



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR fcien.edu.uy

TESINA PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADO EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS
PROFUNDIZACIÓN ECOLOGÍA

**Factores que favorecen la ocurrencia de
cianobacterias en la cuenca del Río Santa
Lucía, Uruguay: aporte de nutrientes y
fitoplancton de una fuente puntual**

Hernán Olano Rodríguez

Orientador: Dr. Luis Aubriot

Sección Limnología, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales

Co-orientadora: MSc. Fátima Martigani

Sección Limnología, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales

Octubre 2017
Montevideo, Uruguay

Índice

A. Resumen	2
B. Introducción	3
Eutrofización y floraciones de cianobacterias	3
Factores que regulan el crecimiento de las cianobacterias	4
Situación en el Río Santa Lucía	7
Justificación del estudio	8
C. Hipótesis y predicciones	9
D. Objetivos	10
Objetivos generales	10
Objetivos específicos	10
E. Metodología	11
Estrategia de investigación	11
Muestreo	13
Incubación de muestras del efluente industrial en el agua natural del Río Santa Lucía	15
Análisis de datos	17
F. Resultados	17
Descriptores del Río Santa Lucía y efluente	17
Cargas y balance de masas	19
Experimento de incubación	25
Evolución de la concentración de clorofila <i>a</i> en el experimento	29
Biovolumen - Composición y desarrollo fitoplanctónico	30
G. Discusión	35
Río Santa Lucía y aporte de nutrientes	35
Efecto del aporte de inóculos de fitoplancton por sistemas de tratamiento de efluentes incompleto	39
Éxito potencial de crecimiento de inóculo de cianobacterias y fitoplancton en general del efluente en el agua natural del Río Santa Lucía	41
H. Conclusión	43
I. Agradecimientos	44
J. Referencias bibliográficas	45
K. Anexos	51

A. Resumen

En Uruguay, la mayoría de los cuerpos de agua bajo estudio evidencian condiciones eutróficas, detectándose una amplia distribución de cianobacterias con el potencial de producir toxinas. Si bien son varios los aspectos que influyen en su crecimiento, las alteraciones hidrológicas y el aumento de nutrientes son factores que favorecen su desarrollo. La cuenca del Río Santa Lucía presenta varios cursos y cuerpos de agua con síntomas severos de contaminación. En este sentido, existe un gran número de piletas de maduración y sistemas de tratamientos incompletos de aguas residuales, con altos tiempos de residencia, presentando un riesgo en la generación de altas biomásas de fitoplancton, y en particular de cianobacterias, además del aporte excesivo de nutrientes. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un efluente industrial (fuente puntual) en el aporte de nutrientes e inóculos de cianobacterias potencialmente activos en el Río Santa Lucía (RSL), próximo a la localidad de San Ramón. Para esto se realizó un balance de cargas de nutrientes del efluente y del RSL entre diciembre 2014 y diciembre 2015. Paralelamente, en primavera del 2015, se monitoreó el caudal y variables de calidad de agua: nutrientes, oxígeno disuelto, temperatura, pH, estimadores de biomasa y composición fitoplanctónica. Se realizó un experimento de incubación en el laboratorio de siete días de duración con muestras recolectadas del RSL y del efluente de manera de comprobar si la mezcla tiene las condiciones adecuadas para el crecimiento de cianobacterias. Se determinó que el efluente posee un aporte significativo de nutrientes sobre el curso (hasta el 25% PT), en particular en períodos de estiaje, a la vez de un elevado aporte de biomasa de fitoplancton y cianobacterias ($127 - 1854 \mu\text{g l}^{-1}$ clo *a*, min. - máx.). El aporte de clorofila *a* del efluente alcanzó el 93% del total del RSL. La incubación

del inóculo aumentó 2,6 veces su clorofila *a* y 45 veces el biovolumen fitoplanctónico. El biovolumen inicial de cianobacterias aumentó de 10%, a 40% al séptimo día de incubación. A partir del experimento se demostró que la descarga de un efluente con un inóculo activo de microorganismos tiene un riesgo potencial en el desarrollo y composición del fitoplancton, aumentando así la probabilidad de ocurrencia y transporte fluvial de floraciones nocivas de cianobacterias.

B. Introducción

Eutrofización y floraciones de cianobacterias

En la actualidad la calidad de las aguas superficiales es uno de los aspectos ambientales con mayor relevancia a nivel internacional. Los efectos de la contaminación por nutrientes han adquirido un importante rol en la investigación y gestión estatal, lo cual ha llevado a la planificación e implementación de medidas de recuperación y mitigación con altos costos (Codd et al. 2005; Hilton et al. 2006; Dodds et al. 2009). El aporte de nutrientes de origen antrópico provoca la eutrofización de los ecosistemas acuáticos, lo cual genera un aumento de la producción primaria (Margalef 1983). A pesar de ser un proceso natural, puede verse acelerado por la actividad humana debido al aporte de nutrientes ya sea por vertidos industriales o urbanos (fuentes puntuales) así como por aportes difusos de actividades agrícolas. Esto ocurre cuando la acumulación de nutrientes y materia orgánica supera la capacidad de reciclaje del ambiente (Schindler 1977), quedando disponibles para sustentar el crecimiento masivo de algunos grupos fitoplanctónicos como las cianobacterias, fenómeno conocido como floración (Chorus & Bartram 1999). Algunas cianobacterias tienen la capacidad de producir compuestos volátiles, lo que genera olor y

sabor desagradable en el agua (Jüttner & Watson 2007), además de producir toxinas (neurotoxinas, hepatotoxinas y citotoxinas) provocando cambios drásticos en la estructura de la comunidad acuática, disminuyendo la biodiversidad y la calidad del agua ocasionando dificultades en su potabilización (Huisman & Hulot 2005). La mayoría de las especies de cianobacterias abundan en aguas continentales, ya sea en la columna de agua o bentos de lagos, lagunas, ríos y arroyos (Whitton & Potts 2000), ocupando un importante lugar en la producción primaria acuática (Reynolds 1984). En ocasiones pueden alterar el pH, aumentar la turbidez, limitar la penetración de luz, creando así un ambiente oscuro, lo cual potencia la anoxia en capas profundas y generan condiciones reductoras en donde ocurren procesos de amonificación, desnitrificación y liberación de fosfato del sedimento (carga interna), estimulando el crecimiento de las mismas (retroalimentación positiva) (Scheffer et al. 1997).

Factores que regulan el crecimiento de las cianobacterias

Son varios los factores que influyen en el crecimiento de las cianobacterias, dentro de los que se incluyen interacciones con el medio e interacciones bióticas (Reynolds 1984; Elser 1999). Particularmente, la disponibilidad de luz y nutrientes son factores clave que sustentan su crecimiento (Reynolds 1984). En general, los requerimientos del fitoplancton están relacionados con su composición atómica, siendo esta de aproximadamente 106 átomos de carbono, 16 de nitrógeno y 1 de fósforo, la cual fue propuesta por Redfield (1958) para el plancton marino. Generalmente, la disponibilidad de carbono no es una limitante para las cianobacterias por su capacidad de asimilar carbono inorgánico disuelto (Whitton & Potts 2000), por lo que, el crecimiento suele estar limitado por nitrógeno y/o fósforo, en sus formas disueltas (Schindler 1977). Algunas cianobacterias tienen la

capacidad de fijar N_2 , lo que es considerado una ventaja frente a las algas eucariotas, ya que pueden habitar ambientes con baja disponibilidad del nutriente (Schindler 1977; Karl et al. 2002). Además existen algunas especies que presentan una gran eficiencia en el uso del fosfato, lo que les permite crecer en ambientes con baja disponibilidad del nutriente (Aubriot et al. 2011; Dolman et al. 2012). Si bien las condiciones eutróficas pueden favorecer su desarrollo, algunos grupos de cianobacterias pueden dominar frente a otros grupos fitoplanctónicos, aun en condiciones limitantes de nutrientes (Chorus & Bartram 1999; Aguilera et al. 2017).

El régimen hidrológico también es un importante factor que condiciona el crecimiento fitoplanctónico, ya que si la tasa de crecimiento de un organismo por división celular por bipartición es menor al tiempo de residencia del agua, su desarrollo podría verse limitado (OCDE 1982; Straskraba 1999). Reynolds (1984) sugirió que la tasa máxima de duplicación del fitoplancton es de dos días, de manera que el desarrollo de las algas planctónicas y en particular las cianobacterias en los ecosistemas fluviales (lóticos) se vería comprometido (Yu et al. 2015). En los tramos medios o inferiores de los grandes ríos (cuenca baja-media) podría observarse una predominancia de fitoplancton (Reynolds et al. 1996; Hilton et al. 2006), y en particular cianobacterias, a elevadas concentraciones de nutrientes y altos tiempos de residencia (Hilton et al. 2006). Los ríos que se encuentran aguas abajo de embalses o sistemas lénticos eutróficos son casos especiales que también podrían mostrar una prevalencia de organismos fitoplanctónicos, aportados desde estos, aunque el desarrollo del inóculo aguas abajo seguiría limitado de acuerdo al tiempo de residencia del río (Hilton et al. 2006). Por lo tanto, los efectos de la eutrofización, en relación a la ocurrencia floraciones algales depende en gran medida del tipo de sistema, sea lótico o léntico (Moss 1998; Padisák et al. 1999).

La temperatura es otra variable relevante que puede afectar de manera directa el crecimiento de las cianobacterias y del fitoplancton en general (Chorus & Bartram 1999; Reynolds 2006) e indirecta, al modificar algunas propiedades físicas de los cuerpos de agua (ej. estratificación térmica y zonas de mezcla). A su vez, el incremento de la temperatura en el contexto del cambio climático también podría promover la ocurrencia de floraciones de cianobacterias en los sistemas acuáticos (Moss et al. 2011).

El crecimiento de las cianobacterias se producirá hasta su limitación por la disminución de uno o más factores, por ejemplo: luz, fósforo, nitrógeno, temperatura y tiempo de residencia. Los factores que regulan el crecimiento de cianobacterias pueden inferirse mediante la evaluación físico-química y biológica del ambiente (Chorus & Bartram 1999). Sin embargo, la causalidad debe ser confirmada en bioensayos de laboratorio, en los cuales se experimenta con la adición de nutrientes, disponibilidad de luz, temperatura, tiempo de retención, (tratamientos) con sus respectivos controles, para conocer cuál factor estimula el crecimiento (Aguilera et al. 2017). En este sentido, la ejecución de monitoreos con el fin de prevenir y detectar floraciones de cianobacterias (Chorus & Bartram 1999), así como la experimentación con comunidades fitoplanctónicas naturales para analizar respuestas biológicas (Maberly et al. 2002; Aubriot et al. 2005; Fabre et al. 2010; Aubriot et al. 2011; Aguilera et al. 2017) permite la comprensión de potenciales riesgos ambientales. Asimismo, la evaluación experimental de fenómenos de escala temporal corta a media (horas-días) aporta información complementaria a los monitoreos ambientales con escalas temporales mayores (meses).

Situación en el Río Santa Lucía

En Uruguay, la mayoría de los cursos y cuerpos de agua bajo estudio evidencian condiciones eutróficas e hipereutróficas, detectándose una amplia distribución de cianobacterias con el potencial de producir toxinas (Bonilla 2009; Bonilla et al. 2015). La cuenca del Río Santa Lucía (CRSL) abarca una superficie de 13.480 km², siendo la tercera en magnitud dentro del país. Es un sistema mixto, lótico y léntico, con modificaciones hidrológicas, compuesto por grandes embalses (Paso Severino, Canelón Grande, San Francisco), lagunas de inundación, tajamares y piletas de maduración, los cuales drenan directa o indirectamente al Río Santa Lucía (curso principal). Es una de las cuencas con mayor desarrollo de actividades productivas, a la vez que abastece de agua potable al 60% de la población del país. Alrededor del 15% de las solicitudes de autorización para vertidos del país se encuentran implantadas dentro de la cuenca (DINOT 2016), por lo que recibe el aporte de nutrientes de diversos tipos de industrias, centros urbanos y actividades agropecuarias. Son varios los cursos y cuerpos de agua que presentan síntomas severos de contaminación por nutrientes (Arocena et al. 2008; DINAMA-JICA 2011; Aubriot 2011-2012), muchos de los cuales, aportan a la presa de Aguas Corrientes de la cual se extrae el agua bruta para su tratamiento en OSE. De manera que los aportes excesivos de materia orgánica y nutrientes estarían acentuando la eutrofización sobre los cursos de agua, alterando de forma negativa la calidad de la misma, lo cual significa un riesgo para los usuarios (Arocena et al. 2008; DINAMA-JICA 2011; UDELAR 2013). Un indicio de esta contaminación es el crecimiento acelerado de cianobacterias, fenómeno que se produjo en marzo de 2013, y generó una alerta a nivel social y gubernamental (UDELAR 2013).

Justificación del estudio

En la CRSL existe un gran número de piletas de maduración y sistemas de tratamientos incompletos de aguas residuales (sin remoción de nutrientes), con elevada concentración de nutrientes y altos tiempos de residencia del agua, presentando un riesgo en la generación de biomasa de fitoplancton, y en particular de cianobacterias. Si bien en la cuenca las fuentes puntuales fueron estimadas como un 20% del aporte de contaminantes (domésticas e industriales), mientras que el 80% corresponde a fuentes difusas (DINAMA-JICA 2011), los aportes puntuales pueden generar efectos ecológicos muy significativos sobre los ríos, en particular, en períodos de bajo caudal (Jarvie et al. 2005). Además, las aguas residuales provenientes de fuentes puntuales poseen una proporción significativa de fósforo inorgánico disuelto (PRS) asimilable rápidamente por el fitoplancton (Mainstone & Parr 2002; Jarvie et al. 2002; Jarvie et al. 2005). Contrariamente, los aportes difusos de fósforo contienen una parte significativa en formas de fósforo particulado, no biodisponible inmediatamente (Haygarth & Jarvis 1997; Reynolds & Davies 2001), por lo que, las fuentes puntuales podrían sustentar la ocurrencia de floraciones algales en períodos de sequía y bajas precipitaciones, en el cual las fuentes difusas tienen una menor influencia en el aporte de nutrientes (Jarvie et al. 2002; Jarvie et al. 2005; Neal et al. 2005).

La utilización de sistemas de monitoreo que vinculen variables físico-químicas y biológicas permite mejorar el conocimiento del estado trófico de los cuerpos de agua, así como evaluar su evolución y poder gestionar de manera adecuada el recurso (Chorus & Bartram 1999). En este sentido, el monitoreo de caudales y distintos parámetros fisicoquímicos, así como el análisis de biomasa y composición fitoplanctónica del agua,

son de fundamental importancia para evaluar y predecir floraciones algales (Chorus & Bartram 1999). Además, la experimentación con muestras de agua del mismo ambiente en condiciones controladas de laboratorio, permite simular posibles escenarios para identificar las condiciones ambientales propicias para la ocurrencia de floraciones de cianobacterias. El presente trabajo propone evaluar el potencial efecto de un efluente industrial que descarga en el Río Santa Lucía, en el tramo próximo a la localidad de San Ramón (Depto. de Canelones), en relación al aporte de nutrientes e inóculos de cianobacterias (Figura 1). De esta forma, se integró el monitoreo de las cargas de nutrientes aportadas por el efluente industrial y su dilución en el cuerpo receptor, con una aproximación experimental, mediante la incubación de una muestra de dicho efluente en el agua del Río Santa Lucía en condiciones de laboratorio.

C. Hipótesis y predicciones

Las fuentes puntuales son una entrada importante de nutrientes en los ríos y cuerpos de agua, sobre todo en momentos de estiaje o de baja capacidad de dilución del cuerpo receptor, lo cual potencia los efectos de la eutrofización. El tratamiento incompleto de las aguas residuales, que implica un aumento de los tiempos de residencia, sumado a las elevadas concentraciones de nutrientes, generan un ambiente propicio para el desarrollo del fitoplancton y microorganismos, que a través del efluente podrían ser inoculados al sistema receptor. La hipótesis planteada es que la dilución de un efluente industrial con tratamiento incompleto (lagunas de maduración sin tratamiento terciario) en el agua del Río Santa Lucía contribuye de forma positiva al desarrollo de cianobacterias y fitoplancton en general. En relación a lo expuesto, se plantean las siguientes predicciones:

1- El aporte de nutrientes de la descarga tendrá una contribución significativa sobre el curso receptor, particularmente en períodos de bajo caudal.

2- La descarga del efluente aportará una elevada biomasa fitoplanctónica, y en particular de cianobacterias sobre el curso receptor.

3- La mezcla del efluente y del agua natural del Río Santa Lucía en condiciones favorables de temperatura, disponibilidad de luz y estabilidad del medio físico, posee los nutrientes necesarios y el potencial de favorecer el desarrollo de cianobacterias y elevadas biomásas de fitoplancton.

D. Objetivos

Objetivos generales

- Evaluar el efecto de una fuente puntual industrial en el aporte de nutrientes e inóculos de cianobacterias potencialmente exitosos al Río Santa Lucía.

Objetivos específicos

- Evaluar el impacto del aporte puntual de nutrientes de origen industrial (A) al Río Santa Lucía en la localidad de San Ramón (B).
- Analizar los aportes de fitoplancton del sitio (A) y (B), y la presencia de cianobacterias potenciales formadoras de floraciones.
- Evaluar si la mezcla del sitio (A) en (B) puede favorecer el crecimiento de

cianobacterias en condiciones controladas de laboratorio.

E. Metodología

Estrategia de investigación

Se realizaron diferentes análisis y estudios complementarios, de manera de evaluar el efecto del efluente sobre el Río Santa Lucía (curso receptor) en relación al aporte de nutrientes y potencial éxito de crecimiento y desarrollo de inóculos de cianobacterias. Para esto, se definieron tres sitios de estudio próximos a la localidad de San Ramón; en el Río Santa Lucía aguas arriba de la descarga del efluente (B), Río Santa Lucía aguas abajo de la descarga del efluente (C), y en el efluente industrial antes de su descarga en el Río Santa Lucía (A) (Figura 1). Se consideró que entre los sitios (B) y (A) no exista el ingreso de otra fuente puntual, y por lado, que el sitio (C) se encuentre a una distancia mínima de la descarga de forma de asegurar la mezcla completa del efluente en el Río Santa Lucía (2400 metros aprox.). En noviembre de 2015 se muestreó el caudal y distintas variables físico-químicas y biológicas del Río Santa Lucía (sitios B y C) y del efluente industrial (A). Además, se analizaron datos complementarios del caudal, concentración de nutrientes y de clorofila *a* del Río Santa Lucía (B) y del efluente (A), entre el periodo diciembre 2014 – diciembre 2015. Los mismos son parte del monitoreo llevado cabo por la Sección Limnología, en el marco del Convenio Facultad de Ciencias - OSE (Responsable: Luis Aubriot y Sylvia Bonilla). Con estos datos (de tamaño muestral $n= 11$) se determinó la carga transportada de nutrientes (fósforo total y nitrógeno total en kg/día) por el Río Santa Lucía (B), y por el efluente industrial (A), de forma de evaluar la importancia relativa de cada aporte. Esto se realizó cruzando los datos de caudal (m^3s^{-1}) y

concentración de nutrientes ($\mu\text{g l}^{-1}$). De igual forma que la descrita anteriormente, para los meses de octubre, noviembre y diciembre de 2015, se determinó la carga transportada (kg/día) de clorofila *a* de los sitios (B) y (A). En paralelo, en diciembre del 2015 se realizó un experimento de incubación en el laboratorio con muestras combinadas del Río Santa Lucía (B) y del efluente industrial (A), con el fin de evaluar la viabilidad y actividad del inóculo del efluente respecto al crecimiento de cianobacterias, e identificar las condiciones ambientales favorables para su desarrollo en el Río Santa Lucía.

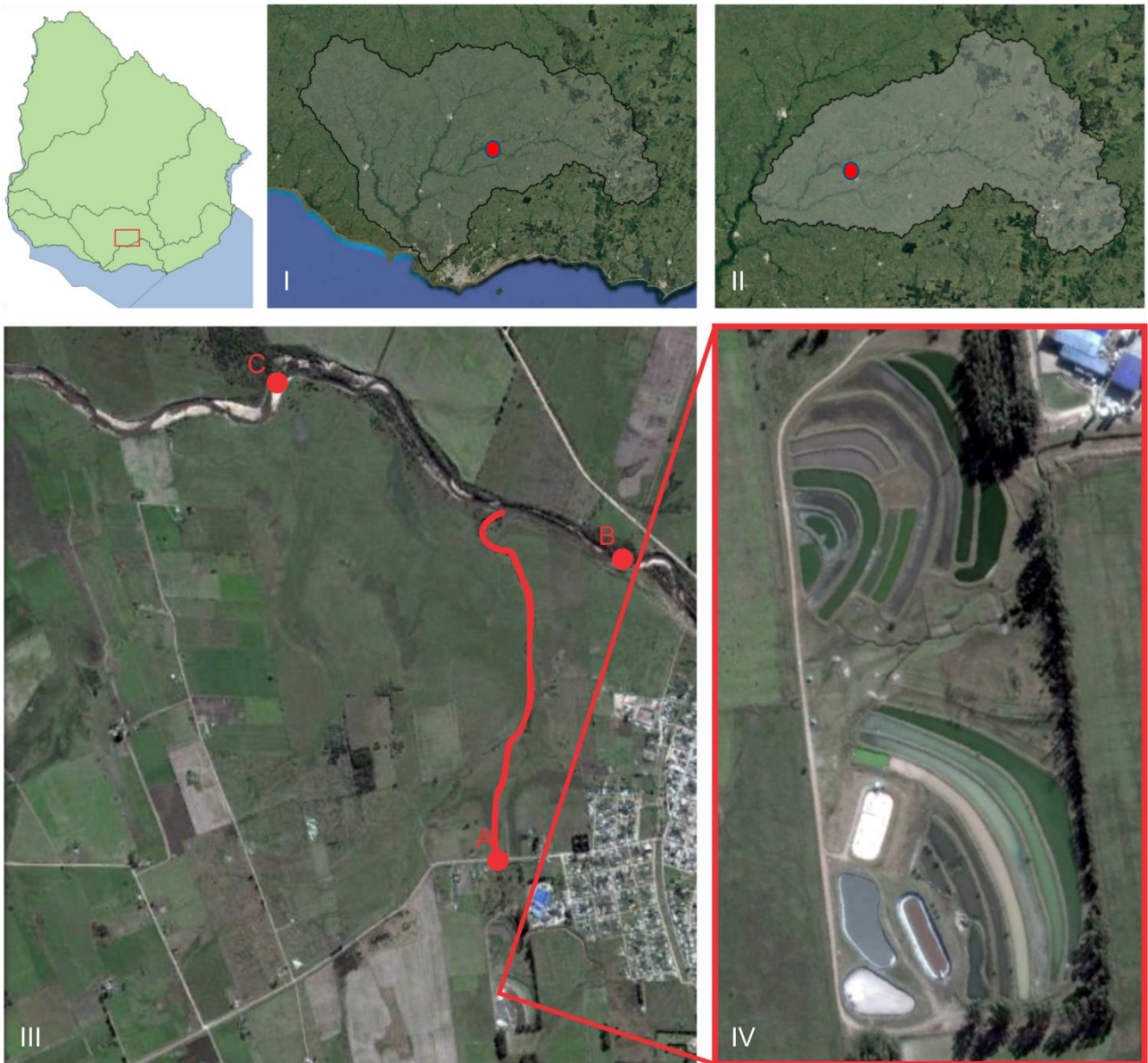


Figura 1. I: Zona de muestreo en cuenca hidrográfica Río Santa Lucía (contorno negro). II: Zona de muestreo en microcuenca nivel 2 (contorno negro). III: Río Santa Lucía (RSL) y sitios de muestreo (puntos rojos); A: sitio sobre efluente industrial y recorrido del mismo hasta su ingreso al RSL (trazo rojo), B: sitio sobre RSL aguas arriba del ingreso del efluente, C: RSL aguas abajo del ingreso del efluente. IV: Piletas de tratamiento de aguas residuales que descargan al RSL.

Muestreo

El estudio de campo se realizó el 5 de noviembre del año 2015, en el Río Santa Lucía (RSL) y en un efluente sin tratamiento terciario, de una industria láctea (que descarga sobre el RSL) en la localidad de San Ramón, departamento de Canelones. Los sitios de

muestreo se ubicaron sobre el RSL, aguas arriba de la descarga (B), aguas abajo de la descarga (C) y sobre el efluente industrial (A). Se realizaron mediciones con una sonda multiparamétrica (Horiba U-52G) de temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, conductividad, potencial redox, pH, con datos georeferenciados. También se determinó el caudal del RSL (sitio B y C) con el uso de ACDP (Perfiladores de Corriente Acústicos Doppler), y con el método volumétrico con cuba y cronómetro (aprovechando que el vertido total de volumen se produce sobre un desnivel, ver Figura 8) se determinó el caudal en el sitio de la descarga del efluente (A). Paralelamente, se determinó la fluorescencia *in situ* como estimadores de la biomasa de fitoplancton y presencia de cianobacterias utilizando un fluorómetro Turner Designs Aquafluor, para la detección de clorofila *a* y ficocianina *in vivo*. Los datos de fluorescencia se transformaron a concentración de clorofila *a* con el modelo matemático diseñado en el marco del Convenio Facultad de Ciencias - OSE (Responsable: Luis Aubriot y Sylvia Bonilla).

En cada punto de muestreo (A, B y C), se tomaron 3 réplicas de un litro de agua cada una con una botella Ruttner que fueron inmediatamente refrigeradas a 4 °C para su transporte. Una fracción de las mismas fueron filtradas con filtros MGF (Munktell), posteriormente éstas, junto con las muestras sin filtrar y el material obtenido en el filtro, se congelaron a -20°C. A partir de las muestras de agua filtradas se determinó la concentración de nutrientes disueltos: fosfato (método de molibdato de amonio), nitrato (salicilato de sodio), nitrito (sulfanilamida), amonio (azul de idofenol) (APHA 1985). Con las muestras sin filtrar se determinó por el método de oxidación con persulfato de potasio las fracciones de nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) (Valderrama 1981). La clorofila *a* se determinó en el material retenido en los filtros con el método de extracción con etanol caliente según Nusch (1980).

El 17 de diciembre del 2015 se recolectaron muestras de agua provenientes del efluente industrial (A) y del Río Santa Lucía (B) para su posterior incubación en el laboratorio. En ambos sitios se tomaron muestras cuantitativas y cualitativas de fitoplancton (red de arrastre, 10 μm de malla). Las muestras cuantitativas se fijaron con lugol y las muestras cualitativas con formol al 4%. El análisis cuantitativo de la comunidad de fitoplancton (indicador directo de biomasa) se realizó en cámaras de sedimentación Utermöhl mediante la selección de campos al azar hasta cuantificar 400 organismos totales o 100 organismos del taxa más abundante (Sournia 1978). El biovolumen de cada taxa fue determinado en base a figuras geométricas aproximadas según Hillebrand *et al.* (1999). Para esto se midió el largo (μm), el ancho (μm) y la máxima dimensión lineal (MLD, μm) en el número máximo de individuos encontrados en cada muestra. Se calculó el biovolumen de cada individuo y luego se realizó un promedio del biovolumen de esa especie o taxa. El análisis de la comunidad de fitoplancton se realizó en coordinación con otros proyectos de la Sección Limnología. La clasificación de las cianobacterias se hizo acorde a lo propuesto por Komarek *et al.* (2014).

Incubación de muestras del efluente industrial en el agua natural del Río Santa Lucía

Con las muestras recolectadas se realizó un experimento de incubación en condiciones controladas, de manera de evaluar si la mezcla de un inóculo del efluente industrial (A) en el agua natural del RSL (B) posee las condiciones propicias para el crecimiento de cianobacterias. Como el objetivo de la incubación es conocer la capacidad del efluente de estimular el crecimiento fitoplanctónico, no se adicionaron nutrientes disueltos en el

tratamiento control (agua del RSL), ni en los tratamientos con el inóculo (agua del RSL más inóculo). Se tomó una muestra de 20 l subsuperficial en el RSL (B) próximo a San Ramón y una muestra de 2 l del efluente (A). Se transportaron al laboratorio a 4 °C y en oscuridad. La muestra de agua de río se dividió en dos tratamientos cada uno con tres subréplicas de 600 ml: Control; sin adición de inóculo, Inóculo; con adición de inóculo de efluente en un factor de dilución 1/14 (efluente diluido en RSL). Dado que el fin de la incubación fue evaluar el potencial éxito de crecimiento y desarrollo de cianobacterias del inóculo en el RSL, se empleó una dilución menor respecto a la real para poder cuantificar un efecto en un tiempo de incubación típico de incubaciones en el laboratorio, y para minimizar efectos autogénicos producidos por el aislamiento (efecto borde por incubación en frascos). Estos tratamientos se incubaron en botellas Schott de 1 l esterilizadas y condiciones lumínicas constantes, a $30 \mu\text{mol F m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las muestras fueron agitadas manualmente e incubadas a 25 °C durante 7 días. Se midió en cada réplica la densidad óptica (750 nm, espectrofotómetro Thermo Evolution 60 UV-VIS), concentración de clorofila *a* y ficocianina *in vivo* (fluorómetro, Turner Aquafluor). Se utilizaron como indicadores de biomasa fitoplanctónica la densidad óptica y fluorescencia *in vivo*, medidas periódicamente, y la clorofila *a* por extracción al final de la incubación. Se determinó la composición y biomasa de fitoplancton a través del análisis de muestras cuantitativas en el tiempo inicial y final de la incubación. Las muestras cuantitativas se fijaron con lugol y las muestras cualitativas con formol al 4%. El análisis cuantitativo de la comunidad de fitoplancton (indicador directo de biomasa) se realizó con la misma metodología descrita anteriormente.

Análisis de datos

Los análisis estadísticos para determinar si las diferencias entre los valores de las muestras se tratan de una diferencia mayor a lo que se esperaría por efecto aleatorio (diferencia significativa, $p < 0.05$) fueron realizados con el Test One Way Analysis of Variance (ANOVA) y el Test Mann-Whitney Rank Sum Test del programa estadístico Sigma Plot 11.0.

F. Resultados

Descriptores del Río Santa Lucía y efluente

En el muestreo de noviembre de 2015 los valores de temperatura y pH en el RSL no presentaron variaciones importantes. El efluente (A) presentó una menor concentración de oxígeno disuelto ($2,5 \text{ mg l}^{-1}$) que los sitios sobre el RSL (B: $11,4 \text{ mg l}^{-1}$ y C: $12,4 \text{ mg l}^{-1}$). Los mayores valores de conductividad y turbidez fueron observados en el efluente ($8,0 \text{ mS/cm}$ y 943 NTU) siendo menor los valores de ambas variables en el RSL (sitios B y C) (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de temperatura, pH, conductividad, turbidez y oxígeno disuelto en los sitios muestreados; A: descarga industrial, B: Río Santa Lucía aguas arriba del ingreso del efluente, C: Río Santa Lucía aguas abajo del ingreso del efluente, correspondientes al muestreo de noviembre de 2015. Los valores que se muestran representan el promedio y en el paréntesis el desvío estándar.

Sitios	Temperatura °C	pH	Conductividad mScm ⁻¹	Turbidez NTU	OD mgl ⁻¹
A	20 (0)	8,5 (0)	8,0 (0)	943 (3)	2,5 (0)
B	20 (0)	8,0 (0)	0,3 (0)	6,5 (0,2)	11,4 (0,2)
C	21 (0)	8,0 (0)	0,3 (0)	5,8 (0,4)	12,4 (0,1)

*Los valores de desvío estándar menores a 0,01 se muestran como 0.

En el período analizado (diciembre 2014 - diciembre 2015) el caudal del RSL (B) presentó variaciones entre un mínimo de 1,6 m³s⁻¹ y un máximo de 403 m³s⁻¹, con una media de 40 m³s⁻¹ ± 114 (Figura 2). La concentración de fósforo total se ubicó entre 53 µgl⁻¹ y 143 µgl⁻¹, con un promedio de 83 µgl⁻¹. Todos los valores sobrepasaron el estándar establecido (≤ 25 µgl⁻¹) para los cursos de las clases según el Decreto 253/79 y modificativos. Para el nitrógeno total, la menor concentración fue de 275 µgl⁻¹, y el valor superior alcanzó los 2447 µgl⁻¹, encontrándose la media en 681 µgl⁻¹. La concentración de fósforo total del efluente (A) varió entre un mínimo de 1616 µgl⁻¹ y un máximo de 13798 µgl⁻¹, con un promedio de 4502 µgl⁻¹. En dos ocasiones se encontró por encima del máximo permisible (5000 µgl⁻¹) según la normativa de vertidos de nuestro país (Dec. 253/79 y modificativos) (Figura 3). En tanto, el nitrógeno total se encontró en un rango de entre 7323 µgl⁻¹ y 51416 µgl⁻¹, con una media de 25054 µgl⁻¹. Cabe mencionar que los valores de ambos nutrientes coincidieron en los momentos que se determinaron concentraciones mínimas y máximas.

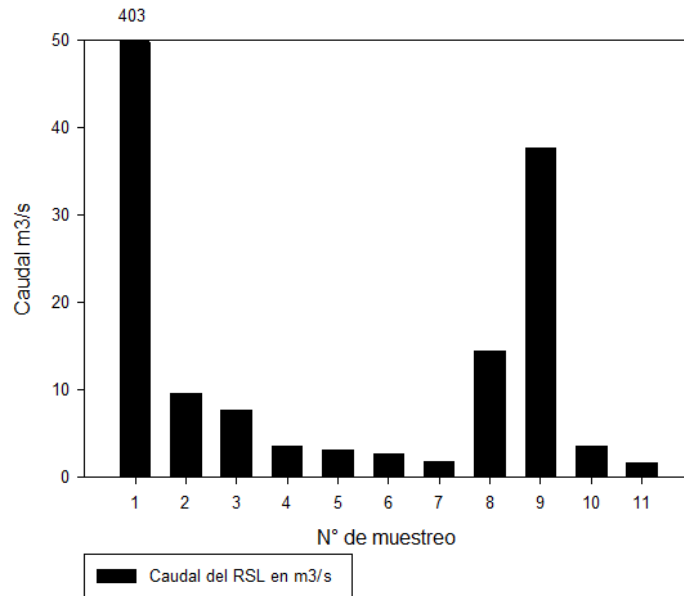


Figura 2. Variación temporal del caudal en m^3s^{-1} del Río Santa Lucía (B) entre diciembre 2014 - diciembre 2015. Las fechas de muestreo se muestran en Anexo 1.

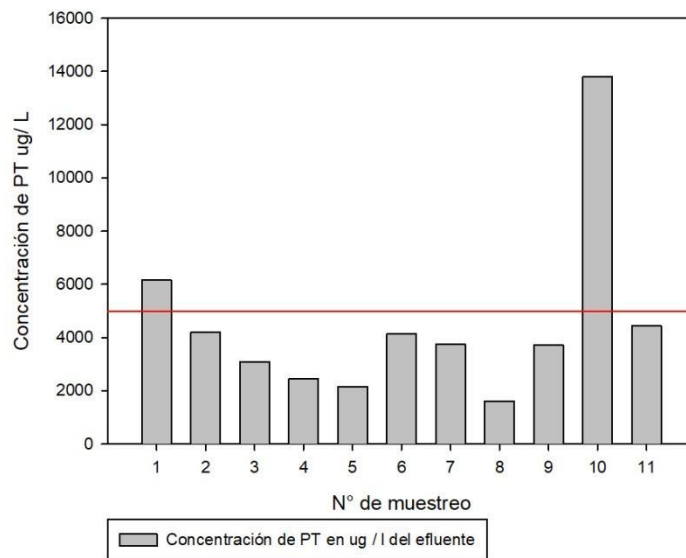


Figura 3. Variación temporal de la concentración de fósforo total (PT) en $\mu\text{g l}^{-1}$ del efluente industrial (A) entre diciembre 2014 - diciembre 2015. La línea roja indica el valor máximo permisible según la normativa actual (Dec. 253/79 y modificativos). Las fechas de muestreo se muestran en Anexo 1.

Cargas y balance de masas

El RSL en el sitio B presentó una carga de PT promedio de 374 kg/día, con valores entre 3348 kg/día y 9 kg/día, máximos y mínimos, respectivamente. Cabe mencionar que en

nueve ocasiones (75 % de los valores) se encontró por debajo de 60 kg/día de PT, y solo en tres casos se detectó una carga mayor a 60 kg/día. El aporte del efluente tuvo una media de 1,8 kg/día de fósforo total, manteniéndose entre 0,6 kg/día y 5,2 kg/día (Figura 4). El NT en el RSL presentó una media de 7635 kg/día, con un mínimo de 39 kg/día y un máximo de 85338 kg/día. En la descarga (A) se observó un promedio de 9,5 kg/día de NT, encontrándose entre 2,7 kg/día y 19,5 kg/día, mínimo y máximo respectivamente (Figura 5).

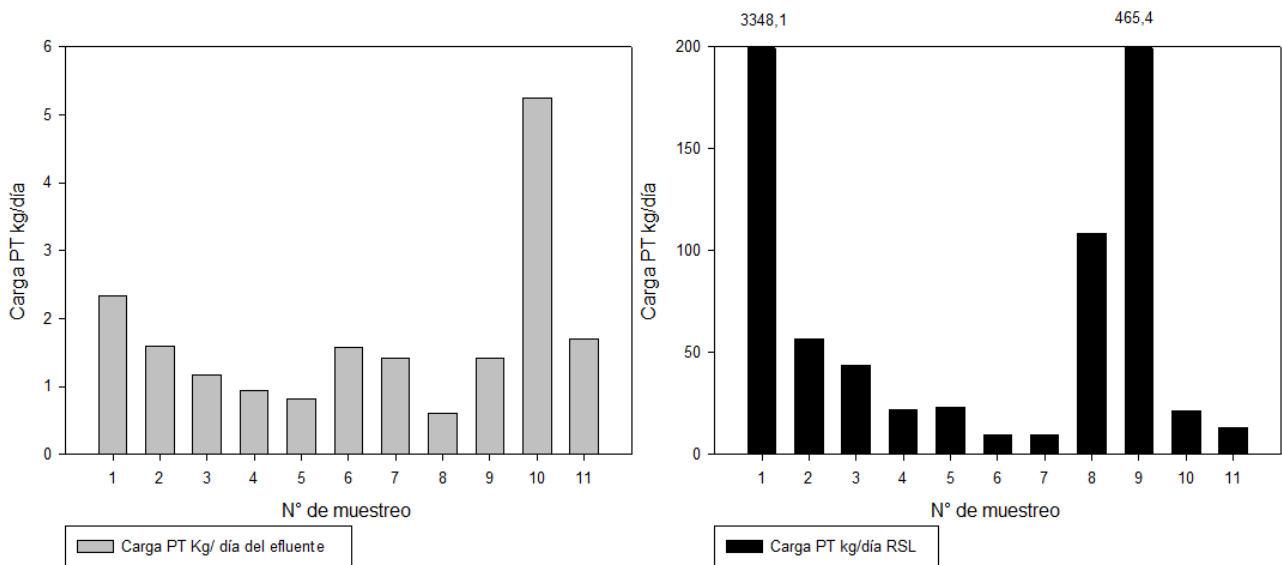


Figura 4. Carga transportada de fósforo total (PT) en kg/día del efluente (A) (gris) y del Río Santa Lucía sitio (B) (negro) entre diciembre 2014 - diciembre 2015. Las fechas de muestreo se muestran en Anexo 1.

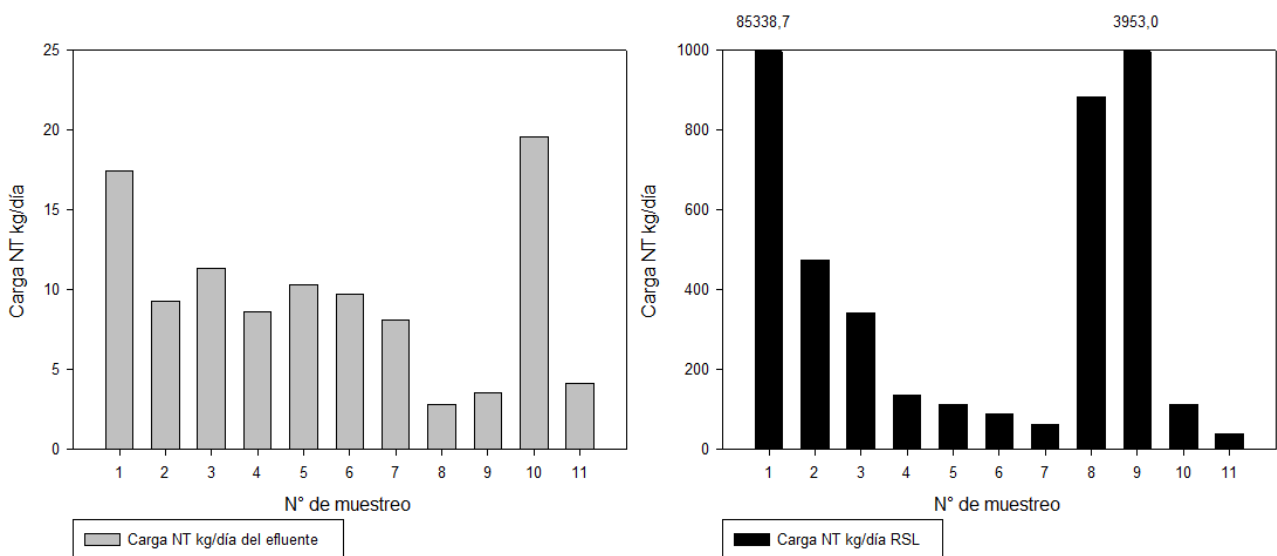


Figura 5. Carga transportada de nitrógeno total (NT) en kg/día del efluente (A) (gris) y del Río Santa Lucía sitio (B) (negro) entre diciembre 2014 - diciembre 2015. Las fechas de muestreo se muestran en Anexo 1.

En la Figura 6, se observa la variación de la carga relativa (en %) de PT y NT del efluente sobre el RSL. En cuatro ocasiones los aportes de PT del efluente se observaron por encima del 10% de la carga de PT que transportó el Río Santa Lucía, detectándose un valor máximo de 25%. En el resto de las oportunidades los aportes de PT de la descarga industrial presentaron una menor importancia relativa sobre el Río Santa Lucía. La importancia relativa de la carga de NT del efluente respecto a la carga del RSL también varió a lo largo del período estudiado, observándose en cuatro ocasiones un aporte por encima del 10% a la carga de NT transportada por el RSL, con un valor máximo de 17%. La importancia relativa promedio del aporte industrial de PT y NT sobre el RSL se mantuvo en una media de 7,6% y 6,6% respectivamente.

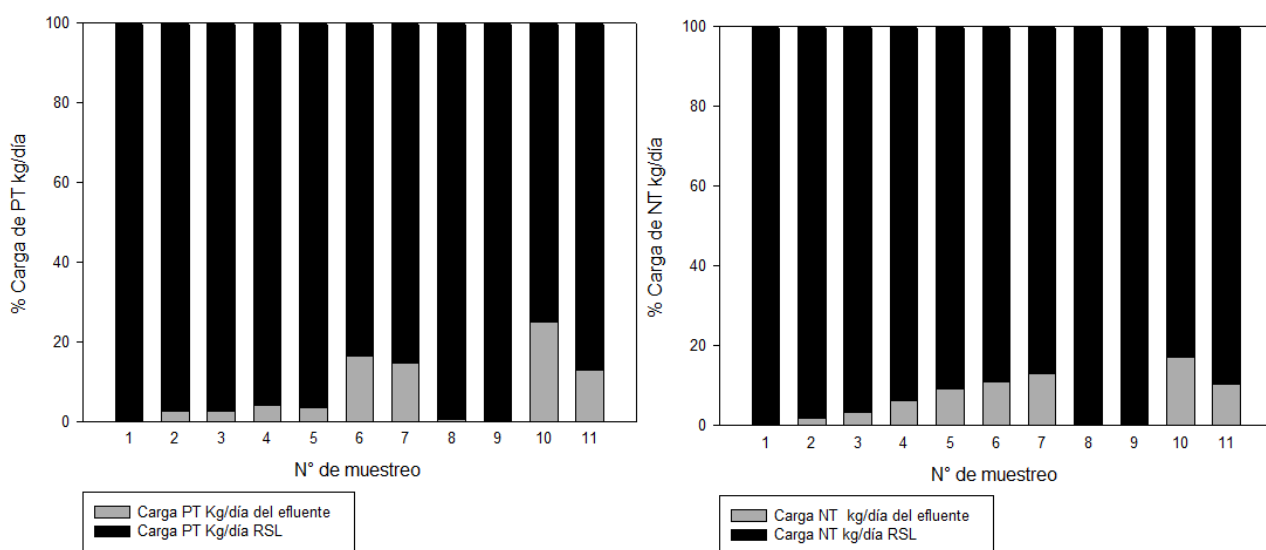


Figura 6. Carga relativa (en %) de fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT) en kg/día transportada por el efluente sitio A (gris) respecto a la carga transportada por el Río Santa Lucía sitio B (negro) entre diciembre 2014 - diciembre 2015. Las fechas de muestreo se muestran en Anexo 1.

En la Tabla 2 se observan los valores de algunas propiedades fisicoquímicas y concentración de clorofila *a* de los sitios de muestreo realizado en noviembre 2015. Si

bien las características fisicoquímicas presentaron leves variaciones en los diferentes tramos del RSL, aguas arriba del ingreso del efluente (B) se determinó una menor carga diaria de PT (kg/día), que aguas abajo de la entrada del mismo (C). Además se observó una mayor concentración de fósforo total (PT) y fósforo reactivo soluble (PRS) en sitio C respecto al sitio B. El efluente industrial (A) presentó las mayores concentraciones de nutrientes tanto para nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y el fósforo reactivo soluble (PRS). La concentración de clorofila *a* indicaría un mayor desarrollo fitoplanctónico en el efluente que en el RSL. Para este último, este indicador presentó leves variaciones entre los puntos relevados en el río, siendo mayor en C que en B, aunque esta diferencia no fue significativa ($T = 3,000$, P (est.) = $0,245$, P (exacto) = $0,333$, Test Mann-Whitney Rank Sum Test).

Tabla 2. Concentración de clorofila *a* por extracción (Clo *a*), fósforo total (PT), fósforo reactivo soluble (PRS), nitrógeno total (NT), nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), amonio (NH_4) en $\mu\text{g l}^{-1}$ para los tres sitios de muestreo, A: descarga industrial, B: Río Santa Lucía aguas arriba del ingreso del efluente, C: Río Santa Lucía aguas abajo del ingreso del efluente, correspondientes al muestreo de noviembre de 2015. El PT también se indica en carga (kg día^{-1}). Los valores que se muestran representan el promedio y en el paréntesis el desvío estándar.

Sitios	Clo <i>a</i> $\mu\text{g l}^{-1}$	PT $\mu\text{g l}^{-1}$	PRS $\mu\text{g l}^{-1}$	NT $\mu\text{g l}^{-1}$	NO_2 $\mu\text{g l}^{-1}$	NO_3 $\mu\text{g l}^{-1}$	NH_4 $\mu\text{g l}^{-1}$	PT kg / día
A	127 (24)	8091 (395)	2025 (278)	15392 (1717)	92 (16)	239 (96)	762 (50)	3
B	1,1 (0)	71* (6)	47 (0)	289 (78)	2 (1)	33 (3)	19 (1)	28
C	2,3 (0,5)	74* (0)	70 (3)	228 (64)	1,4 (0)	40 (7)	18 (1)	29

*: Valor que sobrepasa la normativa de Clase 3, Dec. 253/79 y modificativos, $\leq 25\mu\text{g l}^{-1}$.

En la figura 7, se muestra la variación de la clorofila *a* como indicador global de biomasa fitoplanctónica estimada en el efluente industrial, en el período previo a la toma de las muestras (octubre-diciembre 2015) para el experimento de incubación (diciembre 2015). La clorofila *a* presentó un máximo de 1854 $\mu\text{g l}^{-1}$ (noviembre) y un mínimo de 420 $\mu\text{g l}^{-1}$ (diciembre) con un promedio de $1229 \pm 734 \mu\text{g l}^{-1}$. En la Figura 9, se observa la variación de la importancia relativa (en %) de la carga de clorofila *a* del efluente sobre el Río Santa Lucía en el período octubre - diciembre 2015. En dos ocasiones los aportes de clorofila *a* del efluente presentaron una importancia significativa, con un aporte del 93% (noviembre) y 46% (diciembre) respecto a la carga de clorofila *a* transportada por el RSL.

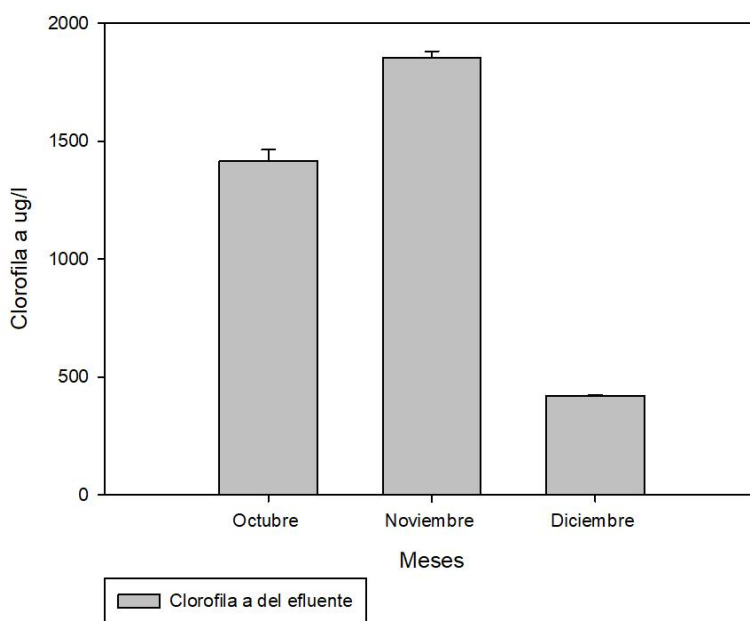


Figura 7. Variación de la clorofila *a* en el efluente (A), previo a la recolección de las muestras para el experimento de incubación.



Figura 8. Punto de descarga del efluente antes del ingreso al Río Santa Lucía (A), sobre la ruta 63, localidad de San Ramón. Se observa los cambios de coloración durante el período de estudio.

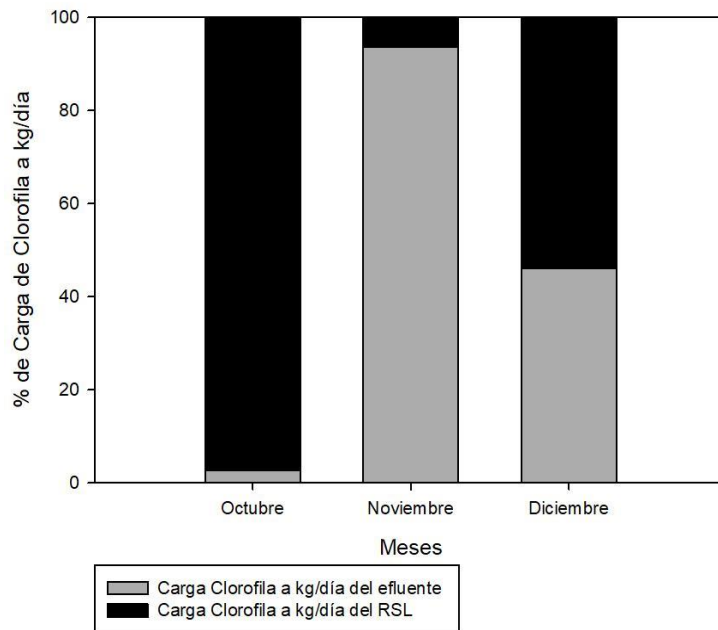


Figura 9. Carga relativa (en %) de clorofila *a* en kg/día transportada por el efluente (A) (gris) respecto a la carga transportada por el Río Santa Lucía (B) (negro) entre el período octubre - diciembre 2015.

Experimento de incubación

La concentración de nutrientes de la muestra proveniente del RSL fue de 91 ± 4 de $\mu\text{g l}^{-1}$ de PT y 275 ± 28 de $\mu\text{g l}^{-1}$ de NT, mientras que la concentración del efluente industrial fue de $4448 \mu\text{g l}^{-1}$ de PT y de $10842 \mu\text{g l}^{-1}$ de NT. La composición fitoplanctónica de las muestras utilizadas en la incubación provenientes del efluente industrial estuvo integrada por todos los grupos fitoplanctónicos, salvo las criptofitas. En la muestra del RSL (B), sólo se observaron bacilariofitas, clorofitas, criptofitas y organismos menores a $10 \mu\text{m}$ (Tabla 3).

Tabla 3. Grupos fitoplanctónicos registrados en las muestras utilizadas en el experimento, tanto del inóculo del efluente (A) como del Río Santa Lucía (B; aguas arriba del ingreso del efluente).

	Taxa	Inóculo de efluente	Muestra del Río Santa Lucía
No identificado	Organismo menor a 10 micras	X	X
Chlorophyta	<i>Chlorococcal</i> esféricas (coloniales)	X	X
	<i>Chlamydomonas</i> spp.	X	
	<i>Pseudodidymocystis</i> sp.	X	X
	<i>Micractinium</i> sp.		X
	<i>Scenedesmus</i> spp.		X
	<i>Crucigenia</i> sp.	X	
	<i>Dictyosphaerium</i> sp.	X	
Cryptophyta	<i>Cryptomonas</i> spp.		X
Euglenohyta	<i>Euglena</i> spp.	X	
Bacillariophyta	<i>Navicula</i> spp.	X	X
	<i>Fragilaria</i> spp.		X
	<i>Nitzschia</i> spp.	X	X
	<i>Aulocoseira granulata</i>	X	X
	<i>Cocconeis</i> sp.	X	
	<i>Craticula</i> spp.		X
	<i>Cyclotella</i> spp.	X	
Cyanophyta	<i>Phormidium</i> sp.	X	
	<i>Merismopedia</i> sp.	X	
	<i>Pseudanabaena</i> sp.	X	
	<i>Oscillatoria</i> sp.	X	

Entre ambas muestras existieron diferencias con respecto a la biomasa fitoplanctónica de cada grupo/taxa, no sólo en términos absolutos sino que también en términos relativos. Todos los grupos presentes en ambas muestras (en RSL y efluente) presentaron una mayor biomasa (mm^3l^{-1}) en el efluente industrial. A su vez, se observó un mayor biovolumen total en la muestra proveniente del efluente (BV total de $11,28 \text{ mm}^3\text{l}^{-1}$) que en la muestra extraída del Río Santa Lucía (BV total de $0,28 \text{ mm}^3\text{l}^{-1}$). En el efluente, las euglenofitas fueron el grupo con mayor aporte al BV total (62,9%), seguidas por las clorofitas (26,3%), cianofitas (8,5%), bacilariofitas (1,6%) y por último los organismos menores a $10 \mu\text{m}$ (0,7%). El género *Euglena* spp y el de las *Chlamydomonas* spp presentaron el mayor aporte de biomasa al BV total. En el RSL, la mayor contribución al BV total fue la fracción menor a $10 \mu\text{m}$ del fitoplancton (34,6%), seguido por las bacilariofitas (33,2%), clorofitas (18,2%), y criptofitas (14%) (Figura 10). Las cianobacterias fueron detectadas solamente en el efluente. Se identificaron los géneros *Phormidium* y *Oscillatoria* del orden Oscillatorial, *Merismopedia* del orden Synechococcal y la familia Pseudanabaenaceae también perteneciente al orden Synechococcal (Tabla 3).

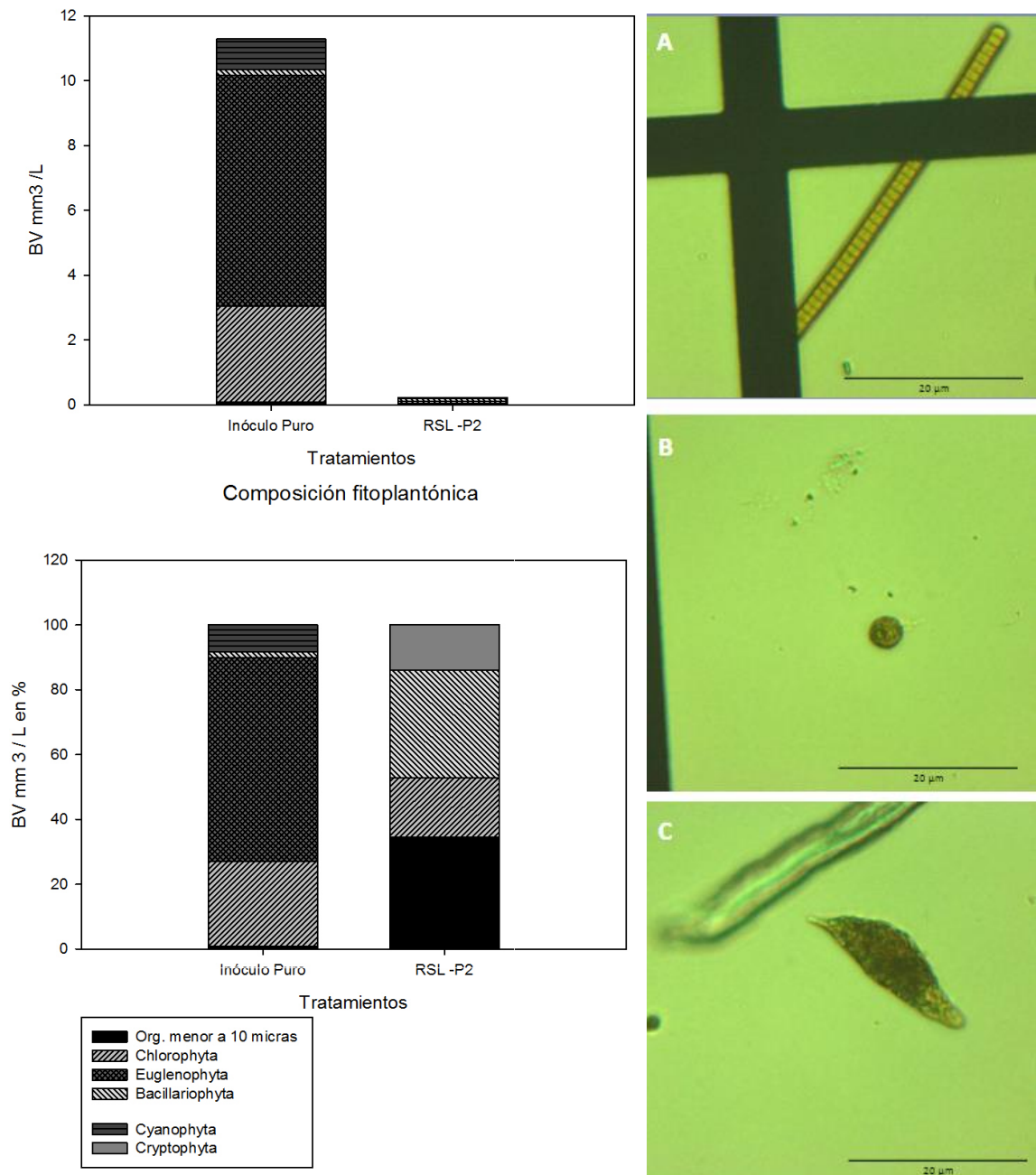


Figura 10. A la izquierda abajo se observa la contribución relativa de los principales grupos fitoplanctónicos al biovolumen total (%) y arriba el biovolumen de los principales grupos fitoplanctónicos en mm^3L^{-1} de las muestras empleadas en el experimento de incubación (Inóculo puro, correspondiente a la muestra extraída del efluente (A) y RSL correspondiente al Río Santa Lucía (B)). A la derecha se observan microfotografías de los principales organismos observados en la muestra proveniente del efluente A: *Oscillatoria* sp, B: *Chlamydomonas* spp, C: *Euglena* spp.

Evolución de la concentración de clorofila *a* en el experimento

La concentración de clorofila *a* por fluorimetría *in vivo* en el tratamiento con agregado del inóculo indicó un incremento de la biomasa fitoplanctónica a lo largo de la incubación. El mayor crecimiento se observó entre los días 2, y 5 del experimento (Figura 11).

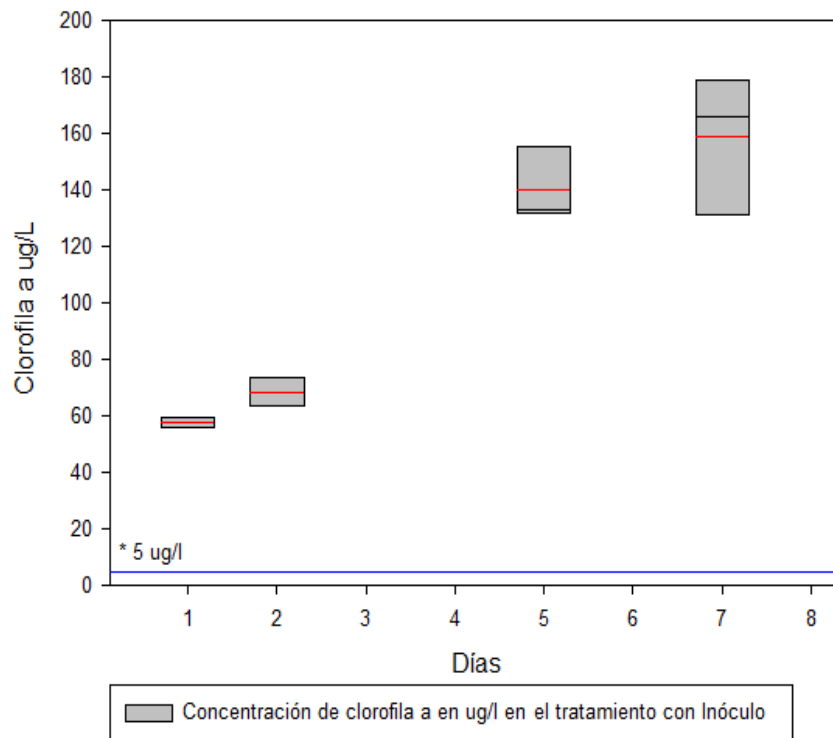


Figura 11. Box plot de la concentración de clorofila *a* del tratamiento con agregado de inóculo durante el experimento de incubación (7 días). Las concentraciones de clorofila *a* corresponden a los días 1, 2, 5, y 7. La línea roja corresponde a la media de los valores para cada día; día 1 media: $57,7 \pm 1,75 \mu\text{g/L}$, día 2 media: $68,3 \pm 5,0 \mu\text{g/L}$, día 5 media: $139,9 \pm 13,16 \mu\text{g/L}$, día 7 media: $158,7 \pm 24,45 \mu\text{g/L}$. En los 7 días de incubación, el valor detectado de clorofila *a* por fluorimetría para el tratamiento control fue menor a $5 \mu\text{g/L}$ (línea azul).

El día final de la incubación, la concentración de clorofila *a* por extracción indicó un mayor desarrollo de la comunidad fitoplanctónica en los tratamientos con las muestras combinadas con el inóculo, que en los tratamientos sin el inóculo (solo agua del RSL). La diferencia de biomasa entre ambos tratamientos fue significativa ($F: 41,4, P: 0,003$; test ANOVA). A tiempo final del experimento, la concentración de clorofila *a* del tratamiento

control se encontró entre $2,1 \mu\text{g l}^{-1}$ y $4,3 \mu\text{g l}^{-1}$, con una media de $3,3 \pm 1,1 \mu\text{g l}^{-1}$. Para el tratamiento con agregado del inóculo la concentración de clorofila *a* presentó un mínimo de $103,6 \mu\text{g l}^{-1}$ y un máximo de $175,8 \mu\text{g l}^{-1}$ encontrándose en una media de $148,2 \pm 39,8 \mu\text{g l}^{-1}$ (Figura 12).

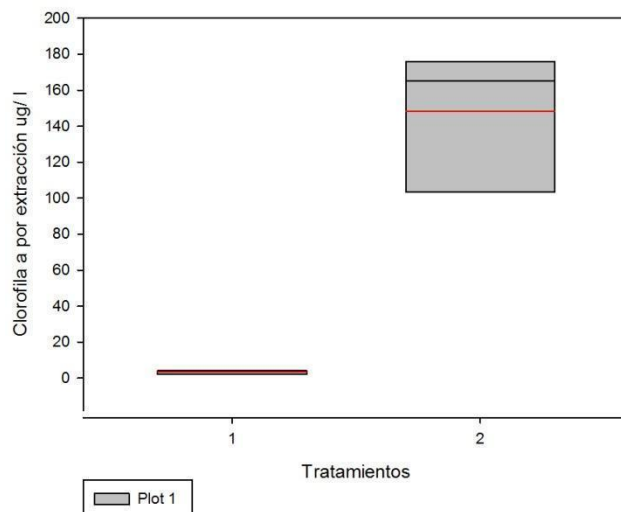


Figura 12. Boxplot de la concentración de clorofila *a* por extracción de los tratamientos a tiempo final. Tratamiento 1: corresponde al Control (solo agua del RSL), tratamiento 2: agua del RSL con agregado de inóculo del efluente. La línea roja corresponde a la media de los valores de los tratamientos. Control media: $3,3 \pm 1,1 \mu\text{g l}^{-1}$; Con agregado de inóculo media: $148,2 \pm 39,8 \mu\text{g l}^{-1}$.

Biovolumen - Composición y desarrollo fitoplanctónico

En coincidencia con la concentración de clorofila *a*, el BV total indicó un mayor desarrollo de fitoplancton en los tratamientos con agregado del inóculo, que en los tratamientos sin agregado del inóculo (control, solo agua del RSL). La biomasa fitoplanctónica presentó diferencias significativas entre ambos tratamientos, ($F= 1998,3$, $P = <0,001$, test ANOVA). En el tratamiento control se observó un biovolumen menor ($1,722 \pm 0,181 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$) en comparación al tratamiento con agregado del inóculo ($52,775 \pm 1,9 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$). El mayor desarrollo de fitoplancton fue observado el día final del experimento, aumentando en ambos tratamientos su biomasa al culminar la incubación respecto al estado inicial (Figura

13). El tratamiento control aumentó en un orden de 6 veces, y el tratamiento con agregado del inóculo en un orden de 45 veces.

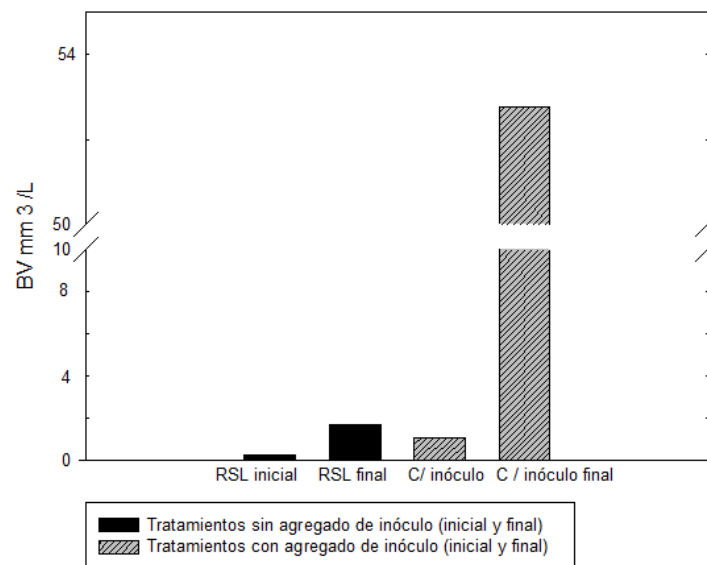


Figura 13. BV total en mm^3L^{-1} de los tratamientos tanto en la etapa inicial como final del experimento. RSL inicial: agua del Río Santa Lucía, RSL final: agua del Río Santa Lucía en el día final de incubación, C/inóculo: agua del Río Santa Lucía con agregado del inóculo del efluente, C/ inóculo final: agua del Río Santa Lucía con agregado del inóculo del efluente en el día final de incubación.

En los tratamientos con el agregado del inóculo se observó la presencia de un mayor número de grupos fitoplanctónicos, además que todos presentaron una mayor biomasa que en los tratamientos Control, siendo esta diferencia significativa para cada grupo (BV total de Cyanophyta: $F= 83,5$, $P= <0,001$; BV total de Chlorophyta: $F= 20,9$, $P = 0,010$; BV total de Bacillariophyta: $F= 61,5$, $P = 0,001$; BV total fitoplanctónico: $F= 1998,3$, $P = <0,001$). En la incubación con el inóculo, las cianobacterias fueron el grupo con la mayor contribución al BV total (37,4%), seguido por las bacilariofitas (28,5%), organismos menores a $10 \mu\text{m}$ (19,5%) y las clorofitas (14%). Las euglenofitas y criptofitas presentaron un bajo aporte siendo de apenas 0,3% para ambos grupos. Contrariamente, en el tratamiento Control, las cianobacterias fueron las que menos aportaron al BV total (1,1%), de los grupos presentes. Las bacilariofitas presentaron una mayor contribución con el

47% del biovolumen de la muestra, seguido por los organismos menores a 10 μm (28%), y por último las clorofitas (23,8%). Las euglenofitas y criptofitas no fueron observados (Figura 14).

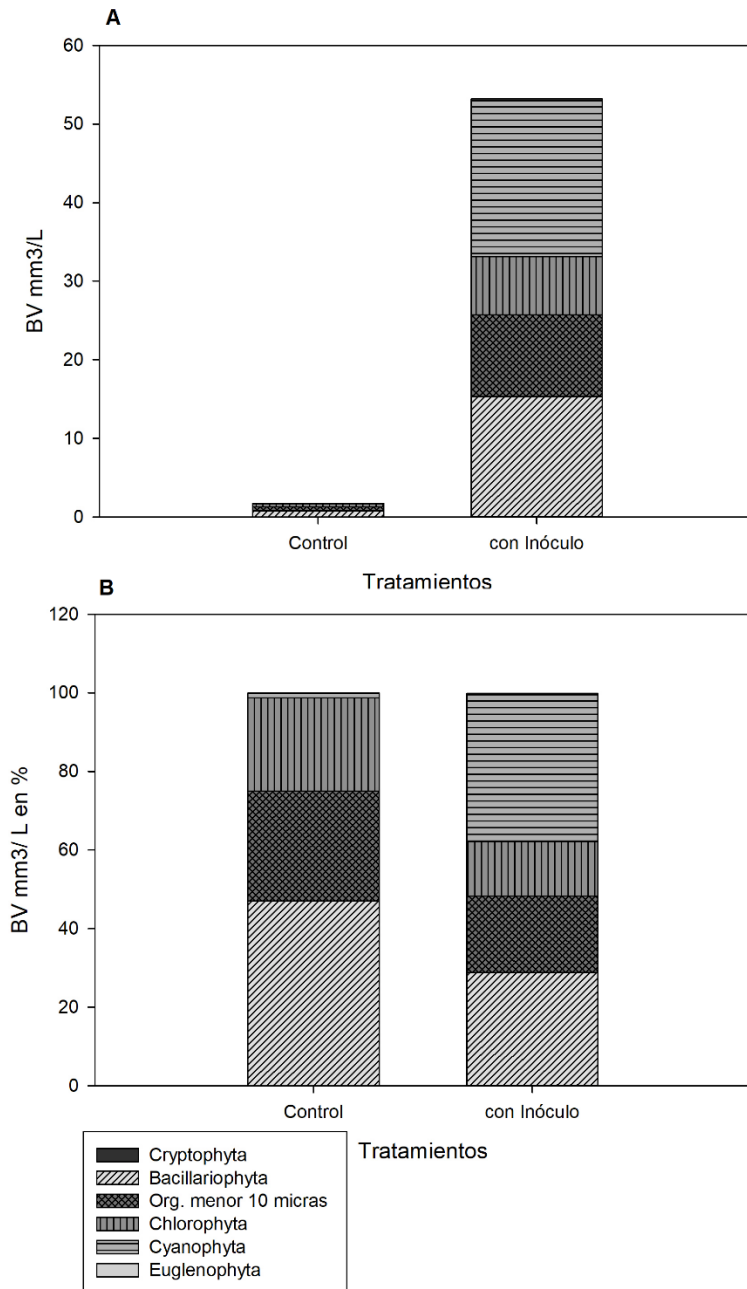


Figura 14. A: Biovolumen (BV) en mm^3L^{-1} de los principales grupos fitoplanctónicos de los tratamientos en el día final de incubación. Tratamiento Control: agua del Río Santa Lucía (B), Tratamiento Con Inóculo: agua del Río Santa Lucía con agregado de inóculo del efluente (A+B). B: Contribución relativa al total del biovolumen (BV) de fitoplancton (%) en mm^3L^{-1} de los tratamientos en el día final de incubación. Tratamiento Control: agua del Río Santa Lucía (B), Tratamiento con Inóculo: agua del Río Santa Lucía con agregado de inóculo del efluente (A+B).

Referido a las cianobacterias detectadas, en los tratamientos con el inóculo se identificaron los géneros *Phormidium* (orden Oscillatorial), *Oscillatoria* (orden Oscillatorial), *Planktothrix* (orden Oscillatorial), *Anabaenopsis* (orden Nostocal), *Merismopedia* (orden Synechococcal), *Aphanocapsa* (orden Synechococcal), y organismos de la familia Leptolyngbyaceae (orden Synechococcal). Cabe destacar que la mayor biomasa fue aportada por los géneros *Oscillatoria*, *Phormidium* y *Planktothrix*. En el tratamiento control solo se observaron cianobacterias del orden Synechococcal. Las clorofitas y bacilariofitas también presentaron un mayor número de géneros/taxas en los tratamientos con el agregado de inóculo (Tabla 4).

Tabla 4. Grupos fitoplanctónicos presentes en la etapa final de la incubación, tanto para los tratamientos con agregado de inóculo (A+B) y los tratamientos control (B).

	Taxa	Incubación con Inóculo	Incubación Control
No identificado	Organismos menor a 10 micras	X	X
Chlorophyta	<i>Chlorocococal</i> (células esféricas)	X	X
	<i>Pseudodidymocystis</i> sp.	X	X
	<i>Scenedesmus</i> spp.	X	X
	<i>Scenedes mus</i> sp2 2 células	X	
	<i>Scenedesmus acuminatus</i>	X	
	<i>Micractinium</i> sp.	X	X
	<i>Monoraphidium</i>		X
	<i>Coelastrum</i>	X	
	<i>Desmodesmus</i>	X	
Cryptophyta	<i>Cryptomonas</i> spp.	X	
Euglenophyta	<i>Euglena</i> spp.	X	
Bacillariophyta	<i>Navicula</i> spp	X	X
	<i>Fragilaria</i> spp.	X	
	<i>Nizchia</i> spp.	X	
	<i>Aulocoseira granulata</i>	X	
	<i>Cyclotella</i> spp	X	X
Cyanophyta	<i>Anabaenopsis</i>	X	
	Familia Leptolyngbyaceae	X	
	<i>Phormidium</i> sp.	X	
	<i>Planktothrix</i>	X	
	<i>Merismopedia</i> sp.	X	
	<i>Oscillatoria</i> sp.	X	
	<i>Aphanocapsa</i>	X	
	Familia Pseudanabaenaceae		X
	<i>Synechococcales</i> sp1		X

G. Discusión

En el presente trabajo se demostró que el aporte de un efluente que contiene una gran concentración de organismos fitoplanctónicos, no solo es una fuente significativa de nutrientes y materia orgánica, sino que también de inóculos de cianobacterias con el potencial de desarrollarse en el curso receptor de encontrar condiciones de alto tiempo de residencia. A través de una aproximación experimental se logró simular los potenciales efectos en el medio natural del aporte de un efluente de origen industrial con tratamiento incompleto, como un factor que puede favorecer el desarrollo de cianobacterias en un río de gran interés para el país.

Río Santa Lucía y aporte de nutrientes

La concentración de PT del RSL superó ampliamente los límites vigentes para todas las categorías de cursos y cuerpos de agua que establece la normativa nacional ($PT \leq 25\mu\text{gl}^{-1}$ según el Decreto 253/79 y modificativos), en coincidencia con los niveles del nutriente que presenta la mayoría de los cursos del país (Bonilla et al. 2015) y en particular, los ríos de la cuenca estudiada (Arocena et al. 2008; DINAMA - JICA 2011). Los niveles de oxígeno disuelto de la descarga industrial de solo $2,5\text{ mg l}^{-1}$ (estado de hipoxia), y los elevados valores de conductividad ($8,015\text{ mScm}^{-1}$) y turbidez ($943,2\text{ NTU}$) son indicadores de una elevada carga orgánica, materiales en suspensión y concentración de sales (Arocena & Conde 1999), lo cual coincide con las características del tipo de efluente estudiado (efluente lácteo) (CARL/PL 2002; MVOTMA 2016). En contraste, el RSL presentó una menor conductividad y turbidez, y una adecuada concentración de oxígeno para la vida acuática (B: $11,4\text{ mg l}^{-1}$ y C: $12,4\text{ mg l}^{-1}$) (Arocena & Conde 1999). Las elevadas concentraciones de nutrientes del efluente, que en algunos casos sobrepasó los límites

de la normativa actual, se deben a que este tipo de producción genera aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, nitrógeno y fósforo producto de las etapas de producción y limpieza de las instalaciones, sumado a que la industria no contaba con tratamiento terciario al momento de realizar el presente estudio (CARL/PL 2002; MVOTMA 2016).

A la altura de la ciudad de San Ramón, el RSL presentó una gran variabilidad en la carga de nutrientes transportados (rango de PT entre 9,5 kg/día - 3348 kg/día, y NT entre 39 kg/día - 85338 kg/día). Esta variabilidad estaría asociada a las variaciones del caudal, que a su vez se encuentra asociado al régimen de lluvias. Las elevadas concentraciones de nutrientes presentes en el agua dependen de los aportes externos, provenientes de fuentes difusas y de fuentes puntuales, así como de aportes internos (carga en sedimento) (Mazzeo et al. 2002). Dada la concentración de PT, en la subcuenca que incluye a la ciudad de San Ramón, el RSL presenta un estado de mesotrófico a eutrófico, según la clasificación que propone Dodds *et al.* (1998) y Smith *et al.* (1999) para sistemas lóticos. Esto coincide con el grado de eutrofización propuesto por otros estudios que presenta la cuenca (Arocena et al. 2008; DINAMA - JICA 2011; Goyenola et al. 2011; DINOT 2016).

Los últimos estudios en la cuenca atribuyen sólo un 20% (aprox.) de la contaminación por nutrientes a las fuentes puntuales, mientras que un 80% se corresponde a fuentes difusas (DINAMA - JICA 2011). Debe considerarse que este porcentaje muestra una tendencia global de los aportes en la cuenca, por lo que, la contribución de las fuentes puntuales podría aumentar en condiciones de bajo caudal del cuerpo receptor (baja capacidad de dilución). En algunas oportunidades los aportes de PT y NT del efluente industrial

analizado superó el 20% y 15% (respectivamente) de la carga transportada por el RSL. Este alto porcentaje es un indicador que los aportes de todas las fuentes puntuales deben superar ampliamente el 20% de contribución en condiciones de estiaje. Cabe aclarar que dentro de la cuenca se encuentran el 15% (85 empresas) de los trámites de solicitudes de autorización de desagüe del país (DINOT 2016). Esto incluye diversos tipos de vertidos, como domésticos e industriales, así como también agropecuarios (DINOT 2016). Una de las medidas adoptadas a raíz del grado de eutrofización que presenta la cuenca fue la exigencia de la reducción de la Demanda Biológica de Oxígeno (DBO) e implementación de sistemas de remoción de nutrientes para las aguas residuales de origen industrial, en el cual aún existen industrias que se encuentran en proceso de implementación (MVOTMA, 2013).

En períodos de sequía y altos regímenes de producción, con altos caudales de vertido, podría disminuir la capacidad de dilución del sistema receptor lo que intensifica los efectos negativos de las fuentes puntuales. Generalmente, en los ríos, los síntomas negativos de la eutrofización se producen principalmente durante períodos de bajo caudal, donde se identifica un mayor crecimiento fitoplanctónico, coincidiendo en general, con el aumento de los tiempos de residencia, altas irradiancias y mayor temperatura del agua (Jarvie et al. 2002; Jarvie et al. 2006; Hilton et al. 2006). Bajo este contexto, los ríos podrían ser ambientes más favorables para el crecimiento del fitoplancton, además de ser propensos a otros cambios estructurales en las comunidades acuáticas (Mainstone & Parr 2002; Hilton et al. 2006). En el RSL se observó un incremento de la concentración de PT y PRS entre los sitios B y C, posiblemente este incremento se deba por el aporte del efluente ($2025 \pm 278 \mu\text{g l}^{-1}$ de PRS). Varios estudios en cuencas agrícolas con pequeños centros urbanos y baja actividad industrial, asocian a las fuentes puntuales con la mayor

influencia en las concentraciones de PRS en los períodos de bajo caudal (baja tasa de dilución de fuentes puntuales), en coincidencia con los momentos en que los sistemas lóticos presentan mayor riesgo de eutrofización (Mainstone & Parr, 2002; Jarvie et al. 2002; Jarvie et al. 2006).

Nuestro marco legal especifica algunos parámetros fisicoquímicos de cumplimiento de vertido, pero no considera el caudal del cuerpo receptor, ni las cargas aportadas de contaminantes (kg/día), por lo que, en determinadas situaciones la capacidad de dilución del sistema receptor podría verse excedida (Decreto. 253/79 y modificativos). Existen herramientas de gestión, como la fijación de Cargas Máximas Diarias Totales (TMDL en inglés) que intentan evitar que la capacidad de autodepuración de los ríos y arroyos se vea sobrepasada. La TMDL establece para distintas escalas de cuenca, el aporte de un contaminante en particular, de manera de cumplir con los estándares de calidad previamente establecidos para asegurar un uso determinado (EPA 1991). Asimismo, en el caso de los nutrientes, la TMDL determina las cargas para las distintas fuentes, en función del estudio de varios aspectos complejos entre los que se incluyen procesos hidrológicos, ecológicos, asignaciones de aportes de nutrientes, y las variaciones estacionales que influyen sobre las variables bióticas y abióticas (EPA 1991; EPA 1999; Wool et al. 2003). En este sentido, también se debe considerar las alteraciones del régimen hídrico, producto del cambio climático y del incremento de prácticas de riego lo que complejizan aún más la fijación de cargas máximas permisibles, aunque a la vez, aporta una evaluación de impacto más realista (Eheart et al. 1999). Por lo tanto, al momento de fijar límites y cargas máximas permisibles de descarga, es fundamental la comprensión del funcionamiento de los sistemas acuáticos (Mullholand et al. 2010), de forma de no sobrepasar la capacidad de autodepuración de los mismos. Asimismo, es necesario

mejorar las mediciones de caudales en los recursos hídricos para avanzar en evaluaciones de impacto que contemplen situaciones de bajo caudal, de manera de reducir los efectos ecológicos adversos.

Efecto del aporte de inóculos de fitoplancton por sistemas de tratamiento de efluentes incompleto

La concentración de clorofila *a* presentó grandes diferencias entre el RSL, con una baja biomasa fitoplanctónica ($1,1 \mu\text{g l}^{-1}$ clo *a* en B - $2,3 \mu\text{g l}^{-1}$ clo *a* en C) y el efluente industrial con una alta biomasa ($127,4 \mu\text{g l}^{-1}$ clo *a* en A) asociado a un medio hipereutrófico (Salas & Martino 1990). Esto puede deberse a las condiciones favorables que generan las lagunas de maduración del sistema de tratamiento (con una alta concentración de nutrientes y alto tiempo de residencia del agua), lo que facilita el crecimiento del fitoplancton, similar al efecto que se observa en los sistemas lénticos hipereutróficos (Reynolds 1988; Moss 1998; Lee et al. 2014). El incremento de la clorofila *a* en el RSL aguas abajo de la descarga industrial podría deberse al aporte de microalgas por el efluente, aunque la diferencia entre ambos sitios del curso, no sería estadísticamente significativa. De todas formas, en el período octubre-diciembre 2015, en dos ocasiones los aportes de clorofila *a* del efluente presentaron una importancia significativa, siendo del 93% (noviembre) y 46% (diciembre) respecto a la carga calculada de clorofila *a* transportada por el RSL aguas arriba del punto de descarga.

La estructura de la comunidad fitoplanctónica presentó importantes diferencias de acuerdo al origen de las muestras. En el RSL tanto el BV total ($0,28 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$) como la concentración de clorofila *a* indicaron un bajo desarrollo fitoplanctónico, a pesar que

mantiene altas concentraciones de PT y NT. Esto se debe principalmente a que en los sistemas lóticos el desarrollo se encuentra limitado en gran medida al régimen hidrológico, lo cual restringe el crecimiento del fitoplancton (Reynolds 1988, Moss 1998, Bonilla et al. 2015). La composición, en su mayoría, estuvo conformada por organismos menores a 10 micras, bacilariofitas y clorofitas, sin detectarse la presencia de cianobacterias. Esta comunidad de fitoplancton, con una gran importancia relativa de las diatomeas y baja biomasa fitoplanctónica, es característica de ambientes inestables como los ecosistemas fluviales (Rojo et al. 1994). La dominancia en biomasa de la fracción de menor tamaño del fitoplancton (menor a 10 micras) en el RSL puede deberse a las características ecofisiológicas de estos organismos, con alta relación superficie/volumen, alta tasa de reproducción y eficiencia en la incorporación de nutrientes, que pueden verse favorecidos en un medio turbulento, y en particular de bajo tiempo de residencia como se caracterizan los sistemas lóticos (Reynolds 1984, 1988; Illarze 2015).

A diferencia del RSL, en las muestras del efluente el BV indica una alta biomasa fitoplanctónica ($11,28 \text{ mm}^3\text{l}^{-1}$). El hecho de que los organismos de mayor biomasa fueran las euglenas y las chlamydomonas, se encuentra asociado a la alta carga orgánica y de partículas en suspensión de las aguas del efluente industrial, ya que estos organismos suelen abundar en este tipo de ambiente (Conforti & Pérez 2000; Pérez 2002). Las cianobacterias encontradas fueron del tipo filamentosas de gran tamaño pertenecientes a los géneros *Phormidium* y *Oscillatoria*, coloniales como *Merismopedia*, asociada a ambientes lénticos y eutróficos/hipereutróficos, también detectándose organismos de la familia Pseudanabaenaceae pertenecientes al orden Synechococcal (Komarek et al. 2014). La mayor presencia de cianobacterias en el efluente puede explicarse por las condiciones que se generan en las piletas de tratamiento, con altas concentraciones de

nutrientes, alto tiempo de residencia del agua, y una mayor temperatura, lo que ofrece un ambiente propicio para el desarrollo fitoplanctónico (Reynolds 1988; Moss 1998). La diferencia entre ambos ambientes, uno turbulento e inestable, con grandes variaciones de caudales y bajos tiempos de residencia (RSL), y otro más estable, con mayores tiempos de residencia producto del manejo de las aguas residuales, y alta concentración de nutrientes, explicarían esta variación en la composición observada (Reynolds 1988; Moss 1998; Padisak et al. 1999; Bormans et al. 2005).

A través del estudio fitoplanctónico se determinó que la descarga industrial contiene una alta biomasa de microalgas, pudiendo alterar la composición fitoplanctónica aguas abajo de su ingreso. De esta manera, el efluente al igual que algunos lagos o embalses eutróficos, actuaría como una fuente de fitoplancton e inóculos de cianobacterias al río como se ha descrito en otros ecosistemas lóticos (Hilton et al. 2006; Yu et al. 2015; Illarze 2015). En este sentido, es fundamental monitorear los ambientes fluviales, de manera de identificar y localizar posibles focos generadores de cianobacterias que se inoculan al sistema, aumentando así los riesgos de transporte y eventualmente formación de floraciones algales (Chorus & Bartram 1999).

Éxito potencial de crecimiento de inóculo de cianobacterias y fitoplancton en general del efluente en el agua natural del Río Santa Lucía

En todos los tratamientos en los que se procedió a incubar las muestras se observó un mayor crecimiento fitoplanctónico con respecto al estado inicial, lo que puede explicarse por las condiciones estables que fueron sometidas los diferentes tratamientos, con respecto a la temperatura, luz y medio físico-químico (nutrientes). En los sistemas lóticos

el crecimiento del fitoplancton suele ser menor que en los sistemas lénticos, aún ante condiciones similares de nutrientes (Moss 1998). Por lo tanto, el factor diferencial que podría haber permitido el mayor desarrollo y crecimiento de microalgas en la incubación control respecto a lo observado en el RSL, es el tiempo de residencia, ya que fue el factor que más cambió entre el medio natural y la incubación.

Las diferencias de biomasa entre las incubaciones con el agregado del inóculo respecto al control pueden explicarse por las altas concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos en el inóculo, lo que sustentó un mayor crecimiento fitoplanctónico. La propia composición de las muestras utilizadas para el experimento puede haber sido un factor relevante a la hora de explicar las diferencias de la estructura de las comunidades observadas al final de la incubación. En relación a esto, en las muestras del RSL no se detectaron cianobacterias, y luego de la incubación, la contribución relativa de este grupo fue baja. En sentido opuesto, en el inóculo proveniente del efluente industrial si se encontraron cianobacterias, y luego de la incubación este fue el grupo dominante, identificándose algunas con la capacidad potencial de producir toxinas (Bonilla 2009). Respecto al orden *Synechococcal* detectado en el tratamiento control, algunos estudios asocian a cianobacterias de este orden a la eficiencia en el uso del fosfato, lo que podría explicar su crecimiento en un medio con menor disponibilidad del nutriente (Falkner et al. 2006; Aubriot 2008). Las diferencias en el aumento relativo entre la concentración de clorofila *a* y el BV de los tratamientos a tiempo final, puede deberse a la exposición de luz constante (fotoperiodo 24 hrs. de luz), la cual puede haber sido excesiva y provocado una menor producción de clorofila por BV (Dubinsky et al. 1986; George et al. 2014). Aunque de igual forma, tanto el BV como la clorofila *a* indican la misma tendencia.

A través del experimento se comprobó que la mezcla del efluente y del agua natural del RSL tiene las condiciones potenciales adecuadas para el desarrollo de cianobacterias, y por lo tanto se acepta la hipótesis del trabajo. Se puede inferir entonces que, debido a que el efluente contiene un inóculo activo de fitoplancton conteniendo una alta disponibilidad de nutrientes inorgánicos, esta mezcla es adecuada para promover la ocurrencia de floraciones en el río, sobre todo en condiciones de bajo caudal en el cual se incrementan los tiempos de residencia.

H. Conclusión

A través del presente estudio se evaluó el efecto potencial del ingreso de un efluente industrial, con una elevada carga de nutrientes y microorganismos activos en un curso receptor de gran importancia para nuestro país. Se determinó que el efluente posee una elevada biomasa de fitoplancton y en particular de cianobacterias, algunas de las cuales con el potencial de producir toxinas. Los últimos estudios en la cuenca atribuyen sólo un 20% (aprox.) de la contaminación por nutrientes a las fuentes puntuales. Sin embargo, en varias oportunidades, la descarga analizada fue próxima a ese nivel de aporte en relación a la carga transportada por el RSL. Por lo tanto, podría indicar que los aportes de todas las fuentes puntuales deben superar ampliamente ese porcentaje en condiciones de caudal medio a estiaje. En un contexto de intensificación de la producción e incremento de la eutrofización, sumado al cambio climático, la reducción de los ingresos de nutrientes es clave para la recuperación de los ecosistemas fluviales. Al momento de fijar límites y cargas máximas permisibles de descarga, es fundamental la comprensión del funcionamiento de los sistemas acuáticos, de forma de no sobrepasar la capacidad de autodepuración de los mismos. Asimismo, es necesario mejorar las mediciones de

caudales en los recursos hídricos para avanzar en evaluaciones de impacto más realistas, de manera de reducir los efectos ecológicos negativos, en particular, en condiciones de bajo caudal.

Se pudo determinar, en condiciones experimentales, que la descarga de un efluente con un inóculo activo de organismos podría tener un rol potencial en el desarrollo y composición del fitoplancton en el RSL, contribuyendo al crecimiento de cianobacterias. En este sentido, las alteraciones del régimen hidrológico, los aportes excesivos de nutrientes, así como la generación de ambientes propicios para el desarrollo de inóculos de microorganismos, fomentaría el crecimiento y transporte fluvial de cianobacterias. Tales condiciones pueden ser favorecidas por prácticas ineficientes en el tratamiento de aguas residuales, actuando como una fuente de nutrientes y de inóculos de fitoplancton hacia los cursos receptores. Asimismo, para una adecuada gestión de los recursos hídricos se requiere del continuo monitoreo ambiental, de manera de localizar posibles focos generadores de cianobacterias que inoculan al sistema, aumentando así los riesgos de ocurrencia de floraciones algales.

I. Agradecimientos

A mis tutores, Dr. Luis Aubriot y Msc. Fátima Martigani.

A la Sección Limnología de la Facultad de Ciencias.

A mi familia y amigos.

J. Referencias bibliográficas

APHA. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. APHA/AWWA/WPCF.Doc. No. EPA 841-B-99-007. Washington.

Aguilera A., Aubriot L., Echenique R. O., Salerno G. L., Brena, B. M., Pírez, M., Bonilla S. 2017. Synergistic effects of nutrients and light favor Nostocales over non-heterocystous cyanobacteria. *Hydrobiologia*, 1 - 15.

Arocena R., Chalar G., Fabián D., de León L., Brugnoli E., Silva M., Rodó E., Machado I., Pacheco J., Castigliani R., Gabito L. 2008. Evaluación ecológica de cursos de agua y biomonitorio. Informe final. MVOTMA, DINAMA - UDELAR, Facultad de Ciencias, Sección Limnología. Montevideo.

Arocena R. & Conde D. 1999. Métodos en ecología de Aguas Continentales. Montevideo. Facultad de Ciencias – Universidad de la Republica: 223 pp.

Aubriot L., Conde D., Bonilla S., Hein V., Brito A. 2005. Vulnerabilidad de una laguna costera reserva de Biósfera: indicios recientes de eutrofización. Pages 65-87 in J VPIPK, ed. Taller Internacional de Eutrofización y Embalses CYTED VXII B. Santiago de Chile: Patagonia Impresores.

Aubriot L. 2008. Flexibilidad de la cinética de incorporación de fosfato por fitoplancton a las fluctuaciones en el suministro del nutriente. Tesis de Doctorado. PEDECIBA Biología, Opción Ecología, Montevideo. Universidad de la República: 130 pp.

Aubriot, L., Bonilla S., Falkner G. 2011. Adaptive phosphate uptake behaviour of phytoplankton to environmental phosphate fluctuations. *FEMS microbiology ecology*, 77: 1 - 16.

Aubriot L., Piccini C., Machín E. 2011-12. Calidad de agua del Arroyo Canelón Chico e identificación de problemas ambientales.

Bonilla S. 2009. Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de monitoreo, UNESCO. Montevideo.

Bonilla S., Aubriot L., Soares M., González-Piana M., Fabre A., Huszar V., Lürling M., Antoniades D., Padisák J., Kruk C. 2012. What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? *FEMS Microbiol Ecol*, 79: 594 - 607.

Bonilla S., Signe H., Somma A., Gravier A., Britos A., Vidal L., De León L., Brena B., Pírez M., Piccini C., Martínez de la Escalera G., Chalar G., González Piana M., Martigani M., Aubriot L. 2015. Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay.

Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay. INNOTEC 10: 9-22.

Bormans M., Ford P. W. & Fabbro L. 2005. Spatial and temporal variability in cyanobacterial populations controlled by physical processes. *Journal of Plankton Research*, 27: 61 - 70.

CARL/PL. 2002. Prevención de la contaminación en la Industria láctea. Plan de Acción para el Mediterráneo. Barcelona.

Carozzi A. 2016. Herramientas para el diseño de los sistemas de tratamientos de remoción de nutrientes. Ministerio de vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Montevideo.

Chorus I. & Bartram J. 1999. Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. OMS. Londres.

Codd G. A., Azevedo S. M. F. O., Bagchi S. N., Burch M. D., Carmichael W. W., Harding W. R., Utkilen H. C. 2005. CYANONET. A global Network for Cyanobacterial Bloom and Toxin Risk Management—Initial Situation Assessment and Recommendations. IHP-VI Technical Document in Hydrology, (76). UNESCO.

Conforti V. & Pérez M C. 2000. Euglenophyceae of the Negro river, Uruguay, South America. *Algolog. Studies*, 97: 59 - 78.

De Leon L. & Chalar G. 2003. Abundancia y diversidad del fitoplancton en el Embalse de Salto Grande (Argentina – Uruguay). *Ciclo estacional y distribución espacial. Limnetica*, 22: 103-113.

Descourvieres G. 1999. Herramientas para combatir la contaminación hídrica en América Latina y el Caribe: instrumentos económicos, entidades de cuencas y participación ciudadana.

DINAMA - JICA. 2011. Proyecto sobre control de contaminación y calidad de agua en la cuenca del Río Santa Lucía. Informe final del proyecto. MVOTMA, DINAMA - JICA. Montevideo.

DINOT. 2016. Atlas de la Cuenca del Río Santa Lucía. Ministerio de vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Montevideo.

Dodds W.K., Jones J.R., Welch E.B. 1998. Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water Research*, 32: 1455 - 1462.

Dodds W.K., Bouska W.W., Eitzmann J.L., Pilger T.J., Pitts K.L. 2009. Eutrophication of

U.S. freshwaters: analysis of potential economic damages. *Environ Sci Technol.* 43: 12 - 19.

Dolman AM, Rücker J, Pick FR, Fastner J, Rohrlack T, Mischke U, Wiedner C. 2012. Cyanobacteria and cyanotoxins: the influence of nitrogen versus phosphorus. *PLoS ONE* 7: e38757.

Dubinsky Z., Falkowski P., Wyman K. 1986. Light harvesting and utilization by phytoplankton. *Plant Cell Physiol.* 27: 1335-1349.

Eheart J. W., Wildermuth A. J., Herricks E. E. 1999. The effects of climate change and irrigation on criterion low streamflows used for determining total maximum daily loads. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 35: 1365 - 1372.

Elser J.J. 1999. The pathway to noxious cyanobacteria blooms in lakes: the food web as the final turn. *Freshwater Biology*, 42: 537 - 543.

EPA. 1991. Guidance for Water Quality-Based Decisions: The TMDL Process. Doc. No. EPA 440/4-91-001. Washington.

EPA. 1999. Protocol for Developing Nutrient TMDLs. Office of Water (4503F), United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. 135 pp.

George B., Pancha I., Desai C., Chokshi K., Paliwal C., Ghosh T., Mishra S. 2014. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus*—A potential strain for bio-fuel production. *Bioresource technology*, 171: 367 - 374.

Gillingham A. G. & Thorrold B. S. 2000. A Review of New Zealand Research Measuring Phosphorus in Runoff from Pasture. *Journal of Environmental Quality*, 29: 88 - 96.

Haygarth P.M., Jarvis S.C. 1997. Soil derived phosphorus in surface runoff from grazed grassland lysimeters. *Water Res*, 31: 140 - 8.

Hilton J., O'Hare M., Bowes M., Iwan J. 2006. How green is my river? A new paradigm of eutrophication in rivers. *Science of the Total Environment*, 365: 66 - 83.

Huisman J. & Hulot F. D. 2005. Population dynamics of harmful cyanobacteria. En: *Harmful Cyanobacteria* (pp. 143-176). Huisman J., Matthijs H., Visser P. Springer. Netherlands.

Illarze M. 2015. Embalses como incubadoras de cianobacterias: efecto de la residencia del agua y de la disponibilidad de nutrientes. Montevideo: Facultad de Ciencias, Universidad de la República. (Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas).

Jarvie H.P., Neal C, Williams R.J., Neal M., Wickham H.D., Hill L.K. 2002. Phosphorus sources, speciation and dynamics in the lowland eutrophic River Kennet, UK. *Sci Total Environ* 282 - 283: 175 - 203.

Juttner F. & Watson S.B. 2007. Biochemical and ecological control of Geosmin and 2-Methylisobomeol in source Waathers. *Applied and Environmental Microbiologi*, 73: 4395 - 4406.

Karl D., Michaels A., Bergman B., Capone D., Carpenter E., Letelier R., Stal L. 2002. Dinitrogen fixation in the world's oceans. *Biogeochemistry*. 57: 47-98.

Komarek J., Kastovsky J., Mares J., Johansen J. R. 2014. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86: 295 - 335.

Maberly S., King L., Dent M., Jones R., Gibson C. 2002. Nutrient limitation of phytoplankton and periphyton growth in upland lakes. *Freshw Biol*, 47: 2136 - 52.

Mainstone C.P., Parr W.2002. Phosphorus in rivers - ecology and management. *Sci Total Environ* 282–283: 25 - 47.

Mazzeo, N., Clemente J., Garcia-Rodriguez F., Gorga, J., Kruk C., Larrea D., Meerhoff M., Quintans F., Rodriguez - Gallego L., Scasso F. 2002. Eutrofizacion: causas, consecuencias y manejo, p. 39-56. A. Dominguez y Prieto (eds). *Perfil ambiental del uruguay. Nordan - comunidad*.

Moreno E.J.O. 2005. La experiencia de Holanda y Alemania en el uso de cargos por vertimientos de aguas residuales como instrumento para el control de la contaminación hídrica Elementos para decidir los parámetros a ser. *Economía y desarrollo*, 4.

Moss, B., 1998. *Ecology of fresh waters: man and medium, past to the future*. 3. Oxford: Blackwell Science Oxford. ISBN: 0-632-03512-9.

Mulholland P. J. & Webster J. R. 2010. Nutrient dynamics in streams and the role of J-NABS. *Journal of the North American Benthological Society*, 29: 100 - 117.

MVOTMA. 2013. Plan de acción para la protección de la calidad ambiental y la disponibilidad de las fuentes de agua potable.

Nusch E. A. 1980. Comparisons of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Arch Hydrobiol*, 14: 14 - 36.

Neal C., Jarvie H.P., Neal M., Love A.J., Hill L, Wickham H. 2005. Water quality of treated

sewage effluent in a rural area of the upper Thames Basin, southern England, and the impacts of such effluents on riverine phosphorus concentrations. *Jornal Hydrology*, 304: 103–17.

Oliver R. & Ganf G. 2000. Freshwater blooms. En: *The Ecology of Cyanobacteria* (pp. 149-194). Whiton, B. A. & Potts, M. Springer. Netherlands.

OECD.1982. *Eutrophication of Waters; monitoring, assessment and control*. OECD Paris, Tech. Report 153pp. F 52/11.50.

OCDE. 1999. *Industrial! Water Pricing in OKCD Countries*.

Pérez M. 2002. Fitoplancton del Río Negro, Uruguay. *Limnetica* 21: 81-92.

Pacheco J.P., Arocena R., Chalar G., García P., Gonzalez-Piana M., Fabián D., Olivero V., Silva M. 2012. Evaluación del estado trófico de arroyos de la cuenca de Paso Severino (Florida, Uruguay) mediante la utilización del índice biótico TSI-BI. *AUGMDOMUS*, 4: 80-91.

Padisák J., Köhler J., Hoeg S. 1999. Effect of changing flushing rates on development of late summer *Aphanizomenon* and *Microcystis* populations in a shallow lake, Müggelsee, Berlin, Germany.

Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment, *American Scientist*, 46: 205 - 222.

Reynolds C. S. 1984. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. En: *Cambridge Studies in Ecology* (396 p.). Cambridge University Press Cambridge.

Reynolds C. S. 1988. Potamoplankton: paradigms, paradoxes and prognoses. In: *Algae and the aquatic environment*. F. E. Round (ed.) Biopress: 285 - 3 11.

Reynolds C.S. & Descy J.P.1996. The production, biomass and structure of phytoplankton in large rivers. *Large Rivers*, 10: 161–187.

Reynolds C.S., Davies P.S.2001. Sources and bioavailability of phosphorus fractions in freshwaters: a British perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 76:27 - 64.

Reynolds C. S. 2006. *The Ecology of Phytoplankton*. En: *Ecology, Biodiversity and Conservation* (524 p.). Cambridge University Press. Cambridge.

Rojo C., Álvarez Cobelas M & Arauzo M. 1994. An elementary, structural analysis of river phytoplankton. *Hydrobiologia*, 289: 43 - 55.

Salas H. J., & Martino P. 1990. Metodologías simplificadas para la evaluación de eutroficación en lagos cálidos tropicales. In Metodologías simplificadas para la evaluación de eutroficación en lagos cálidos tropicales. CEPIS.

Scheffer M., Rinaldi S., Gragnani A., Mur L. R., van Nes E. H. 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology*, 78: 272 - 282.

Schindler D. W. 1977. Evolution of Phosphorus Limitation in Lakes. *Science*, 195: 260 - 262.

Smith, V.H., Tilman, G.D. y Nekola, J.C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs of freshwater, marine and terrestrial ecosystems. En: *Environmental Pollution*, 100(1- 3), pp. 179 - 196.

Sournia A. 1978. *Phytoplankton Manual*. UNESCO. Paris.

Straskraba 1991. Retention time as key variable of reservoir limnology. En: *Theoretical Reservoir Ecology and its applications* (Eds. J.G Tundisi & M. Straskraba). International Institute of ecology, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers, Sao Carlos, Sp: 385 - 40.

UdelaR. 2013. "Informe sobre la calidad del agua en la cuenca del Río Santa Lucía: estado de situación y recomendaciones". Informe presentado al CDC (21/5/2013). Responsables del informe: Decanos Eduardo Manta de la Facultad de Química, Héctor Cancela de la Facultad de Ingeniería, Juan Cristina de la Facultad de Ciencias y Fernando García Préchac de la Facultad de Agronomía.

Valderrama J. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Mar. Chem.*, 10: 109 - 122.

Whiton B. A. & Potts M. 2000. *The Ecology of Cyanobacteria. Their Diversity in Time and Space* (669 p.). Springer. Netherlands.

Wool T. A., Davie S. R., Rodriguez H. N. 2003. Development of three-dimensional hydrodynamic and water quality models to support total maximum daily load decision process for the Neuse River Estuary, North Carolina. *Journal of Water Resources Planning and Management*, 129: 295 - 306.

Yu Q., Chen Y., Liu Z., Giesen N. V., Zhu D. 2015. The influence of a eutrophic lake to the river downstream: spatiotemporal algal composition changes and the driving factors. *Water*, 7: 2184 - 2201.

K. Anexos

Anexo 1. Tabla con las fechas de muestreo con la correspondiente numeración.

Fecha de muestreo	N° de muestreo
04/12/201	1
4	
23/12/201	2
4	
15/01/201	3
5	
04/02/201	4
5	
25/02/201	5
5	
18/03/201	6
5	
20/05/201	7
5	
11/09/201	8
5	
22/10/201	9
5	
26/11/201	10
5	
16/12/201	11
5	