



PEDECIBA-Geociencias

Facultad de Ciencias, Universidad de la República

**Aproximación a la determinación de la calidad de agua en
cuencas hidrográficas de Uruguay mediante el uso de
índices de estado trófico e isótopos estables en
Limnoperna fortunei (mejillón dorado)**

Lic. Ana Laura Machado Gaye

Orientador: Dr. Pablo Muniz

Co-orientador: Dr. Ernesto Brugnoli

Diciembre de 2020

Montevideo, Uruguay

Tesis presentada como parte de los requisitos para la obtención del título
de Magister en Geociencias.

Juzgada el día...../...../..... por

.....

Dr.

Calificación

.....

Dr.

Calificación

.....

Dr.

Calificación

Agradecimientos

A mis tutores, Pablo y Ernesto, por su apoyo, enseñanzas y sobre todo por la paciencia de acompañarme en este camino de aprendizaje.

Un especial agradecimiento a Iván por brindarme parte de sus datos y estar siempre presente para ayudarme.

A Franco, Leandro y Gustavo por sus significativos aportes que enriquecieron el manuscrito final.

A Nacho Alcántara por las horas dedicadas a ayudarme con R y estadística y a Sol por el análisis de las muestras.

Al Programa de Geociencias por permitirme crecer profesionalmente y en especial a Analía, gracias por estar siempre dispuesta a solucionarnos todo.

A Álvaro por el apoyo, la motivación de seguir adelante y los planes que ordenan todo.

A Eduardo y Flo, gracias por los años de música, comida, mates y el aguante de siempre.

Finalmente, un agradecimiento muy especial a mi familia y amigos/as, que me han acompañado y apoyado de forma incondicional. Y a Gastón, no podría haber elegido mejor compañero para transitar este camino.

Índice de Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	iv
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	viii
1. Introducción.....	10
1.1. Eutrofización y uso de índices de estado trófico.....	10
1.2. Isótopos estables en estudios ambientales.....	14
1.3. Cuencas hidrográficas y calidad de agua en Uruguay.....	18
1.4. El molusco invasor <i>Limnoperna fortunei</i> (Dunker, 1857) como herramienta de biomonitorio.....	25
1.5. Objetivo general.....	30
1.5.1 Objetivos específicos.....	30
1.6. Hipótesis.....	31
1.7. Predicciones.....	31
2. Metodología.....	32
2.1. Experimentos de mesocosmos.....	32
2.1.1. Colecta de muestras.....	32
2.1.2. Procesamiento de muestras.....	32
2.1.3. Análisis de datos.....	35
2.2. Muestreos de campo.....	36
2.2.1. Área de estudio.....	36
2.2.2. Colecta de muestras.....	39
2.1.3. Procesamiento de datos.....	40

2.1.4. Análisis de datos.....	42
3. Resultados.....	45
3.1. Mesocosmos.....	45
3.1.1. Nutrientes en mesocosmos.....	45
3.1.2 Isótopos estables en <i>Limnoperna fortunei</i>	47
3.1.3. Isótopos estables y su relación con nutrientes.....	50
3.2. Sistemas acuáticos de Uruguay.....	51
3.2.1. Nutrientes disueltos y estados tróficos.....	51
3.2.2. Índice de estado trófico (IET (PT)).....	54
3.2.3 .Isótopos y nicho isotópico de <i>Limnoperna fortunei</i>	56
3.2.4. Valores isotópicos y su relación con nutrientes.....	61
4. Discusión.....	64
4.1. Mesocosmos.....	64
4.2. Calidad de agua en principales ríos.....	67
4.3. Señal isotópica de <i>L. fortunei</i>	69
4.4 Relación entre nutrientes y valores isotópicos.....	82
5. Conclusiones.....	85
6. Bibliografía.....	87
ANEXO.....	100

RESUMEN

El proceso de eutrofización y sus consecuencias sobre el deterioro de los ecosistemas acuáticos es considerado uno de los problemas ambientales más importantes, tanto a escala global como en Uruguay, debido principalmente al incremento sostenido de las actividades productivas y la urbanización. Tradicionalmente el estado trófico de un sistema acuático se determina midiendo la concentración de nutrientes en el agua mediante métodos físico-químicos. Si bien estos son ampliamente utilizados y de gran precisión, reflejan las condiciones instantáneas del ecosistema. En este sentido, en los últimos años se ha profundizado en la búsqueda de nuevos indicadores ambientales que reflejen la historia de vida de la calidad del sistema, permitiendo identificar las fuentes de los nutrientes y las vías por las cuales alcanzan los ecosistemas acuáticos. Los isótopos estables, en particular ^{15}N y ^{13}C , han sido utilizados con éxito para evaluar y monitorear el estado trófico de los ecosistemas acuáticos, siendo una herramienta útil para identificar las fuentes de ingreso de nutrientes y materia orgánica al sistema. Esta tesis tuvo como objetivo principal abordar una primera aproximación en la determinación de la calidad de agua en los principales cursos de agua de cuatro cuencas hidrográficas de Uruguay (Río Negro (RN), Río Uruguay (RU), Río Santa Lucía (SL) y Río de la Plata interno (RdIP_i)) mediante el uso de métodos tradicionales (concentración de nutrientes, índices estado trófico) en conjunto con la determinación de isótopos estables en tejidos blandos del molusco invasor *Limnoperna fortunei*. La ventaja de este molusco como modelo de estudio radica en su fácil identificación, su abundancia y amplia distribución en el área de estudio. Para ello, en primera instancia se llevaron a cabo experimentos en ocho mesocosmos durante verano 2018 para determinar el origen de Carbono y Nitrógeno asimilados en los tejidos de *L. fortunei*, analizando la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en el mejillón, en el zooplancton y la materia orgánica particulada (MOP). A su vez, se determinaron las concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos y totales con el fin de identificar una relación entre ellos. Posteriormente, entre los meses de abril y octubre de 2018, en 12 puntos de muestreo distribuidos en el RN, SL, RdIP_i se determinaron las concentraciones de nutrientes, índices de estado trófico y valores isotópicos

de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei*. Se consideraron también datos colectados durante 2015 y 2017 en 11 sitios del RU. Los resultados obtenidos en el contenido de nutrientes e índices de estado trófico indican un deterioro en la calidad de agua en los principales cursos de agua del país muestreados. En particular el SL presentó mayores concentraciones de nutrientes y sitios con estados de hipertrofia. Por otro lado, se caracterizó por primera vez el nicho isotópico del bivalvo *L. fortunei* en los principales ríos de Uruguay en los que este mejillón invasor presenta una amplia distribución. El nicho isotópico presentó diferencias entre las cuencas analizadas que podría responder a las diferentes condiciones ambientales y estado trófico de los sistemas. En este sentido, se encontró una correlación positiva y significativa entre el Índice de Estado Trófico calculado a partir de la concentración de PT , PO_4^+ y NO_3^- en los ríos y el $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei*. La incorporación de nuevas herramientas al monitoreo de los cursos de agua, tales como el análisis de las firmas isotópicas de productores y consumidores primarios, pueden ofrecer puntos de vista complementarios para la evaluación de los efectos a largo y corto plazo del impacto antrópico sobre las cuencas hidrográficas de Uruguay.

Palabras clave: ecosistemas acuáticos, estado trófico, isótopos estables, *Limnoperna fortunei*.

ABSTRACT

The eutrophication process and its consequences on the deterioration of aquatic ecosystems is considered one of the most important environmental problems, both globally and in Uruguay, mainly due to the sustained increase in productive activities and urbanization. Traditionally, the trophic state of an aquatic system is determined by measuring the concentration of nutrients in the water column by means of physical-chemical methods. Although these are widely used and highly accurate, they reflect the instantaneous conditions of the ecosystem. In this sense, in the last few years, the search of new environmental indicators that reflect the life history of the system's quality has been intensified, allowing the identification of the sources of nutrients and the ways by which they reach the aquatic ecosystems. The stable isotopes, particularly ^{15}N and ^{13}C , have been successfully used to evaluate and monitor the trophic state of aquatic ecosystems, being a useful tool to identify the sources of nutrients and organic matter input to the system. The main objective of this thesis was to address a first approach in determining the quality of water in the main water courses of four hydrographic basins in Uruguay (Río Negro (RN), Río Uruguay (RU), Río Santa Lucía (SL) and the internal part of Río de la Plata estuary (RdIPi)) by using traditional methods (nutrient concentration, trophic state indices) in conjunction with the determination of stable isotopes in soft tissues of the invading mollusk *Limnoperna fortunei*. The advantage of this mollusc as a study model lies in its easy identification, abundance and wide distribution in the study area. For this purpose experiments were carried out in eight mesocosms to determine the origin of carbon and nitrogen assimilated in the tissues of *L. fortunei*, analyzing the isotopic signal of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in the mussel, in the zooplankton and in the particulate organic matter (POM). At the same time, dissolved and total inorganic nutrients concentrations were determined in order to identify a relationship between the isotopes. Furthermore, between April and October 2018, in 12 sampling points distributed in the RN, SL and RdIPi, the concentrations of nutrients in water and the isotopic values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ in *L. fortunei* were determined. Data collected during 2015 and 2017 at 11 sites in the RU were also considered. The results obtained in the nutrient content and trophic state indices indicate a

deterioration in water quality in the country's main watercourses sampled. In particular, the SL presented higher concentrations of nutrients and sites with hypertrophy states. On the other hand, the isotopic niche of the bivalve *L. fortunei* was characterized for the first time in the main rivers of Uruguay where this invasive mussel has a wide distribution. The isotopic niche presented differences between the basins that could respond to the different environmental conditions and trophic state of the systems. In this sense, a positive and significant correlation was found between the Trophic State Index calculated from the concentration of PT , PO_4^{+} y NO_3^{-} in rivers and *L. fortunei*'s $\delta^{15}\text{N}$. The incorporation of new tools to the monitoring of water courses, such as the analysis of isotopic signatures of primary producers and consumers, can offer complementary points of view for the evaluation of the long and short term effects of the anthropic impact on the basins.

Key words: aquatic ecosystems, trophic state, stable isotopes, *Limnoperna fortunei*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Eutrofización y uso de índices de estado trófico

Los ecosistemas acuáticos son uno de los recursos naturales más importantes para la vida en el planeta, ya que brindan servicios ambientales que inciden tanto en las actividades humanas como en la regulación del funcionamiento ecosistémico y el régimen energético global (Jonsson *et al.*, 2001). Sin embargo, el crecimiento de las actividades productivas y de la urbanización han alterado dramáticamente el flujo de nutrientes hacia estos ecosistemas, provocando un incremento en el ingreso de los mismos (de Jonge *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2006; Khan & Ansari, 2005; Paerl, 2017).

Esto ha generado que en las últimas décadas a escala global, el proceso denominado “eutrofización” y sus consecuencias sobre el deterioro de la calidad del agua, sea considerado uno de los problemas ambientales más importantes (Smith *et al.*, 2006; Paerl, 2017).

El término eutrofización se utiliza para describir los efectos biogeoquímicos y biológicos derivados de un incremento en el suministro y en la disponibilidad de nutrientes en los ecosistemas acuáticos (Conde *et al.*, 2002; Andersen *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2006).

Debido a su carácter limitante, concentraciones elevadas de nitrógeno y fósforo, pueden regular la productividad primaria acuática, generando el crecimiento desmedido de vegetales y floraciones algales (Conde *et al.*, 2002; Andersen *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2006). Como consecuencia, se

produce un mayor suministro de materia orgánica hacia el fondo de las aguas, ocasionando un aumento en el metabolismo de los microorganismos y por lo tanto un incremento en el consumo de oxígeno, generando de este modo zonas anóxicas e hipóxicas que pueden producir la muerte de diversas especies acuáticas (de Jonge *et al.*, 2002; Bianchi, 2007). A su vez, este déficit de oxígeno contribuye al predominio de la descomposición anaeróbica que genera gases sulfhídricos y metano, con consecuencias en el olor, sabor y toxicidad del agua, disminuyendo así su calidad (de Jonge *et al.*, 2002; Mazzeo *et al.*, 2002).

Habitualmente se considera en sistemas de agua dulce el fósforo como el nutriente limitante por excelencia, siendo el exceso de éste la principal causa de eutrofización (Khan & Ansari, 2005). Sin embargo, algunos estudios han señalado la importancia del nitrógeno en los procesos de eutrofización, una vez que la limitante de fósforo no existe (Khan & Ansari, 2005; Paerl, 2017; Aubriot & Bonilla, 2018).

En particular, el aporte de estos nutrientes desde fuentes difusas, como la escorrentía proveniente de la agricultura y ciudades con o sin sistemas de saneamiento, constituye la principal vía de ingreso hacia estos ecosistemas (Carpenter, 1998; Chaubey *et al.*, 2010; Hamilton, 2012, Goyenola *et al.*, 2020).

Debido que a través de las fuentes difusas los nutrientes alcanzan los cursos de agua a través de áreas extensas y son variables en el espacio y

el tiempo, es que presentan grandes desafíos para su cuantificación y regulación (Carpenter *et al.*, 1998; Kronvang *et al.*, 2005; Vander Zanden *et al.*, 2005, Kändler *et al.*, 2017).

Tradicionalmente la temática es abordada a través de la determinación de los niveles de nutrientes en el agua mediante métodos físico-químicos. Si bien estos son ampliamente utilizados y de gran precisión, reflejan las condiciones instantáneas del ecosistema, debiéndose apostar a un monitoreo intensivo para abarcar una ventana temporal mayor (Goyenola *et al.*, 2011). Por otro lado, no revelan los efectos que pueden existir sobre los componentes biológicos/ecológicos del sistema o sobre las funciones ecosistémicas que brindan los mismos (Abreu da Costa *et al.*, 2017).

Los índices de estado trófico son ampliamente utilizados para definir el estado trófico de un sistema acuático y poder comparar con otros sistemas (Alvareda *et al.*, 2020). El estado trófico de un cuerpo de agua da cuenta de su grado de eutrofización, el cual refiere a la capacidad productiva del sistema debido al contenido de nutrientes (nitrógeno y fósforo principalmente). Este controla el desarrollo de las plantas, las algas y las cianobacterias en primer término, determinando la estructura y calidad de la trama trófica del cuerpo de agua. Los estados tróficos van desde la oligotrofia a hipertrofia en orden creciente y están relacionados con el aumento de la concentración de nutrientes y de biomasa vegetal, principalmente fitoplancton (Mason, 1998; Lamparelli, 2004). Uno de los índices más utilizados para sistemas de agua dulce es el índice numérico

del estado trófico (Trophic State Index, TSI) de Carlson, (1977). Este índice considera como variables los valores de la profundidad de disco de Secchi, concentraciones de fósforo total (PT) y Clorofila a (Clo a).

A nivel regional son también utilizados otros índices como Lamparelli (2004), quien estableció los coeficientes de correlación entre la concentración de clorofila y variables físicas y químicas, para determinar el estado trófico de ríos de clima subtropical; y Cunha *et al.* (2013) proponiendo un índice mejor calibrado a las condiciones de productividad de embalses de zonas tropicales y subtropicales, en comparación al propuesto por Carlson en 1977 para climas templados, y criterios más restrictivos de niveles de Clo a y PT que los propuestos por Lamparelli (2004).

Sin embargo, debido a la intensificación de la presión humana sobre los ambientes acuáticos, en las últimas décadas se ha profundizado en la búsqueda de nuevos indicadores ambientales de calidad de agua que permitan identificar las fuentes de los nutrientes y las vías por las cuales alcanzan los ecosistemas acuáticos. Estos indicadores son necesarios para mejorar la gestión de la eutrofización y otros contaminantes y reducir su aporte (Mckinney *et al.*, 2002; Vander Zanden *et al.*, 2005; Fenech *et al.*, 2012; Becherucci *et al.*, 2019).

Entre ellos, en las últimas décadas, la aplicación de mediciones de isótopos estables en fauna, flora y sedimentos ha sido utilizada con éxito para

evaluar y monitorear los ecosistemas acuáticos, siendo una herramienta útil para identificar las fuentes de ingreso de nitrógeno y materia orgánica (Fry & Allen, 2003; Sulzman, 2007; Fenech *et al.*, 2012; Morrissey *et al.*, 2013).

1.2 Isótopos estables en estudios ambientales

Los isótopos estables son formas diferentes de un mismo elemento químico cuyos núcleos tienen una cantidad diferente de neutrones, y por lo tanto, difieren en su masa atómica (Valley & Cole 2001) y que a su vez por ser estables, no decaen en el tiempo (Fry, 2008).

Debido a sus diferentes masas atómicas, los isótopos de un elemento presentan ligeras diferencias en sus propiedades físicas y químicas. Los isótopos “livianos” poseen enlaces menos energéticos que los formados por los isótopos “pesados”, por lo tanto, durante una reacción química las moléculas que contienen el isótopo liviano reaccionarán con una velocidad ligeramente superior a la de las moléculas pesadas (Kendall & Caldwell, 1998). Este reparto de isótopos livianos y pesados durante una determinada reacción, se conoce como fraccionamiento isotópico y se denota con el símbolo Δ como la diferencia isotópica entre los dos valores ($\Delta a-b = \delta a - \delta b$) (Sharp, 2007; Sulzman, 2007).

En estudios ambientales, existen aplicaciones de isótopos estables en análisis paleoambientales (Lamb *et al.*, 2006; West *et al.*, 2006), investigación en ecología trófica (Post, 2002; Kristensen *et al.*, 2016) o

como indicadores de impacto antrópico (Vizzini *et al.*, 2006, Morrissey *et al.*, 2013; Becherucci *et al.*, 2019).

En ecología trófica, el nicho trófico es uno de los principales componentes del nicho ecológico, definido este último como un hipervolumen n -dimensional que abarca todos los factores ambientales que permiten que una especie habite en un área determinada (Hutchinson, 1957). Esto ofrece información primaria sobre el uso de recursos y puede ser relacionado con variables ambientales (Peterson *et al.*, 2011).

Los isótopos estables, en particular los isótopos de carbono y nitrógeno, son una herramienta útil para investigar la variación intra-específica del nicho trófico (Bolnick *et al.*, 2003; Bearhop *et al.*, 2004; Sweeting *et al.*, 2005). En el mismo, la posición de los consumidores en el espacio isotópico (espacio δ) representa algunos aspectos como el hábitat y los recursos asimilados, en el concepto de "nicho isotópico" (Newsome *et al.*, 2007).

Estas inferencias tróficas se deben a que los valores de $\delta^{15}\text{N}$ generalmente tiene un enriquecimiento gradual en cada nivel trófico y en consecuencia, los valores en los tejidos de los consumidores tienden a ser entre 2-4‰ mayores que aquellos de sus dietas, posibilitando la estimación de la posición trófica de un organismo (Post, 2002). Por otro lado, el $\delta^{13}\text{C}$ presenta un escaso enriquecimiento trófico entre los tejidos del consumidor y su fuente de Carbono (0-1‰), haciendo que la aplicación de isótopos de carbono sea un marcador efectivo para identificar las diferentes fuentes de

materia orgánica en los sistemas (Figura 1, Finlay & Kendall, 2007). Por ejemplo, el material terrestre con vías fotosintéticas tipo C3 exhibe valores de $\delta^{13}\text{C}$ que oscilan entre -32 y -21‰. Por otro lado, las plantas C4 típicamente muestran valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -17 y -9 ‰, mientras que las algas de agua dulce en sistemas dominados por vegetación C3 tienden a presentar valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -30 y -25‰ (Lamb *et al.*, 2006).

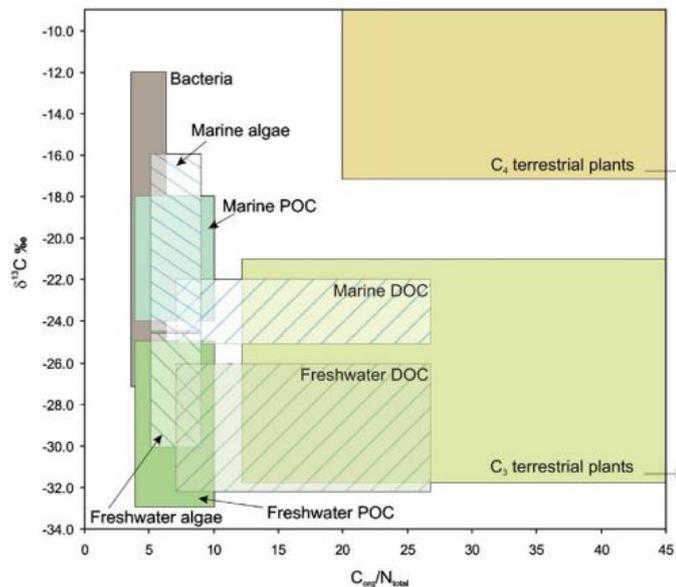


Figura 1. Rangos típicos de $\delta^{13}\text{C}$ y C/N para las distintas fuentes de materia orgánica en sistemas acuáticos. Tomado de Lamb *et al.*, (2006).

Como indicadores de impacto antrópico, los isótopos estables de carbono y nitrógeno son utilizados para identificar el origen de las fuentes de contaminantes en un cuerpo de agua (Sulzman, 2007) y sus efectos sobre las redes tróficas (Cole *et al.*, 2004; Anderson & Cabana, 2006).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ son una herramienta útil para detectar fuentes de nitrógeno en las cuencas hidrográficas, basándose principalmente en que los aportes de nitrógeno antropogénico pueden influir en la composición isotópica de los organismos en un ecosistema (Lake *et al.*, 2001; Vander Zanden *et al.*, 2005; Anderson & Cabana, 2006; Kristensen *et al.*, 2016). Por ejemplo, el nitrógeno disuelto proveniente de aguas de desechos humanos está enriquecido en $\delta^{15}\text{N}$, presentando valores en el rango de 10 a 20‰. Los fertilizantes sintéticos y el nitrógeno atmosférico generalmente tienen valores bajos de $\delta^{15}\text{N}$, -3 a 3‰ y 2-8 ‰, respectivamente (Mc Clelland *et al.*, 1997; Kendall, 1998; Mckinney *et al.*, 2002).

De forma similar a la dinámica de Nitrógeno, los aumentos en $\delta^{13}\text{C}$ están relacionados con procesos de eutrofización, debido a que un aumento de la producción primaria conduce a una reducción de la discriminación de ^{13}C en la fotosíntesis y por lo tanto, un aumento en $\delta^{13}\text{C}$ (Voss & Struck, 1997; Finlay, 2001, Alvarez *et al.*, 2019).

En Uruguay el uso de isótopos estables ha sido mayormente focalizado en ecología trófica (Rodríguez-Graña *et al.*, 2008; Milessi *et al.*, 2010; Bergamino *et al.*, 2011; Franco-Trecu *et al.*, 2014; 2017) y paleoambiental (Bergamino *et al.*, 2017; Bueno *et al.*, 2018), identificándose escasos antecedentes relacionados con el uso de isótopos estables como herramienta en estudios de calidad de agua (Bergamino *et al.*, 2012).

1.3 Cuencas hidrográficas y calidad de agua en Uruguay

En nuestro país existe una creciente presión sobre los ecosistemas de agua dulce que está comprometiendo la calidad de agua (Chalar, 2006; Chalar *et al.*, 2011; Kruk *et al.*, 2013; Bonilla *et al.*, 2015; Arocena *et al.*, 2018).

Durante la última década, la contaminación orgánica y la eutrofización, con la ocurrencia frecuente de blooms de cianobacterias tóxicas, han sido las formas más generalizadas de alteración de estos ecosistemas (Conde *et al.*, 2002; Bonilla *et al.*, 2015; Aubriot *et al.*, 2017). La intensificación en el uso del suelo y el vertido de aguas residuales urbanas e industriales, son mencionadas como las principales presiones que llevan a la eutrofización (Kruk *et al.*, 2013).

En Uruguay, los cursos de aguas superficiales del país drenan en seis cuencas hidrográficas (Figura 2). A continuación se describen las principales características de estas cuencas hidrográficas donde se desarrolló el presente estudio (Río Negro, Río Uruguay, Río Santa Lucía y Río de la Plata), así como los antecedentes relacionados con su calidad de agua, determinados principalmente mediante monitoreos tradicionales (parámetros físico-químicos).

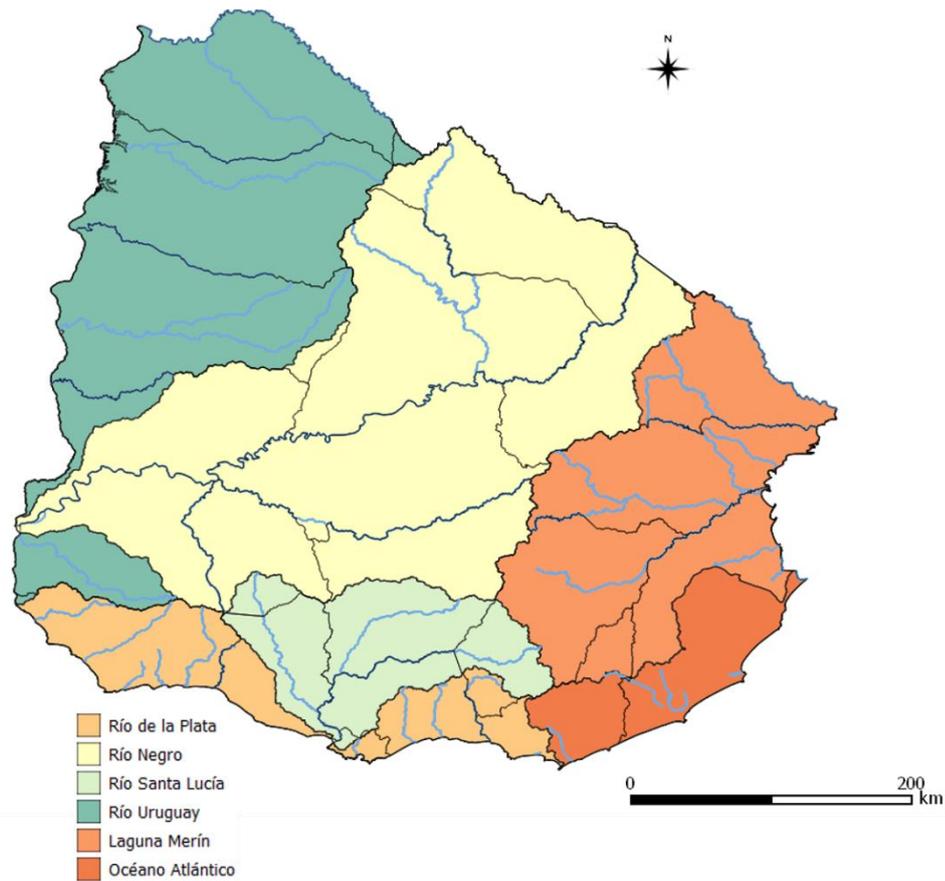


Figura 2. Cuencas hidrográficas de Uruguay. Información tomada del Observatorio Ambiental Nacional, DINAMA.

Río Negro

La cuenca del Río Negro es la más extensa del país y se encuentra ubicada en la porción central del territorio. Su curso principal, el Río Negro, tiene una longitud de 750 km, corre de noreste a suroeste dividiendo al país en dos y se encuentra represado por tres embalses en cadena, Bonete, Baygorria y Palmar (Chalar *et al.*, 2014; MVOTMA, 2018a). En un principio estos embalses fueron construidos para la generación de energía, pero actualmente se emplean para múltiples usos como el riego, abastecimiento

de agua para potabilización, pesquerías y actividades turísticas (Chalar *et al.*, 2014). Sus principales afluentes son el río Tacuarembó y el río Yí. También es cuerpo receptor de los efluentes de las ciudades asentadas en sus márgenes y en sus afluentes como las ciudades de Paso de los Toros, Durazno y Mercedes (MVOTMA, 2018a).

Los principales usos del suelo en la cuenca del Río Negro sobre territorio uruguayo son el campo natural que se asocia con la ganadería extensiva (54,71%), la agricultura (23,29%), la forestación (10,85%) y monte nativo (8,33%) (Arocena *et al.*, 2018; MVOTMA, 2018a). En la cuenca alta, las actividades más relevantes son la ganadería junto con la forestación, los cultivos de secano y la producción de arroz. Mientras que en la cuenca media y baja, se destaca el desarrollo de los cultivos de secano (trigo, sorgo, soja, maíz), además de la ganadería y la forestación. Entre 2011 y 2015 se registró un incremento de la superficie de los cultivos, reduciendo la de campo natural e incrementando la superficie de suelo que se fertiliza y que aporta de nutrientes hacia los cursos de agua (MVOTMA, 2018a).

Según el monitoreo de la Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) de la calidad de agua del Río Negro, la mayor parte del sistema presenta un estado mesotrófico, con las zonas alta y baja de la cuenca propensas a la eutrofización, afectadas principalmente por nutrientes y coliformes, asociados a regiones productivas y ciudades (MVOTMA, 2018a). Por otra parte, los tres embalses alteran la hidrología del río, lo que a su vez afecta la calidad de agua (Chalar *et al.*, 2014; MVOTMA, 2018a). Estos sistemas

han sido clasificados como eutróficos según la concentración de fósforo total y de la biomasa fitoplanctónica registrada en verano (Chalar *et al.*, 2012; 2015). La carga de nutrientes en los embalses es el factor que desencadena el proceso de eutrofización, las floraciones de cianobacterias y el consecuente deterioro de la calidad del agua, con una alta probabilidad de que en verano existan elevados valores de toxicidad en el agua (Chalar *et al.*, 2015).

Río Uruguay

El Río Uruguay es uno de los principales ríos de la cuenca del Plata, compartida entre Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, constituyendo fronteras entre estos países, hasta su desembocadura en el estuario Río de la Plata.

En la porción del río que separa a Argentina y Uruguay, se encuentra el embalse Salto Grande, el cual genera energía hidroeléctrica para ambos países; y la fábrica de papel UPM, dedicada a la producción de pasta de papel desde 2007, en el margen uruguayo (Ferrari *et al.*, 2011).

El principal uso del suelo en la cuenca sobre nuestro territorio es de tipo ganadero, ocupando el 74,2% de la superficie total. El uso agrícola ocupa el 13,8% de la superficie total de la cuenca, correspondiendo un 5% a los monocultivos forestales, y el restante 14% a la actividad agrícola, mientras que los bosques nativos ocupan el 4,3% de la superficie total. Además, el

92,5% de la población que habita en el territorio de la cuenca vive en localidades urbanas (Achkar *et al.*, 2013).

Desde los 80, a través de la Comisión de Administración del Río Uruguay (CARU), se llevan a cabo diversos estudios para el monitoreo de la calidad de agua en el río Uruguay, principalmente en la zona media y baja (Chalar *et al.*, 1993; O'Farrell & Izaguirre, 2014). Los diversos estudios realizados reportan para el río Uruguay, y particularmente en el embalse de Salto Grande, el desarrollo de floraciones de cianobacterias y una elevada concentración media anual de fósforo total, caracterizándose como un sistema eutrófico (Chalar *et al.*, 1993; Saizar *et al.*, 2010; Ferrari *et al.*, 2011; Kruk *et al.*, 2014; CARU, 2019b). También es un cuerpo receptor de los efluentes de importantes ciudades asentadas en sus márgenes y en sus afluentes como las ciudades de Bella Unión, Salto, Paysandú y Fray Bentos (Victoria *et al.*, 2014).

Río Santa Lucía

La cuenca del Río Santa Lucía es la tercera en extensión del país que drena en el estuario del Río de la Plata (Achkar *et al.*, 2013). La cuenca está comprendida por el curso principal, el Río Santa Lucía, que recibe como tributarios a los ríos Santa Lucía Chico, San José y Canelón Grande (Achkar *et al.*, 2013; Aubriot *et al.*, 2017).

El Río Santa Lucía es la principal fuente de agua potable del país, abasteciendo al 60% de la población (Achkar *et al.*, 2013), además es

fuente de agua para riego y depósito de efluentes puntuales y difusos de la zona de actividad agroindustrial más intensa del país (MVOTMA, 2018b; 2018c). El caudal para abastecimiento de agua está regulado principalmente por los embalses de Paso Severino y Aguas Corrientes en el curso principal, y por el Canelón Grande sobre el Arroyo Canelones.

El uso del suelo en la cuenca se divide principalmente en: ganadero, incluyendo lechería y tambos (71,3%), actividad agrícola (16,2%) y forestal (4,2%). Complementariamente presenta bosques nativos, humedales, cuerpos de agua y suelos rocosos (7,2%) (Achkar *et al.*, 2013).

La inexistencia de un adecuado sistema de saneamiento urbano, una inapropiada gestión de los residuos sólidos, el vertido sin tratamiento de efluentes de las industrias y tambos, la erosión de suelos por prácticas agrícolas inadecuadas y el uso abusivo de agrotóxicos, son los principales factores que han incidido en la alteración del ciclo hidrológico y en la degradación ambiental de la cuenca (Achkar *et al.*, 2013, Delbene, 2018). Por lo tanto, esta cuenca afronta un conflicto entre el recurso hídrico para agua potable y el uso del suelo, su urbanización e industrialización, que ha causado varios problemas ambientales y graves síntomas de eutrofización (Alonso *et al.*, 2019).

En este sentido, desde 2004 la DINAMA lleva a cabo un programa de monitoreo para evaluar y vigilar la calidad de agua de los principales cursos de la cuenca. Este monitoreo ha evidenciado que el Río Santa Lucía ha

sufrido una progresiva eutrofización, siendo el embalse Canelón Grande la zona más afectada en cuanto a calidad de agua (MVOTMA, 2015; Delbene, 2018).

Río de la Plata

El estuario del Río de la Plata recibe tres ríos importantes que se originan en Brasil: Paraná, Paraguay y Uruguay, además de sus afluentes. Estos ríos drenan sus aguas en la segunda cuenca más grande de América del Sur, la cuenca del Plata con una extensión de 3.170.000 km² (Guerrero *et al.*, 1997). El estuario del Río de la Plata puede dividirse en una zona interna definida entre Colonia y Montevideo, con predominancia de aguas turbias y salinidad cercana a 0 a lo largo del año, y una zona estuarial externa, desde Montevideo hasta Maldonado, con una alta variabilidad en la turbiedad y la salinidad (Nagy *et al.*, 2008).

El uso de la cuenca en la margen uruguaya presenta un importante desarrollo agrícola-lechero que adquiere mayor importancia hacia el oeste de Montevideo, con un importante desarrollo del sector hortícola, frutícola y vitivinícola, que constituye la principal zona industrial del país (Achkar *et al.*, 2013). En los departamentos de Colonia y San José el sector agrícola representa 17,5% de la superficie cultivada, mientras que la producción lechera representa el 14,4% de la superficie pecuaria, constituyendo el área de la principal cuenca lechera del país (Achkar *et al.*, 2013).

El Río de la Plata es el receptor final de las cargas orgánicas y nutrientes generadas en la cuenca de ríos y arroyos que allí desembocan (ej. Cuenca del Río Santa Lucía y Río Uruguay), en donde se descarga casi la mitad de la carga orgánica del país por afluentes o por infiltración al terreno (DINAMA, 2009).

Diversos estudios han reportado en el estuario del Río de la Plata una mayor proliferación de cianobacterias tóxicas, mortalidad de peces, eventos de hipoxia con mayor periodicidad, y aumento en los nutrientes y la clorofila, así como aparición de especies invasoras como *Rapana venosa* y *Limnoperna fortunei* (Gómez-Erache *et al.*, 2001; Nagy *et al.*, 2002; 2013; Brugnoli, *et al.*, 2019; Muniz *et al.*, 2019).

1.4 El molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) como herramienta de biomonitoreo

Este molusco, comúnmente llamado “mejillón dorado”, es una especie exótica invasora en la cuenca del Plata, originaria de sistemas de agua dulce del sureste de China (Pastorino *et al.*, 1993; Boltovskoy & Cataldo, 1999). Presenta hábito epifaunal, adhiriéndose a sustratos duros (naturales o artificiales), ciclo de vida corto, alta fecundidad, crecimiento rápido, estadios larvales con fase planctónica, amplia tolerancia fisiológica a varios factores abióticos y plasticidad en su alimentación, que lo convierten en un invasor exitoso y lo distingue de los bivalvos de agua dulce de la región (Darrigran & Ezcurra de Drago, 2000; Damborenea & Penchaszadeh, 2006; Oliveira *et al.*, 2011; Rojas Molina *et al.*, 2015).

En Sudamérica, *L. fortunei* fue introducido de forma accidental al inicio de 1990 transportado en el agua de lastre de buques provenientes de Asia (Darrigran & Pastorino, 1995), siendo identificado por primera vez en 1991 en el margen argentino del Río de la Plata (Pastorino *et al.*, 1993).

Es una especie dioica con fertilización externa que desarrolla una larva de vida libre, y posteriormente evoluciona a una larva veliger que nada activamente (Cataldo & Boltovskoy, 2000). El ciclo gametogénico está regido por factores ambientales, particularmente la temperatura (Darrigran *et al.*, 1999; 2003), en donde los gametos son liberados cuando la temperatura del agua alcanza o supera los 17°C, siendo el número de evacuaciones variable (Darrigran & Damborenea, 2006). Estudios en la región muestran que *L. fortunei* se reproduce continuamente entre los meses de agosto y abril, mientras que la producción de larvas disminuye drásticamente solo 3 meses al año, entre mayo y julio, cuando la temperatura del agua es más baja (Cataldo & Boltovskoy, 2000; Brugnoli *et al.*, 2011).

En cuanto a su alimentación, *L. fortunei* es un bivalvo filtrador suspensívoro que presenta una alta selectividad sobre las partículas que preda (Rojas Molina *et al.*, 2010; Frau *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017). Diversos estudios han evidenciado que este mejillón invasor se alimenta de una comunidad compleja de organismos planctónicos, presentando un comportamiento de alimentación omnívoro. (Boltovskoy *et al.*, 2009; Rojas Molina *et al.*, 2010; Frau *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017).

En Uruguay, fue reportado por primera vez en 1994 por Scarabino & Verde, (1995) en el Río de la Plata, y se dispersó rápidamente en las principales cuencas del país durante los años siguientes (Ituarte, 1997; Cataldo *et al.*, 2002; Brugnoli *et al.*, 2005).

Su distribución observada presenta una amplia distribución en las diferentes cuencas hidrográficas de Uruguay. Se encuentra descrito a lo largo de la costa del Río de la Plata y se sugiere que *L. fortunei* presenta su límite Este de distribución cerca de Punta Espinillo, donde se encuentra la isohalina 2-3 (Brugnoli *et al.*, 2005). En la cuenca del río Santa Lucía, *L. fortunei* se registró por primera vez en 1996 y desde entonces fue registrada en varias localidades de esta cuenca, considerando la cuenca inferior y media (Brugnoli *et al.*, 2005). En la cuenca del Río Negro, en 1999 se registró la presencia de adultos y juveniles en el Embalse Palmar (Gorga & Clemente 2000, Clemente & Brugnoli, 2002). En 2002, también se colectaron larvas y adultos de *L. fortunei* en las instalaciones de la presa de Baygorria y en el río Yí, incrementando su rango de distribución en esta cuenca (Brugnoli *et al.*, 2005). Posteriormente, en los años 2007 y 2008 se reportaron adultos y larvas en el embalse Rincón del Bonete. Actualmente, *L. fortunei* ha invadido los tres embalses del Río Negro (Brugnoli *et al.*, 2011) y con registros que llegan hasta la cuenca superior del mismo en San Gregorio de Polanco (Brugnoli com. pers). En el caso de la cuenca del Río Uruguay, en el año 2000 se realizó el primer registro de larvas y adultos (Darrigran & Ezcurra de Drago, 2000). Según Brugnoli *et al.*, (2005), hasta

el año 2003 *L. fortunei* se distribuyó en la parte baja e intermedia del río Uruguay, siendo el embalse de Salto Grande su límite de distribución norte. Sin embargo, a partir de ese mismo año, se registró un avance en el proceso de invasión en los sistemas hidrográficos situados al norte del Embalse de Salto Grande, afectando la parte superior del Río Uruguay. Igualmente se encuentra presente en la Laguna del Sauce (Clemente *et al.*, 2015) y en la cuenca de Laguna Merín (Langone, 2005), sin embargo aún no ha sido reportado para la cuenca Atlántica.

La invasión del mejillón dorado en nuestro país ha tenido diversas consecuencias ecosistémicas y económicas. Entre otros, ha sido reportado como un nuevo ítem en la dieta de peces nativos (Boltovskoy & Correa, 2015; González-Bergonzoni *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2020) impacto potencial en la malacofauna de agua dulce nativa (eg. Scarabino, 2004; Pereira *et al.*, 2014). Complementariamente ha ocasionado problemas de macrofouling en instalaciones hidráulicas plantas potabilizadoras de agua y centrales hidroeléctricas (Clemente & Brugnoli, 2002; Muniz *et al.*, 2005; Brugnoli *et al.*, 2006; Brugnoli & Capurro, 2019).

Esta amplia distribución en las principales cuencas de nuestro país y una fácil identificación, acceso y recolección, destacan a este molusco como un buen modelo para estudios ambientales y de monitoreo de calidad de agua.

En particular, el uso de isótopos estables en macroinvertebrados filtradores ha sido aplicado con éxito para evaluar la calidad de agua y como indicador

de eutrofización. Debido a su condición de organismo filtrador, la presencia de movimiento limitado, de vida larga y con una posición trófica cercana a la base de la cadena alimentaria, integran en sus tejidos las características del ambiente en el que habitan (McKinney *et al.*, 2001; Gustafson *et al.*, 2007; Wen *et al.*, 2010).

1.5 Objetivo general

Abordar una primera aproximación a la determinación de la calidad de agua en los principales cursos de agua de cuatro cuencas hidrográficas de Uruguay mediante el uso en conjunto de índices de estado trófico e isótopos estables del molusco invasor *Limnoperna fortunei*.

1.5.1 Objetivos específicos

- Determinar el origen del C y N asimilados en los tejidos de *L. fortunei* mediante experimentos en mesocosmos.
- Determinar la calidad de agua en diferentes sistemas de agua mediante el uso de métodos tradicionales (e.g., nutrientes, N, P).
- Determinar el estado trófico en sistemas de agua mediante aplicación de Índices de Estado Trófico.
- Determinar los valores de los isótopos $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *L. fortunei* en sistemas de agua dulce y salobre y explorar su nicho isotópico.
- Explorar posibles relaciones entre los valores isotópicos de *L. fortunei* y el estado trófico de cada sistema.

1.6 Hipótesis

La señal isotópica de *Limnoperna fortunei* es influida por el estado trófico del sistema acuático que habita, pudiendo ser utilizado como una herramienta de biomonitoreo complementaria en monitoreos de calidad de agua.

1.7 Predicciones

- La señal isotópica de *L. fortunei* presentará una variación espacial la cual estará influida por el estado trófico y la heterogeneidad del sistema.
- La señal isotópica de *L. fortunei* enriquecida en nitrógeno estará asociada a efluentes urbanos.

2. METODOLOGÍA

La metodología se presenta dividida en dos secciones: el experimento en mesocosmos y el muestreo realizado en campo.

2.1. Experimento de Mesocosmos

Para determinar el origen del Carbono y Nitrógeno asimilados en los tejidos de *L. fortunei*, se utilizaron datos de los experimentos de mesocosmos desarrollados entre marzo y abril de 2018 por el proyecto “Interacción entre el mejillón invasor *Limnoperna fortunei* y la comunidad de peces nativos: efectos desde los individuos a los ecosistemas” ANII-Fondo Clemente Estable, del Dr. Iván González.

Se utilizaron datos de ocho mesocosmos, los cuales consistieron en estanques de 500 L, con agregado de rocas colonizadas por *L. fortunei* como inóculo inicial provenientes de la Laguna del Sauce y agua de los lagos artificiales de Carrasco.

2.1.1. Colecta de muestras

Para el análisis de isótopos estables se colectaron organismos de *L. fortunei* y agua para obtener materia orgánica particulada (MOP) y zooplancton (copépodos y cladóceros), como su potencial fuente de alimento. La colecta se realizó en un único muestreo el día 23 de abril, tomando réplicas en cada uno de los 8 mesocosmos (Tabla 1). Todas las muestras fueron congeladas a -20°C para su posterior procesamiento en los laboratorios del Centro Universitario Regional Este (CURE), Maldonado.

Tabla 1. Cantidad de réplicas tomadas en cada mesocosmo para el análisis de isótopos estables.

Mesocosmo	<i>L. fortunei</i>	Copépodos	Cladóceros	MOP
M2	2	2	1	1
M3	3	2	1	1
M4	4	2	1	1
M6	4	2	1	1
M7	3	2	1	1
M8	2	2	1	1
M10	3	2	1	1
M12	2	2	1	1

A su vez, se realizaron seis muestreos de agua en los ocho estanques, en los días 21 y 26 de marzo, 6, 13 y 19 de abril y 7 de mayo, para la determinación de nitrógeno y fósforo total y sus fracciones inorgánicas disueltas (Nitratos, Nitritos, Amonio, Ortofosfato) en los laboratorios del CURE, Maldonado.

2.1.2 Procesamiento de muestras

El cuerpo de los moluscos fue extraído de las valvas, secado a 60°C en estufa durante 48 horas y molido con mortero hasta obtener un polvo fino. Posteriormente, aproximadamente 1 mg de este polvo fue colocado en cápsulas de estaño, pesado en una balanza de 0,001 mg de precisión.

Para la obtención de MOP, se filtraron entre uno y dos litros de agua en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C previamente quemados a 500°C,

con un tamaño de poro efectivo $\approx 0,7\mu\text{m}$. Los filtros fueron secados a 60°C durante 24 horas y una porción fue almacenada en cápsulas de estaño para su análisis.

Para obtener la fracción de zooplancton, se filtró agua en una malla de $50\mu\text{m}$. Posteriormente el zooplancton fue clasificado con lupa estereoscópica marca Olympus en dos grandes grupos: copépodos y cladóceros; se secó a 60°C en una estufa, pesado en una balanza ($0,001\text{mg}$ de precisión) y almacenado en cápsulas de estaño para su análisis.

Todas las muestras para el análisis de isótopos fueron enviadas a Center for Stable Isotopes de la Universidad de Nuevo México, para el análisis de isótopos estables de nitrógeno (^{15}N) y carbono (^{13}C). Los análisis se realizaron en un sistema de espectrometría de masa en flujo continuo para análisis de isótopos (<https://csi.unm.edu/center-stable-isotopes>).

Los resultados son expresados a través de la anotación delta (δ). Esta representa la diferencia relativa entre las proporciones isotópicas en la muestra y en un estándar, según la ecuación: $\delta X = (R \text{ muestra} - R \text{ standard}) / R \text{ standard} * 1000$. Donde, X es el elemento en su forma más pesada y R es la razón del isótopo pesado sobre el liviano. Para nitrógeno, el valor estándar es el nitrógeno atmosférico y para el carbono el estándar utilizado es el Carbono Pee Dee Belemnite basado en un fósil marino del Cretácico (*Belemnitella americana*) (Craig, 1957).

Para el análisis de nutrientes, en los laboratorios de CURE se determinó la concentración de nitrógeno en el agua a través de la concentración de las fracciones de nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+) y nitrógeno total (NT). Se analizaron según el método de Valderrama (1981) mediante la oxidación con persulfato de potasio; el nitrato se determinó siguiendo el método de reducción por cadmio modificado (Mackereth *et al.*, 1989); los nitritos se determinaron mediante el método de reacción de Griess (Strickland & Parsons, 1972); para amonio se siguió el método de azul de indofenol (Koroleff, 1970); y para determinar el fósforo reactivo soluble (PRS) se utilizó el método de azul de molibdeno (Murphy & Riley, 1962).

2.1.3 Análisis de datos

Para determinar el origen del C y N en *L. fortunei*, se analizó la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en un total de 19 muestras de mejillones. Adicionalmente se analizaron 15 muestras de copépodos, ocho de cladóceros y nueve muestras de materia orgánica particulada de los mesocosmos (los datos completos se presentan en la Tabla A3).

Para estimar la contribución de los dos tipos de recursos alimenticios (MOP y zooplancton) se utilizaron modelos de mezcla isotópica bayesiana, mediante el paquete Análisis de isótopos estables en R (SIAR) del software de uso libre R (versión 3.5.1). El modelo permite la inclusión de firmas isotópicas y fraccionamiento junto con la incertidumbre (por ejemplo, desviación estándar) de estos valores dentro del modelo. Los factores de

fraccionamiento promedio se establecieron en $2.17 \pm 1.3\text{‰}$ y $3.78 \pm 1.7\text{‰}$ para C y N, respectivamente (Dubois *et al.*, 2007).

Se buscaron relaciones estadísticamente significativas entre los valores de isótopos estables $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en los mejillones colectados y las concentraciones de nutrientes. Para los análisis se consideró el promedio de los valores de las réplicas de isótopos estables y se repitió ese valor para las distintas concentraciones de nutrientes en un mismo estanque. Se realizaron modelos de regresión lineal tomando las variables de a pares. Se exploraron además correlaciones no lineales ajustando polinomios de grado 2 y 3. Estos análisis se realizaron utilizando el software R.

2.2. Muestreos en campo

2.2.1. Áreas de estudio

Las áreas de estudio corresponden a los ríos Negro, Uruguay, Santa Lucía y Río de la Plata interno, descritos en la sección 1.2. Estos cursos de agua drenan en las principales cuencas hidrográficas del país: Río Negro (68.400 km²), Río Uruguay (45.300 km²), el Río Santa Lucía (13.400 km²) y el Río de la Plata (3.170.000 km²) (Figura 2) (Alonso *et al.*, 2019). La elección de estas áreas se realizó en base a su relevancia como grandes cursos de agua del país, por su importancia como recurso para diversos usos por la población, así como por la presencia de molusco exótico *L. fortunei* (Brugnoli *et al.*, 2005).

En los diferentes ríos las colectas se realizaron considerando sitios de fácil acceso y con sustratos adecuados para el crecimiento del mejillón, tales como presas en embalses, puentes, muelles, etc. A su vez, se buscó que la distribución de los sitios a lo largo de los ríos representaran las zonas altas, medias y bajas de las diferentes cuencas. En la figura 3 se muestran los puntos de colecta en cada uno de los ríos, correspondiendo a un total de 24 sitios de muestreo, distribuidos cuatro en el Río Negro (RN), cuatro en el Río de la Plata (RP), cinco en Río Santa Lucía y 11 en el Río Uruguay (RU).

En el Río Negro se colectaron muestras de los embalses Baygorria (BY) y Bonete (BO); en el Río Santa Lucía se tomaron muestras en las cercanías de la toma de agua de agua de OSE en Aguas Corrientes (AC), en la represa de Canelón Grande (CG), en Paso Severino (PS) y en la Marina de Santa Lucía (MSL); en el Río de la Plata se consideró la zona interna en los puntos, Puerto de Conchillas (PC), Colonia del Sacramento (CS), Juan Lacaze (JL) y Boca del Cufre, (BC). Las colectas de estas muestras se realizaron en el marco del proyecto CSIC-UTE¹ y salidas de campo independientes durante el 2018 (Figura 1; Anexo, Tabla A1).

Complementariamente se utilizaron datos previamente colectados en el marco de los proyectos CSIC I+D² y ANII³ del Dr. Iván González. Las muestras utilizadas fueron colectadas en el Río Uruguay en los sitios Bella Unión (BU), Belén (BE), Río Arapey (RA), Arroyo Itapebí Grande (AI), Río Dayman (RD), Río Queguay (RQ), Paysandú (PY), Nuevo Berlín (NB), Fray

Bentos (FB), Las Cañas (LC), Punta Gorda (PG); en el Río Negro en Arroyo Grande (AG) y Palmar (PA); y en el Río Santa Lucía en Paso Severino (PS) y Las Brujas (LB).

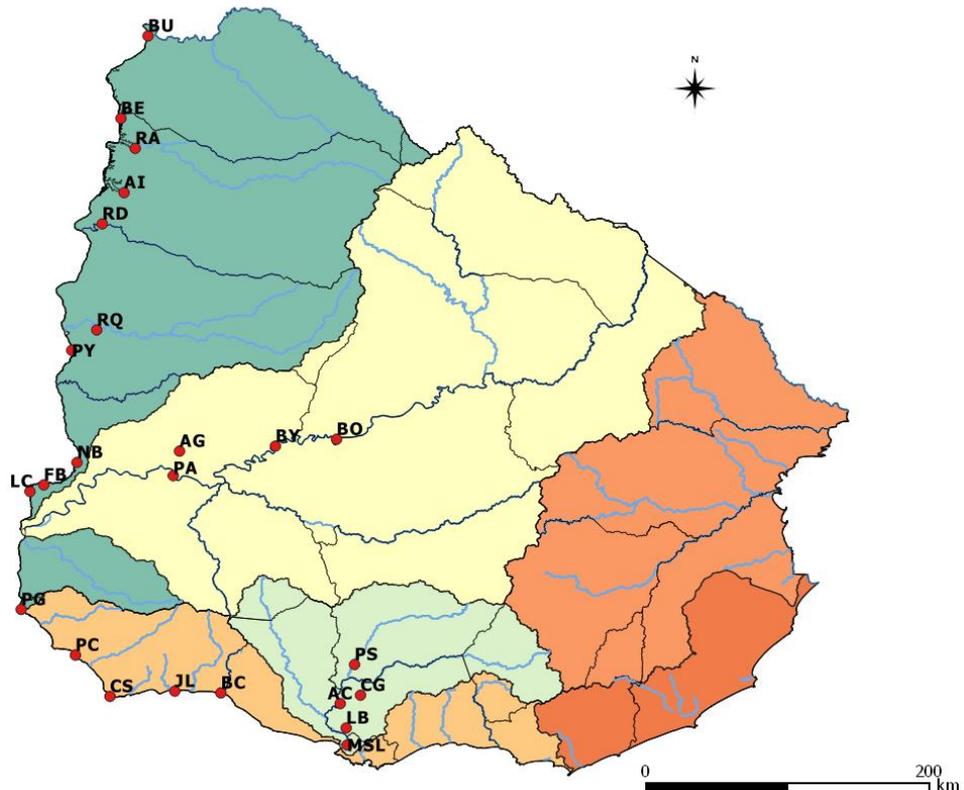


Figura 3. Sitios de colecta del mejillón *Limnoperna fortunei*: Bella Unión (BU), Belén (BE), Río Arapey (RA), Arroyo Itapebí (AI), Río Dayman (RD), Río Queguay (RQ), Paysandú (PY), Nuevo Berlín (NB), Fray Bentos (FB), Las Cañas (LC), Punta Gorda (PG), Baygorria (BY), Bonete (BO), Palmar (PA), Arroyo Grande (AG), Puerto de Conchillas (PC), Colonia del Sacramento (CS), Juan Lacaze (JL), Boca del Cufre (BC), Paso Severino (PS), Aguas Corrientes (AC), Canelón Grande (CG), Las Brujas (LB), Marina de Santa Lucía (MSL).

¹ “*Limnoperna fortunei* (mejillón dorado) en las presas y embalses del Río Negro, grado de invasión y aplicación de métodos de control”, responsable: Dr. Ernesto Brugnoli.

² “Estructura y funcionamiento de las redes tróficas de peces del Río Uruguay: caracterización y reconocimiento de principales amenazas a su integridad”, responsable: Dr. Iván González.

³ “Interacción entre el mejillón invasor *Limnoperna fortunei* y la comunidad de peces nativos: efectos desde los individuos a los ecosistemas”, responsable: Dr. Iván González

2.2.2 Colecta de muestras

Entre los meses de abril y setiembre de 2018, en los 11 puntos de muestreo (Tabla 2), se realizó la búsqueda de los organismos de *L. fortunei* asociados a sustratos consolidados (rocas, espigones) durante cinco minutos. A su vez, en cada punto de muestreo se colectó 1 litro de agua para la determinación de nitrógeno y fósforo total y sus fracciones inorgánicas disueltas (Nitratos, Nitritos, Amonio, Ortofosfato). Las muestras fueron refrigeradas, trasladadas a los laboratorios de Oceanografía y Ecología Marina (O&EM) y allí congeladas a -20°C para su posterior procesamiento.

Las datos utilizados de los proyectos mencionados anteriormente (ANII y CSIC), fueron colectados entre noviembre de 2015 y mayo de 2017 (Tabla 2), utilizando una metodología de colecta similar. Para ambos no se contó con datos de análisis de nutrientes *in situ* en los sitios de colecta de *L. fortunei*, por lo que se utilizaron datos disponibles en LATU y CARU. Las fechas de los datos de nutrientes utilizados fueron seleccionados de acuerdo a las fechas de recolección de *L. fortunei*. De esta forma, se buscó en los reportes datos de nutrientes con fechas similares a las de colecta de los mejillones en las cuenca del Río Uruguay.

Tabla 2. Resumen de los eventos de muestreo y datos analizados. Se muestra las fechas llevados a cabo, la cuenca: Río Uruguay (RU), Santa Lucía (SL), Río Negro (RN), Río de la Plata (RP); código del sitio de muestreo con la cantidad de muestreos en cada sitio (n); muestras tomadas en cada sitio: isótopos (*L. fortunei*) y análisis de nutrientes: información tomada de CARU/LATU o muestras de agua colectadas *in situ*.

Cuenca	Código sitio	Evento	Isótopos	Nutrientes
RU	FB(9), NB (8)	2015	C y N	CARU/LATU
RU	LC (5)	Junio 2015	C y N	CARU/LATU
RU	FB (11), NB (7)	Noviembre 2015	C y N	CARU/LATU
SL	LB (3)	Enero 2016	C y N	Sin Datos
RU	AI (3), RD (2), RQ (2), AG (1)	Junio 2016	C y N	Sin Datos
RU	BU (1), BE (7), PY (5), LC (4), PG (5), PA (4)	Mayo 2017	C y N	CARU/LATU
RN	BY (3), BO (2), PA (1)	Abril 2018	C y N	<i>In situ</i>
SL Y RDP	BC (1), CS (1), PC (1), JL (1), AC (1), CG (1), MSL (1), PS (2)	Setiembre 2018	C y N	<i>In situ</i>

2.2.3. Procesamiento en laboratorio

Para el análisis de nutrientes, en los laboratorios de la Sección Limnología (Facultad de Ciencias) se determinó la concentración de nitrógeno en el agua a través de la concentración de las fracciones de nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+) y nitrógeno total (NT). Las muestras colectadas se analizaron según el método de Valderrama (1981) mediante la oxidación con persulfato de potasio; el nitrato se determinó siguiendo el método de

reducción por cadmio modificado (Mackereth *et al.*, 1989); los nitritos se determinaron mediante el método de reacción de Griess (Strickland & Parsons, 1972); para amonio se siguió el método de azul de indofenol (Koroleff, 1970); y para determinar el fósforo reactivo soluble (PRS) se utilizó el método de azul de molibdeno (Murphy & Riley, 1962).

Las metodologías utilizadas por el LATU y CARU para el análisis de nutrientes se presentan en la tabla A2 del Anexo.

El procesamiento de las diferentes muestras para el análisis de isótopos se procedió de acuerdo con Jardine *et al.*, (2003). Por cada muestreo se procesó un pool 10 organismos adultos de *L. fortunei* (3 cm de longitud aproximadamente), con el fin de lograr una masa suficiente (~1 mg) para el análisis de isótopos considerando únicamente el cuerpo del mismo. El cuerpo de los moluscos fue extraído de las valvas, secado a 60°C en estufa durante 48 horas y molido con mortero hasta obtener un polvo fino.

Posteriormente, aproximadamente 1 mg de este polvo fue colocado en cápsulas de estaño, pesado en una balanza de 0,001 mg de precisión.

Todas las muestras para el análisis de isótopos fueron enviadas a la University of New Mexico-Center for Stable Isotopes, para el análisis de isótopos estables de nitrógeno (^{15}N) y carbono (^{13}C).

2.2.4. Análisis de datos

A partir de los datos de calidad de agua se determinó el estado trófico utilizando dos índices de estado trófico (IET). Para los sitios de muestreos que se caracterizan como sistemas lóticos se utilizó el índice desarrollado por Lamparelli, (2004) ($IET_{\text{ríos}}$). Para el desarrollo de este índice, su autora analizó las relaciones entre el fósforo, el nitrógeno y la concentración de algas, llegando a la ecuación que mejor representa estas relaciones. El mismo determina, en una escala de 0 a 100, seis clases de estado trófico que van desde la oligotrofia a la hipertrofia en orden creciente y relacionados con el aumento de la concentración de nutrientes y de biomasa vegetal (Tabla 3).

El IET puede calcularse mediante la utilización de parámetros como el NT, clorofila *a* y transparencia de la columna de agua, sin embargo en este trabajo se utilizó únicamente el PT, dado que por su relevancia como nutriente limitante en el ambiente que determina el crecimiento productores primarios es el parámetro utilizado por la DINAMA (MVOTMA, 2017). Para el cálculo se utilizó la ecuación: $IET_{\text{ríos}}(PT) = 10^{*}(6 - ((0,42 - 0,36 * (\ln PT)) / \ln 2)) - 20$ en donde $\ln PT$ corresponde al logaritmo neperiano del Fósforo Total expresado en $\mu\text{g L}^{-1}$.

Para los sitios que correspondían a embalses (BY ,BO, PA, CG y PS) se utilizó el Índice de Estado Trófico para embalses tropicales y subtropicales (IET_{embalses}) desarrollado por Cunha *et al.* (2013). Este índice está basado en la media geométrica de la concentración de Clo *a* y PT, proponiendolo

como un índice mejor calibrado a las condiciones de productividad de embalses de zonas tropicales y subtropicales (en comparación al propuesto por Carlson en 1977 para climas templados) y criterios más restrictivos de niveles de Clo a y PT que los propuestos por Lamparelli (2004). El $IET_{embalses}$ para PT es calculado mediante la ecuación: $IET_{embalses}(PT) = 10^{*(6-(-0,27637*(\ln PT)+1,329766)/\ln 2)}$.

Tabla 3. Rangos de estado trófico según Índice de Estado Trófico para ríos y arroyos ($IET_{ríos}$; Lamparelli, 2004) y embalses tropicales y subtropicales ($IET_{embalses}$; Cunha *et al.*, 2013).

Nivel Trófico	$IET_{ríos}$	$IET_{embalses}$	Indicador
Ultraoligotrófico	$IET \leq 47$	$IET \leq 51,1$	
Oligotrófico	$47 < IET \leq 52$	$51,1 < IET \leq 53,1$	
Mesotrófico	$52 < IET \leq 59$	$53,1 < IET \leq 55,7$	
Eutrófico	$59 < IET \leq 63$	$55,7 < IET \leq 58,1$	
Supereutrófico	$63 < IET \leq 67$	$58,1 < IET \leq 59,0$	
Hipertrófico	> 67	> 59	

Se analizaron valores de $\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$ en un total de 95 muestras de *L. fortunei*. Para explorar diferencias significativas entre sitios para los isótopos de C y N, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas *post hoc*, en particular el test de Tukey, para realizar comparaciones múltiples. Previo a estos análisis se testearon los supuestos de normalidad

y homogeneidad de varianza con test de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. El límite de significancia estadística utilizado fue 95%. Para estos análisis se utilizó el software de uso libre R (versión 3.5.1).

Para determinar el área y solapamiento del nicho isotópico de *L. fortunei* entre las diferentes cuencas se realizó un análisis de isótopos estables de elipses Bayesianas (SIBER), utilizando R (versión 3.5.1).

Se buscaron relaciones estadísticamente significativas entre los valores de los isótopos estables $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ determinados en los mejillones colectados y las concentraciones de nutrientes en sus formas de nitrógeno total (NT) y sus formas inorgánicas nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y amonios (NH_4^+), fósforo total (PT) y fosfatos (PO_4^-), además del IET. Se realizaron modelos de regresión lineal tomando las variables de a pares y se exploraron además correlaciones no lineales ajustando polinomios de grado 2 y 3. Estos análisis se realizaron utilizando el software R.

3. RESULTADOS

Los resultados se dividen en dos secciones: el experimento de mesocosmos y la caracterización del nicho isotópico de *Limnoperna fortunei* y la calidad de agua en los diferentes sistemas estudiados.

3.1. Mesocosmo

3.1.1. Nutrientes en mesocosmos

Durante los experimentos realizados en los mesocosmos, se realizaron análisis de nutrientes entre marzo y abril de 2018, con el objetivo de explorar una relación entre la concentración de nutrientes y los valores de los isótopos estables $\delta^{15}\text{N}$ en los tejidos del mejillón dorado.

Los ocho mesocosmos tuvieron una concentración promedio de NO_3^- entre 255 y 350 $\mu\text{g L}^{-1}$; el NH_4^+ presentó un amplio rango de concentración promedio entre 5 y 74 $\mu\text{g L}^{-1}$; y el NT un rango promedio entre 370 y 669 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Como se observa en la figura 4, el mesocosmo número 7 presentó en promedio las concentraciones más elevadas de nitrógeno total, nitratos y amonio. Este estanque presentó diferencias significativas en NO_3^- (ANOVA $F=3.64$; $p=0.007$) y NH_4^+ (ANOVA $F=4.22$; $p=0.005$) con respecto a los demás, pero no así para NT (ANOVA $F=1.38$; $p=0.25$). Por otro lado, el mesocosmo número 2 presentó en promedio menores concentraciones de NT y NH_4^+ .

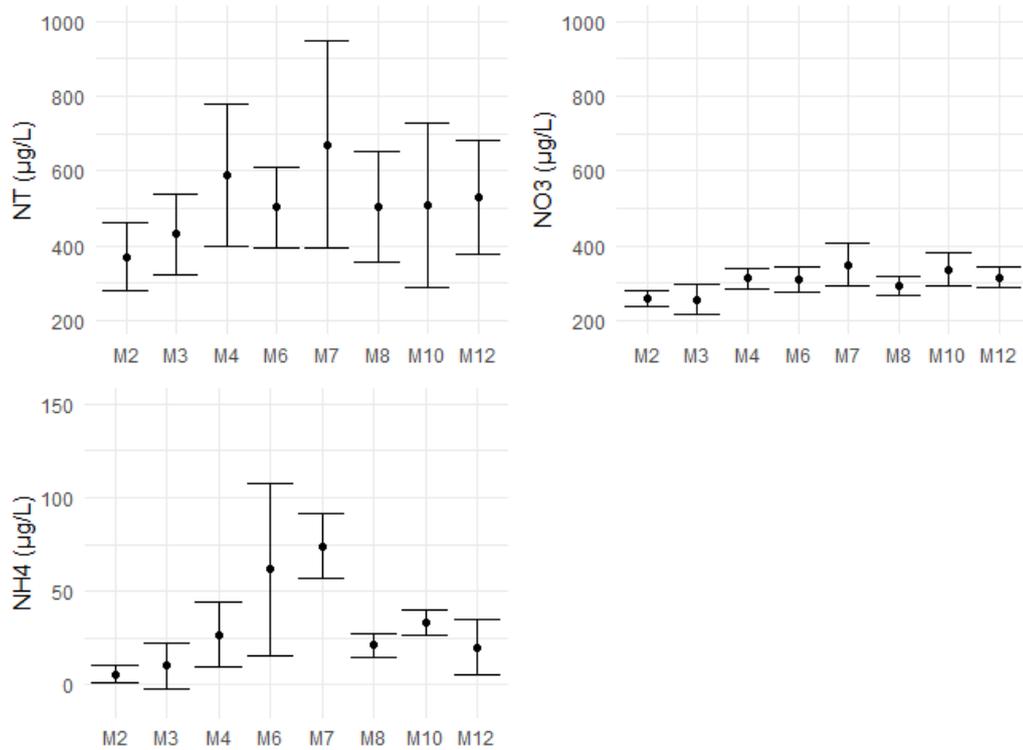


Figura 4. Concentración promedio (\pm desvío estándar) ($\mu\text{g L}^{-1}$) de nitrógeno total (NT) y sus fracciones inorgánicas nitratos (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) en los ocho mesocosmos (M2-M12) entre marzo y abril de 2018.

El PT presentó valores extremos de 48,13 y 491,94 $\mu\text{g L}^{-1}$, y el PO_4^- valores de 5,32 y 417,59 $\mu\text{g L}^{-1}$. Al igual que para el nitrógeno, el estanque número 7 presentó los máximos valores de fósforo, sin embargo, en el ANOVA no se encontró una diferencia significativa con respecto a los demás mesocosmos (ANOVA $F=0.38$; $p=0.91$).

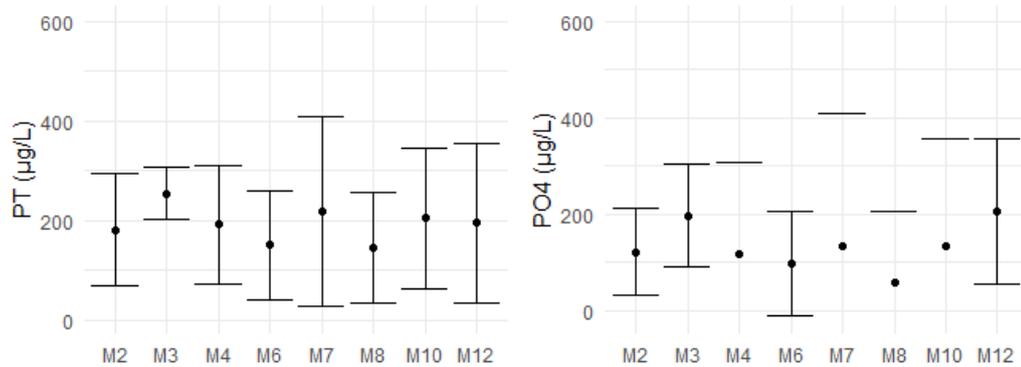


Figura 5. Concentración promedio (\pm desvío estándar) ($\mu\text{g L}^{-1}$) de fósforo total (PT) y fosfato (PO_4), en ocho mesocosmos (M2-M12) entre marzo y abril de 2018.

3.1.2. Isótopos estables en *Limnoperna fortunei*

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei* en los ocho mesocosmos muestreados presentaron valores entre $-29,5$ y $-20,78\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ y $5,22$ y $7,73\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$ (Figura 6). En el mesocosmo número 7 se obtuvieron mejillones con la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ más enriquecido, presentando diferencias significativas respecto a los demás estanques (ANOVA $F=9.389 \times 10^{28}$ $p=2 \times 10^{-16}$), mientras que el mesocosmo 10 presentó los valores más bajos de este isótopo. Considerando los valores de $\delta^{13}\text{C}$, los mesocosmos presentaron una mayor dispersión, presentando el número 7 con los mejillones más enriquecidos y el mesocosmo 2 el que presentó los valores más bajos, con una gran dispersión en la señal de este isótopo.

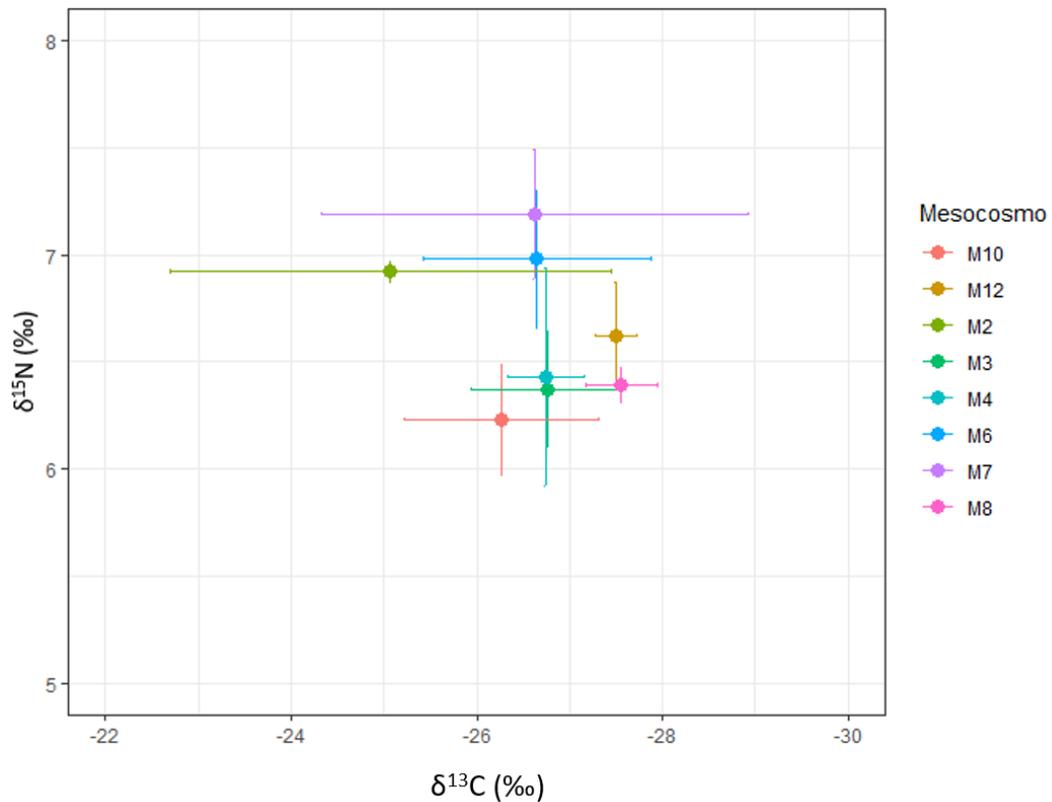


Figura 6. Diagrama de puntos de las medias y desvío estándar de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *Limnoperna fortunei* en los ocho mesocosmos.

Por otro lado, se consideraron también las señales isotópicas de los posibles recursos alimenticios de *L. fortunei* utilizando el modelo SIAR (Figura 7). Los cladóceros presentaron un promedio de $-21,50\text{‰} \pm 1,96\text{‰}$ $\delta^{13}\text{C}$ y $5,32\text{‰} \pm 1,33$, para $\delta^{15}\text{N}$. Los valores de copépodos fueron $-19,72\text{‰} \pm 1,87$ para $\delta^{13}\text{C}$ y $7,49\text{‰} \pm 2,34$ para $\delta^{15}\text{N}$; mientras que la MOP presentó valores promedio de $-22,16\text{‰} \pm 1,40$ y $6,00\text{‰} \pm 2,26$, para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente (Figura 7b).

A partir del modelo (Figura 7b) no es posible identificar cuál de estos recursos es asimilado por *L. fortunei*, ya que no se observa el enriquecimiento esperado en los valores $\delta^{15}\text{N}$ de un nivel trófico al siguiente

(entre 2-4‰). Por otro lado, el ^{13}C presenta un escaso enriquecimiento trófico entre los tejidos del consumidor y su fuente de C (0-1‰), característica que tampoco se observa entre *L. fortunei* y sus posibles recursos.

Sin embargo, a partir de la proporción de cada recurso asimilado por *L. fortunei* (Figura 7c y d), se observa que entre estas posibles presas, los cladóceros contribuyen en mayor medida a los valores isotópicos de *L. fortunei*, y en segundo lugar la MOP (>50 μm).

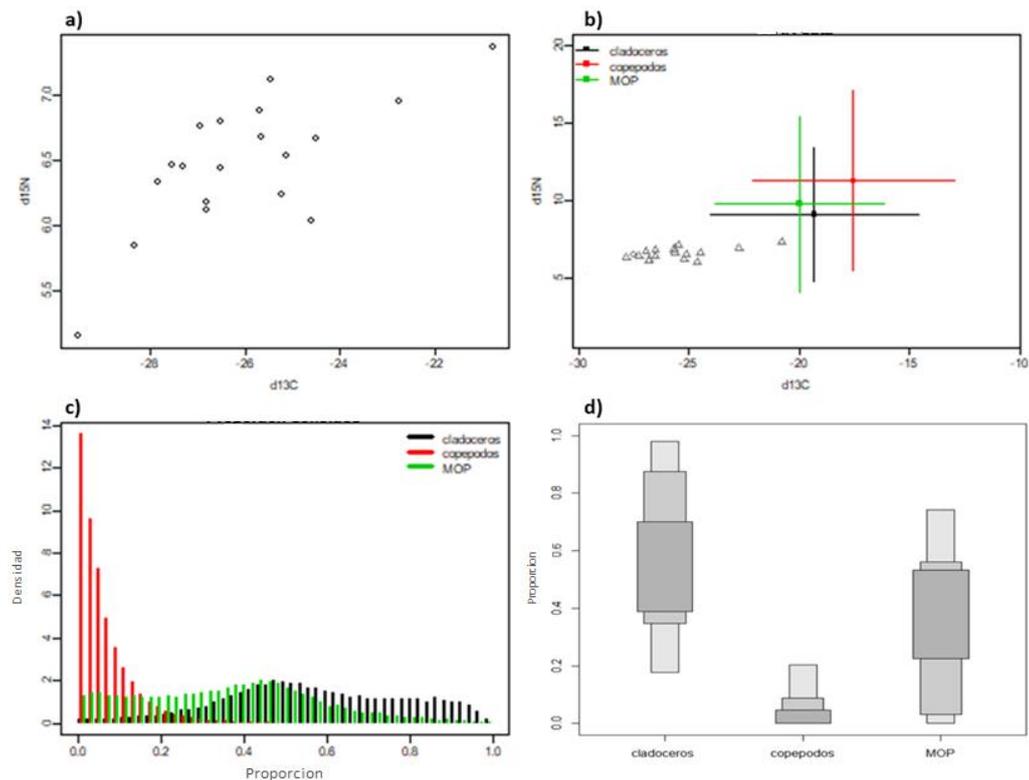


Figura 7. Resultados del modelo de mezcla Bayesiano de SIAR en los mesocosmos: a) Biplot de valores de isótopos estables de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$); b) Biplot de valores de isótopos estables de carbono y nitrógenos para *L. fortunei* y de los recursos alimenticios, copépodos, cladóceros y MOP; c) Histograma de la densidad en función de la proporción de los principales recursos alimenticios de *L. fortunei*: copépodos, cladóceros y MOP; d) Boxplot de

proporción de los recursos alimenticios. Las cajas representan los intervalos de confianza del 50,75 y 95 %, desde gris oscuro a claro, respectivamente.

3.1.3. Isótopos estables y relación con nutrientes

De los modelos de regresión lineal para la combinación de las siete variables tomadas de a pares (21 modelos), se observó correlación significativa en siete de ellos (Figura 8), presentando en todo los casos una pendiente positiva. Los mayores valores de correlación se observaron entre NT y NO_3^- ($r=0.67$; $p<0.001$), PT y PO_4^- ($r=0.92$; $p<0.001$), PT y NT ($r=0.55$; $p<0.001$) y entre los valores de los isótopos $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ ($r=0.59$; $p<0.001$). No se encontraron cambios significativos en el ajuste de los modelos no lineales por lo que se optó por retener el modelo lineal (Figura 8; Figura A1).

Para el caso del uso de los isótopos estables en *L. fortunei* como variable predictiva para los nutrientes, únicamente se observó una correlación significativa ($r=0.55$; $p<0.01$) entre el $\delta^{15}\text{N}$ y NH_4^+ en los mesocosmos (Figura 8).

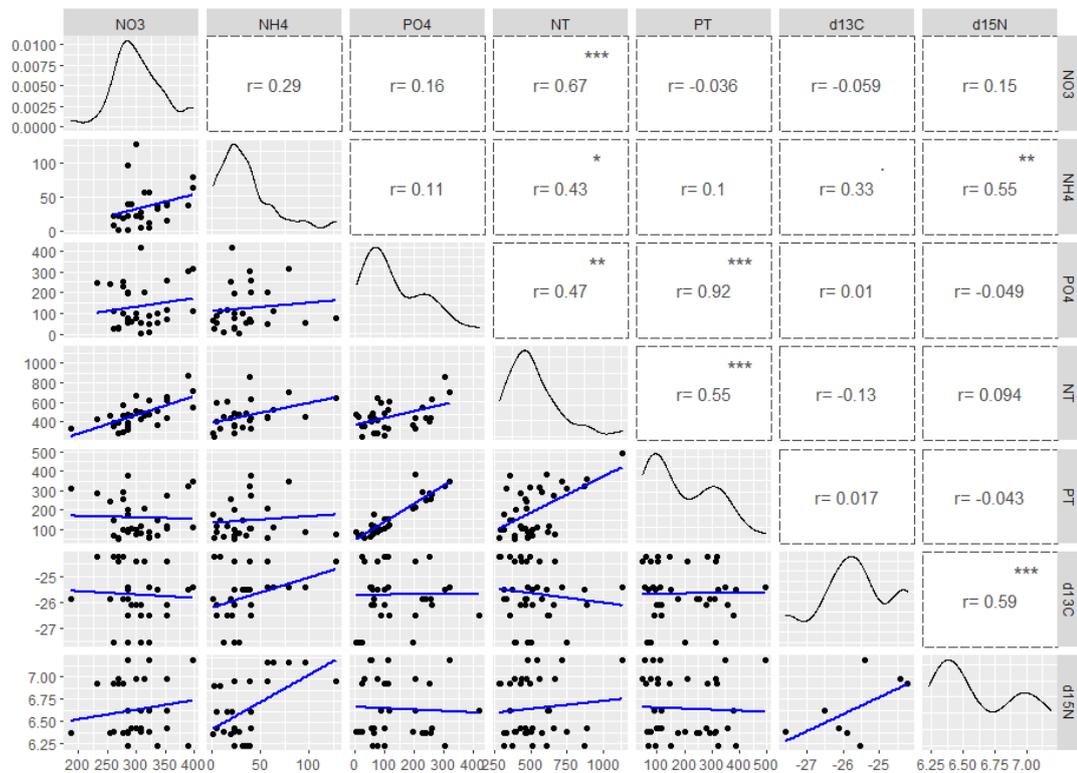


Figura 8. Modelos de regresión lineal entre variables tomadas de a pares. Las variables son el isótopo estable de Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y el de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en *L. fortunei*, y los nutrientes: nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y sus fracciones inorgánicas, nitrito (NO_3^-), amonio (NH_4^+) y fosfato (PO_4^-) en los ocho mesocosmos estudiados. La diagonal representa la distribución de los datos de cada variable, por debajo se presenta la nube de puntos en negro y el ajuste lineal en azul, y arriba de la diagonal se presenta el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos representan la significancia (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$).

3.2. Sistemas acuáticos de Uruguay

3.2.1. Nutrientes disueltos y estados tróficos

En los diferentes sistemas analizados, el NT presentó un rango de concentración entre 356,34 y 1388 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo Colonia del Sacramento (RdIPi), el sitio con el mínimo valor, y Bella Unión (BU), el sitio con el valor máximo. En la figura 9 se observa que el Río Uruguay presenta en general

mayores valores de NT, encontrándose una diferencia significativa entre los sitios de este río y los demás (ANOVA F= 13.89; p=0.0001).

El NO_3^- presentó valores extremos de 23,95 y 790 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo Bella Unión (RU) el sitio con el valor máximo, y Paso Severino (SL), el sitio con el mínimo valor. Se encontraron diferencias significativas entre el RU con respecto a los demás ríos (ANOVA F=21.78; p=1.54x10⁻⁵).

El rango de valores de NO_2^- en los sitios estudiados fue entre 4,1 y 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo el embalse Palmar (RN) el sitio con el mínimo valor y Las Cañas (RU) el sitio que presentó el máximo valor. Se encontraron diferencias significativas entre el RU con respecto a los demás ríos (ANOVA F= 85.46; p=3.06x10⁻⁹).

El NH_4^+ fue no detectable en las estaciones BY, PA (RN), PC, BC, MS (RdIPi) y PS (SL). Los valores registrados en las demás estaciones presentaron un rango entre 7,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ en el embalse Bonete (RN) y 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ en Bella Unión (RU). Se encontraron diferencias significativas entre las estaciones del RU con respecto a los demás ríos (ANOVA F=9.21; p=0.0012).

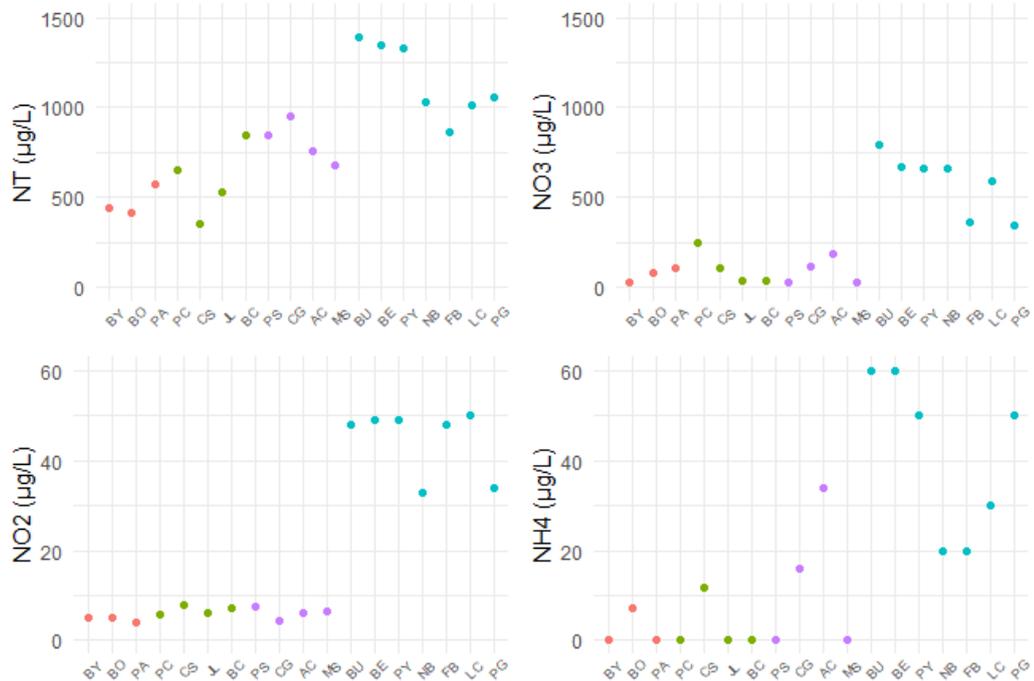


Figura 9. Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) de nitrógeno total (NT) y sus fracciones inorgánicas nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y amonio (NH_4^+), para las estaciones muestreadas en Río Negro (rojo), Río de la Plata (verde), Río Santa Lucía (violeta), Río Uruguay (azul). Las estaciones corresponden a: embalse Baygorria (BY), Bonete (BO), Palmar (PA), Puerto Conchillas (PC), Colonia del Sacramento (CS), Juan Lacaze (JL), Boca del Cufre (BC), Paso Severino (PS), Canelón Grande (CG), Aguas Corrientes (AC), Marina de Santa Lucía (MS), Bella Unión (BU), Belén (BE), Paysandú (PY), Nuevo Berlín (NB), Fray Bentos (FB), Las Cañas (LC), Punta Gorda (PG).

El PT presentó valores extremos de 54,59 y 556,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, siendo el embalse Baygorria (RN), el sitio con el mínimo valor, y el embalse de Canelón Grande (SL), el sitio con el valor máximo (Figura 10). El Río Santa Lucía presentó en general valores mayores de PT, encontrándose una diferencia significativa entre este río con respecto a los otros dos sistemas (ANOVA $F=19.65$; $p=2.75 \times 10^{-5}$).

Para el caso del PO_4^- se registró un rango de valores entre 10,84 y 470,95 $\mu\text{g L}^{-1}$, en Baygorria (RN) y en Canelón Grande (SL), respectivamente.

Mientras que en el RU solo se contó con datos para la estación Las Cañas. Al igual que para el PT, se encontraron diferencias significativas entre el Río Santa Lucía con respecto al RN y RdIP_i (ANOVA F=7.65; p= 0.0097).

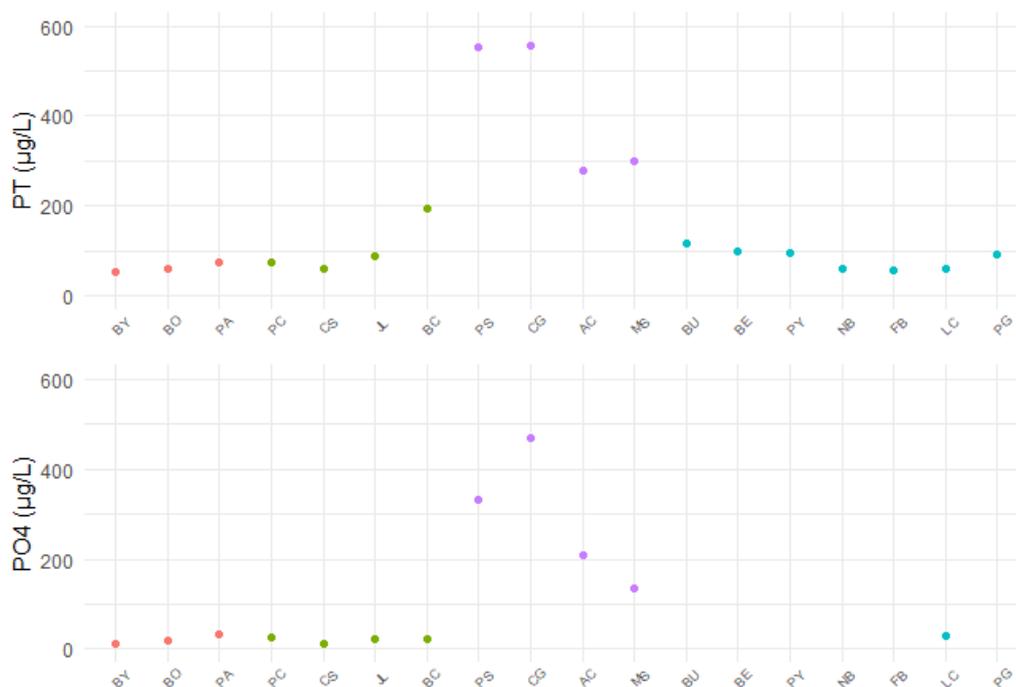


Figura 10. Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) de fósforo total (PT) y fosfato (PO_4^-) para las estaciones muestreadas durante el año 2018 en cada cuenca: Río Negro (rojo), Río de la Plata (verde), Río Santa Lucía (violeta), Río Uruguay (azul). Las estaciones corresponden a: embalse Baygorria (BY), Bonete (BO), Palmar (PA), Puerto Conchillas (PC), Colonia del Sacramento (CS), Juan Lacaze (JL), Boca del Cufré (BC), Paso Severino (PS), Canelón Grande (CG), Aguas Corrientes (AC), Marina de Santa Lucía (MS), Bella Unión (BU), Belén (BE), Paysandú (PY), Nuevo Berlín (NB), Fray Bentos (FB), Las Cañas (LC), Punta Gorda (PG).

3.2.2 Índices de estado trófico (IET)

A partir de los datos de calidad de agua se calculó el índice de estado trófico de Lamparelli, (2004) para los sitios correspondientes a ríos y el índice desarrollado por Cunha *et al.* (2013) para los sitios ubicados en embalses. Los valores de ambos IET ($\text{IET}_{\text{ríos}}$, $\text{IET}_{\text{embalses}}$) calculados en ambos casos

según la concentración de PT se presentan en la Figura 11. Según el $IET_{\text{ríos}}$, todas las estaciones del Río Uruguay presentaron un estado mesotrófico, al igual que las estaciones del Río de la Plata interno, con excepción de BC que presentó un estado eutrófico. Para el Río Santa Lucía, las estaciones MS y AC presentaron los mayores valores de $IET_{\text{ríos}}$ con un nivel trófico supereutrófico. Para los embalses, el IET_{embalses} en los sitios PS y CG del Río Santa Lucía indicó condiciones de hipereutrofia y en el Río Negro los sitios BY, BO y PA presentaron condiciones de eutrofia.

La tabla A5 (Anexo) resume los diferentes estados tróficos determinados para las estaciones de muestreo según los índices utilizados.

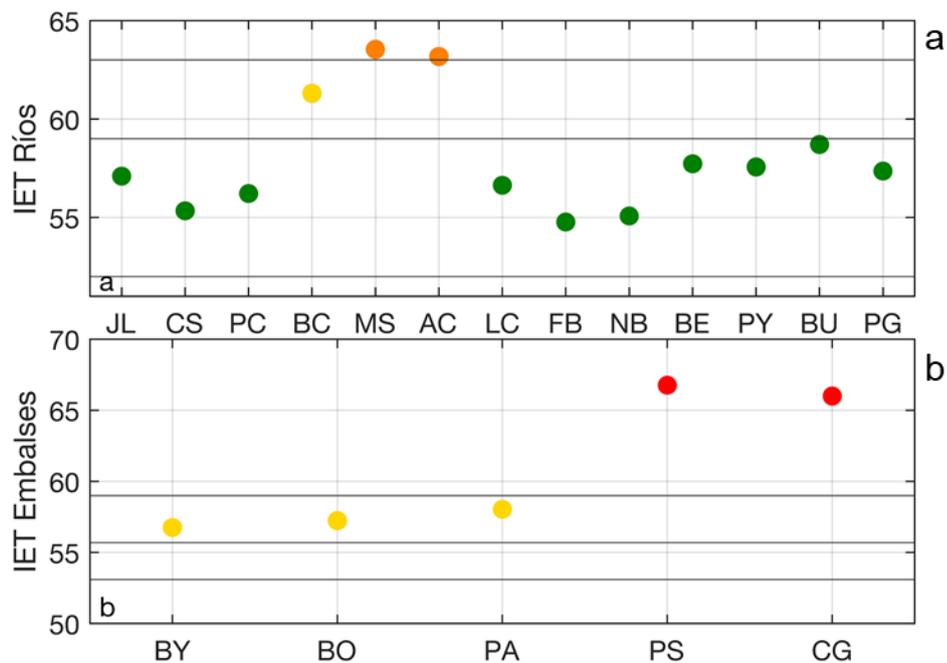


Figura 11. Valores del Índice de Estado Trófico (IET) calculado en función de la concentración de Fósforo Total (PT) en cada estación de muestreo. a) IET desarrollado para sistemas lóticos por Lamparelli, (2004) en las estaciones Juan Lacaze (JL), Colonia del Sacramento (CS), Puerto Conchillas (PC), Boca del Cufré (BC), Marina de Santa Lucía (MS), Aguas Corrientes (AC), Las Cañas (LC), Fray Bentos (FB), Nuevo Berlín (NB), Belén (BE), Paysandú (PY), Bella Unión (BU),

Punta Gorda (PG). Niveles tróficos: mesotrófico (verde), eutrófico (amarillo) y supereutrófico (naranja); b) IET desarrollado para embalses tropicales y subtropicales por Cunha *et al.*, (2013) en las estaciones Baygorria (BY), Bonete (BO), Palmar (PA), Paso Severino (PS) y Canelón Grande (CG). Niveles tróficos: eutrófico (amarillo), hipereutrofico (rojo).

3.2.3 Isótopos y nicho isotópico de *Limnoperna fortunei*

Considerando la media y desvío estándar de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en *Limnoperna fortunei* para cada sistema acuático analizado, la figura 14 muestra una diferenciación espacial para las señales isotópicas identificadas en los sistemas acuáticos analizados.

Los ANOVA realizados para los diferentes sitios de muestreo para el Río Uruguay (2014 y 2015), mostraron que en Playa Ubici los valores de ambos isótopos no presentaron diferencias significativas (ANOVA $F=1.32$; $p=0.29$, $\delta^{15}\text{N}$; ANOVA $F=0.03$; $p=0.86$, $\delta^{13}\text{C}$). En Nuevo Berlín los valores de $\delta^{15}\text{N}$ presentaron diferencias significativas (ANOVA $F=7.55$; $p=0.01$) pero no así los de $\delta^{13}\text{C}$ (ANOVA $F=1.09$; $p=0.31$). Al no presentar diferencias significativas, los datos de Playa Ubici de ambos años fueron promediados.

El Río Santa Lucía presentó en promedio valores más enriquecidos de $\delta^{15}\text{N}$ ($13,23\text{‰} \pm 0,95$), presentando diferencias significativas con los demás sistemas (ANOVA $F=24.38$; $p=1.23 \times 10^{-11}$) (Figura 12). Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ presentaron diferencias significativas en el Río Negro con respecto al Río Uruguay y el Río Santa Lucía (ANOVA $F=13.49$; $p=2.4 \times 10^{-7}$), presentando el Río Negro en promedio el valor más alto para este isótopo ($-23,38\text{‰} \pm 0,63$).

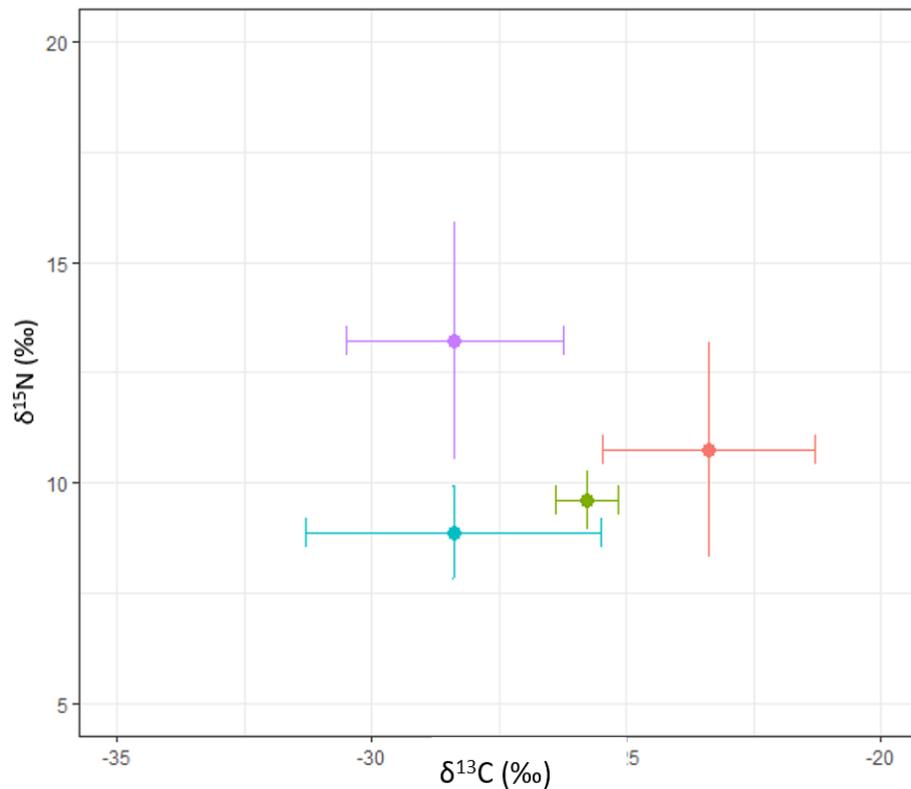


Figura 12. Diagrama de puntos de las medias y desvío estándar de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *Limnoperna fortunei* en los sistemas acuáticos considerados: Río Negro (rojo), Río de la Plata (verde), río Santa Lucía (violeta), Río Uruguay (celeste).

El $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei* presentó un rango de valores entre -33,98 y -21,09‰, mientras que para $\delta^{15}\text{N}$ se obtuvo un amplio rango de valores entre 5,50 y 17,80‰ (Figura 13).

En el Río Negro los valores de $\delta^{13}\text{C}$ presentaron un rango entre -29,12 y -21,09‰. La localidad de Arroyo Grande, en el departamento de Río Negro, presentó el mínimo valor, siendo significativamente diferente con los otros tres puntos de muestreo sobre este río (ANOVA $F=13.76$; $p=0.002$), encontrándose más próximo a los puntos correspondientes al Río Uruguay (Figura 13). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ presentaron un rango entre 7,45 y 13,58‰,

siendo Palmar la localidad con mayor valor, presentando diferencias significativas con respecto a los otros sitios de este sistema acuático (ANOVA $F=10.73$; $p=0.005$).

En el Río de la Plata los valores de $\delta^{13}\text{C}$ mostraron un rango entre $-25,0$ y $-26,4\text{‰}$, y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre $9,1$ y $10,5\text{‰}$, siendo Juan Lacaze el sitio con el máximo valor. En la figura 13 se observa que las cuatro estaciones de este sistema se agrupan con una señal isotópica similar.

Por otro lado, el Río Uruguay presentó una baja dispersión en los valores de $\delta^{15}\text{N}$, mientras que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ muestran una gran dispersión. En particular para $\delta^{13}\text{C}$ se registró un amplio rango de valores entre $-33,98$ y $-21,75\text{‰}$. En el caso de $\delta^{15}\text{N}$ en el Río Uruguay, se registraron valores extremos de $5,78$ y $11,26\text{‰}$, siendo Las Cañas el sitio con mayor valor. Se encontraron diferencias significativas entre Punta Gorda y Las Cañas con el Río Arapey y con Fray Bentos (ANOVA $F=3.02$; $p=0.0024$).

En el Río Santa Lucía los valores de $\delta^{13}\text{C}$ presentaron un rango entre $-32,60$ y $-25,80\text{‰}$, siendo la Marina de Santa Lucía el sitio con el máximo valor. La Marina de Santa Lucía y Paso Severino se diferenciaron significativamente de los demás puntos sobre este río (ANOVA $F=47.67$; $p=0.004$). Para el isótopo de $\delta^{15}\text{N}$ las estaciones de este río presentaron valores entre $11,2$ y $17,8\text{‰}$, siendo Paso Severino la localidad con el valor de $\delta^{15}\text{N}$ más enriquecido, presentando diferencias significativas (ANOVA $F=104.3$; $p=0.001$) con el resto de los puntos de esta cuenca.

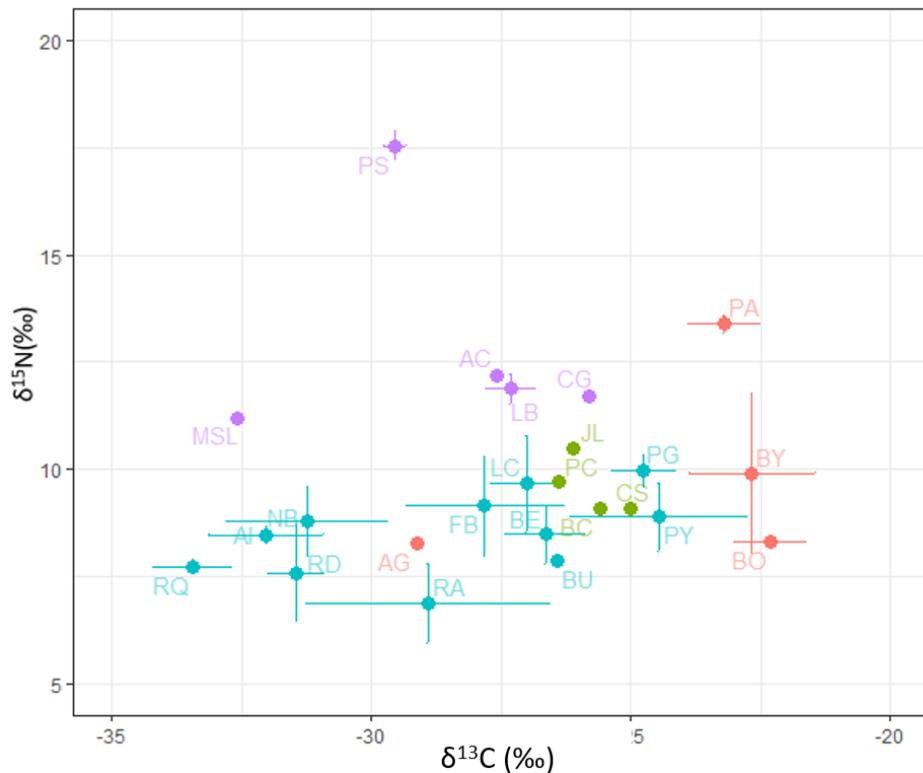


Figura 13. Diagrama de puntos de la media y error estándar de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de *Limnoperna fortunei* para cada localidad en los diferentes sistemas de agua dulce Río Negro (rojo), Río de la Plata (verde), Río Santa Lucía (violeta), Río Uruguay (celeste). Ver códigos de sitios de muestreo en Tabla A1 del Anexo.

Considerando el análisis de elipses Bayesianas de *L. fortunei* realizada para determinar el nicho isotópico de la especie, las áreas de todos los sistemas analizados mostraron solapamiento (Figura 14, Tabla 4). El Río Santa Lucía presentó una amplitud de nicho mayor con respecto a los demás ríos con un área de $121,36\text{‰}^2$ (Tabla 4), superponiéndose un 31,85% de su área con el Río Uruguay, un 10,81% con el Río Negro y 6,93% con el Río de la Plata. Por otro lado, el RdIP_i presentó la elipse con el área más reducida ($8,41\text{‰}^2$), superponiéndose completamente dentro de las elipses bayesianas del Río Uruguay y Santa Lucía. A pesar que en la Figura 14 parecería no existir solapamiento entre el Río de la Plata y el Río Negro,

según los análisis, este último se superpone en un 4,89% del área. Por su parte, el Río Negro presentó una elipse de área 32,79‰², con un solapamiento del 40% de área por el Río Santa Lucía. Por último, el Río Uruguay presentó una elipse de área 59,28‰², quedando un 65% de su área superpuesta por el Río Santa Lucía.

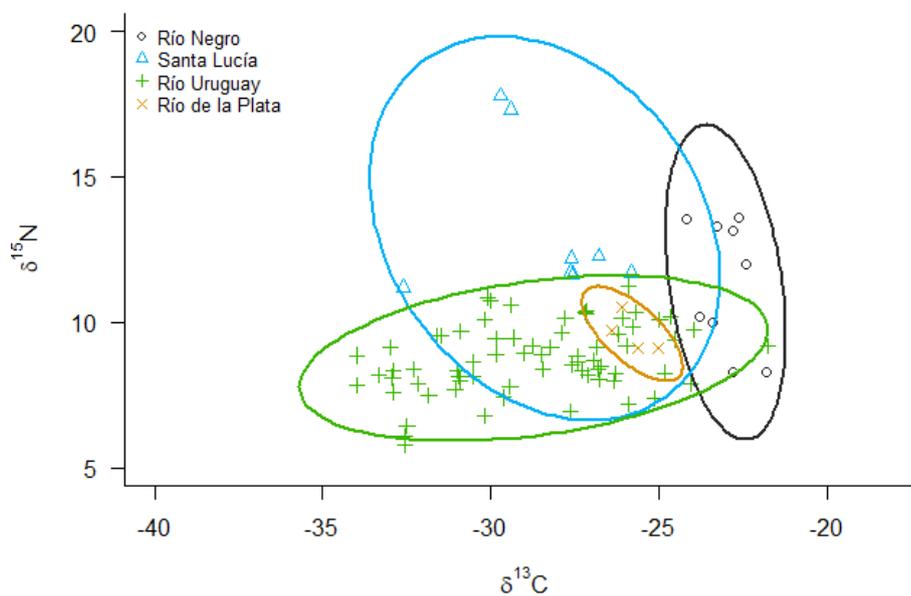


Figura 14. Áreas estándar de elipses bayesianas calculado con SIBER a partir de los valores isotópicos de *Limnoperna fortunei* en distintos sistemas acuáticos de Uruguay.

Tabla 4. Porcentaje de superficie de superposición de las elipses bayesianas de nicho trófico. Cada cuadro representa el porcentaje de superposición del sitio ubicado en la columna contenido dentro de la fila. En la diagonal (recuadros grises) se muestra el valor del área para cada sistema. RN: Río Negro, SL: Río Santa Lucía, RU: Río Uruguay, RP: Río de la Plata interno.

	RN	SL	RU	RdIP _i
RN	32,79	10,81	13,78	4,89
SL	40,02	121,36	65,21	100,00
RU	24,91	31,85	59,28	100,00
RP	1,25	6,93	14,18	8,41

3.2.4 Valores isotópicos y su relación con nutrientes.

De los modelos de regresión lineal para la combinación de las ocho variables tomadas de a pares (28 modelos), se observó una correlación significativa en 11 de ellos (Figura 15), presentando en todo los casos pendientes positivas. Entre las concentraciones de nutrientes se encontraron correlaciones significativas entre el PT y PO_4^- ($r=0.95$; $p<0.001$), NO_3^- y NO_2^- ($r=0.89$; $p<0.001$), NH_4^+ y NO_2^- ($r=0.82$; $p<0.001$), NH_4^+ y NO_3^- ($r=0.81$; $p<0.001$), NT y NO_2^- ($r=0.8$; $p<0.001$), NT y NO_3^- ($r=0.83$; $p<0.001$), NT y NH_4^+ ($r=0.83$; $p<0.001$), NT y PO_4^- ($r=0.77$; $p<0.01$).

Considerando la búsqueda de una relación entre los valores de isótopos estables en *L. fortunei* y las concentraciones de nutrientes del Río Negro, Río Santa Lucía, Río de la Plata y Río Uruguay, se observó una correlación significativa entre el isótopo $\delta^{15}\text{N}$ y el PT ($r=0.7$; $p<0.001$), entre $\delta^{15}\text{N}$ y PO_4^-

($r=0.61$; $p<0.05$) y entre $\delta^{15}\text{N}$ y NO_3^- ($r=0.52$; $p<0.05$) (Figura 15). En este caso también se exploraron relaciones no lineales, pero se retuvo el modelo lineal ya que no hubo cambios en la significancia estadística al realizar ajuste no lineal (Figura A2; A3 en ANEXO).

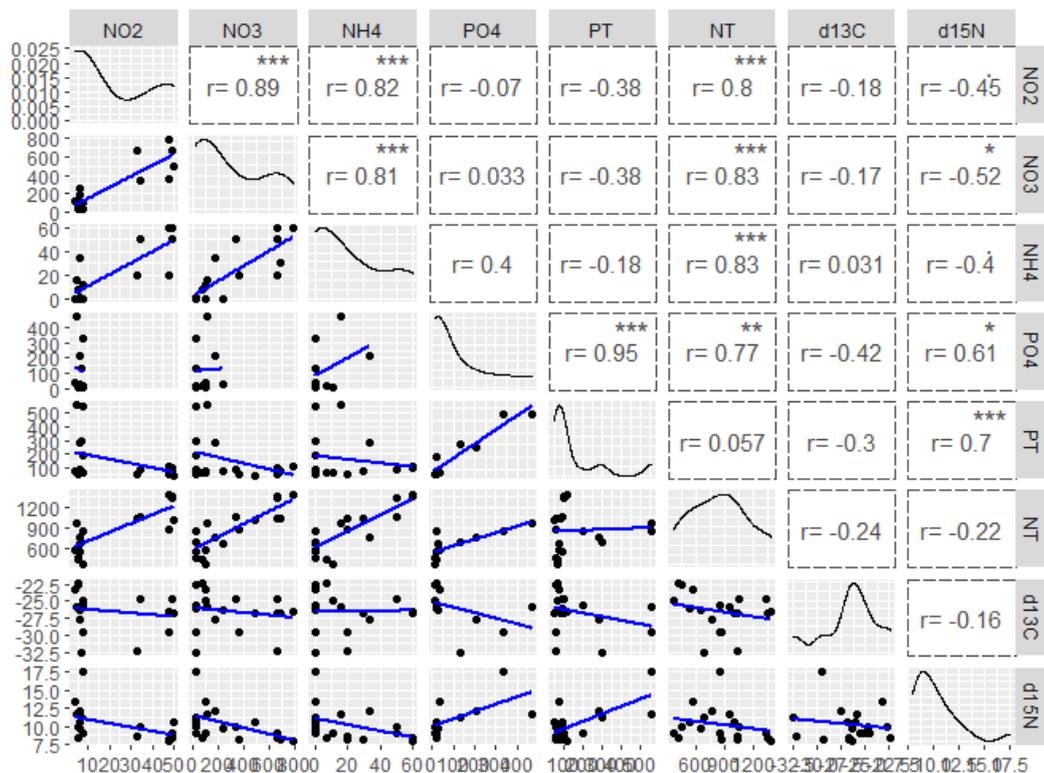


Figura 15. Modelos de regresión lineal entre variables tomadas de a pares. Las variables son el isótopo estable de Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y el de Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) en *L. fortunei*, y los nutrientes: nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y sus fracciones inorgánicas nitrato (NO_2^-), nitrito (NO_3^-), amonio (NH_4^+) y fosfato (PO_4^-) en los ríos Negro, Santa Lucía, Río de la Plata y Río Uruguay. La diagonal representa la distribución de los datos de cada variable, por debajo se presenta la nube de puntos en negro y el ajuste lineal en azul, y arriba se presenta el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos representan la significancia (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$).

Por otro lado, se ajustó un modelo de regresión lineal entre los valores de isótopos estables de *L. fortunei* y los $\text{IET}_{\text{ríos}}$ y $\text{IET}_{\text{embalses}}$ (Figura 16). Se

encontró una correlación con pendiente positiva y estadísticamente significativa entre el IET y el isótopo $\delta^{15}\text{N}$ ($y=0,1014x + 47,368$), mientras que con $\delta^{13}\text{C}$ la pendiente es negativa pero no mostró significancia.

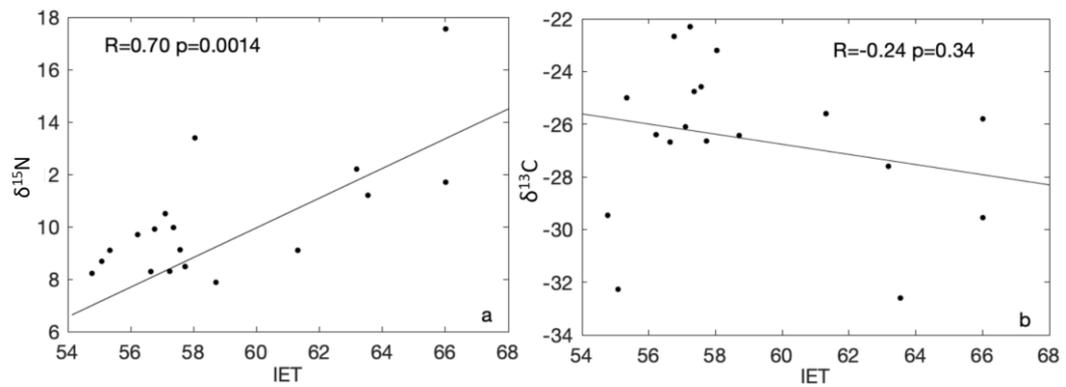


Figura 16. Diagrama de puntos entre los isótopos estables de Nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) y Carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y el valor del Índice de Estado Trófico (IET) según la concentración de PT. Se presenta el ajuste del modelo de regresión lineal, el R y p-valor.

4. DISCUSIÓN

Se analizó la variación en la señal isotópica del molusco invasor *Limnoperna fortunei* con el objetivo de explorar su relación con la calidad de agua en sistemas de agua dulce de Uruguay.

4.1 Mesocosmos

Limnoperna fortunei es un organismo filtrador, y al igual que la gran mayoría de los bivalvos, se alimenta de partículas de material orgánico suspendidas en el agua (Sylvester *et al.*, 2005). Rojas Molina *et al.* (2012) mediante el análisis de contenido estomacal, tanto en experimentos de mesocosmos como en el ambiente natural del Río Paraná, describieron que este mejillón se alimenta tanto de materia animal como vegetal, encontrando que los organismos zooplanctónicos ampliamente consumidos por *L. fortunei* son principalmente rotíferos, constituyendo una parte importante del volumen total de su dieta.

Sin embargo, algunos autores proponen que aunque *L. fortunei* puede consumir organismos de mayor tamaño, este mejillón se alimenta principalmente de partículas de pequeño tamaño $<100\ \mu\text{m}$ (Sylvester *et al.*, 2005; Cataldo *et al.*, 2008). En este sentido, Frau *et al.* (2015) plantean que a pesar que los rotíferos son un alimento seleccionado por el mejillón dorado por su alta calidad nutricional y una movilidad relativamente baja, su presencia no afecta la selectividad de alimentación de casi todos los grupos de fitoplancton.

Durante el presente estudio, en los experimentos de mesocosmos se consideraron como posibles fuentes de alimentación la materia orgánica particulada y zooplancton, en particular cladóceros y copépodos, sin embargo, a partir del modelo de mezcla Bayesiano (Figura 7) no fue posible identificar cuál de los recursos analizados era asimilado por *L. fortunei* durante los 30 días de incubación.

Esto podría atribuirse por un lado a que en el análisis de isótopos estables de posibles recursos alimenticios en los mesocosmos no fue considerado el grupo Rotifera, perdiendo de esta forma la señal isotópica de una fuente de alimento del mejillón, y por otro lado las diferentes tasas de recambio de los tejidos. Desde el punto de vista isotópico, un tejido con una tasa de recambio alta podría detectar mejor el cambio a corto plazo, mientras que los tejidos con una tasa de recambio más baja son utilizados para la estimación de cambios a largo plazo en el medio ambiente (Gustafson *et al.*, 2007).

Diversos estudios han demostrado que los bivalvos filtradores presentan diferentes tasas de recambio tisular (Raikow & Hamilton, 2001; Gustafson *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2017). Por ejemplo, las glándulas digestivas y órganos del estómago presentan tasas de incorporación de nutrientes relativamente altas, entre 70 y 80 días, mientras que las tasas de recambio del músculo son relativamente bajas, aproximadamente 357 días (Gustafson *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2017). Otros estudios en el mejillón marino *Mytilus edulis*, describieron una tasa de recambio del cuerpo

completo de 333 días (Hawkins, 1985; Raikow & Hamilton, 2001), tejidos que fueron utilizados en este estudio.

Si bien este tipo de experimentos han sido realizados en otros bivalvos, hasta el momento no hay datos publicados para *L. fortunei*. Considerando el tiempo que insumieron nuestros experimentos (30 días), y la relativamente baja tasa de recambio de tejidos del cuerpo completo en otros mejillones, es posible que los mejillones analizados en el experimento no reflejan en su firma isotópica los recursos alimenticios presentes en los mesocosmos, sino que podrían estar reflejando la señal isotópica del alimento asimilado en su ambiente de origen (Laguna del Sauce).

Considerando la relación entre las señales isotópicas de *L. fortunei* y los nutrientes en los diferentes estanques se observó una tendencia con pendiente positiva, en la cual el enriquecimiento de los mejillones en $\delta^{15}\text{N}$ estuvo acompañado por un aumento en las concentraciones de nutrientes (Figura 8). Sin embargo, esta correlación no fue estadísticamente significativa. Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente, el tiempo durante el cual se desarrolló el experimento puede no haber sido suficiente para observar un cambio significativo en la firma isotópica de *L. fortunei* con respecto a la variación de los nutrientes en los estanques.

4.2 Calidad de agua en los principales ríos

La determinación de la calidad de agua mediante el uso de métodos tradicionales como el análisis de nutrientes y la determinación de índices de estado trófico, evidenció condiciones que oscilaron entre mesotrofia e hipertrofia según la concentración de PT en los sitios de muestreo analizados. Estos resultados concuerdan con estudios previos para los sistemas analizados (ej. Conde *et al.*, 2002; Chalar *et al.*, 2006; Aubriot *et al.*, 2017).

En particular, la caracterización química en el **Río Santa Lucía** mostró altos valores de nutrientes y estados de supereutrofia e hipertrofia en todos los sitios según los índice de estado trófico de Lamparelli (IET_{ríos}) y el de Cunha *et al.* (2014) (IET_{embalses}) según las concentraciones de PT. Estos resultados están de acuerdo con diversos estudios que han demostrado un progresivo deterioro de la calidad de sus aguas, principalmente asociado a la influencia del uso del suelo en la cuenca (Chalar *et al.*, 2013; Aubriot *et al.*, 2017, Delbene, 2018).

En el **Río Negro**, según el índice de estado trófico desarrollado para embalses, los tres embalses (BY, BO y PA) presentaron condiciones de eutrofia. En particular, el embalse PA presentó los valores más elevados de NO₃, NT, PT y PO₄ en comparación con BO y BY, características similares observadas en estudios previos (Chalar *et al.*, 2012; MVOTMA, 2018a). En este sentido, diversos estudios realizados en los embalses en cadena del Río Negro destacan que la carga de nutrientes existente,

sumada al mayor tiempo de residencia del agua, es el principal factor que desencadena el desarrollo de cianobacterias y el consecuente deterioro de la calidad de agua en dichos sistemas (Chalar *et al.*, 2012; 2015; Arocena *et al.*, 2018).

En cuanto a la determinación de calidad de agua en las cuatro estaciones del **Río de la Plata** interno, según la clasificación de IET_{ríos} la mayoría de las estaciones presentaron condiciones de mesotrofia, mientras que la estación Boca del Cufre (BC) fue la excepción con un estado de eutrofia. Durante los últimos 20 años, diversos estudios han evidenciado que la calidad de agua en el Río de la Plata ha empeorado (ej. Gomez-Erache *et al.* 2001; Nagy *et al.*, 2002; 2014; Aubriot *et al.*, 2020). El estuario ha mostrado síntomas de eutrofización causados por la expansión de la agricultura, la contaminación de fuentes puntuales debido a la creciente urbanización e industrialización y la variabilidad climática (Nagy *et al.*, 2002; 2014; Brugnoli *et al.*, 2019; Muniz *et al.*, 2019). Entre estos síntomas, se destaca la mayor frecuencia de floraciones de cianobacterias tóxicas que se encuentran a lo largo de la costa uruguaya del Río de la Plata (De León & Yunes, 2001; Nagy *et al.*, 2002, Bonilla *et al.*, 2015). Recientemente, durante el verano de 2019, esta situación se agravó registrándose la floración de cianobacterias más intensa de los últimos 20 años (Kruk *et al.*, 2019; Aubriot *et al.*, 2020).

Las estaciones del **Río Uruguay** presentaron condiciones de mesotrofia según el Índice de estado trófico de Lamparelli. Los sitios aguas arriba de

la represa Salto Grande (BU y BE) presentaron una baja o mala calidad de agua, con valores de nutrientes más elevados. La cuenca del Río Uruguay es la de mayor extensión del país ya que casi el 65% del territorio uruguayo vierte sus aguas a este río, considerando también los aportes de la cuenca del Río Negro (Achkar *et al.*, 2013). Las principales alteraciones en la cuenca se deben a la expansión agrícola con un estilo intensivo (arroz irrigado, trigo y soja) y en menor proporción, a la cría de ganado, suinos y aves (Chalar, 2006; Achkar *et al.*, 2013). En particular, hacia el norte de la cuenca, en el departamento de Artigas, se ha intensificado la expansión del área cultivada con arroz y de caña de azúcar, sustentada en el uso de fertilizantes y plaguicidas que generan problemas de contaminación de suelos y aguas (Achkar *et al.*, 2013).

El estado trófico es una propiedad importante relacionada con el funcionamiento del ecosistema, y por lo tanto la aplicación de índices de estado trófico son una parte importante de los estudios de calidad del agua (Cunha *et al.*, 2013). El IET de Carlson (1977) ha sido uno de los más utilizados en estudios de calidad de agua, el cual fue propuesto para lagos templados considerando las relaciones empíricas entre Chl *a*, PT y profundidad del disco de Secchi. Sin embargo, las relaciones y las ecuaciones para calcular este índice deben adaptarse cuando se aplican a sistemas acuáticos con diferentes características, de lo contrario, pueden dar lugar a conceptos erróneos al realizar una evaluación del estado trófico.

Los índices aplicados en este trabajo, además de ser los utilizados por el MVOTMA en sus monitoreos, han sido diseñados en la región contemplando una adaptación para ambientes subtropicales. En particular, el índice propuesto por Cunha *et al.* (2013) para embalses es una versión calibrada del índice Carlson para evitar una posible sobrestimación de la condición de enriquecimiento de embalses tropicales y subtropicales.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que los índices utilizados fueron calibrados para ecosistemas acuáticos en San Pablo, Brasil, por lo que sería de gran utilidad contemplar adaptaciones considerando características particulares de los cursos de agua en nuestro país. En este sentido, Arocena *et al.* (2008) desarrollaron un IET específico para el río Santa Lucía, el ICA-SL (Índice de calidad de agua para la cuenca del río Santa Lucía); sin embargo en este trabajo no fue utilizado debido a que Delbene (2018) encontró resultados similares entre lo resultados de este índice y el de Lamparelli para la cuenca.

Por otro lado, la clasificación trófica en algunas estaciones del Río de la Plata deben ser consideradas con precaución ya que los índices desarrollados para sistemas de agua dulce y aplicados en este sistema esturino, pueden presentar limitaciones en su uso para ambientes estuariales (Brugnoli *et al.*, 2019).

4.3 Señal isotópica de *L. fortunei* en cursos de agua

Este trabajo aborda una primera aproximación a la comprensión de las diferencias en las señales isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei* en los principales cursos de agua de cuatro cuencas hidrográficas de Uruguay.

A nivel general, se evidenciaron diferencias en las señales de isótopos estables de este mejillón en los sistemas estudiados, presentando algunas variaciones en el nicho isotópico.

El análisis de isótopos estables es útil para trazar las vías del flujo de energía a través de redes tróficas, basado en el supuesto de que los tejidos corporales del consumidor reflejan las firmas isotópicas fraccionadas de sus recursos.

En este estudio, el **Río Santa Lucía** presentó la mayor área de nicho isotópico, con un amplio rango de carbono y en particular, la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei* presentó diferencias significativas con respecto a los demás ríos, siendo los mejillones más enriquecidos con este isótopo.

Analizando los diferentes sitios de muestreo en esta cuenca, se desprende que AC, CG y LB presentaron valores de nicho isotópico muy similares, con valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 11 y 12‰, y valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -27 y -29‰, mientras que PS y MS presentaron algunas diferencias en las señales isotópicas.

Considerando los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en los mejillones de este río, y en particular en PS, donde se encontraron los mejillones más enriquecidos con

este isótopo, algunos autores sugieren que pueden estar directamente relacionados con aportes de nitrógeno de origen antrópico en el sistema, tales como aguas residuales (ej. McKinney *et al.*, 2002; Becherucchi *et al.*, 2019). Sin embargo, durante este estudio no fueron analizadas las señales isotópicas de la línea de base en el sistema, por lo que no se puede realizar esta asociación directa entre los aportes de N antrópico y la señal isotópica del mejillón.

Por otro lado, en los últimos años algunos estudios han propuesto que bajo condiciones de estrés ambiental los organismos dentro de una población pueden presentar variaciones en la amplitud del nicho trófico (Bayona *et al.*, 2014; Karlson *et al.*, 2018). Esto se debe a que la exposición a contaminantes y otros factores de estrés, pueden alterar los procesos de fraccionamiento isotópico, probablemente manifestándose como una mayor variabilidad en el fraccionamiento y por lo tanto, un mayor tamaño del nicho isotópico (Karlson *et al.*, 2018).

La cuenca del Santa Lucía, donde los principales usos del suelo corresponden a la ganadería y la mayoría de las ciudades en sus márgenes no cuentan con saneamiento, ha sido caracterizada por diversos autores como una cuenca con procesos de eutrofización sostenidos y con índices de estado trófico elevados, observados durante este estudio (Delbene, 2018).

Por su parte, Aubriot *et al.* (2017), destacan que el arroyo Canelón Grande, cuyo caudal está regulado por el embalse Canelón Grande, tiene una alta influencia de aportes puntuales (industria frigorífica, asentamientos sin saneamiento, cría de animales a corral) y difusos por la agricultura intensiva, a la vez que su cuenca es la más densamente poblada. En el caso del embalse Paso Severino, según Chalar *et al.* (2017) la subcuenca presenta elevados coeficientes de exportación de nutrientes debido al alto porcentaje de superficie ocupada por cultivos, intensa producción de forraje para la producción lechera y efluentes de tambos sin tratamiento. A su vez, es sumidero de las aguas residuales de la ciudad de Florida, que se encuentra aguas arriba del embalse (Chalar *et al.*, 2017; Delbene, 2018).

Estas condiciones de estrés ambiental en el río, junto con un área de nicho más expandida, podrían evidenciar que la señal isotópica de los mejillones está condicionada por otros procesos que alteran el fraccionamiento y no sólo los recursos alimenticios.

En esta misma línea, Karlson *et al.* (2018) demostraron que anfípodos estresados química o nutricionalmente presentaban una tasa de crecimiento, condición corporal y rendimiento reproductivo más bajos, y a su vez presentaban mayores áreas de nicho isotópico. El efecto del estrés ambiental, en particular producido por una alta contaminación, sobre el crecimiento individual y el peso corporal también fue demostrado para poblaciones de *L. fortunei* en el Río Paraná (Bonel & Lorda, 2015).

Por lo tanto, el hecho de que la composición isotópica refleje el estado fisiológico de los organismos además de la composición de la dieta, tiene importantes implicancias al momento de interpretar los valores isotópicos de *L. fortunei* en ambientes bajo condiciones de estrés. A su vez, debe ser considerado que durante este estudio los análisis de isótopos estables se realizaron sobre un pool de 10 organismos, por lo que podríamos estar observando una característica general de la población pero no diferencias individuales.

Por otro lado, teniendo en cuenta que el fraccionamiento de C entre niveles tróficos es escaso (McCutchan *et al.*, 2003), la señal isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei* en la cuenca del Río Santa Lucía podría estar reflejando el origen de la materia orgánica en los cursos de agua. Los sitios AC, CG, PS y LB, con valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -26 y -29‰, podrían indicar que la principal fuente de C asimilada por *L. fortunei* proviene de algas de agua dulce. Este resultado está en concordancia con diversos estudios que han reportado las floraciones algales en el Río Santa Lucía como una consecuencia del proceso de eutrofización que sufre el sistema (Bonilla *et al.*, 2015; Delbene, 2018).

Para el sitio MSL con un valor de $\delta^{13}\text{C}$ cercano a 32‰, podrían evidenciar que fuente de materia orgánica en este sitio es diferente. De acuerdo con Lamb *et al.*, (2006), las plantas terrestres que usan la vía fotosintética C₃, las cuales constituyen cerca del 90% de todas las plantas, tiene valores típicos de $\delta^{13}\text{C}$ entre -32 y -21‰. La MSL es una zona náutica y barrio

privado a orillas del Río Santa Lucía, conformado por una serie de canales. Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ reflejados en *L. fortunei* podrían explicarse por la entrada de material orgánica alóctona, tales como hojas de árboles que se encuentran en las márgenes de dichos canales. Este tipo de alimentación también ha sido mencionada por Zhang et al. (2017), quienes utilizando biomarcadores de ácidos grasos identificaron bacterias heterótrofas y MO terrestre en los tejidos de *L. fortunei*.

Para el caso de los sitios en el **Río Uruguay** la señal isotópica de los mejillones estuvo caracterizada principalmente por un amplio rango de $\delta^{13}\text{C}$ y bajos valores de $\delta^{15}\text{N}$, y presentó la segunda área de nicho isotópico más grande.

Teniendo en cuenta que el fraccionamiento de C entre niveles tróficos es escaso (McCutchan *et al.*, 2003), la señal isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei* en los diferentes sitios podría sugerir que el mejillón utiliza una gran variedad de recursos alimenticios a lo largo del río.

Otra posible interpretación de la variación en la amplitud de nicho isotópico en una población, además de las ya mencionadas, viene dada por las diferentes estrategias tróficas adoptadas frente a distintas condiciones ambientales, en donde una mayor área de nicho isotópico refleja una estrategia generalista, mientras que áreas menores reflejan una dieta más especializada (Karlson *et al.*, 2015).

Considerando el amplio rango de valores de $\delta^{13}\text{C}$ en los mejillones del río Uruguay, se podría sugerir una estrategia generalista de la especie. Sin embargo, teniendo en cuenta cada sitio de muestreo en forma particular, se observa que los mejillones presentan valores isotópicos similares, sugiriendo una alimentación más especialista. Esto podría evidenciar estrategias tróficas sitio-específicas, asociada a la heterogeneidad espacial.

Los datos de los sitios de muestreo en el Río Uruguay cubren una extensión de aproximadamente 500 km desde el río Cuareim hasta el km 0 en Punta Gorda (Colonia, Uruguay). Las fuentes de materia orgánica de las redes alimentarias acuáticas son muy diversas en el espacio y el tiempo en los grandes sistemas fluviales (Marchese *et al.*, 2014). En este sentido, recientemente se ha desarrollado el concepto de "River Wave Concept (RWC)", en el cual se postula que los pulsos de flujo de un río actúan como una "ola", y la ubicación espacial y/o temporal determina el características contrastantes en el ecosistema, como la fuente de materia orgánica (Humphries *et al.*, 2014). A su vez, este efecto puede estar influido localmente por las características geomorfológicas del sitio. Por ejemplo, factores como la erosión, la turbiedad, la profundidad y las concentraciones de nutrientes promueven el transporte y la deposición de materia orgánica alóctona, y condiciones más o menos favorables para la productividad primaria autóctona (Humphries *et al.*, 2014).

González-Bergonzoni *et al.* (2019) analizaron el origen de la materia orgánica que sustenta la biomasa de peces en tres sitios en la zona baja del RU (Nuevo Berlín, Fray Bentos y Las Cañas), concluyendo que en pequeña escala el origen de las fuentes de carbono en el sistema depende fuertemente de las condiciones ambientales relacionadas con la hidrología y geomorfología fluvial de cada sitio, en consistencia con la teoría de RWC.

En este sentido, considerando lo evidenciado por González-Bergonzoni *et al.* (2019) y teniendo en cuenta que en el presente estudio fueron analizados datos de 11 sitios a lo largo de los ~500 km de este río, es esperable que la fuente de C en el sistema varíe en relación a la gran heterogeneidad espacial. Por ejemplo, para estos tres sitios de muestreo los autores señalan que en Nuevo Berlín, donde el río es menos profundo en sus zonas litoral y media, y está dominado por sustratos gruesos y menos erosionables, predominan los recursos autóctonos, mientras que en Fray Bentos, conformado por una gran bahía con alta acumulación de materia orgánica, y en Las Cañas, predominó el aporte de recursos alóctonos, probablemente debido al aumento de la deposición y disponibilidad de detritos terrestres.

Una particularidad a destacar es la diferencia temporal que presentan los datos analizados para el RU, los cuales para algunos sitios fueron colectados en distintos meses y años. Esto puede tener implicancias en las señales isotópicas de los mejillones al variar las condiciones ambientales,

como el flujo de corriente, temperatura, y aspectos del ciclo de vida de los organismos, tales como reproducción o crecimiento.

Los organismos de *L. fortunei* en los tres embalses del **Río Negro** se caracterizaron mayormente por valores enriquecidos de $\delta^{13}\text{C}$ (menos negativos), un aumento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ aguas abajo, siendo el embalse Palmar el sitio con mejillones más enriquecidos en este isótopo, y un área nicho isotópico relativamente pequeña.

Esto podría explicarse por las particularidades de los sitios analizados. El represamiento del cauce de un río para la construcción de un embalse produce una gran modificación del sistema fluvial que altera el funcionamiento y la estructura del ecosistema preexistente, cambiando el flujo natural del agua y la composición de las comunidades vegetales y animales (Poff *et al.*, 1997). Por ejemplo, al producir el aumento del tiempo de residencia del agua, se disminuye la turbulencia y genera un mayor número de ambientes de aguas calmas, favoreciendo el desarrollo de algas. Así, con menores valores relativos de nutrientes, pueden ocurrir fenómenos de floraciones algales (MVOTMA, 2016).

Chalar *et al.* (2014) observaron que los tres embalses presentan características hidrológicas en común desarrollando poblaciones fitoplanctónicas similares. Se caracterizan por presentar similar composición de especies algales, con una dominancia de cianobacterias

en los meses de verano, siendo *Microcystis aeruginosa* la especie dominante y diatomeas en el resto del año (Chalar *et al.*, 2011; 2014).

Esta particularidad de los sitios sugiere que las poblaciones de *L. fortunei* consumen recursos similares en los embalses, lo que explicaría el estrecho rango de valores de $\delta^{13}\text{C}$. En particular para el género *Microcystis* algunos autores (ej., Cataldo *et al.*, 2012) han demostrado de forma experimental la filtración selectiva del mejillón dorado sobre partículas de pequeño tamaño de estas cianobacterias, generando una disminución significativa en sus abundancias. Como se mencionó anteriormente, durante este estudio no se consideraron las señales isotópicas de las líneas de base en los sistemas, pero sería interesante explorar en estos sitios los valores isotópicos de este recurso.

En cuanto al aumento en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ aguas abajo en estos tres embalses en cadena, este puede verse afectado por las características hídricas. En la cadena de embalses del Río Negro, cada embalse se encuentra influenciado por aportes provenientes del embalse anterior (Chalar *et al.*, 2014). A su vez, la cuenca baja (desde Palmar hacia aguas abajo) está asociada a factores que indican aportes de compuestos nitrogenados, posiblemente vinculados a efluentes puntuales y/o fertilizantes (MVOTMA, 2018a), y en particular se destaca el aporte extra de nutrientes proveniente del río Yí, que podría estar aportando aguas residuales desde la ciudad de Durazno, la cual atraviesa antes de su desembocadura en el embalse Palmar (Chalar *et al.*, 2015). Estos factores

podrían influenciar la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ de los mejillones en el embalse Palmar. Otro aspecto que debe ser considerado para la interpretación de cuáles son los factores que están influenciando los valores isotópicos en los mejillones en este tipo de sistemas, es la magnitud de la carga interna de nutrientes proveniente de los sedimentos.

El sector más interno del estuario **Río de la Plata**, en donde se ubican las estaciones consideradas en este estudio, se caracteriza por presentar una elevada concentración de sedimentos en suspensión que genera una zona de turbiedad (Guerrero et al., 1997; López-Laborde & Nagy 1999; Nagy et al., 2002; ; Acha et al., 2008). Es por lo tanto un área que se caracteriza por una baja biodiversidad, biomasa de fitoplancton relativamente pobre y la asimilación de nutrientes es limitada por la luz (Botto *et al.*, 2011, Muniz *et al.*, 2011). Algunos autores sugieren que las cadenas alimenticias en esta zona se basan principalmente en detritos alóctonos, que sustentan altas densidades de especies características en estos ambientes, como el copépodo *Acartia tonsa* (Mianzan *et al.*, 2001; Calliari *et al.*, 2004). En este sentido, los mejillones colectados en la parte interna del estuario mostraron un área de nicho isotópico menor en comparación con los demás ríos, con un rango de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ acotado. Esta característica del nicho isotópico más acotado podría evidenciar la baja disponibilidad de diferentes fuentes de alimento.

Por otro lado, Bouillon *et al.* (2014) presentan los valores típicos de $\delta^{13}\text{C}$ de distintas fuentes de carbono en los estuarios (Figura 20). En concordancia

con lo descrito anteriormente y con los resultados obtenidos por otros estudios realizados en el Río de la Plata (Derisio *et al.*, 2014; Bergamino *et al.*, 2017), los valores obtenidos de $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei* en este estudio sugieren que la fuente de materia orgánica asimilada por este mejillón podría corresponder principalmente a fitoplancton estuarino y microfitobentos.

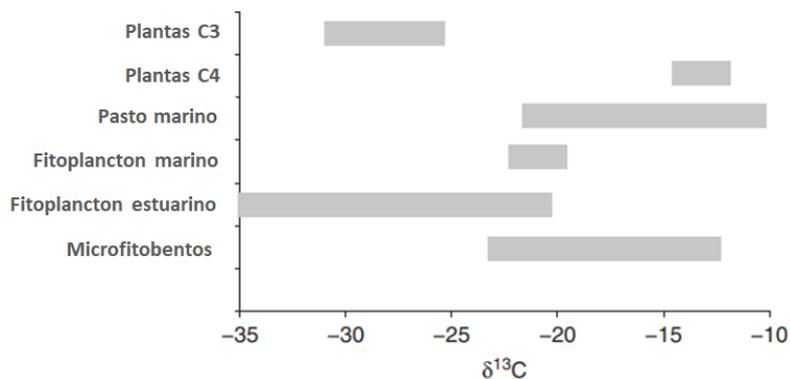


Figura 20. Rangos típicos del isótopo estable de carbono (^{13}C) para distintas fuentes de carbono en estuarios. Modificado de Bouillon *et al.* (2014).

Como se ha mencionado para los distintos sitios de estudio, el hecho de que los valores de los isótopos estables, y por lo tanto de sus nichos isotópicos, puedan verse confundidos por parámetros no dietéticos (ej.: el estrés ambiental o condiciones fisiológicas), los cuales son de gran relevancia al momento de realizar interpretaciones de las señales isotópicas de *L. fortunei* en los ambientes analizados.

Por lo tanto, tal como fue planteado por Karlson *et al.* (2018) es importante destacar que la diversificación de la dieta no puede evaluarse únicamente

a partir de análisis de nichos de isótopos sin tener en cuenta el estado fisiológico de los organismos y las condiciones ambientales en los sitios que habita la especie objeto de estudio.

4.4 Relación entre valores de isótopos estables y nutrientes

Como se discutió hasta ahora, de forma general las señales isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en *L. fortunei* parecerían reflejar las diferentes condiciones ambientales de las cuencas estudiadas. Sin embargo, para el caso de los experimentos realizados en los estanques, no se encontró una relación significativa entre los tejidos del mejillón y la concentración de nutrientes. Como fuera mencionado, dado que los tejidos del mejillón presentan una tasa de recambio lenta, las concentraciones de nutrientes determinadas de forma puntual no fueron reflejadas en los tejidos de los mejillones. A pesar de esto, puede observarse un patrón general de tendencia positiva entre las señales isotópicas y las concentraciones de nutrientes.

En el caso de los ríos se encontró una correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones de PT , PO_4^+ y NO_3^- y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei*. Dado que la medida de las concentraciones de estos compuestos fueron puntuales, y como se pudo observar mediante los experimentos de mesocosmos, esta correlación con la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ del mejillón evidenciaría una concentración elevada de estos nutrientes en los sitios de muestreo de largo plazo.

A su vez, se encontró una correlación positiva y significativa entre el IET calculado a partir de la concentración de PT en los ríos y el $\delta^{15}\text{N}$ de *L. fortunei*. Ya que los índices son aproximaciones a un conjunto de valores/condiciones que generalmente son utilizados como una aproximación a una condición o un estado trófico determinado. En este caso el IET refleja el estado nutricional del cuerpo de agua, o sea la condición de enriquecimiento del PT del sistema, siendo un factor que parecería estar influenciando la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ en los tejidos del mejillón.

Estos resultados son consistentes con lo demostrado por Bergfur *et al.* (2009) y Wen *et al.* (2010), quienes identificaron que el $\delta^{15}\text{N}$ de peces, invertebrados, perifiton y POM se correlacionaron positivamente con el aumento en las concentraciones de nutrientes. Por otro lado, anteriormente Gu *et al.* (1996) demostraron que el $\delta^{15}\text{N}$ del plancton en lagos de Florida, Estados Unidos, aumentaba a lo largo del gradiente trófico de oligotrofia a eutrofia, estando por lo tanto determinado en gran medida por la productividad del lago. Sin embargo, el plancton en los lagos hipertróficos mostraba un amplio rango de valores de $\delta^{15}\text{N}$ y muchos con valores relativamente bajos. Explican esto como consecuencia de una mayor fijación de nitrógeno en estos cuerpos de agua ricos en nutrientes, afirmando que valores de $\delta^{15}\text{N}$ menos enriquecidos están asociados con especies de cianobacterias fijadoras de N_2 . Por lo tanto, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en sistemas hipertróficos pueden no estar determinados únicamente por la

productividad primaria sino que dependen también de procesos bacterianos como la fijación de N_2 o la desnitrificación, que deberían considerarse en futuros estudios.

Además, deben considerarse procesos desencadenados por los propios organismos que influyen en el reciclaje de nutrientes. Algunos autores han demostrado tanto de forma experimental como en el ambiente natural, que los organismos de *L. fortunei* modifican las concentraciones de nutrientes (Boltovskoy *et al.*, 2009; Cataldo *et al.*, 2012), y esto depende a su vez de la densidad poblacional del mejillón (Sylvester *et al.*, 2005). Cataldo *et al.* (2012) mediante experimentos en estanques durante 35 días, observaron que los mejillones producían un leve aumento de nitrato, mientras que el amoníaco y los fosfatos aumentaban notablemente. Previamente, Boltovskoy *et al.* (2009), en un estudio de largo plazo realizado en el embalse de Río Tercero, Argentina, mostró que en el transcurso del tiempo el amoníaco había aumentado en un 400%, el nitrógeno total un 300% y los fosfatos se duplicaron.

5. CONCLUSIONES

La determinación de la calidad de agua mediante el contenido de nutrientes y el IET reflejó problemas en la calidad de agua en los principales cursos hídricos del país. En particular, el Río Santa Lucía presentó las peores condiciones para los parámetros analizados con sistemas clasificados como hipertróficos.

Por otro lado, se realizó por primera vez un análisis de la variación de la señal isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en tejidos blandos del bivalvo *L. fortunei* en varios sitios de los principales ríos de Uruguay, en los que este mejillón invasor presenta una amplia distribución. Esta variación en ambos isótopos podría responder a las diferentes condiciones ambientales y estado trófico de los sistemas, sustentando la hipótesis de este trabajo.

Sin embargo, es importante destacar que durante este estudio se utilizó esta herramienta de forma exploratoria y como una primera aproximación al tema, por lo que existen diversos ajustes metodológicos que deben ser considerados al momento de profundizar en su aplicación. En particular aquellos que permitan comprender cuánto aportan los factores antrópicos y cuánto los naturales a la variabilidad encontrada entre los sitios de muestreo.

Sería oportuno considerar las variaciones estacionales, las cuales pueden modificar las condiciones de flujo en los ríos, recursos alimenticios disponibles, temperatura, etc. A su vez, para el análisis de isótopos

estables se deberían considerar organismos individuales para observar la variación intrapoblacional en cada sitio en particular y tener en cuenta los valores isotópicos de los recursos basales en cada sistema. Por otro lado, como fue planteado, es importante considerar las condiciones fisiológicas de los mejillones, teniendo en cuenta la estacionalidad, además de la densidad poblacional en el sitio.

De forma general, la incorporación de análisis de las firmas isotópicas de productores y consumidores primarios como herramienta al monitoreo de los cursos de agua, ofrecería puntos de vista complementarios para la evaluación de los efectos a largo y corto plazo del impacto antrópico sobre las cuencas. A su vez, presenta como ventaja que los análisis de isótopos estables son relativamente económicos y no se necesitan procedimientos de muestreo elaborados

En este sentido, debido a que los síntomas más perceptibles del impacto antrópico en los ecosistemas acuáticos aparecen luego de un período de acumulación en el cual los síntomas no son visibles, el enfoque parece prometedor como herramienta complementaria para la identificación de tendencias que permitan conocer la evolución y posible predicción del comportamiento del ecosistema. Este último aspecto es fundamental para la gestión y conservación de los ecosistemas acuáticos.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abreu da Costa, T., Weber, O. B., Pestana, C. J., Capelo-Neto, J. (2017). Bioindicators assessing water quality and environmental impacts of water treatment plant sludge. *International Journal of Environment and Sustainable Development*, 16(1), 25-42.
- 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 Rio de la Plata Estuary. *Continental shelf research*, 28(13), 1579-1588.
- Achkar, M., Domínguez, A., Pesce, F. (2013). Cuencas hidrográficas del Uruguay: situación y perspectivas ambientales y territoriales. *Programa Uruguay Sustentable, Redes Amigos de la Tierra*.
- Alonso, J., et al. (2019). Water quality in Uruguay: Current status and challenges. En: Forde, M., et al. Water and health. *Water Quality in the Americas*, 562-597.
- Alvareda, E., Lucas, C., Paradiso, M., Piperno, A., Gamazo, P., Erasun, V., & Paola Russo, P., Saracho, A., Banega, R., Sapriza, G. & Teixeira de Mello, F. (2020). Water quality evaluation of two urban streams in Northwest Uruguay: are national regulations for urban stream quality sufficient?. *Environmental monitoring and assessment*, 192(10), 1-22.
- Andersen, J., Schlüter, L. & Ærtebjerg, G. (2006). Coastal eutrophication: recent developments in definitions and implications for monitoring strategies. *Journal of Plankton Research* (28): 621-628
- Anderson, C. & Cabana, G. (2006). Does $\delta^{15}\text{N}$ in river food webs reflect the intensity and origin of N loads from the watershed? *Science of the Total Environment*, 367:968–978.
- Arocena, R., Chalar, G., Fabián, D., De León, L., Brugnoli, E., Silva, M., ... & Gabito, L. (2008). Índices físico-químicos y biológicos de calidad de agua para arroyos vadeables de la cuenca del río Santa Lucía en evaluación en cursos de agua y biomonitorio. *Informe final, Limnología-Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo*, 13.
- Arocena, R., Chalar, G., González, I., García, P., Piccardo A., Piccini C., Vernassa, T., Sandes, P., Castro, M. (2018). Evaluación ecológica de cursos de agua y biomonitorio. Cuenca del rio negro. Informe Final. Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República-Uruguay. Convenio MVOTMA (DINAMA)-Universidad de la República (Facultad de Ciencias).
- Aubriot, L., & Bonilla, S. (2018). Regulation of phosphate uptake reveals cyanobacterial bloom resilience to shifting N: P ratios. *Freshwater biology*, 63(3), 318-329.
- Aubriot, L., Delbene, L., Haakonsson, S., Somma, A., Hirsch, F., Bonilla, S. (2017). Evolución de la eutrofización en el Río Santa Lucía: influencia de la intensificación productiva y perspectivas. *INNOTEC*, (14).

- Aubriot, L., Zabaleta, B., Bordet, F., Sienna, D., Risso, J., Achkar, M., Somma, A. (2020). Assessing the origin of a massive cyanobacterial bloom in the Río de la Plata (2019). *Towards an early warning system, Water Research*.
- Bayona, Y., Roucaute, M., Cailleaud, K., Lagadic, L., Bassères, A., & Caquet, T. (2014). Isotopic niche metrics as indicators of toxic stress in two freshwater snails. *Science of the total environment*, 484, 102-113.
- Bearhop, S., Adams, C. E., Waldron, S., Fuller, R. A., & MacLeod, H. (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of animal ecology*, 73(5), 1007-1012.
- Becherucci, M.E., Alvarez, M.F., Iribarne, O., Martinetto, P. (2019). Eutrophication in a semi-desert coastal ecosystem promotes increases in N and C isotopic signatures and changes in primary sources. *Marine Environmental Research*.
- Bergamino, L., Lercari, D., & Defeo, O. (2011). Food web structure of sandy beaches: temporal and spatial variation using stable isotope analysis. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 91(4), 536-543.
- Bergamino, L., Lercari, D., & Defeo, O. (2012). Terrestrial trophic subsidy in sandy beaches: evidence from stable isotope analysis in organic matter sources and isopod *Excirrolana Armata*. *Aquatic Biology*, 14(2), 129-134.
- Bergamino, L., Schuerch, M., Tudurí, A., Carretero, S., & García-Rodríguez, F. (2017). Linking patterns of freshwater discharge and sources of organic matter within the Río de la Plata estuary and adjacent marshes. *Marine and Freshwater Research*, 68(9), 1704-1715.
- Bianchi, T. S. (2007). Biogeochemistry of estuaries. *Oxford University Press on Demand*. 706 pp.
- Bolnick, D. I., Svanbäck, R., Fordyce, J. A., Yang, L. H., Davis, J. M., Hulsey, C. D., & Forister, M. L. (2003). The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *The American Naturalist*, 161(1), 1-28.
- Boltovskoy, D. y Correa, N. (2015). Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (golden mussel) in South America. *Hydrobiologia* 746:81-95.
- Boltovskoy, D., & Cataldo, D. H. (1999). Population dynamics of *Limnoperna fortunei*, an invasive fouling mollusc, in the lower Paraná River (Argentina). *Biofouling*, 14(3), 255-263.
- Bonilla, S., Haakonsson, S., Somma, A., Gravier, A., Britos, A., Vidal, L., De León, L., Brena, B., Pirez, M., Piccini, C., Martínez de la Escalera, G., Chalar, G., González-Piana, M., Martigani, F., Aubriot, L. (2015). Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. *Innotec*, (10 ene-dic), 9-22.
- Botto, F., Gaitán, E., Mianzan, H., Acha, M., Giberto, D., Schiariti, A., & Iribarne, O. (2011). Origin of resources and trophic pathways in a large SW Atlantic

- estuary: an evaluation using stable isotopes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 92(1), 70-77.
- Bouillon, S., Connolly, R. M., & Gillikin, D. P. (2011). 7.07 Use of stable isotopes to understand food webs and ecosystem functioning in estuaries. *Treatise on estuarine and coastal science*, 7.
- Brugnoli, E., Clemente, J., Boccardi, L., Borthagaray, A., Scarabino, F. (2005). Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) distribution in the main hydrographical basins of Uruguay: update and predictions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 77(2), 235-244.
- Brugnoli, E., Clemente, J., Riestra, G., Boccardi, L., Borthagaray, A. (2006). Especies acuáticas exóticas en Uruguay: situación, problemática y gestión. En: Menafra, R; Rodríguez, L; Scarabino, F; Conde, D. (eds.), Bases para la conservación y manejo de la costa uruguaya. *Vida Silvestre Uruguay*, 351-361.
- Brugnoli, E., Dabiezies, M. J., Clemente, J. M., Muniz, P. (2011). *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) en el sistema de embalses del Río Negro, Uruguay. *Oecologia Australis*, 15(3), 576-592.
- Brugnoli, E., Muniz, P., Venturini, N., Brena, B., Rodríguez, A., & García-Rodríguez, F. (2019). *Assessing multimetric trophic state variability during an ENSO event in a large estuary (Río de la Plata, South America). Regional Studies in Marine Science*, 100565.
- Bueno, C., Brugnoli, E., Figueira, R., Muniz, P., Bergamino, L., García-Rodríguez, F. (2018). Anthropogenic and natural variability in the composition of sedimentary organic matter of the urbanized coastal zone of Montevideo (Río de la Plata estuary). *Marine Pollution Bulletin*, 126, 197-203.
- Calliari, D., Cervetto, G., & Castiglioni, R. (2004). Summertime herbivory and egg production by *Acartiatonsa* at the Montevideo coast-Río de la Plata. *Ophelia*, 58(2), 115-128. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53.
- Carlson, R. (1977). A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography*, 22(2), 361-369
- Carpenter, S., Caraco, N., Correll, D., Howarth, R., Sharpley A., Smith, V. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Journal of Applied Ecology*, 8: 559-568.
- CARU Comité Científico (2019a). Monitoreo conjunto del río Uruguay en la zona de influencia de la Planta Orión y de la desembocadura del río Guleguaychú en el río Uruguay. 115 páginas. Comisión Administradora del Río Uruguay.
- CARU Comité Científico (2019b). Plan de monitoreo inicial del Río Uruguay informe final diciembre 2016 a diciembre 2017. 136 páginas. Comisión Administradora del Río Uruguay.
- Cataldo, D. H., & Boltovskoy, D. (2000). Yearly reproductive activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as inferred from the occurrence of its larvae in the

- plankton of the lower Paraná river and the Río de la Plata estuary (Argentina). *Aquatic Ecology*, 34(3), 307-317.
- Cataldo, D., Boltovskoy, D., Marini, V., Correa, N. (2002). Limitantes de *Limnoperna fortunei* en la cuenca del Plata: predación por peces. *Tercera jornada sobre conservación de la fauna íctica en el río Uruguay*. Paysandú, Uruguay, Comisión Administradora de Río Uruguay.
- Cataldo, D., O'Farrell, I., Paolucci, E., Sylvester, F., & Boltovskoy, D. (2012). Impact of the invasive golden mussel (*Limnoperna fortunei*) on phytoplankton and nutrient cycling. *Aquatic Invasions*, 7(2).
- Chalar, G., (2006). Dinámica de la eutrofización a diferentes escalas temporales: embalse Salto Grande (Argentina-Uruguay). En: Tundisi, J.G., Matsumura-Tundisi, T., Sidagis, C., (eds.), 2006. Eutrophication in South America: causes, consequences and technologies for management and control. San Pablo: *International Institute of Ecology*. pp 87-101.
- Chalar, G., Arocena, R., Pacheco, J. P., Fabián, D. (2011). Trophic assessment of streams in Uruguay: a trophic State Index for Benthic Invertebrates (TSI-BI). *Ecological Indicators*, 11(2), 362-369.
- Chalar, G., De León, L., De León, R., Fabián, D., Gorga, J. (1993). Evaluación de la eutrofización del Embalse de Salto Grande. Análisis de las relaciones entre los parámetros físico-químicos y biológicos. Informe Final de la primera etapa. CTM-SG/Universidad de la República – Facultad de Ciencias - Sección Limnología. 30p
- Chalar, G., Delbene, L., González-Bergonzoni, I., & Arocena, R. (2013). Fish assemblage changes along a trophic gradient induced by agricultural activities (Santa Lucía, Uruguay). *Ecological Indicators*, 24, 582-588.
- Chalar, G., Fabián, D., González-Piana M., Delbene, L. (2012). Informe final. Caracterización Limnológica de los embalses del Río Negro durante el período setiembre 2009 - junio 2011. Convenio UTE - Facultad de Ciencias. Sección Limnología, Facultad de Ciencias, UdelaR. Montevideo. 103 pp.
- Chalar, G., Fabián, D., González-Piana, M., Piccardo, A. (2015). Estado y Evolución de la Calidad de Agua de los Tres Embalses del Río Negro (Período 2011-2015). Convenio UTE - Facultad de Ciencias. Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Udelar. Montevideo. 56 pp
- Chalar, G., Garcia-Pesenti, P., Silva-Pablo, M., Perdomo, C., Olivero, V. y Arocena, R., (2017). Weighting the impacts to stream water quality in small basins devoted to forage crops, dairy and beef cow production. En: *Limnologist -Ecology and Management of Inland Waters*, 65, pp.76-84.
- Chalar, G., Gerhard, M., González-Piana, M., Fabian, D. (2014). Hidroquímica y eutrofización en tres embalses subtropicales en cadena (Uruguay). En: Gallardo-Lancho, J. (Coord.). 2014. Procesos geoquímicos superficiales en Iberoamérica. Red Iberoamericana de Física y Química Ambiental. Soc. Iberoamericana de Física y Química Ambiental.

- Chaubey, I., Chiang, L., Gitau, M. W., & Mohamed, S. (2010). Effectiveness of best management practices in improving water quality in a pasture-dominated watershed. *Journal of soil and water conservation*, 65(6), 424-437.
- Clemente, J., Iglesias, C., Kröger, A., José, J. (2015). First record of the golden mussel *Limnoperna fortunei* Dunker, 1857 (Bivalvia: Mytilidae) in a lentic system in Uruguay. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 10(1), 89-93.
- Clemente, J.M. & Brugnoli, E. (2002). Los moluscos invasores en la cuenca del Plata: su potencial impacto ambiental y económico. *Revista AMBIO*, 27-30.
- Cole, M. L., Valiela, I., Kroeger, K. D., Tomasky, G. L., Cebrian, J., Wigand, C., & Carvalho da Silva, M. H. (2004). Assessment of a $\delta^{15}\text{N}$ isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33(1), 124-132.
- Conde, D., Paradiso, M., Gorga, J., Brugnoli, E., De León, L. & M., Mandiá (2002). Problemática de la calidad de agua en el sistema de grandes embalses del Río Negro (Uruguay). *CIER* 39:51-68
- Craig, H. 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochim. Cosmochim. Acta* 12: 133-149.
- Cunha, D. G. F., do Carmo Calijuri, M., & Lamparelli, M. C. (2013). A trophic state index for tropical/subtropical reservoirs (TSI_{tr}). *Ecological Engineering*, 60, 126-134.
- Damborenea, C. & Penchaszadeh, P. (2006). Biología reproductiva de *Limnoperna fortunei*. En: Darrigran & Damborenea (Eds.) Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. La Plata. EDULP. Universidad de La Plata, 71–81.
- Darrigran, G., P. Penchaszadeh & M. C. Damborenea. (1999). The reproductive cycle of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) from a neotropical temperate locality. *Journal Shellfish Research*. 18(2):361-365. USA.
- Darrigran, G., M. C. Damborenea, P. Penchaszadeh & C. Taraborelli. (2003). Adjustment of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) after ten years of invasion in the Americas. *Journal of Shellfish Research*. 22 (1): 141-146.
- Darrigran, G. & Damborenea, C.(2006). Características de la especie. En: Darrigran & Damborenea (Eds.) Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. La Plata. EDULP. Universidad de La Plata, 55–70.
- Darrigran, G. & Ezcurra de Drago, I. (2000). Distribución de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae) en la Cuenca del Plata, Región Neotropical. *Medio Ambiente* 13, 75–79.
- Darrigran, G. & Pastorino, G. (1995). The recent introduction of Asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae). *The Veliger*, 38, 183-187.

- de Jonge, V. N., Elliott, M., Orive, E. (2002). Causes, historical development, effects and future challenges of a common environmental problem: eutrophication. En: *Nutrients and eutrophication in estuaries and coastal waters* (pp. 1-19). Springer, Dordrecht.
- De León, L., & Yunes, J.S. (2001). First report of a microcystin-containing bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in the La Plata River, South America. *Environ Toxicol* 16(1):110–112.
- Delbene Lezama, L. (2018). Eutrofización del Río Santa Lucía: Dinámica de nutrientes asociada régimen hidrológico y a la intensificación productiva. Tesis de maestría, Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias - PEDECIBA.
- Derisio, C., Braverman, M., Gaitán, E., Hozbor, C., Ramírez, F., Carreto, J., Botto, F., Gagliardini, D., Acha, M. & Mianzan, H. (2014). The turbidity front as a habitat for *Acartia tonsa* (Copepoda) in the Río de la Plata, Argentina-Uruguay. *Journal of Sea Research*, 85, 197-204.
- DINAMA, (2009). Informe Nacional del Estado del Ambiente. Montevideo: Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA).
- 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(5), 1455-1462.
- Dubois, S., Jean-Louis, B., Bertrand, B., & Lefebvre, S. (2007). Isotope trophic-step fractionation of suspension-feeding species: implications for food partitioning in coastal ecosystems. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 351(1-2), 121-128.
- Fenech, C., Rock, L., Nolan, K., Tobin, J., & Morrissey, A. (2012). The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: a review. *Water Research*, 46(7), 2023-2041.
- Ferrari, G., Pérez, M. D. C., Dabezies, M., Míguez, D., Saizar, C. (2011). Planktic cyanobacteria in the lower Uruguay river, South America. *Fottea*, 11(1), 225-34.
- Finlay, J. C. (2001). Stable-carbon-isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. *Ecology* 82: 1052–1064.
- Finlay, J. C. & Kendall, C. (2007). Stable isotope tracing of temporal and spatial variability in organic matter sources to freshwater ecosystems. En: Michener, R. & K. Lajtha (eds.), *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Blackwell Publishing, Malden, MA: 283–333.
- Franco-Trecu, V., Auriolles-Gambia, D., and Inchausti, P. (2014). Individual trophic specialisation and niche segregation explain the contrasting population trends of two sympatric otariids. *Marine Biology* 161, 609–618. doi:10.1007/s00227-013-2363-9
- Franco-Trecu, V., Drago, M., Costa, P., Dimitriadis, C., and Passadore, C. (2017). Trophic relationships in apex predators in an estuary system: a multiple-

- method approximation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 486, 230–236. doi:10.1016/j.jembe.2016.10.017
- Fry, B. (2008). *Stable Isotope Ecology*. Springer. 3rd edition. New York, USA. 308 pp.
- Fry, B., & Allen, Y. C. (2003). Stable isotopes in zebra mussels as bioindicators of river–watershed linkages. *River Research and Applications*, 19(7), 683-696.
- Gomez-Erache, M., Vizziano, D., Muniz, P., Nagy, G. (2001). The Health of the Río de la Plata System: Northern Coast, Uruguay. *Environment Canada, Atlantic Region Occasional Report*, (17), 17-30.
- González-Bergonzoni, I., D'Anatro, A., Vidal, N., Stebniki, S., Tesitore, G., Silva, I., & Teixeira de Mello, F. (2019). Origin of fish biomass in a diverse subtropical river: An allochthonic-supported biomass increase following flood pulses. *Ecosystems*, 22(8), 1736-1753.
- González-Bergonzoni, I., Silva, I., Teixeira de Mello, F., D'Anatro, A., Boccardi, L., Stebniki, S., Brugnoli, E., Tesitore, G., Vidal, N. & Naya, D. E. (2020). Evaluating the role of predatory fish controlling the invasion of the Asian golden mussel *Limnoperna fortunei* in a subtropical river. *Journal of Applied Ecology*, 57(4), 717-728.
- Goyenola, G., Graeber, D., Meerhoff, M., Jeppesen, E., Teixeira de Mello, F., Vidal, N., Fosalba, C., Bering Ovesen, N., Gelbrecht J., Mazzeo N. & Kronvang, B. (2020). Influence of Farming Intensity and Climate on Lowland Stream Nitrogen. *Water*, 12(4), 1021.
- Gu, B., Schelske, C. L., & Brenner, M. (1996). Relationship between sediment and plankton isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and primary productivity in Florida lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(4), 875-883.
- Guerrero, R. A., Acha, E. M., Framin, M. B., Lasta, C. A. (1997). Physical oceanography of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Continental Shelf Research*, 17(7), 727-742.
- Gustafson, L., Showers, W., Kwak, T., Levine, J., & Stoskopf, M. (2007). Temporal and spatial variability in stable isotope compositions of a freshwater mussel: implications for biomonitoring and ecological studies. *Oecologia*, 152(1), 140-150.
- Hamilton, S. K. (2012). Biogeochemical time lags may delay responses of streams to ecological restoration. *Freshwater Biology*, 57, 43-57.
- Hawkins, A. J. S. (1985). Relationships between the synthesis and breakdown of protein, dietary absorption and turnovers of nitrogen and carbon in the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Oecologia*, 66(1), 42-49.
- Humphries, P., Keckeis, H., & Finlayson, B. (2014). The river wave concept: integrating river ecosystem models. *BioScience*, 64(10), 870-882.

- Hutchinson, G.E. (1957). Concluding remarks: Cold Spring Harbor symposium. *Quant Biol*, 22: 415-27.
- Ituarte, C.F. (1997). *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilidae) en la costa uruguaya del Río de la Plata. *Neotrópica*, 43: 117–118.
- Jardine, T. D., McGeachy, S. A., Paton, C. M., Savoie, M., & Cunjak, R. A. (2003). Stable isotopes in aquatic systems: sample preparation, analysis and interpretation (Vol. 2656). [Fredericton, NB]: Fisheries and Oceans.
- Kändler, M., Blechinger, K., Seidler, C., Pavlů, V., Šanda, M., Dostál, T., Krásac, F., Vitvar, T. & Štich, M. (2017). Impact of land use on water quality in the upper Nisa catchment in the Czech Republic and in Germany. *Science of the Total Environment*, 586, 1316-1325.
- Karlson, A. M., Gorokhova, E., & Elmgren, R. (2015). Do deposit-feeders compete? Isotopic niche analysis of an invasion in a species-poor system. *Scientific reports*, 5, 9715.
- Karlson, A. M., Reutgard, M., Garbaras, A., & Gorokhova, E. (2018). Isotopic niche reflects stress-induced variability in physiological status. *Royal Society open science*, 5(2), 171398.
- Kendall, C., Caldwell, E.A., (1998). Fundamentals of isotope geochemistry. En: Kendall, C., McDonnell, J.J. (Eds.), *Isotope Tracers in Catchment Hydrology*. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 51-86.
- Khan, F. A. & Ansari, A. A. (2005). Eutrophication: an ecological vision. *The botanical review*, 71(4), 449-482.
- Kim, M. S., Lee, Y. J., Ha, S. Y., Kim, B. H., Hwang, S. J., Kwon, J. T., & Shin, K. H. (2017). Accumulation of microcystin (LR, RR and YR) in three freshwater bivalves in *Microcystis aeruginosa* bloom using dual isotope tracer. *Marine drugs*, 15(7), 226.
- Koroleff, F. (1970). Direct determination of ammonia in natural waters as indophenol blue. *Information on techniques and methods for seawater analysis*, 19-22.
- Kristensen, P. B., Riis, T., Dylmer, H. E., Kristensen, E. A., Meerhoff, M., Olesen, B., Teixeira de Mello, F., Baattrup-Pedersen, A., Cavalli, G., Jeppesen, E. (2016). Baseline identification in stable-isotope studies of temperate lotic systems and implications for calculated trophic positions. *Freshwater Science*, 35(3), 909-921.
- Kronvang, B., Jeppesen, E., Conley, D., Søndergaard, M., Larsen, S. E., Ovesen, N. B., Carstensen, J. (2005). An analysis of pressure, state and ecological impacts of nutrients in Danish streams, lakes and coastal waters and ecosystem responses to nutrient pollution reductions. *Journal of Hydrology* 304, 274–288.
- Kruk, C., Martínez, A., de la Escalera, G. M., Trinchin, R., Manta, G., Segura, Á. M., Piccini, C., Brena, B., Fabiano, G., Pirez, M., Gabito, L., Alcántara, I., Yanicelli, B. (2019). Floración excepcional de cianobacterias tóxicas en la costa de Uruguay, verano 2019. *Innotec*, (18 jul-dic), 36-68.

- Kruk, C., Martínez, A., Nogueira, L., Alonso, C. y Calliari, D. (2014). Morphological traits variability reflects light limitation of phytoplankton production in a highly productive subtropical estuary (Río de la Plata, South America) En: *Marine Biology*, 162(2), pp.331-341.
- Kruk, C., Suárez, C., Ríos, M., Zaldúa, N., Martino, D. (2013). Ficha: Análisis Calidad de Agua en Uruguay. Asesoramiento Ambiental Estratégico, Vida Silvestre, IUCN. Montevideo, Uruguay.
- Lake, J. L., McKinney, R. A., Osterman, F. A., Pruell, R. J., Kiddon, J., Ryba, S. A., & Libby, A. D. (2001). Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58(5), 870-878.
- Lamb, A. L., Wilson, G. P., & Leng, M. J. (2006). A review of coastal palaeoclimate and relative sea-level reconstructions using $\delta^{13}\text{C}$ and C/N ratios in organic material. *Earth-Science Reviews*, 75(1-4), 29-57.
- Lamparelli, M. C. (2004). Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Langone, J. A. (2005). Notas sobre el mejillón dorado *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) en Uruguay. *Publicación extra del Museo Nacional de Historia Natural y Antropología Montevideo*, 1, 1-17.
- LATU, (2015). Muestreo biológico noviembre 2015 - Río Uruguay. Informe de Ensayo N° 1506896. 24 páginas. Laboratorio Tecnológico del Uruguay.
- López-Laborde, J. L., & Nagy, G. J. (1999). Hydrography and sediment transport characteristics of the Río de la Plata: a review. In *Estuaries of South America* (pp. 133-159). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Mackereth F. J., Heron J. and Talling J. F. (1989). Water Analysis. Freshwater Biological Association, Ambleside, 73-75pp.
- Marchese, M. R., Saigo, M., Zilli, F. L., Capello, S., Devercelli, M., Montalto, L., & Wantzen, K. M. (2014). Food webs of the Paraná River floodplain: Assessing basal sources using stable carbon and nitrogen isotopes. *Limnologica*, 46, 22-30.
- Mason, C. H. (1998). Biology of freshwater pollution Third Edition. 356pp
- Mazzeo, N., Clemente, J., García Rodríguez, F., Gorga, J., Kruk, C., Larrea, C., Andres, D., Meerhoff, M., Quintans, F., Rodríguez Gallego, L., Scasso Robaina, F. A. (2002). Eutrofización, causas, consecuencias y manejo. Perfil ambiental del Uruguay 2002.
- McCutchan Jr, J. H., Lewis Jr, W. M., Kendall, C., & McGrath, C. C. (2003). Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, 102(2), 378-390.kr
- Mckinney, R. A., Lake, J. L., Charpentier, M. A., Ryba, S. (2002). Using mussel isotope ratios to assess anthropogenic nitrogen inputs to freshwater ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 74(2), 167-192.

- McKinney, R. A., Nelson, W. G., Charpentier, M. A., & Wigand, C. (2001). Ribbed mussel nitrogen isotope signatures reflect nitrogen sources in coastal salt marshes. *Ecological Applications*, 11(1), 203-214.
- Mianzan, H., Lasta, C., Acha, E., Guerrero, R., Macchi, G., & Bremec, C. (2001). The Río de la Plata estuary, Argentina-Uruguay. In Coastal marine ecosystems of Latin America (pp. 185-204). *Springer*, Berlin, Heidelberg.
- Milessi, A. C., Danilo, C., Laura, R. G., Daniel, C., Javier, S., & Rodríguez-Gallego, L. (2010). Trophic mass-balance model of a subtropical coastal lagoon, including a comparison with a stable isotope analysis of the food-web. *Ecological Modelling*, 221(24), 2859-2869.
- Morrissey, C. A., Boldt, A., Mapstone, A., Newton, J., & Ormerod, S. J. (2013). Stable isotopes as indicators of wastewater effects on the macroinvertebrates of urban rivers. *Hydrobiologia*, 700(1), 231-244.
- Muniz, P., Clemente, J., Brugnoli, E. (2005). Benthic invasive pests in Uruguay: A new problem or an old one recently perceived?. *Marine Pollution Bulletin*, 50(9), 1014-1018.
- Muniz, P., Venturini, N., Brugnoli, E., Gutiérrez, J. M., & Acuña, A. (2019). Río de la Plata: Uruguay. In *World Seas: an Environmental Evaluation* (pp. 703-724). Academic Press.
- Muniz, P., Venturini, N., Hutton, M., Kandratavicius, N., Pita, A., Brugnoli, E., Burone, L., García-Rodríguez, F. (2011). Ecosystem health of Montevideo coastal zone: A multi approach using some different benthic indicators to improve a ten-year-ago assessment. *Journal of Sea Research*, 65, 38–50.
- Muniz, P., Venturini, N., Martins, C. C., Munshi, A. B., García-Rodríguez, F., Brugnoli, E., Lindroth, A. L., Caruso, M. & García-Alonso, J. (2015). Integrated assessment of contaminants and monitoring of an urbanized temperate harbor (Montevideo, Uruguay): a 12-year comparison. *Brazilian Journal of Oceanography*, 63(3), 311-330.
- Murphy, J. A. M. E. S., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica chimica acta*, 27, 31-36.
- MVOTMA, (2015). Evolución de la calidad en la cuenca del Santa Lucía. 10 años de información. 126 pp. Informe Técnico.
- MVOTMA, (2016). Estado trófico de los embalses del río negro y estimación de cargas de fósforo entre 2012 y 2015. Informe de Consultoría Proyecto URU/14/001. División Calidad Ambiental.
- MVOTMA, (2017). Plan Nacional de Aguas. disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/politicas-y-gestion/planes/plan-nacional-aguas>.
- MVOTMA, (2018a). Calidad ambiental de la cuenca del Río Negro 2009-2017. Informe Técnico.

- MVOTMA, (2018b). Informe Monitoreo de Calidad de agua de la Cuenca del Río Santa Lucía, año 2017. 64 pp. Informe Técnico.
- MVOTMA, (2018c). Plan de acción para la protección de la calidad ambiental de la cuenca del río Santa Lucía. Medidas de segunda generación. 49p.
- Nagy, G. J., Severov, D. N., Pshennikov, V. A., De los Santos, M., Lagomarsino, J. J., Sans, K., & Morozov, E. G. (2008). Rio de la Plata estuarine system: relationship between river flow and frontal variability. *Advances in Space Research*, 41(11), 1876-1881.
- Nagy, G., Gómez-Erache, M., López, C., Perdomo, A. (2002). Distribution patterns of nutrients and symptoms of eutrophication in the Rio de la Plata River Estuary System. *Hydrobiologia*, 475(1):125–139.
- Nagy, G. J., Seijo, L., Verocai, J. E., Brugnoli, E., & Bidegain, M. (2013). Enfoque, conocimiento y medidas para enfrentar las amenazas del clima presente en la zona frontal del Río de la Plata, Uruguay. *Costas, Revista Iberoamericana de Manejo Costero Integrado*, 2(2).
- Newsome, S. D., Martinez del Rio, C., Bearhop, S., & Phillips, D. L. (2007). A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(8), 429-436.
- O'Farrell, I., & Izaguirre, I. (2014). Phytoplankton of the middle and lower stretches of the Uruguay River. *Advances in Limnology*, 65, 113-126.
- Oliveira, M. D., Calheiros, D. F., Jacobi, C. M., Hamilton, S. K. (2011). Abiotic factors controlling the establishment and abundance of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei*. *Biological Invasions*, 13(3), 717-729.
- Paerl, H. W. (2017). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a climatically more extreme world: management options and research needs. *Journal of Plankton Research*, 39(5), 763-771.
- Pastorino, G., Darrigran, G., Martin, SM., Lunaschi, L. (1993). *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Río de la Plata. *Neotropica*, 39, 34.
- Pereira, D., Mansur, M. C. D., Duarte, L. D., de Oliveira, A. S., Pimpao, D. M., Callil, C. T., Ituarte, C., Parada, E., Peredo, S., Darrigran, G., Clavijo, C., Lara, G., Miyahira, I., Raya, M. T., Lasso, C., Scarabino, F. (2014). Bivalve distribution in hydrographic regions in South America: historical overview and conservation. *Hydrobiologia*, 735(1), 15-44.
- Poff N., J.D. Allan, M.B. Bain, J.R. Karr, K. Prestegard, B. Richter, R. Sparks, J. Stromberg. 1997. The natural flow regime: a paradigm for river conservation and restoration. *BioScience*, 47, 769-784.
- Post, D. M. (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, 83(3), 703-718.
- Raikow, D. F., & Hamilton, S. K. (2001). Bivalve diets in a midwestern US stream: a stable isotope enrichment study. *Limnology and Oceanography*, 46(3), 514-522.

- Rodríguez-Graña, L., Calliari, D., Conde, D., Sellanes, J., & Urrutia, R. (2008). Food web of a SW Atlantic shallow coastal lagoon: spatial environmental variability does not impose substantial changes in the trophic structure. *Marine Ecology Progress Series*, 362, 69-83.
- Rojas Molina, F., Paggi, J. C., & Devercelli, M. (2010). Zooplanktophagy in the natural diet and selectivity of the invasive mollusk *Limnoperna fortunei*. *Biological Invasions*, 12(6), 1647-1659.
- Rojas Molina, F. M., De Paggi, S. J., & Frau, D. (2012). Impacts of the invading golden mussel *Limnoperna fortunei* on zooplankton: a mesocosm experiment.
- Rojas Molina, F., Jose de Paggi, S., Paggi, J.C. (2015). Impacts of *Limnoperna fortunei* on zooplankton. En: Boltovskoy, D. (Ed.), *Limnoperna fortunei: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp. 177–190. *Springer International Publishing*, Cham, Switzerland.
- Saizar, C., Míguez, D., Dabezies, M., Teixeira-de Mello, F., Clemente, J., Ferrari, G., Boccardi, L., Tana, J. (2010). Línea de base para evaluar el impacto de una planta de celulosa en el Río Uruguay. *INNOTEC*, (5 ene-dic), 11-22.
- Scarabino, F. (2004). Conservación de la malacofauna uruguaya. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay*, 8 (82-83):267–273.
- Scarabino, F., & Verde, M. (1995). *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) en la costa uruguaya del Río de la Plata (Bivalvia; Mytilidae). *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 7(66-67), 374-375.
- Sharp, Z. (2007) Principles of stable isotope geochemistry. Prentice-Hall, New Jersey.
- Silva, I., Naya, D., Teixeira de Mello, F., D'Anatro, A., Tesitore, G., Clavijo, C., & González-Bergonzoni, I. (2020). Fish vs. Aliens: predatory fish regulate populations of *Limnoperna fortunei* mitigating impacts on native macroinvertebrate communities. *Hydrobiologia*, 1-21.
- Smith, V. H., Joye, S. B., Howarth, R. W. (2006). Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 51, 351-355.
- Strickland, J. D. H., & Parsons, T. R. (1972). A practical handbook of seawater analysis.
- Sulzman, E.W. (2007). Stable isotope chemistry and measurement: a primer. En: Michener, R. y Lajtha, K., eds., 2007. *Stable isotopes in ecology and environmental science*. 2da ed. Boston.
- Sweeting, C. J., Jennings, S., & Polunin, N. V. C. (2005). Variance in isotopic signatures as a descriptor of tissue turnover and degree of omnivory. *Functional Ecology*, 777-784.
- Sylvester, F., J. Dorado, A. Juárez, D. Boltovskoy & D. Cataldo (2005). Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of size and temperature. *Hyobiologia* 534: 71–80.

- Valderrama, J. C. (1981). The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine chemistry*, 10(2), 109-122.
- Valley, J.W. & Cole, D. (eds) (2001). Stable Isotope Chemistry. Rev Geochem Mineral. Mineralogical Society of America, (43).
- Vander Zanden, M. J., Vadeboncoeur, Y., Diebel, M. W., & Jeppesen, E. (2005). Primary consumer stable nitrogen isotopes as indicators of nutrient source. *Environmental Science & Technology*, 39(19), 7509-7515.
- Victoria, M., Tort, L. L., García, M., Lizasoain, A., Maya, L., Leite, J. P. G., Miagostovich, M. P., Cristina, J., & Colina, R. (2014). Assessment of gastroenteric viruses from wastewater directly discharged into Uruguay River, Uruguay. *Food and Environmental Virology*, 6(2), 116-124.
- Vizzini, S. y Mazzola, A., (2006). The effects of anthropogenic organic matter inputs on stable carbon and nitrogen isotopes in organisms from different trophic levels in a southern Mediterranean coastal area. En: *Science of the Total Environment*, 368, pp.723-731.
- Voss, M., & Struck, U. (1997). Stable nitrogen and carbon isotopes as indicator of eutrophication of the Oder river (Baltic Sea). *Marine Chemistry*, 59(1-2), 35-49.
- Wen, Z., Xie, P., & Xu, J. (2010). Mussel isotope signature as indicator of nutrient pollution in a freshwater eutrophic lake: species, spatial, and seasonal variability. *Environmental monitoring and assessment*, 163(1-4), 139-147.
- West, J. B., Bowen, G.J., Cerling, T.E. & Ehleringer, J.R., (2006). Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, pp.408-414.
- Zhang, R., Cui, B., Sun, Z., Zhou, W., Ren, P., Du, Z. & Lu, J. (2017). Feeding ecology of *Limnoperna fortunei* in southern China: insights from stable isotopes and fatty-acid biomarkers. *Journal of Freshwater Ecology*, 32(1), 761-772.

ANEXO

Tabla A1. Localidades muestreadas, con su respectivo código y posición geográfica.

Localidad	Código	LAT	LONG
Bella Unión	BU	-30.261.810	-57.612.595
Belen	BE	-30.787.113	-57.784.930
Río Arapey	RA	-30.977.735	-57.694.373
Arroyo Itapebí	AI	-31.260.089	-57.764.698
Río Dayman	RD	-31.458.906	-57.903.347
Río Queguay	RQ	-32.134.909	-57.937.880
Paysandú	PY	-32.264.875	-58.096.329
Arroyo Grande	AG	-32.907.318	-57.413.700
Nuevo Berlín	NB	-32.979.320	-58.063.379
Fray Bentos	FB	-33.122.005	-58.273.039
Las Cañas	LC	-33.163.913	-58.359.742
Punta Gorda	PG	-33.914.719	-58.415.890
Puerto de Conchillas	PC	-34.205.861	-58.072.653
Colonia del Sacramento	CS	-34.469.185	-57.853.685
Juan Lacaze	JL	-34.436.038	-57.444.027
Boca del Cufre	BC	-34.446.905	-57.151.602
Marina Santa Lucia	MSL	-34.779.017	-56.353.047
Las Brujas	LB	-34.669.843	-56.358.760
Aguas Corrientes	AC	-34.514.675	-56.397.151
Paso Severino	PS	-34.265.919	-56.305.833
Palmar	PA	-33.063.132	-57.454.492
Baygorria	BY	-32.875.331	-56.806.997
Bonete	BO	-32.830.546	-56.419.867

Tabla A2. Metodología utilizada por el LATU para los análisis de nutrientes en agua.

Especie química	Metodología
Nitrito-Nitrato	PEC.PQAFB.015 basado en ISO 13395, APHA 4500 N y QuikChemMethod 10-107-04- 1- A.
Amonio	PEC.PQAR.612 basado en APHA 4500-NH3 D Ammonia-SelectiveElectrodeMethod.
Nitrógeno total	PEC.PQAR.606 basado en ISO 11905-2:1997
Fósforo soluble	PEC.PQAFB.014 basado en ISO 6878-2004.
Fósforo total	PEC.PQAFB.013 basado en ISO 15681-2-2009, APHA 4500P-1999 y QuikChemMethod 31-115-01-3-D.

Tabla A3. Valores de isótopos estables en los mesocosmos

Muestra	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
<i>L. fortunei</i>	5,16	-29,53
<i>L. fortunei</i>	6,46	-27,52
<i>L. fortunei</i>	5,85	-28,33
<i>L. fortunei</i>	6,88	-25,70
<i>L. fortunei</i>	6,95	-22,75
<i>L. fortunei</i>	6,18	-26,81
<i>L. fortunei</i>	6,68	-25,66
<i>L. fortunei</i>	6,24	-25,21
<i>L. fortunei</i>	7,37	-20,78
<i>L. fortunei</i>	6,76	-26,94
<i>L. fortunei</i>	7,12	-25,46
<i>L. fortunei</i>	6,67	-24,49
<i>L. fortunei</i>	6,45	-27,29

<i>L. fortunei</i>	6,33	-27,84
<i>L. fortunei</i>	6,12	-26,81
<i>L. fortunei</i>	6,04	-24,61
<i>L. fortunei</i>	6,53	-25,13
<i>L. fortunei</i>	6,80	-26,52
<i>L. fortunei</i>	6,44	-26,52
Cladóceros	5,08	-23,32
Cladóceros	5,01	-24,73
Cladóceros	4,03	-21,76
Cladóceros	3,54	-19,11
Cladóceros	7,88	-21,16
Cladóceros	6,01	-20,11
Cladóceros	5,87	-19,36
Cladóceros	5,13	-22,44
Copépodos	4,28	-21,99
Copépodos	4,35	-23,69
Copépodos	5,03	-21,74
Copépodos	5,63	-17,18
Copépodos	7,65	-17,24
Copépodos	5,69	-18,64
Copépodos	5,96	-18,34
Copépodos	9,48	-20,53
Copépodos	9,32	-19,98
Copépodos	11,71	-18,56
Copépodos	7,93	-19,07
Copépodos	6,72	-19,11
Copépodos	8,08	-18,23
Copépodos	10,26	-21,40

Copépodos	10,23	-20,08
MOP	8,30	-20,24
MOP	3,57	-19,83
MOP	1,88	-23,88
MOP	8,73	-22,89
MOP	7,53	-23,27
MOP	6,76	-22,51
MOP	5,30	-22,91
MOP	4,97	-21,25
MOP	6,96	-22,69

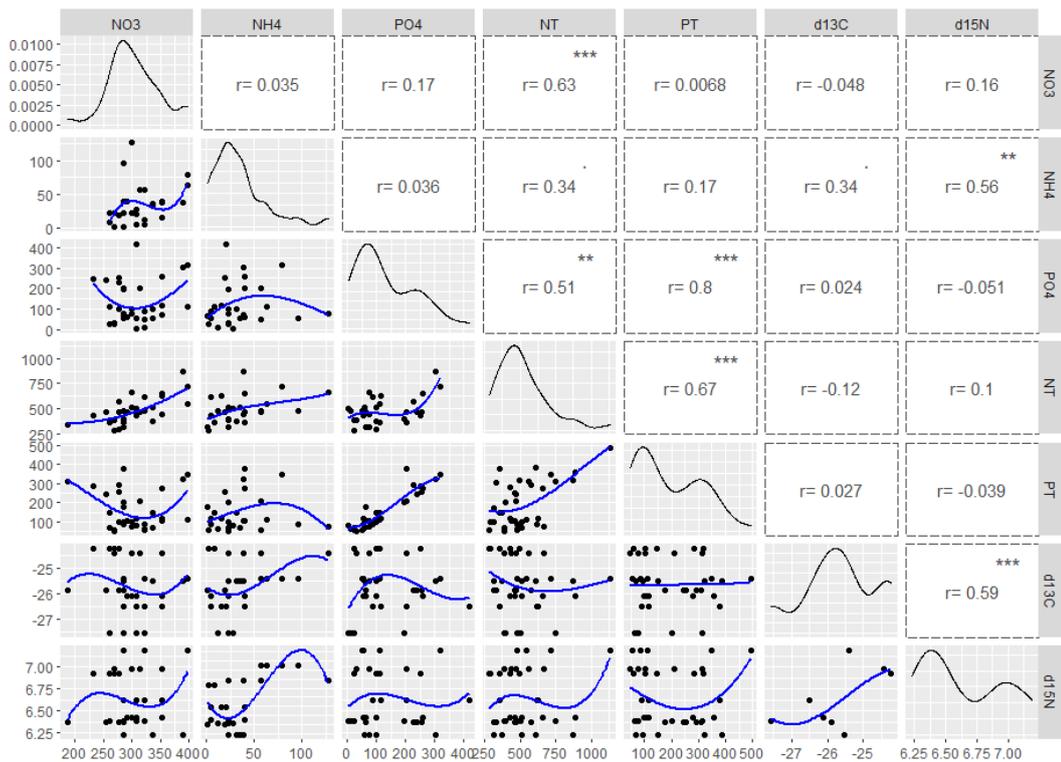


Figura A1. Modelos de grado 3 entre variables tomadas de a pares. Las variables son el isótopo estable de Nitrógeno (^{15}N) y el de Carbono (^{13}C) en *L. fortunei*, y los nutrientes: nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y sus fracciones inorgánicas, nitrito (NO_3), amonio (NH_4) y fosfato (PO_4) en los ocho mesocosmos estudiados. La diagonal representa la distribución de los datos de cada variable, por debajo se presenta la nube de puntos en negro y el ajuste lineal en azul, por arriba de la diagonal se presenta el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos representan la significancia.

Tabla A4. Media y desvío estándar de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en *Limnoperna fortunei* para cada estación muestreada en las diferentes cuencas.

Cuenca	Estación	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
RN	Arroyo Grande	-29,12	8,28
RN	Baygorria	-22,67 ± 1,21	9,91 ± 1,87
RN	Bonete	-22,3 ± 0,71	8,3
RN	Palmar	-23,2 ± 0,70	13,39 ± 0,20
RP	Boca del Cufre	-25,6	9,1
RP	Colonia del Sacramento	-25	9,1
RP	Puerto Conchillas	-26,4	9,7
RP	Juan Lacaze	-26,1	10,5
RU	Arroyo Itapeby Gde	-32,03 ± 2,35	8,47 ± 0,92
RU	Río Arapey	-28,91 ± 1,80	6,86 ± 0,09
RU	Río Dayman	-31,45 ± 0,55	7,58 ± 0,13
RU	Fray Bentos	-27,82 ± 1,51	9,14 ± 1,71
RU	Las Cañas	-27,01 ± 0,69	9,66 ± 1,12
RU	Nuevo Berlín	-31,23 ± 1,57	8,79 ± 0,82
RU	Río Queguay	-33,44 ± 0,77	7,73 ± 1,70
RU	Belén	-26,64 ± 0,78	8,48 ± 0,68
RU	Punta Gorda	-24,76 ± 0,63	9,97 ± 0,38
RU	Bella Unión	-26,43	7,88
RU	Paysandú	-24,47 ± 1,70	8,88 ± 0,79
SL	Aguas Corrientes	-27,6	12,2
SL	Canelon Grande	-25,8	11,7
SL	Marina Sta. Lucia	-32,6	11,2
SL	Paso Severino	-29,55 ± 0,21	17,55 ± 0,35
SL	Las Brujas	-27,32 ± 0,47	11,87 ± 0,34

Tabla A5. Valores del Índice de Estado Trófico (Lamparelli, 2004 y Cunha *et al.*, 2013) calculado en función de la concentración de Fósforo Total (PT) para los sistemas Río Negro (RN), Río de la Plata (RP), río Santa Lucía (SL) y Río Uruguay (RU), en cada una de las siguientes estaciones: Baygorria (BY), Bonete (BO), Palmar (PA), Juan Lacaze (JL), Colonia del Sacramento (CS), Puerto de Conchillas (PC), Boca del Cufré (BC), Marina Santa Lucía (MS), Paso Severino (PS), Aguas Corrientes (AC), Canelón Grande (CG), Las Cañas (LC), Fray Bentos (FB), Nuevo Berlín (NB), Belén (BE), Paysandú (PY), Bella Unión (BU) y Punta Gorda (PG).

Cuenca	Estación	IET	Nivel Trófico
RN	BY	56,76	eutrófico
RN	BO	57,24	eutrófico
RN	PA	58,04	eutrófico
RP	JL	57,10	mesotrófico
RP	CS	55,34	mesotrófico
RP	PC	56,22	mesotrófico
RP	BC	61,31	eutrófico
SL	MS	63,54	supereutrófico
SL	PS	66,01	hipereutrófico
SL	AC	63,18	supereutrófico
SL	CG	66,01	hipertrófico
RU	LC	56,64	mesotrófico
RU	FB	54,77	mesotrófico
RU	NB	55,08	mesotrófico
RU	BE	57,73	mesotrófico
RU	PY	57,57	mesotrófico
RU	BU	58,71	mesotrófico
RU	PG	57,36	mesotrófico

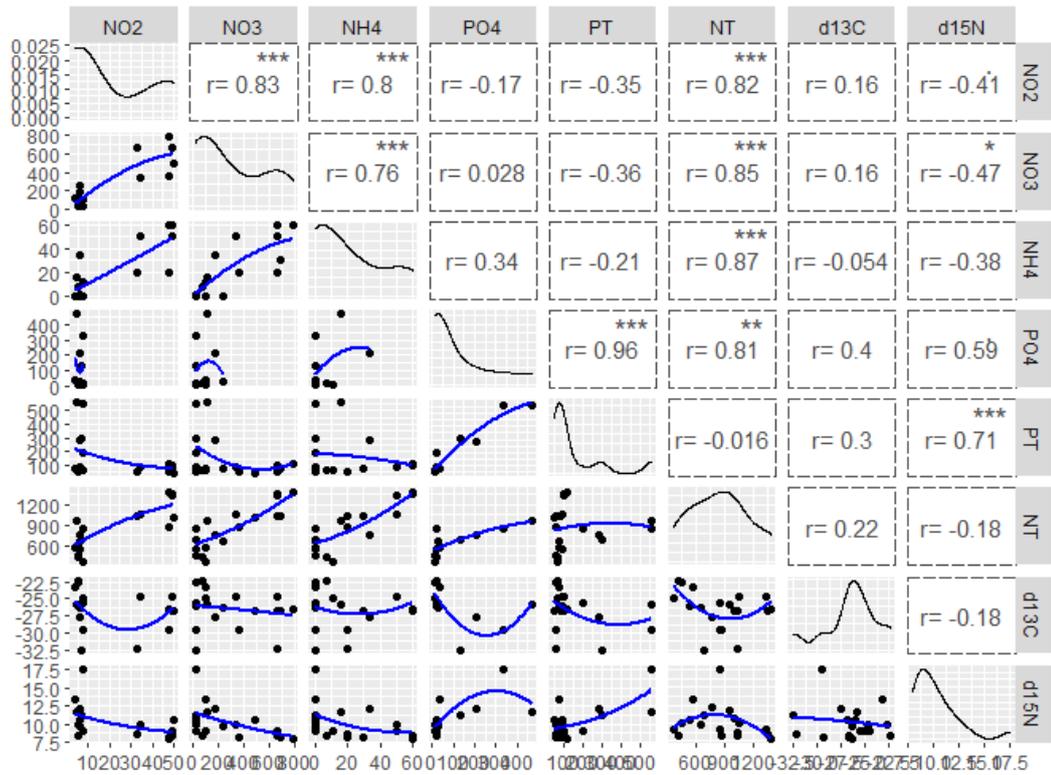


Figura A2. Modelos de grado 2 entre variables tomadas de a pares. Las variables son el isótopo estable de Nitrógeno (¹⁵N) y el de Carbono (¹³C) en *L. fortunei*, y los nutrientes: nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y sus fracciones inorgánicas nitrato (NO₂), nitrito (NO₃), amonio (NH₄) y fosfato (PO₄) en los ríos Negro, Santa Lucía, Uruguay y Río de la Plata. La diagonal representa la distribución de los datos de cada variable, por debajo se presenta la nube de puntos en negro y el ajuste lineal en azul, y arriba se presenta el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos representan la significancia.

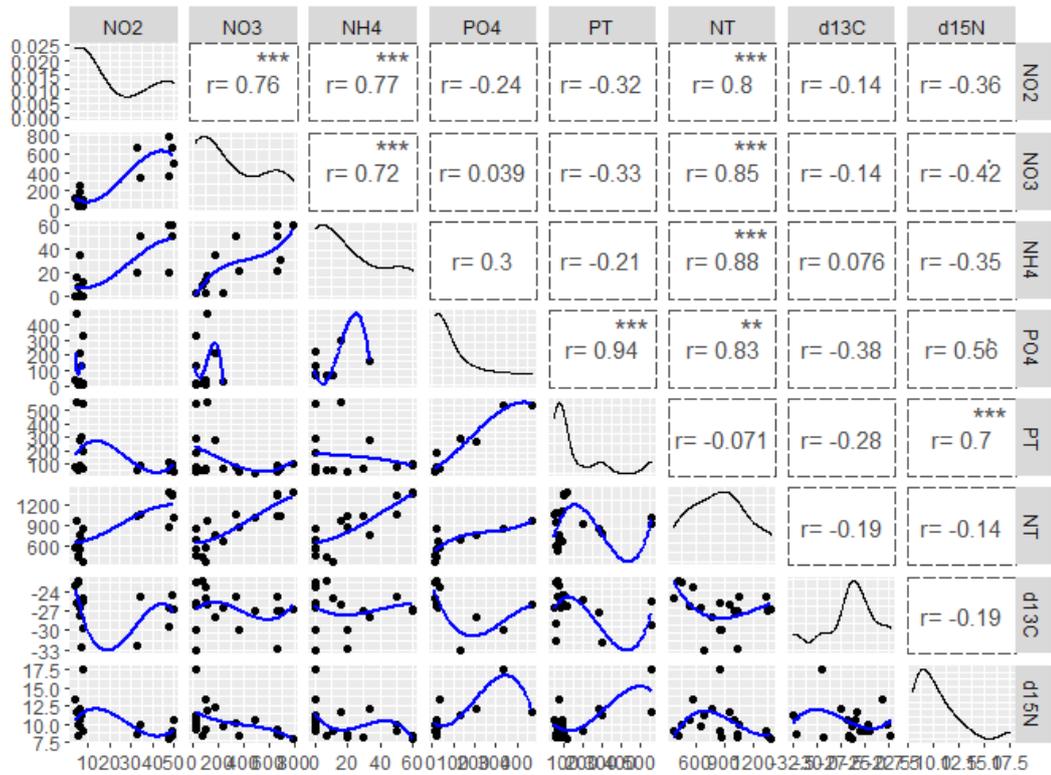


Figura A3. Modelos de grado 3 entre variables tomadas de a pares. Las variables son el isótopo estable de Nitrógeno (^{15}N) y el de Carbono (^{13}C) en *L. fortunei*, y los nutrientes: nitrógeno total (NT), fósforo total (PT) y sus fracciones inorgánicas nitrato (NO_2), nitrito (NO_3), amonio (NH_4) y fosfato (PO_4) en los ríos Negro, Santa Lucía, Uruguay y Río de la Plata. La diagonal representa la distribución de los datos de cada variable, por debajo se presenta la nube de puntos en negro y el ajuste lineal en azul, y arriba se presenta el coeficiente de correlación de Pearson. Los asteriscos representan la significancia.