* 181 3, 673–681.
- Ziegler L., Berazategui M. & Arim M. 2014. Discontinuities and alternative scalings in the density–mass relationship of anuran larvae. *Hydrobiologia* 723, 123–129.

## ANEXO I



**Figura 1.** Variación por sitio de la concentración de nutrientes a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. El gráfico A, corresponde al fósforo total (PT;  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ); B al nitrógeno total (NT;  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ); C al sílice ( $\text{SiO}_2$ ;  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ); D al amonio ( $\text{NH}_4$ ;  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Los diagramas de cajas incluyen la mediana (línea negra), el primer y tercer cuartil (línea inferior y superior de la caja respectivamente) y los extremos de las líneas punteadas son el rango de los valores considerando todas las estaciones en cada sitio de muestreo.

**Tabla 1.** Resultados de los modelos lineales simples y en segmentos ejecutados para la construcción de los espectros de tamaños de las comunidades planctónicas en los 72 casos evaluados a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Se destaca el modelo ajustado en cada caso (LIN, lineal; SEG, segmentado), el valor de las pendientes observadas (b); los interceptos estimados cuando  $\log_{10}M=0.64$  (A); los puntos de quiebre (PQ) en la regresión segmentada en escala Log y los coeficiente de determinación ( $R^2$ ). Se identifica cada caso a partir del tipo de ecosistema (embalse, río, estuario y estuario externo), el nombre del sitio analizados y el código de la muestra (ID muestra) que está formado por tres partes donde la primera hace referencia al mes de muestreo (E, enero; MAR, marzo del 2013; JUN, junio; OCT, octubre; DIC, diciembre; FE, marzo del 2014), la segunda al sitio (SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos, CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este) y la tercera hace referencia a la estación muestreada dentro de cada sitio (AA, aguas abiertas; CO, costa) (e.g. EneroSaltoGrandeAguasAbiertas, **ESAAA**).

Tipo de Ecosistema	Sitio	ID muestra	Modelo	Pendientes	Interceptos	PQ	$R^2$
				B	A		
<b>Embalse</b>	<b>Salto Grande</b>	ESGAA	SEG	-1.40	4.43	2.06	0.98
		MARSGAA	LIN	-1.07	4.27	-	0.98
		JUNSGAA	LIN	-0.98	3.93	-	0.96
		OCTSGAA	LIN	-1.09	4.45	-	0.97
		DICSGAA	SEG	-1.25	4.48	2.33	0.83
		FESGAA	LIN	-0.93	4.43	-	0.99
		ESGCO	LIN	-0.98	4.16	-	0.99
		MARSGCO	LIN	-1.21	4.51	-	0.97
		JUNSGCO	LIN	-1.20	4.10	-	0.98
		OCTSGCO	LIN	-1.02	4.37	-	0.97
		DICSGCO	SEG	-1.28	4.45	2.43	0.99
		FESGCO	LIN	-1.10	4.61	-	0.99
<b>Río</b>	<b>Fray Bentos</b>	EFBAA	LIN	-1.19	4.31	-	0.98
		MARFBAA	LIN	-1.12	4.63	-	0.99
		JUNFBAA	LIN	-1.12	4.18	-	0.98
		OCTFBAA	LIN	-1.08	4.30	-	0.98
		DICFBAA	LIN	-1.30	4.48	-	0.98
		FEFBAA	LIN	-1.17	4.61	-	0.99
		EFBCO	LIN	-1.02	4.19	-	0.99
		MARFBCO	LIN	-1.12	4.37	-	0.99
		JUNFBCO	LIN	-1.15	4.00	-	0.98
		OCTFBCO	LIN	-1.12	4.49	-	0.98

		DICFBCO	LIN	-1.16	4.19	-	0.99
		FEFBCO	LIN	-1.18	4.46	-	0.99
<b>Carmelo</b>		ECAAA	LIN	-1.05	4.68	-	0.98
		MARCAAA	SEG	-1.29	4.57	2.12	0.99
		JUNCAAA	LIN	-1.17	4.96	-	0.97
		OCTCAAA	SEG	-1.13	3.66	1.94	0.94
		DICCAAA	LIN	-1.18	4.47	-	0.99
		FECAAA	SEG	-1.58	5.14	2.27	0.99
		ECACO	LIN	-1.26	5.00	-	0.99
		MARCACO	LIN	-1.00	4.50	-	0.96
		JUNCACO	LIN	-1.22	4.51	-	0.99
		OCTCACO	LIN	-1.19	4.42	-	0.99
		DICCACO	LIN	-1.10	4.23	-	0.99
		FECACO	LIN	-1.20	4.56	-	0.99
<b>Colonia</b>		ECOAA	LIN	-1.27	4.94	-	0.99
		MARCOAA	SEG	-1.16	4.68	4.67	0.99
		JUNCOAA	LIN	-0.98	4.51	-	0.99
		OCTCOAA	SEG	-1.31	4.54	1.95	0.99
		DICCOAA	SEG	-1.21	4.44	2.42	0.99
		FECOAA	SEG	-1.56	4.95	2.22	0.99
		ECOCO	LIN	-1.19	4.84	-	0.98
		MARCOCO	SEG	-1.03	4.20	3.61	0.98
		JUNCOCO	SEG	-1.39	4.34	1.19	0.99
		OCTCOCO	LIN	-1.17	4.49	-	0.99
		DICCOCO	LIN	-1.16	4.54	-	0.96
		FECOCO	SEG	-1.60	4.99	2.03	0.99
<b>Estuario</b>	<b>Montevideo</b>	EMOAA	SEG	-1.20	3.79	2.01	0.97
		MARMOAA	SEG	-1.37	4.42	1.40	0.98
		JUNMOAA	LIN	-1.08	4.05	-	0.98
		OCTMOAA	LIN	-1.00	4.56	-	0.99
		DICMOAA	SEG	-1.07	3.72	2.06	0.97
		FEMOAA	LIN	-1.18	4.75	-	0.96
		EMOCO	SEG	-1.62	4.05	2.43	0.95
		MARMOCO	SEG	-1.58	4.72	1.42	0.99
		JUNMOCO	SEG	-1.54	4.85	1.83	0.99
		OCTMOCO	SEG	-1.88	5.34	1.93	0.97
		DICMOCO	SEG	-1.90	4.71	2.19	0.97

		FEMOCO	LIN	-1.09	4.47	-	0.96
<b>Estuario externo</b>	<b>Punta del Este</b>	EPEAA	LIN	-0.93	3.97	-	0.97
		MARPEAA	LIN	-1.10	3.95	-	0.97
		JUNPEAA	LIN	-1.08	3.74	-	0.96
		OCTPEAA	LIN	-1.07	4.22	-	0.99
		DICPEAA	LIN	-0.86	3.67	-	0.97
		FEPEAA	LIN	-1.12	3.82	-	0.95
		EPECO	LIN	-0.91	4.06	-	0.97
		MARPECO	LIN	-1.11	3.96	-	0.98
		JUNPECO	LIN	-1.04	3.75	-	0.99
		OCTPECO	SEG	-1.17	3.92	1.41	0.98
		DICPECO	LIN	-0.97	3.97	-	0.94
		FEPECO	LIN	-0.99	3.18	-	0.91

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) para evaluar las predicciones respecto a las pendientes (b) de los espectros de tamaños de las comunidades planctónicas en los seis sitios analizados en el sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Se detalla: las variables ambientales que incluyen el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann (TEMP.;  $1/kT$ , kelvin), concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $PO_4$ ;  $\mu molL^{-1}$ ) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu molL^{-1}$ )), turbidez (NTU) y coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ , metros $^{-1}$ ). Se observa además el parámetro a evaluar (PAR.) y los resultados del modelo (COEF.). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 ' '. En ningún caso se detectó una correlación significativa entre las variables propuestas. Número de observaciones en cada caso N=12 en todos los sitios excepto en Montevideo AA y CO, con N=6 en cada caso.

VARIABLE	PAR	COEF.	Salto Grande	Fray Bentos	Carmelo	Colonia	Montevideo AA	Montevideo CO	Punta del Este
Temperatura (1/kT)	b	$\rho$	0.24	0.33	-0.06	0.06	0.66	0.26	-0.32
		p-valor	0.5	0.3	0.9	0.9	0.2	0.7	0.3
NID	b	$\rho$	0.27	0.01	0.30	0.27	-0.5	0.09	0.39
		p-valor	0.4	0.9	0.3	0.4	0.5	0.9	0.3
$PO_4$	b	$\rho$	0.01	-0.12	0.45	0.005	0.4	0.3	-0.43
		p-valor	0.9	0.7	0.2	0.9	0.5	0.6	0.2
Turbidez	b	$\rho$	-0.10	0.34	-0.33	-0.27	-0.14	0.09	-0.43
		p-valor	0.8	0.3	0.3	0.4	0.8	0.9	0.2
$K_D$	b	$\rho$	-0.45	0.03	-0.15	-0.27	-0.31	-0.49	0.20
		p-valor	0.1	0.9	0.7	0.4	0.6	0.4	0.5



**Tabla 3.** Coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y nivel de significancia (p-valor) para evaluar las predicciones respecto a los interceptos (A) de los espectros de tamaños de las comunidades planctónicas en los seis sitios analizados en el sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Se detalla: las variables ambientales que incluyen el inverso de la temperatura por la constante de Boltzmann (TEMP.;  $1/kT$ , kelvin), concentración de nutrientes (fósforo inorgánico disuelto ( $PO_4$ ;  $\mu\text{molL}^{-1}$ ) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID;  $\mu\text{molL}^{-1}$ )), turbidez (NTU) y coeficiente de atenuación de la luz ( $K_D$ , metros $^{-1}$ ). Se observa además el parámetro a evaluar (PAR.) y los resultados del modelo (COEF.). Códigos de significancia de p-valor: 0.001 '\*\*\*'; 0.01 '\*\*'; 0.05 '\*'; 0.1 ' '. En negrita se destacan los casos en que se detectó una correlación significativa entre las variables. Número de observaciones en cada caso N=12.

VARIABLE	PAR.	COEF.	Salto Grande	Fray Bentos	Carmelo	Colonia	Montevideo	Punta del Este
TEMP. (1/kT)	A	$\rho$	-0.29	-0.18	-0.24	-0.54	0.42	-0.34
		p-valor	0.4	0.6	0.5	0.07	0.17	0.3
NID	A	$\rho$	-0.23	-0.33	-0.36	0.14	-0.18	0.12
		p-valor	0.5	0.3	0.2	0.7	0.6	0.7
$PO_4$	A	$\rho$	0.02	0.10	-0.16	-0.06	0.42	-0.02
		p-valor	0.9	0.8	0.6	0.9	0.2	0.9
Turbidez	A	$\rho$	0.32	0.55	<b>0.79</b>	0.34	0.21	-0.09
		p-valor	0.3	0.07	<b>0.004**</b>	0.3	0.5	0.8
$K_D$	A	$\rho$	0.21	0.4	<b>0.62</b>	0.06	0.49	0.16
		p-valor	0.3	0.2	<b>0.03*</b>	0.9	0.1	0.6

**Tabla 4.** Resultados de los modelos lineales simples que fueron significativos en la construcción de los espectros de tamaños de las comunidades planctónicas a partir de estimaciones derivadas de la técnica Utermöhl en los 72 casos evaluados a lo largo del sistema RU-RdIP durante el periodo de estudio 2013-2014. Se destaca el modelo ajustado en cada caso (LIN, lineal), el valor de las pendientes observadas (b); los interceptos estimados cuando  $\log_{10}M=0.64$  (A) y los coeficiente de determinación ( $R^2$ ). Se identifica cada caso a partir del tipo de ecosistema (embalse, río, estuario y estuario externo), el nombre del sitio analizados y el código de la muestra (ID muestra) que está formado por tres partes donde la primera hace referencia al mes de muestreo (E, enero; MAR, marzo del 2013; JUN, junio; OCT, octubre; DIC, diciembre; FE, marzo del 2014), la segunda al sitio (SG, Salto Grande; FB, Fray Bentos, CA, Carmelo; CO, Colonia; MO, Montevideo; PE, Punta del Este) y la tercera hace referencia a la estación muestreada dentro de cada sitio (AA, aguas abiertas; CO, costa) (e.g. **EneroSaltoGrandeAguasAbiertas, ESGAA**).

Tipo de Ecosistema	Sitio	ID muestra	Modelo	Pendientes b	Interceptos A	$R^2$
<b>Embalse</b>	<b>Salto Grande</b>	ESGAA	LIN	-0.68	6.42	0.83
<b>Río</b>	<b>Fray Bentos</b>	EFBAA	LIN	-0.54	3.14	0.97
		DICFBAA	LIN	-0.63	3.85	0.99
	<b>Carmelo</b>	OCTCAA	LIN	-0.98	3.79	0.99
		DICCAA	LIN	-0.45	2.76	0.89
		OCTCACO	LIN	-0.65	3.38	0.99
	<b>Colonia</b>	JUNCOAA	LIN	-0.57	2.80	0.69
		OCTCOAA	LIN	-0.48	2.94	0.92
		JUNCOCO	LIN	-0.62	3.21	0.98
		FECOCO	LIN	-0.53	3.06	0.89
<b>Estuario</b>	<b>Montevideo</b>	FEMOAA	LIN	-0.32	2.58	0.76
<b>Estuario externo</b>	<b>Punta del Este</b>	DICPEAA	LIN	-0.59	3.62	0.97
		FEPEAA	LIN	-0.56	3.88	0.91