



TESIS DE MAESTRÍA EN GEOCIENCIAS-PEDECIBA

Floraciones de cianobacterias: efectos de la eutrofización y la variabilidad climática

Lic. Florencia Valentina Sarthou Suárez

Orientador de Tesis: Dra. Carla Kruk

Co-orientador de Tesis: Dra. Mariana Meerhoff

Montevideo, 2016

Página de aprobación

Nombre del Director de Tesis: Dra. Carla Kruk

Co- Director de Tesis: Dra. Mariana Meerhoff

Tribunal: Dr. Felipe García-Rodríguez, Dra. Claudia Piccini, Dra. Paula Tezanos

Fecha: 7 de julio de 2016

Calificación: Aprobado con mención

Autor: Florencia Sarthou Suárez

AGRADECIMIENTOS

A los integrantes del grupo de investigación: “Ecología y rehabilitación de sistemas acuáticos”, por la realización de los muestreos con su colaboración.

A la Mag. Miriam Gerhard, por ceder datos de zooplancton analizados en el marco de su trabajo de tesis de Maestría PEDECIBA Ecología, bajo la orientación del Dr. Carlos Iglesias.

A mis orientadoras, las Dras. Carla Kruk y Mariana Meerhoff.

A Lucía Noguera y Carolina Cabrera por la realización en conjunto de los experimentos del tercer capítulo, y a ellas, junto con Angel Segura, Carmela Carballo y Maite Colina, por ser parte del equipo que se dedicó a la búsqueda bibliográfica empleada en el segundo capítulo.

A Aguas de la Costa S.A. por proveer de una serie de datos hidrológicos de la laguna.

A Celia Leite Sant' Anna y Andrea Tucci, por su ayuda con la identificación de especies durante la pasantía realizada en San Pablo en el marco de esta maestría.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por la beca otorgada para la realización de este trabajo.

A los integrantes de la Sección Limnología y del Grupo de Ecología Funcional de Ecosistemas Acuáticos.

A todos aquellos que compartieron algún curso, taller, congreso, o cualquier otra instancia de aprendizaje en estos años.

A mi familia (incluidos mis gatos), que siempre me alentó a que continuara mis estudios, incluso en los peores momentos.

A mis amigos.

A todos aquellos que a lo largo de estos años me preguntaron: “¿Cómo va esa tesis?”.

CONTENIDO

RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes y justificación.....	1
1.2 Cianobacterias: eutrofización.....	1
1.3 Cianobacterias: variación climática.....	2
1.4 Diversidad funcional de las cianobacterias.....	3
1.5 Grupos funcionales.....	4
1.6 El caso de Uruguay.....	7
1.7 HIPÓTESIS Y PREDICCIONES GENERALES.....	9
1.9 OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE LA TESIS.....	10
CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS CAMBIOS DE LA TEMPERATURA EN EL CRECIMIENTO DE GRUPOS FUNCIONALES BASADOS EN MORFOLOGÍA DEL FITOPLANCTON CON CIANOBACTERIAS POTENCIALMENTE NOCIVAS.....	12
2.1 INTRODUCCIÓN.....	13
2.2 HIPÓTESIS.....	15
2.3 OBJETIVO.....	16
2.4 MÉTODOS.....	16
2.4.1 Recopilación bibliográfica.....	16

2.4.2	Análisis estadístico de datos.....	18
2.5	RESULTADOS.....	19
2.6	DISCUSIÓN.....	24
2.6.1	El tamaño.....	25
2.6.2	Relación S/V.....	26
2.6.3	Complejidad y nivel de organización.....	27
2.6.4	Origen filogenético.....	28
2.7	CONCLUSIONES.....	29
CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LOS NUTRIENTES EN COMUNIDADES NATURALES CON GFBM QUE INCLUYEN CIANOBCATERIAS NOCIVAS.....		
3.1	INTRODUCCIÓN.....	32
3.2	HIPÓTESIS.....	33
3.3	OBJETIVO.....	33
3.4	METODOLOGÍA.....	34
3.4.1	Área de estudio y muestreo.....	34
3.4.2	Experimentos en laboratorio.....	35
3.4.3	Análisis de muestras.....	38
3.4.4	Análisis de datos.....	39
3.5	RESULTADOS.....	40
3.5.1	Efecto temporal de la concentración de nutrientes.....	40

3.5.2 Efecto temporal de tratamientos combinados de temperatura y nutrientes.....	40
3.5.3 Estado final de todos los tratamientos.....	42
3.6 DISCUSIÓN.....	46
3.7 CONCLUSIONES.....	51
CAPÍTULO 4: SUCESIÓN DE GFBM CON CIANOBACTERIAS POTENCIALMENTE NOCIVAS EN UN LAGO SOMERO UTILIZADO COMO FUENTE DE AGUA POTABLE.....	
4.1 INTRODUCCIÓN.....	53
4.1.1 Lagos someros subtropicales.....	54
4.1.2 Lagos someros en Uruguay y Laguna Blanca.....	55
4.1.3 GFBM III y <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> : estado turbio en Laguna Blanca.....	56
4.2 HIPÓTESIS.....	59
4.3 OBJETIVO.....	60
4.4 MÉTODOS.....	60
4.4.1 Área de estudio.....	60
4.4.2 Datos meteorológicos e hidrológicos.....	62
4.4.3 Muestreo.....	62
4.4.4. Análisis de muestras.....	63
4.4.5 Análisis de datos.....	66

4.5 RESULTADOS.....	68
4.5.1 Variables meteorológicas e hidrológicas.....	68
4.5.2 Variables ambientales limnológicas.....	68
4.5.3 Abundancia, Biovolumen y composición de la comunidad de fitoplancton.....	71
4.5.4 GFBM: composición, morfología y dinámica temporal	77
4.5.5 Relación del fitoplancton con las variables ambientales	80
4.5.6 Composición y dinámica del GFBM III.....	82
4.5.7 Comparación entre <i>C. raciborskii</i> y <i>A. gracile</i>	82
4.5.8 Análisis de Morfología de <i>C. raciborskii</i> en el tiempo..	84
4.6 DISCUSIÓN.....	87
4.6.1 Descripción del ambiente acuático.....	87
4.6.2 Descripción del fitoplancton general.....	89
4.6.3 Descripción de los GFBM.....	90
4.6.4 Relación del fitoplancton con las condiciones ambientales.....	91
4.6.5 Codominancia de especies del GFBM III.....	94
4.7 CONCLUSIONES.....	95
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES.....	96
BIBLIOGRAFÍA.....	99

RESUMEN

La eutrofización y el cambio climático han aumentado la frecuencia de floraciones de cianobacterias. Sin embargo, no es claro cómo estos cambios afectan la dominancia de distintos grupos de cianobacterias, dificultando su predicción. Nuestra hipótesis es que los rasgos morfológicos individuales reflejarán las respuestas a los cambios ambientales y que éstas estarán resumidas en una aproximación funcional (grupos funcionales basados en morfología, GFBM). Asimismo, las especies dentro de cada GFBM serán funcionalmente redundantes. El objetivo de esta tesis fue estudiar los efectos de la eutrofización y el cambio climático en la estructura de la comunidad fitoplanctónica y la ocurrencia de floraciones de cianobacterias utilizando GFBM. Para ello se combinaron tres estrategias: revisión bibliográfica, experimentos con comunidades naturales y monitoreo de un lago somero subtropical.

En la revisión se evaluó la respuesta de las tasas de crecimiento de las especies organizadas en GFBM en función de la temperatura. Distintos GFBM tuvieron diferentes respuestas a los cambios en la temperatura, en particular cianobacterias formadoras de floraciones representadas en distintos GFBM tuvieron diferentes respuestas, confirmando que la morfología refleja los efectos de los cambios ambientales y que los mecanismos involucrados no son sólo filogenéticos.

Mediante experimentos, se evaluaron los efectos combinados de la temperatura y los nutrientes sobre la biomasa total de fitoplancton y la composición de GFBM. Las mayores biomásas totales ocurrieron con altas temperaturas y nutrientes, donde dominaron las cianobacterias. Las especies de cianobacterias dominantes reflejaron las condiciones ambientales predichas por su agrupación en el GFBM III.

En los datos de campo se consideró el efecto simultáneo de varias variables ambientales, incluidos los nutrientes, la temperatura y el nivel del agua. Fue posible asociar distintas condiciones ambientales a diferencias especies de cianobacterias clasificadas en GFBM. Asimismo se confirmó que especies del mismo GFBM pueden ser simultánea o alternativamente dominantes y potencialmente similares funcionalmente.

Como conclusión general se observó que las cianobacterias son favorecidas a mayores temperaturas y concentraciones de nutrientes. Sin embargo, el tipo de respuesta y cuáles cianobacterias dominarán dependerá además de sus rasgos morfológicos. La combinación del origen filogenético con la morfología es una herramienta adecuada para la generación de modelos predictivos y la gestión de las floraciones en ecosistemas continentales.

Palabras clave: eutrofización, calentamiento, lagos someros, rasgos morfológicos, cianobacterias, GFBM, *Cylindrospermopsis raciborskii*.

ABSTRACT

Eutrophication and climate change have increased the rate of cyanobacterial blooms occurrence. However, it remains unclear how these changes affect different groups' dominance, making prediction difficult. A useful approach is to classify organisms according to morphological traits combined to responses to environmental conditions, as Morphology Based Functional Groups (MBFG) of phytoplankton.

With the objective of studying the eutrophication and climate change effects on the structure of phytoplankton and cyanobacterial blooms, we combined three approximations, through summarizing information in MBFG: literature review, experiments with natural communities and monitoring of a subtropical shallow lake.

In the review, the response of growth rates to temperature, and the variation in this relation shape was evaluated for each MBFG. Cyanobacterial species from different MBFG exhibited different behaviors under temperature changes, confirming that morphology reflects the effect of temperature raise on phytoplankton growth, with mechanisms not exclusively phylogentic

Throughout experiments, the effects of increasing temperature and nutrient concentration on phytoplanktonic community of three inoculums were studied, monitoring changes in total biomass and MBFG composition. Higher biomasses occurred under high temperature and nutrient concentration conditions, with cyanobacterial dominance. The dominant cyanobacterial type reflected environmental factors predicted by its classification into the MBGF III.

In the field data, the simultaneous effect of several environmental variables on phytoplankton, including nutrients, temperature and water level, were considered. Even though it was possible to explain the bloom type, the results obtained do not allow us to predict the dominant species inside each MBFG. Moreover, it was confirmed that species within the same MBFG can be simultaneously or alternatively dominant and, potentially, functionally similar.

In general, it is concluded that Cyanobacteria are favored by higher temperatures and nutrient loadings. However, the type of response to these changes and which species will dominate phytoplankton will depend on morphological traits. The combination of organisms' phylogenetic origin and morphology is an useful tool for prediction and bloom management in continental ecosystems.

Keywords: eutrophication, warming, shallow lakes, morphology traits, Cyanobacteria, MBFG, *Cylindrospermopsis raciborskii*.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes y justificación

El fitoplancton está compuesto por los microorganismos productores primarios de la zona pelágica (Arrigo, 2005). Esta comunidad tuvo y tiene gran relevancia para la vida en el planeta (Falkowski et al., 2004). Sin embargo, el crecimiento excesivo de algunas especies (floraciones), como es el caso de las cianobacterias en los ecosistemas límnicos, ocasiona pérdidas para la conservación de la biodiversidad (Scheffer, 1998) (Scheffer, 1998) y de servicios ecosistémicos (e.g. recreación, pesca, agua para consumo) (Chorus & Bartram, 1999). Las cianobacterias incluyen especies capaces de producir cianotoxinas, con un alto riesgo para la salud humana y animal (Chorus & Bartram, 1999). Para disminuir los impactos económicos, sanitarios y ecosistémicos de la ocurrencia de floraciones es fundamental poder predecir su ocurrencia y desarrollo.

1.2 Cianobacterias: eutrofización

La eutrofización, generada por el aumento de la concentración de nutrientes (fósforo y nitrógeno) (Schindler, 2006) es en uno de los

problemas más serios que experimentan los sistemas acuáticos en la actualidad (Moss et al., 2011). Este proceso suele causar un aumento de la turbidez, la generación de malos olores y la disminución de la concentración de oxígeno en el agua, actuando en detrimento de la biodiversidad (Scheffer, 1998). Los productores primarios y en particular el fitoplancton son los organismos más favorecidos durante la eutrofización. En particular son las las algas verdes y frecuentemente cianobacterias las que logran un mayor desarrollo (Scheffer et al., 1993). Esto ocurre debido a la presencia de adaptaciones en estos organismos que favorecen su mejor utilización de la luz (control de su posición en la columna de agua) y los nutrientes (Graham et al., 2000).

1.3 Cianobacterias: variación climática

Una de las variables que más afectan el desarrollo del fitoplancton es la temperatura. Dependiendo del escenario de emisiones de gases de efecto invernadero, se prevé que la temperatura promedio superficial global para el período 2050-2099 aumente entre 1,1 y 6,4 °C con respecto al período 1980-1999 (IPCC, 2007). Según algunos autores, las cianobacterias potencialmente tóxicas presentan mayores temperaturas óptimas de crecimiento que otros grupos (Reynolds, 1984; Paerl & Huisman, 2008), y

se verían favorecidas en tal escenario de cambio global (Paerl & Huisman, 2008). Por otro lado, la mayor temperatura afectaría la estabilidad de la columna de agua, intensificando la estratificación (Paerl & Huisman, 2008), condición que también favorece a las cianobacterias que pueden regular su posición en la columna de agua (Graham et al., 2000). Sin embargo, no solamente se prevé un aumento de la temperatura, sino también cambios en los regímenes de precipitaciones (IPCC, 2007). Estos afectarán el nivel y el tiempo de residencia del agua en el sistema, así como el aporte de nutrientes desde la cuenca (Jeppesen et al., 2010), pudiendo agravarse los efectos de la eutrofización. En este sentido la sinergia causada por altos nutrientes por eutrofización y cambios climáticos que favorezcan mayores temperaturas potenciarán aún más las expectativas de ocurrencia e intensidad de floraciones de cianobacterias (Moss et al., 2011).

1.4 Diversidad funcional de las cianobacterias

La eutrofización y las altas temperaturas parecen promover el desarrollo de las cianobacterias potencialmente tóxicas en general, pero existe una gran variedad de especies con una muy amplia gama de respuestas a las condiciones ambientales y efectos en el ambiente (Paerl, 1988). Por esta

razón, sería necesario evaluar a las cianobacterias considerando las especies individuales y no a todas juntas en un único grupo (Paerl, 1988), pero el gran número de especies y poblaciones con distintas características hace difícil la tarea (Graham et al., 2000). Además, las variables y procesos que rigen el funcionamiento del fitoplancton son muy variados, abarcan amplias escalas temporales y espaciales, y sus interacciones son fuertemente no lineales (Levin, 1992). Por ello el fitoplancton es un sistema complejo (Levin, 1998) y la predictibilidad a nivel específico resulta poco factible (Benincà et al., 2008). Para su estudio se deben desarrollar nuevas aproximaciones que permitan resumir y comprender los mecanismos operantes. Una alternativa es el abordaje funcional, el cual permite identificar los procesos moduladores construyendo grupos de especies que reflejen estos procesos y la respuesta de los organismos al ambiente (Litchman & Klausmeier, 2008).

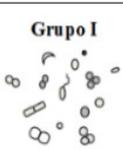
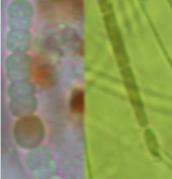
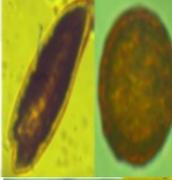
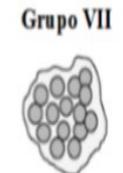
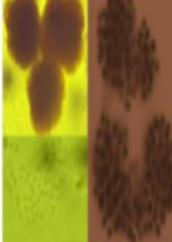
1.5 Grupos funcionales

Los organismos pueden ser agrupados en grupos funcionales, independientes de su filiación taxonómica, en base a rasgos funcionales individuales (Reynolds et al., 2002; Kruk, 2010; Salmaso et al., 2015). Los grupos se componen de organismos con rasgos similares y por lo tanto

respuestas y efectos similares en el ambiente, por lo que se podrían considerar funcionalmente equivalentes y redundantes (Litchman & Klausmeier, 2008).

La aproximación de grupos funcionales basados en morfología (GFBM, Figura 1) clasifica a los organismos del fitoplancton en siete grupos en base a rasgos morfológicos (Kruk et al., 2010), por ejemplo la dimensión máxima lineal (MLD), la relación superficie-volumen (S/V), la presencia o no de aerótopos, entre otros. Utilizando esta aproximación es posible reducir la dimensionalidad del problema de miles de especies a 7 grupos y aumentar la capacidad de predicción de las respuestas de las cianobacterias a los cambios ambientales (Kruk et al., 2012; Segura et al., 2012). Entre los GFBM, el III y el VII incluyen especies de cianobacterias potencialmente nocivas (e.g. *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Microcystis aeruginosa*, respectivamente). El GFBM III incluye filamentos con aerótopos de gran tamaño y es favorecido en condiciones de baja intensidad lumínica y mezcla continua, debido a su mayor S/V. El grupo GFBM VII que incluye colonias mucilaginosas de gran tamaño se favorecería en condiciones de alta intensidad lumínica y estratificación (Kruk et al., 2012; Segura et al., 2012).

Tabla 1.1. Representación esquemática y fotomicrografías de organismos pertenecientes a los grupos funcionales basados en morfología (GFBM). Se incluye descripción de cada GFBM y preferencias ambientales. Modificado de Kruk et al., 2010; Kruk y Segura, 2012; Cabrera, 2015. S: superficie, V: volumen, S/V superficie/volumen.

GFBM (Kruk et al., 2010)	Características y preferencias ambientales
<p>Grupo I</p>  	<p>Pequeño tamaño, alta relación S/V. Alta tasa de crecimiento. e.g. <i>Synechocystis aquatilis</i>. Toleran bajos nutrientes, necesidad alta de luz.</p>
<p>Grupo II</p>  	<p>Pequeño tamaño, flagelados con exoesqueleto silíceo. e.g. <i>Mallomonas pulcherrima</i>. Tolerancia a bajos nutrientes, necesidad alta de luz. Características de estados de buena calidad de agua.</p>
<p>Grupo III</p>  	<p>Filamentos grandes con aerótopos. Alta S/V. e.g. <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>. Resistentes depredadores, baja luz y nitrógeno. Presencia de especies potencialmente tóxicas.</p>
<p>Grupo IV</p>  	<p>Tamaño medio, sin rasgos especializados. e.g. <i>Coelastrum microporum</i>. Favorecidas por nutrientes bajos a medios, alta abundancia de zooplancton y alta luz.</p>
<p>Grupo V</p>  	<p>Flagelados unicelulares de tamaño medio a grande. e.g. <i>Cryptomonas ovata</i>. Toleran condiciones de bajos nutrientes y luz.</p>
<p>Grupo VI</p>  	<p>Organismos sin flagelo con exoesqueleto silíceo. e.g. <i>Aulacoseira granulata</i>. Toleran bajos tiempos de residencia pero no condiciones de estratificación.</p>
<p>Grupo VII</p>  	<p>Colonias mucilaginosas grandes, baja S/V. e.g. <i>Microcystis aeruginosa</i>. Preferencia por alto nivel de agua y resistentes a la depredación. Sensibles a bajos nutrientes. Presencia de especies potencialmente nocivas.</p>

Los GFBM han sido utilizados en modelos para simular el desarrollo del fitoplancton en lagos de Uruguay (Lago Rodó, Montevideo, Laguna de Rocha, Rocha, Uruguay). En el primero se incluyeron el crecimiento dependiente de nutrientes, la sedimentación y la depredación por zooplancton como procesos moduladores y ha sido capaz de representar adecuadamente la sucesión del fitoplancton del Lago Rodó (Segura et al., 2012). A su vez, los GFBM han sido aplicados al estudio del fitoplancton de diversos tipos de sistemas acuáticos, a nivel regional (Izaguirre et al., 2012; Borges Machado et al., 2015; Bortolini et al., 2015) e internacional (Caroni et al., 2012; Gallego et al., 2012; Hu et al., 2013; Petar et al., 2014).

1.6 El caso de Uruguay

En Uruguay la eutrofización es uno de los principales fenómenos que afectan a los cuerpos de agua (Mazzeo et al., 2001b; Bonilla & Meerhoff, 2013). Muchos ecosistemas acuáticos, principalmente lagos someros, ya sufrieron la ocurrencia de floraciones nocivas (Bonilla & Conde, 2000; Mazzeo et al., 2001a; Kruk & De León, 2002; Aubriot et al., 2005; Vidal & Kruk, 2008; Pacheco et al., 2010). Además, en los próximos años se prevé un aumento en actividades humanas que significan un incremento

en la carga de nutrientes de los sistemas acuáticos, tales como la intensificación de la agricultura, ganadería intensiva (feedlots) o la forestación e industria papelera asociada (MGAP, 2010). En cuanto a los cambios climáticos, para Uruguay se prevé un aumento de 1 a 2.5°C en la temperatura media hacia 2050, junto con cambios en el régimen de precipitaciones, con una tendencia hacia el aumento de las lluvias (incrementando la escorrentía cerca de un 40%) y los eventos climáticos extremos (Rusticucci & Renom, 2008; Marengo et al., 2009; Rusticucci et al., 2010).

Sobre la costa Atlántica del Uruguay se encuentra una serie de lagos someros naturales, algunos de los cuales son empleados como fuente de agua potable para la población, principalmente durante el verano. En particular, la Laguna Blanca, la cual es utilizada como fuente de agua potable, es un sistema eutrofizado y ha presentado frecuentes floraciones de cianobacterias, entre ellas la especie invasora *Cylindrospermopsis raciborskii* (Vidal & Kruk, 2008; Pacheco et al., 2010). Por lo tanto, dado el riesgo que las floraciones para el abastecimiento de agua de la población de la zona, es fundamental investigar las causas que favorecen su desarrollo, aportando a la predicción de su ocurrencia y a la aplicación medidas de manejo adecuadas.

1.7 HIPÓTESIS Y PREDICCIONES GENERALES

A) Los rasgos morfológicos reflejan la adecuación biológica de los organismos y por lo tanto sus respuestas a los cambios en las variables ambientales (e.g. temperatura, concentración de nutrientes, luz). Organismos de las cianobacterias con similares rasgos morfológicos (e.g. Volumen, presencia de aerótopos) tendrán similares respuestas a los cambios ambientales y estas serán apropiadamente resumidas utilizando la aproximación de GFBM.

En base a esta hipótesis se predice:

- 1) La agrupación de las poblaciones de cianobacterias en GFBM permitirá describir adecuadamente sus respuestas al ambiente
- 2) Especies del mismo grupo funcional serán funcionalmente equivalentes.

B) Las especies formadoras de floraciones potencialmente nocivas se encuentran dentro de los GFBM III y VII. Estos GFBM estarán mejor adaptados a altas concentraciones de nutrientes y temperaturas que otros grupos. Además, diferencias en su tamaño y forma favorecerán su desarrollo en distintas condiciones hidrológicas y de disponibilidad de luz asociados a cambios en la profundidad del sistema acuático.

En base a esta hipótesis se predice:

- 1) Las mayores biomásas de cianobacterias de los GFBM III y VII se detectarán en condiciones de mayor carga de nutrientes y en condiciones de mayor temperatura,
- 2) El GFBM III dominará preferentemente en condiciones de mezcla y baja disponibilidad de luz en la columna de agua mientras que el VII lo hará en condiciones de mayor estabilidad.

1.9 OBJETIVOS Y ESTRATEGIA DE LA TESIS

El objetivo general fue estudiar los efectos de los cambios ambientales en la estructura de la comunidad de fitoplancton y en particular sobre la ocurrencia de cianobacterias potenciales formadoras de floraciones nocivas utilizando la aproximación de GFBM.

Los objetivos y estrategias específicas fueron:

- i) Analizar los efectos de los cambios de la temperatura en especies agrupadas en GFBM. Esto se puso a prueba analizando datos extraídos de una revisión de literatura sobre tasas de crecimiento máximo de especies de fitoplancton con la temperatura, agrupadas en GFBM.

ii) Evaluar el efecto combinado de la temperatura y los nutrientes mediante experimentos utilizando comunidades naturales en condiciones controladas de laboratorio.

iii) Analizar simultáneamente gran parte de las variables ambientales que afectan la biomasa total y la composición de los GFBM que incluyen cianobacterias potencialmente nocivas estudiando la sucesión en un lago somero utilizado como fuente de agua potable en Uruguay (Laguna Blanca).

**CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS CAMBIOS DE LA TEMPERATURA EN
EL CRECIMIENTO DE GRUPOS FUNCIONALES BASADOS EN
MORFOLOGÍA DEL FITOPLANCTON CON CIANOBACTERIAS
POTENCIALMENTE NOCIVAS**

2.1 INTRODUCCIÓN

Los aumentos en la temperatura tienen efectos directos y positivos sobre el metabolismo de los organismos de fitoplancton (Robarts & Zohary, 1987; Reynolds, 1997; Coles & Jones, 2000), así como efectos indirectos favoreciendo la estratificación de la columna de agua (Jöhnk et al., 2008; Paerl & Huisman, 2009). Estos cambios se han indicado como los que promueven el desarrollo de floraciones de cianobacterias (Paerl y Huisman, 2009). Sin embargo, existen trabajos contradictorios que indican que otros grupos de microorganismos pueden ser favorecidos, como las clorofitas (Lürling et al., 2012) o grupos mixotróficos (Wilken et al., 2012).

En particular, organismos de distintos tamaños y S/V tienen distintas tasas de crecimiento, debido a cambios en la manera en que se accede a los nutrientes y en que estos se distribuyen en el medio intracelular. Los cambios de la tasa de crecimiento de organismos fitoplanctónicos con la temperatura fueron descritos originalmente en la década de los setenta indicando un aumento exponencial de la tasa de crecimiento (Eppley, 1972; Goldman & Carpenter, 1974). Trabajos más recientes describen una segunda fase, en la cual hay una disminución rápida de la tasa de crecimiento (Segura et al., 2015).

Distintos parámetros de la curva de la tasa de crecimiento máxima en función de temperatura pueden ser utilizados para comparar las respuestas de los organismos. El corte en el eje de las y, el intercepto, da información sobre cuanta energía es necesaria para iniciar el crecimiento, menores valores indicarían un mayor costo. La pendiente de aumento de la tasa con la temperatura, el punto de corte y luego la pendiente de disminución de la tasa de crecimiento indicarían en qué condiciones son crecen mejor los organismos y cuán rápido pueden responder a los cambios en la temperatura ambiente. En este sentido, la forma de la relación se espera cambie reflejando la pertenencia a distintos grupos filogenéticos. Por ejemplo, las diatomeas tendrían un óptimo a menores temperaturas y un decrecimiento también a menores temperaturas, mientras que las cianobacterias tendrían mayores valores a mayores temperaturas (Robarts & Zohary, 1987; Coles & Jones, 2000; Butterwick et al., 2005; Reynolds, 2006; Paerl & Huisman, 2008).

Asimismo, la morfología y el nivel de organización podrían también reflejar distintas respuestas a los cambios en la temperatura. Por ejemplo, la relación S/V afecta las respuestas metabólicas con la temperatura, ya que mayores S/V favorecen la captación y distribución de recursos en el organismo (Bratbak & Thingstad, 1985; Thingstad et al., 2005; Morabito et al., 2007; Litchman et al., 2010).

En este marco, se evaluó la hipótesis de que los rasgos relacionados al tamaño y la morfología afectan la fisiología y en particular determinan la forma de los cambios de las tasas de crecimiento frente a cambios en la temperatura, conjuntamente con el origen filogenético. En este sentido, se espera que el cambio de tasas máximas de crecimiento con la temperatura incluya una etapa de crecimiento, un óptimo y una etapa de disminución. Sin embargo, las respuestas de las especies agrupadas en GFBM, si bien tendrán esa forma general, serán significativamente distintas en sus parámetros, resultando en respuestas diferenciales en sus tasas de crecimiento ante el aumento de la temperatura que no estén necesariamente asociadas al origen filogenético, sino a la morfología.

2.2 HIPÓTESIS

La morfología afecta el metabolismo de los organismos y por lo tanto su velocidad de crecimiento a diferentes temperaturas. En este marco se espera que la forma en que la tasa de crecimiento máximo cambia con el aumento de la temperatura varíe significativamente para cada GFBM.

2.3 OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue analizar los efectos de los cambios de la temperatura en especies agrupadas en GFBM. Esto se puso a prueba analizando datos extraídos de una revisión de literatura sobre tasas de crecimiento máximo de especies de fitoplancton con la temperatura, agrupadas en GFBM.

2.4 MÉTODOS

2.4.1 Recopilación bibliográfica

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica en revistas científicas arbitradas, utilizando el buscador Google Scholar, y las palabras clave: “phytoplankton”, “maximun growth rate”, “temperature”, “experiments”. Luego de dicha búsqueda general, se realizaron búsquedas específicas, indicando géneros o especies, para lograr que hubiera representantes de todos los GFBM. Para la tasa máxima de crecimiento (μ_{\max}), se buscaron experimentos en fitoplancton de agua dulce que tuvieran como objetivo estimar la μ_{\max} bajo condiciones no limitantes (luz o nutrientes) y que

cubrieran un amplio gradiente de temperaturas en el mismo diseño experimental. Se revisaron 42 experimentos comprendiendo 563 medidas de μ_{\max} en un rango de temperatura de 1 a 45°C, con 78 especies representativas de diferentes grupos taxonómicos. Las especies fueron clasificadas en GFBM (Kruk et al., 2010) y en grandes grupos filogenéticos (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Detalles sobre los datos recopilados en la literatura sobre la tasa de crecimiento máxima. GFBM: grupo funcional basado en morfología. T: Temperatura (°C); cia: cianobacterias; cri: crisofitas; clo: clorofitas; xan: xantofitas; zyg: zygnematofitas; crip: criptofitas; din: dinoflagelados; eug: euglenofitas; dia: diatomeas. spp.: especies.

GFBM	Rango de T (°C)	N° de spp.	N° de grupos taxonómicos	Grupos filogenéticos	N° de casos
I	1-45	7	2	cia (26); clo (4)	30
II	1-49	3	1	cri (36)	36
III	2-40	14	1	cia (181)	181
IV	2-39,2	26	3	clo (98); xan (13); zyg (26)	137
V	1-30	12	4	clo (32); crip (33); din (21); eug (3)	89
VI	2-35	8	1	dia (48)	48
VII	10-35	6	1	cia (42)	42

2.4.2 Análisis estadístico de datos

Se evaluó la relación existente entre la temperatura y la μ_{\max} , tanto para el total de los grupos como para cada GFBM, realizándose varias pruebas de ajuste de modelos. Los modelos definitivos fueron elegidos en base al Criterio de Información de Akaike (AIC) y al análisis de los residuales de los ajustes, con el objetivo de determinar la existencia o no de violaciones a los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad.

Para el análisis del total de las μ_{\max} se probaron modelos lineales con ajuste por mínimos cuadrados, modelos no lineales y modelos lineales generalizados (GLM) con distribución Gamma y logaritmo neperiano como función de enlace. Para el GLM se realizó también una regresión segmentada, con el paquete Segmented de R (Muggeo, 2008), con la partición de la variable temperatura en dos rangos y el ajuste de una recta en cada uno de ellos. Este último modelo fue seleccionado por presentar el menor AIC y cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianza y normalidad de los residuales.

Para el análisis de las μ_{\max} por GFBM se realizaron pruebas entre los mismos tipos de modelos que se emplearon para las μ_{\max} totales, detallándose los ajustes seleccionados en la Tabla 2.2.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados empleando el programa libre R (R Core Team, 2016).

2.5 RESULTADOS

Se obtuvo información para todos los GFBM en rangos de temperatura relativamente comparables (entre 1 y 45 °C) excepto para el VII para el cual no se encontraron experimentos para valores menores a 10 °C. Al comparar todas las tasas de crecimiento máximo, incluyendo todas las temperaturas, no se observaron diferencias (Figura 2.1).

La relación entre el \log_{10} de las tasas máximas de crecimiento poblacional y la temperatura sugieren la existencia de dos relaciones lineales con un punto de quiebre a 19,04 °C (Figura 2.2). A bajas temperaturas (1–<19,04 °C), la pendiente estimada para la recta fue 0,08. A mayores temperaturas (>19,04-45°C) se observó una disminución en dicho parámetro (0,01).

A continuación se evaluó el cambio de la tasa máxima de crecimiento agrupando a las especies en GFBM. En la Figura 2.3 se muestran los modelos ajustados para los GFBM I,III, IV, V, VI y VII, mientras que los detalles de las regresiones se observan en la Tabla 2.2. Los resultados correspondientes al GFBM II no se incluyen debido a que no se logró ajustar ningún modelo adecuado. Los mismos exhibían un grupo de valores cercanos a 0 en todo el rango de temperaturas y un grupo de valores de μ_{\max} muy variable a una temperatura cercana a los 20 °C.

En la Figura 2.3 se observan dos tipos de regresiones, modelos lineales generalizados (GLM) con distribución Gamma sin segmentar para los GFBM I, IV y VII, y GLM segmentados para los GFBM III, V y VI. En los primeros se trata de relaciones de tipo lineal entre el logaritmo de la μ_{\max} y la temperatura, con pendiente siempre positiva (Tabla 2.2). En los segundos, la relación entre la μ_{\max} y la temperatura tiene una pendiente positiva antes de alcanzar el punto de corte y negativa a valores de temperatura mayores al mismo.

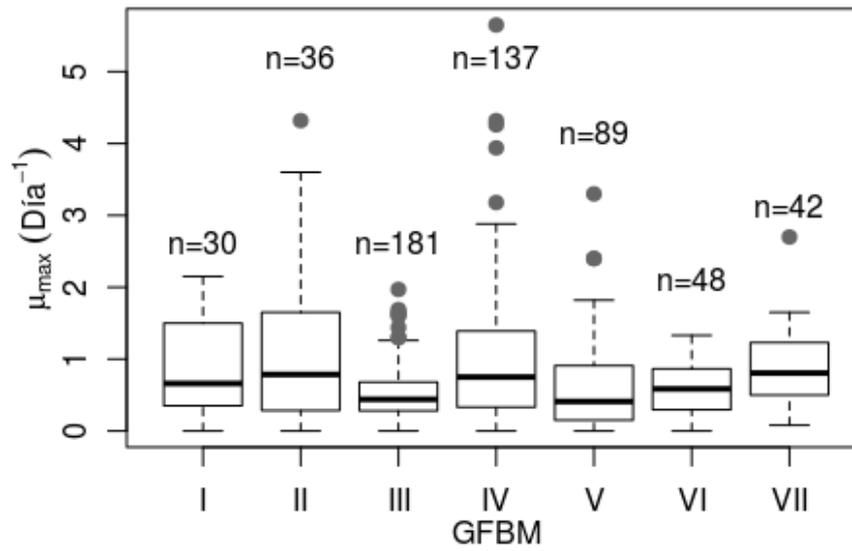


Figura 2.1. Diagramas de cajas mostrando la mediana, (línea negra central), el rango intercuartil 25-75% (extremos superior e inferior de la caja), el rango sin outliers (líneas punteadas) y los outliers (puntos grises) de las tasas de crecimiento máximo (μ_{\max}) para todas las temperaturas y todos los Grupos Funcionales Basados en Morfología (GFBM). Ver tabla 2.1. No se observaron diferencias significativas en la (μ_{\max}) entre GFBM.

Tabla 2.2. Resumen de las regresiones realizadas entre la tasa de crecimiento y la temperatura para cada GFBM. PC: Punto de corte de los modelos lineales segmentados (°C).

GFBM	Modelo	Ecuación	PC (°C)
I	GLM-Gamma (link:log) grado 1	$\log(\mu_{\max} + \min) = 0,04T - 0,9$	--
II	--	--	--
III	GLM-Gamma-seg (link:log) grado 1	1) $\log(\mu_{\max} + \min) = 0,09T - 2,2$	23,05
		2) $\log(\mu_{\max} + \min) = -0,05T + 1,3$	
IV	GLM-Gamma (link:log) grado 1	$\log(\mu_{\max} + \min) = 0,07T - 1,8$	--
V	GLM-Gamma-seg (link:log) grado 1	1) $\log(\mu_{\max} + \min) = 0,04T - 1,04$	23,4
		2) $\log(\mu_{\max} + \min) = -0,3T + 8$	
VI	GLM-Gamma-seg (link:log) grado 1	1) $\log(\mu_{\max} + \min) = 0,09T - 1,7$	23,25
		2) $\log(\mu_{\max} + \min) = -0,2T + 4,3$	
VII	GLM-Gamma (link:log) grado 1	$\log(\mu_{\max}) = 0,05T - 1,5$	--

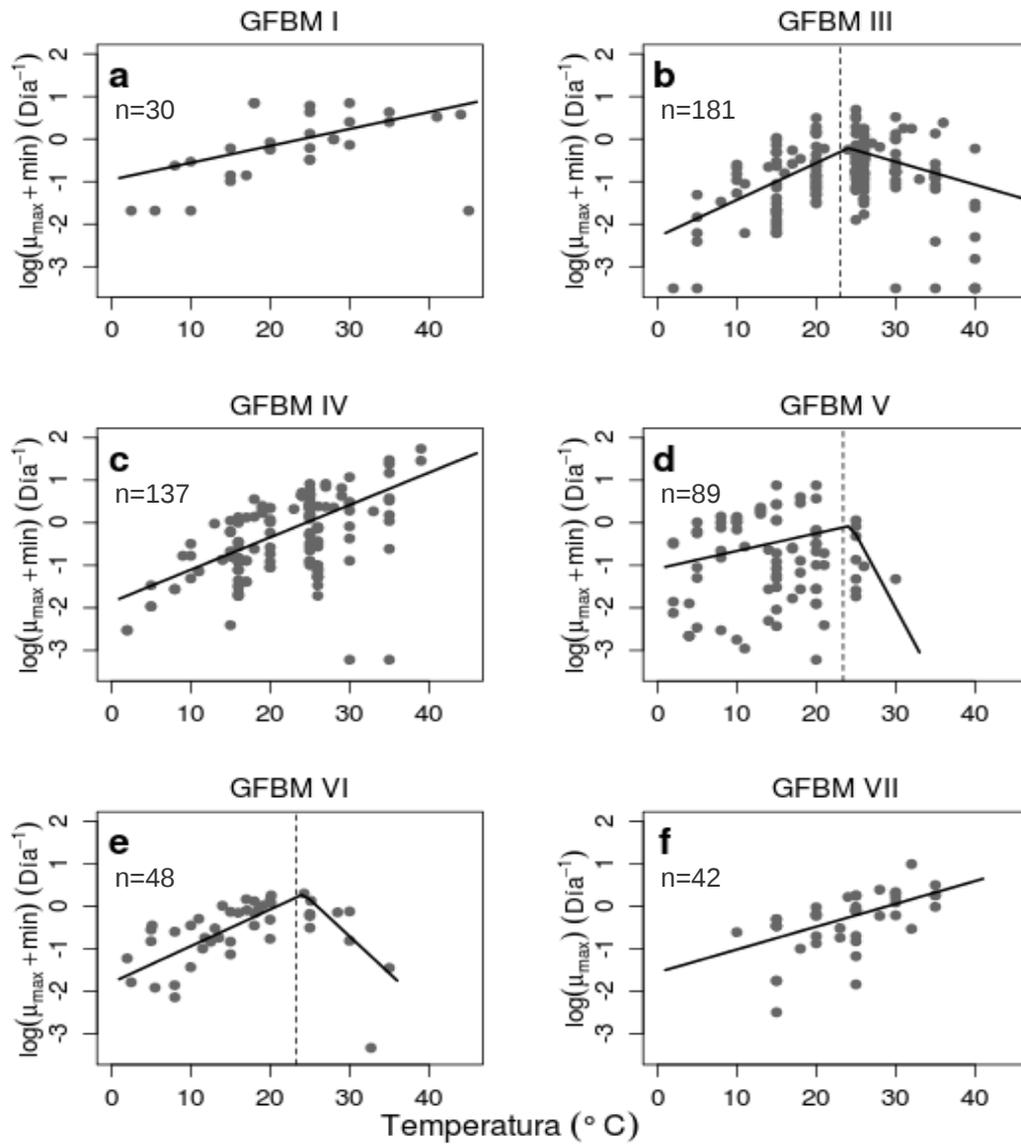


Figura 2.3. Relación entre la tasa de crecimiento máxima (μ_{\max}) y la temperatura (°C) para cada GFBM. a-f: I, III, IV, V, VI y VII respectivamente. Se muestran los modelos ajustados según la Tabla 2.2 y el número de casos por GFBM en Tabla 2.1.

2.6 DISCUSIÓN

Las especies agrupadas en los GFBM tuvieron distintas respuestas a los incrementos de temperatura y, en general, estas fueron relativamente homogéneas dentro de cada grupo independientemente de las especies que los compusieran.

Si bien se esperaba que las cianobacterias (III y VII) fueran más favorecidas a mayores temperaturas (Robarts & Zohary, 1987; Coles & Jones, 2000; Butterwick et al., 2005; Reynolds, 2006; Paerl & Huisman, 2008), se encontraron resultados contrastantes en cuanto a los parámetros de las curvas de respuesta de la μ_{\max} en función de la temperatura. El GFBM VII aumentó su tasa en forma continua con la temperatura, mientras que el III tuvo pendiente negativa a partir de 23°C. Una hipótesis general que explicaría estas diferencias es que el acceso y uso de recursos para el crecimiento cambia diferencialmente con el aumento de la temperatura para organismos con distintas morfologías (Raven & Geider, 1988; Finkel et al., 2009). En este marco, son varios los mecanismos y características que pueden estar involucrados, la mayoría de ellos reflejados en la clasificación de las especies en GFBM, como discutimos a continuación.

2.6.1 El tamaño

Los organismos más pequeños tienen una tasa de crecimiento específica más alta que organismos más grandes a una misma temperatura (Eppley & Sloan, 1966; Chisholm, 1992). Pero esto no necesariamente implica que aumente más rápido su tasa de crecimiento máxima con el aumento de temperatura. Este es el caso del GFBM I, que se caracteriza por tener tasas de crecimiento altas en comparación con los demás GFBM (Kruk et al. 2010). Sin embargo, fue el grupo con menor pendiente comparado con el resto. Por ejemplo, el grupo IV resultó con la mayor pendiente con el aumento de la temperatura y mayores tasas a temperaturas más altas. Esto indicaría que todos los GFBM menos el I tienen alguna estrategia que les permite incrementar aún más su tasa de crecimiento con la temperatura y de alguna manera mejorar la forma en la que acceden a la energía y la utilizan (Litchman et al., 2007), por ejemplo a través de una mayor afinidad por los nutrientes y la capacidad de almacenarlos, obteniendo así los recursos necesarios para generar mayores biomásas (Arrigo, 2005).

2.6.2 Relación S/V

El aumento en la temperatura incrementa la actividad enzimática (Eppley, 1972), aumentando además el requerimiento de recursos para el crecimiento. Una mayor relación S/V resulta en una mayor capacidad de captar recursos (pasaje de nutrientes a través de la membrana, fagocitosis o disposición de estructuras fotosintéticas) (Chisholm, 1992). Por lo tanto, organismos con mayor capacidad enzimática y alta S/V podrán tener un mayor crecimiento ya que contarán con los recursos necesarios (nutrientes y luz). El GFBM III es el que tiene mayor relación S/V (Kruk et al., 2010) y uno de los que presentó mayor pendiente en su tasa de crecimiento con la temperatura. Si se compara el III con el V, ambos tuvieron una zona de incremento y una de inhibición en la tasa de crecimiento (con corte en 23°C). Sin embargo, este último tiene una baja relación S/V. De igual manera, el GFBM VII tiene una baja S/V y si bien no presentó inhibición, la pendiente de la región de crecimiento fue menor a la del GFBM III.

2.6.3 Complejidad y nivel de organización

La mayor complejidad estructural y nivel de organización biológica afectan negativamente a las tasas de crecimiento en el fitoplancton (Wilson et al., 2010). Por ejemplo, al comparar los interceptos, el GFBM I tuvo el mayor valor y el III el menor indicando las diferentes necesidades energéticas de ambos grupos. El GFBM I está compuesto por organismos pequeños y unicelulares. El III tiene el mayor nivel de organización posible en el fitoplancton, ya que forma filamentos, tiene la potencialidad de producir células diferenciadas como acinetes y heterocitos, posee aerótopos y muchas veces una vaina mucilaginosa. Inclusive puede producir toxinas. El crecimiento a nivel individual, conjuntamente con el desarrollo de estos rasgos, es por lo tanto mucho más costoso energéticamente. Sin embargo, podría proveerle ventajas a temperaturas menores a 23°C, pero luego el mantenimiento de la estructura sería muy costoso. El GFBM VII es de gran tamaño corporal, pero no es tan complejo, son células esféricas en colonias amorfas rodeadas de mucílago, lo que podría explicar que no haya presentado inhibición en su crecimiento con la temperatura y que su respuesta sea similar a la del GFBM I (Raven, 1998).

2.6.4 Origen filogenético

El origen filogenético de los organismos da cuenta de su historia evolutiva y de los ambientes a los que estuvieron sometidos durante la misma (Falkowski et al., 2004). Por ejemplo, dado que las cianobacterias se originaron en un ambiente de altas temperaturas y radiación UV, sus enzimas estarían mejor adaptadas a dichas condiciones (Miller, 2003). Las diatomeas crecerían mejor a bajas temperaturas y se inhibirían a altas temperaturas (Butterwick et al., 2005), lo cual coincide con lo observado para el GFBM VI. Por otra parte, la antigüedad en el origen de los organismos favorecería su variabilidad, ya que habrían estado expuestos a una enorme variedad de condiciones ambientales (Badger et al., 2006).

Esto se observa para el caso de las cianobacterias, en su diversidad morfológica, ya que están incluidas en los GFBM I, III, IV y VII, y además en su variabilidad de respuestas a los cambios de temperatura. Los GFBM III y VII, que tienen una gran proporción de cianobacterias, tienen respuestas contrastantes, el primero se inhibe a altas temperaturas y el segundo tiene un aumento continuo. El GFBM I tiene una gran diversidad filogenética, con convergencia en la morfología. Esto podría explicar su

aumento continuo con la temperatura, a través del recambio de especies con distintas tolerancias ambientales (Raven, 1998).

2.7 CONCLUSIONES

La conclusión general de este capítulo es que encontramos diferencias en la respuesta en la tasa de crecimiento ante cambios en la temperatura para los diversos GFBM del fitoplancton, y en particular para aquellos que incluyen cianobacterias formadoras de floraciones. Sin embargo, no podemos considerar que haya un único mecanismo, sino que es la combinación de factores lo que explicaría las distintas respuestas. A pesar de ello, la clasificación en GFBM facilitó el análisis resumiendo la información en respuestas diferenciales para cada GFBM.

Nuestros resultados no apoyarían la hipótesis de mayor crecimiento generalizado de las cianobacterias con la temperatura, por no existir una respuesta común a todas las cianobacterias, sino una variación de la misma con su morfología. Por su mayor nivel de organización e inversión de energía en especializaciones, el GFBM III tendría menores incrementos en sus tasas de crecimiento para aumentos similares de la

temperatura que el GFBM VII. Por lo tanto, las predicciones de los efectos del cambio climático no serían similares para todos los ambientes acuáticos y dependerían del GFBM dominante. Como perspectiva, se plantea evaluar cómo actúa cada uno de estos mecanismos dentro de cada GFBM, como por ejemplo la contribución de grupos filogenéticos en cada conjunto de experimentos.

**CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LOS NUTRIENTES
EN COMUNIDADES NATURALES CON GFBM QUE INCLUYEN
CIANOBCATERIAS NOCIVAS**

3.1 INTRODUCCIÓN

Las condiciones de alta concentración de nutrientes y temperatura son frecuentes en los sistemas de nuestra región, los cuales ya han registrado altas biomásas de organismos potencialmente tóxicos, como la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* (Vidal & Kruk, 2008).

La costa este del Uruguay posee una serie de lagunas y pequeños lagos someros con una gran biodiversidad y múltiples servicios ecosistémicos (Bonilla et al., 2006; Kruk et al., 2009). Muchos son fuente de agua potable para la población que vive en la costa este. Sin embargo, el rápido crecimiento poblacional y el aumento de la urbanización costera, pone en riesgo la integridad y calidad de agua de estos sistemas (Kruk et al., 2009).

Dada la importancia de este tipo de ecosistemas, resulta de interés conocer cual sería el potencial efecto de estos fenómenos sobre el fitoplancton, y en consecuencia, sobre la calidad del agua y los usos de estas lagunas. Para ello, la realización de experimentos de microcosmos bajo condiciones ambientales controladas resulta una alternativa

adecuada, que permite evaluar la sucesión de fitoplancton bajo tratamientos contrastantes, de manera simultánea, en un período corto de tiempo.

3.2 HIPÓTESIS

La combinación de altos valores de temperatura y nutrientes favorecen el aumento de la biomasa total del fitoplancton y en particular el desarrollo de especies potencialmente nocivas de los GFBM III y VII.

3.3 OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue evaluar los efectos de la combinación de altas concentraciones de nutrientes y alta temperatura sobre la biomasa total y composición en GFBM del fitoplancton utilizando muestras de comunidades naturales.

3.4 METODOLOGÍA

3.4.1 Área de estudio y muestreo

Se seleccionaron dos lagunas utilizadas como fuente de agua potable: una con antecedentes de floraciones de cianobacterias en verano (Blanca, 34°54'S; 54°50'W) y otra sin registros (Escondida, 34°49'S; 54°37'W) (Kruk et al., 2006; Pacheco et al., 2010). Laguna Blanca ha sufrido grandes variaciones de profundidad asociadas a su uso y a cambios ambientales que han favorecido la expansión de plantas acuáticas, así como su colapso y el desarrollo de floraciones de cianobacterias (Mazzeo et al., 2003) en distintas circunstancias. La Laguna Escondida, es un lago somero caracterizado por presentar una menor concentración de nutrientes, tener una comunidad fitoplanctónica compuesta por organismos de pequeño tamaño y no haber desarrollado floraciones de cianobacterias (Kruk et al., 2009).

Además se realizó una mezcla incluyendo muestras de Blanca, Escondida y siete lagunas más de la misma región de la costa Atlántica de Uruguay, que fueron desde ambientes en un estado de agua clara hasta sistemas eutróficos con alta abundancia de fitoplancton (Kruk et al., 2009), que

fueron seleccionadas con la finalidad de obtener un inóculo de composición diversa.

Las muestras fueron tomadas durante un único muestreo realizado en otoño, con frascos plásticos de 1 l. Inmediatamente luego de tomadas, fueron filtradas para remover el zooplancton de gran tamaño (con copo de 50 μm) y mantenidas en frío hasta el día siguiente. Luego se aclimataron por 24 horas a 20°C para su uso en los distintos tratamientos.

3.4.2 Experimentos en laboratorio

Los experimentos se realizaron en botellas Schott de 1 litro, con burbujeo continuo durante 13 días en condiciones controladas de luz (16 horas luz:8 horas oscuridad; 100 $\mu\text{moles fotones.m}^{-2}\text{s}^{-1}$), temperatura y nutrientes. Dependiendo del tamaño de los organismos, se estimó que el tiempo de duración del experimento permitiría el desarrollo de aproximadamente 1 (organismos de gran tamaño) a 10 (organismos pequeños) generaciones.

Se utilizaron tres inóculos de fitoplancton como tratamientos, con tres réplicas cada uno: Laguna Escondida, Blanca y una mezcla de las nueve

lagunas (Blanca, Escondida, Diario, Encantada, García, Laguna no identificada-Pinar, Barro, Chaparral y Clotilde; en adelante llamado Mix). Los factores evaluados fueron el origen del inóculo (Escondida, Blanca y Mix), la concentración de nutrientes (alta, correspondiente a la concentración del medio WC, $14000 \mu\text{g l}^{-1} \text{NO}_3$ y $1550 \mu\text{g l}^{-1} \text{PO}_4$, N:P=20, en adelante Nut+; y baja: Nut-; correspondiente al medio WC sin agregado de nutrientes) y la temperatura (alta: 26°C ; T+ y baja: 14°C ; T-) (Tabla 3.1). Este último factor se evaluó solamente en el Mix. En Blanca y Escondida se decidió evaluar solamente el efecto de los nutrientes debido a que son dos sistemas que por su cercanía están sujetos a la misma variación y se diferencian solamente en cuanto a su carga de nutrientes. En base al trabajo de Pacheco et al. (2010) la concentración de nutrientes en Blanca (fósforo total: promedio $107,4 \mu\text{g l}^{-1}$; nitrógeno total: promedio $1346,2 \mu\text{g l}^{-1}$, N:P=16,91) fue considerada mayor que la de Escondida (fósforo total: promedio $57 \mu\text{g l}^{-1}$; nitrógeno total: promedio $539,5 \mu\text{g l}^{-1}$, N:P=12,81). La concentración del Mix, por ser una mezcla de varias lagunas (incluyendo a Blanca), fue considerada mayor a la de estas.

Se utilizó medio de cultivo WC (Guillard & Lorenzen, 1972), con y sin nitrógeno y fósforo, para simular altos (y no limitantes) y bajos nutrientes

respectivamente. Se agregaron en cada frasco 100 ml del inóculo más 400 ml de medio con o sin nutrientes según correspondiera.

Se tomaron medidas diarias de fluorescencia de clorofila-a (Clo-a; unidades de fluorescencia relativa o ufr) y ficocianina (Fico; ufr) y espectrofotometría a 665, 440 y 750 nm, estos como estimadores de clorofila-a (unidades de absorbancia: ua a 665 nm), atenuación de la luz (ua: 440 nm) y turbidez (ua: 750 nm). Se eligió emplear los dos métodos para la estimación de la biomasa debido a que presentan diferente grado de sensibilidad a distintas concentraciones. La fluorometría sería más eficaz para detectar bajas concentraciones de biomasa, mientras que la espectrofotometría lo sería a altas concentraciones. En forma diaria el volumen removido fue renovado utilizando medio WC con nutrientes para los tratamientos con nutrientes y agua original de la laguna filtrada por 50 μm y autoclavada para los tratamientos sin nutrientes, para cumplir con la necesidad de micronutrientes del fitoplancton. Al finalizar el experimento se extrajeron 4 ml de cada uno de los frascos y se fijaron con Lugol para los conteos de fitoplancton al microscopio.

3.4.3 Análisis de muestras

El fitoplancton fue contado en campos al azar usando la técnica de sedimentación (Utermöhl, 1958) hasta alcanzar al menos 100 individuos de la especie más frecuente. Se estimaron los rasgos morfológicos de los

Tabla 3.1. Diseño del experimento. Mix (mezcla de muestras de nueve lagunas), Laguna Blanca y Laguna Escondida constituyen los inóculos, Nut+: concentración alta de nutrientes, Nut-: concentración baja de nutrientes, T+: temperatura 26°C, T-: 14°C. Cada cruz corresponde a un tratamiento, que fue realizado por triplicado. Los casilleros vacíos indican que no se realizó ese tratamiento.

Tratamiento	Mix	Laguna Blanca	Laguna Escondida
Nut+T+	X	X	X
Nut- T+	X	X	X
Nut+T-	X		
Nut- T-	X		

organismos, incluyendo su dimensión lineal máxima (MLD, μm), su volumen (V , μm^3), superficie (S , μm^2) y S/V (μm^{-1}) de acuerdo a Hillebrand et al. (1999). La biomasa de cada GFBM y taxa fue estimada como

biovolumen ($\text{mm}^3 \text{ l}^{-1}$) y expresada como porcentaje relativo. Las especies fueron clasificadas en GFBM (Kruk et al., 2010) y en clases taxonómicas.

3.4.4 Análisis de datos

Para determinar el efecto de los tratamientos en la sucesión se hicieron dos ANOVA multifactoriales de medidas repetidas (14 niveles). En el primero se consideraron solo los experimentos a 26°C y los factores fueron el inóculo (Escondida, Blanca y Mix) y la concentración de nutrientes (Nut+ y Nut-). Las variables dependientes fueron la Clo-a y Fico, y Fico/Clo-a (indicador de la proporción de cianobacterias con respecto al fitoplancton total). En el segundo solo se consideró el inóculo Mix y los factores fueron los nutrientes (Nut+ y Nut-) y la temperatura (T+, T-).

Previo a los análisis, se pusieron a prueba la homogeneidad de varianza (test de Levene), la normalidad de las variables y el ajuste de los residuos. En los casos donde no se cumplieron los supuestos, se utilizó la transformación de Box Cox (Box & Cox, 1964).

Para evaluar la diferencia entre los valores medios de las variables, Clo-a, Fico, 665, 440 y 750 (los últimos tres son indicadores de clorofila,

atenuación de la luz y turbidez por espectrofotometría) al final de los experimentos (día 13) se hicieron análisis no paramétricos de test de medias de Chi².

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Efecto temporal de la concentración de nutrientes

La Clo-a fue mayor hacia el final de la sucesión en todos los casos ($F_{\text{tiempo}}(13,156) = 44,69$; $p < 0,001$) con mayores valores para los tratamientos con nutrientes ($F_{\text{nutrientes} \times \text{tiempo}}(13,156) = 81,44$; $p < 0,001$). El efecto del tipo de inóculo fue significativo ($F_{\text{inóculo} \times \text{tiempo}}(26,156) = 3,28$; $p < 0,001$), siendo el incremento de la biomasa mayor en Mix y Blanca que en Escondida (Figura 1). No se cumplieron los supuestos para hacer los ANOVA para Fico y Fico/Clo-a.

3.5.2 Efecto temporal de tratamientos combinados de temperatura y nutrientes

Al igual que en el caso anterior, la Clo-a aumentó al final de la sucesión

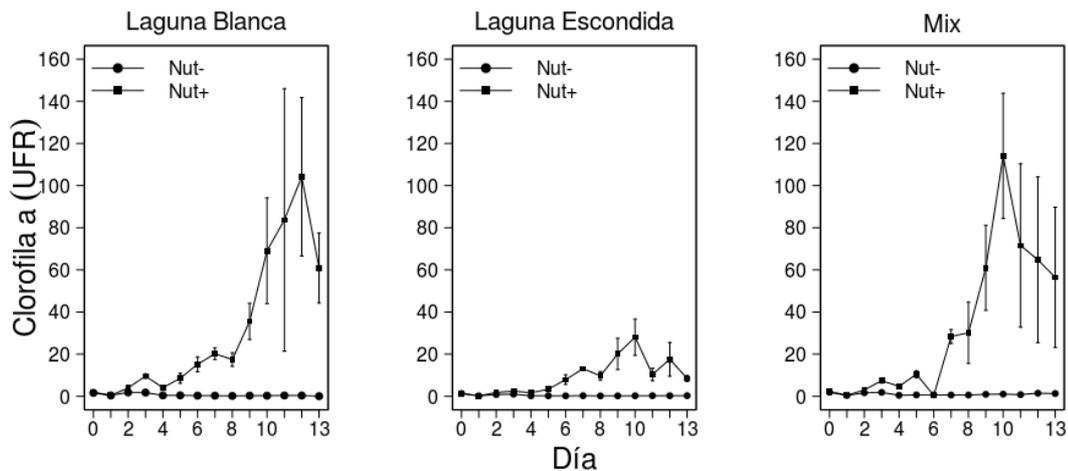


Figura 3.1. Desarrollo temporal de la concentración de clorofila-a (Clo-a) en unidades de fluorescencia relativa (UFR) en los experimentos realizados con los tres inóculos (Escondida, Blanca y Mix), con y sin nutrientes (Nut+, Nut-). Los símbolos representan la media de 3 réplicas y las barras verticales el desvío estándar de la media. Se muestran tratamientos a 26 °C.

($F_{\text{tiempo}}(13,104)=23,28$; $p < 0,001$), siendo mayor con temperatura alta (T+)

($F_{\text{temp} \times \text{tiempo}}(13,104)=3,57$, $p < 0,001$). Asimismo, las mayores Clo-a fueron observadas con nutrientes y temperatura alta (Nut+, T+) y las menores sin nutrientes y baja temperatura (Nut-, T-) ($F_{\text{temp} \times \text{nut} \times \text{tiempo}}(13,104) = 10,55$; $p < 0,001$) (Figura 3.2).

La concentración de Ficocianina (Fico) con el inóculo Mix fue mayor al final de la sucesión ($F_{\text{tiempo}}(13,104) = 19,4$; $p < 0,001$), incrementándose

con la adición de nutrientes (Nut+) ($F_{\text{nut} \times \text{tiempo}}(13,104)=7,8$; $p<0,001$) y a temperatura alta (T+) ($F_{\text{temp} \times \text{nut} \times \text{tiempo}}(13,104)=8,3$; $p<0,001$). El mayor incremento en Fico se observó al final de la sucesión en los tratamientos con temperatura y nutrientes altos (T+, Nut+) (Figura 3.3). Comparando el desarrollo de la Clo-a y Fico-a hacia el final de la sucesión se puede observar que la Clo-a mostró una disminución mientras que la Fico continuó aumentando.

3.5.3 Estado final de todos los tratamientos

En general todas las variables medidas fueron mayores en los tratamientos con altos nutrientes (Tabla 3.2). La excepción fue Fico/Clo-a, que fue mayor en Blanca Nut-. Los valores medidos en espectrofotómetro (665, 750 y 440) no fueron significativamente distintos con el inóculo de Escondida. La mayor temperatura también favoreció todas las variables, inclusive la relación Fico/Clo-a en todos los tratamientos.

Los tratamientos con mayor concentración de nutrientes presentaron un mayor número de GFBM y tuvieron organismos de mayor tamaño (30-132 μm). En Escondida Nut+T+, dominó el GFBM VII (colonias grandes con mucílago y baja S/V), en particular el género *Microcystis*. En Blanca

Nut+T+ también dominó el GFBM VII, donde la especie con mayor biovolumen fue *Aphanocapsa delicatissima*, además en dicha laguna apareció *C. raciborskii* (18.700 org l⁻¹). En cuanto a los grupos taxonómicos, las cianobacterias fueron quienes representaron el mayor porcentaje de biovolumen en ambos tratamientos (Figura 3.4).

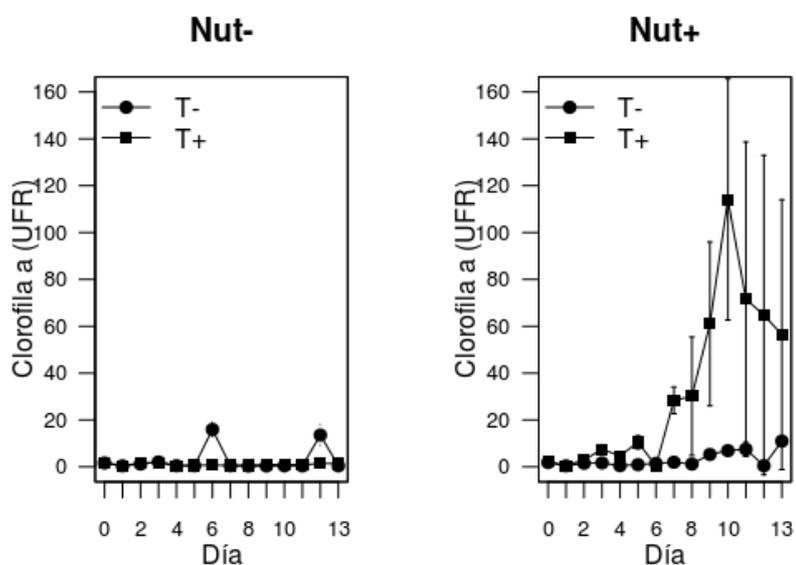


Figura 3.2. Desarrollo temporal de la concentración de clorofila-a (Clo-a) en unidades de fluorescencia relativa (UFR) en los experimentos realizados con el inóculo mezcla de nueve lagunas (Mix) a alta y baja temperatura (T+, T-) y con y sin nutrientes agregados (Nut+, Nut-). Los símbolos representan la media y las barras verticales el desvío estándar de la media.

En los tratamientos donde los nutrientes fueron bajos, se obtuvieron resultados diferentes entre inóculos. En Escondida Nut-T+, dominó el GFBM I (organismos pequeños de alta S/V), en particular la cianobacteria

Synechocystis sp. En Blanca Nut-T+, el GFBM VII abarcó el mayor porcentaje del biovolumen total. En este caso, hubo dominancia de clorofitas, en particular *Dyctiosphaerium* sp.

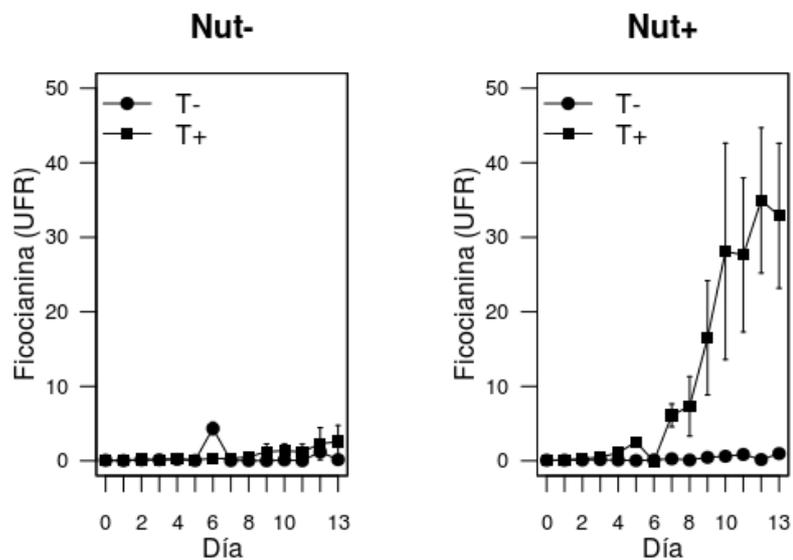


Figura 3.3. Desarrollo temporal de la concentración de ficocianina (Fico) en unidades de fluorescencia relativa (UFR) para los tratamientos con el inóculo Mix, a alta y baja temperatura (T+, T-), con y sin nutrientes (Nut+, Nut-). Los símbolos representan la media y las barras verticales el desvío estándar de la media.

En Mix Nut+T+, en particular las cianobacterias del GFBM III (filamentos con aerótopos, de alta S/V), representaron el mayor porcentaje del biovolumen total, mientras que en el tratamiento de este inóculo a bajas

temperaturas se produjo la dominancia del GFBM VI (diatomeas)(Figura 3.4). En el primer caso, el género más representativo fue *Pseudanabaena*, mientras que en el segundo lo fue una diatomea pennada no identificada de gran tamaño (150 µm).

Tabla 3.2. Resultados de los test de Medias de Chi-cuadrado para los valores finales de clorofila (clo-a), ficocianina (fico), cociente ficociana/clorofila-a (fico/cloro), clorofila in vivo (665), atenuación de la luz (440) y turbidez (750). Se muestran solo los resultados con $p < 0,05$. Los valores significativamente distintos y de concentración mayor están representados con el símbolo +, mientras que los de menor concentración están representados con el símbolo -. No significativo: ns.

Inóculo	Tratamiento	clo-a	fico	fico/cloro	665nm	440nm	750nm
Escondida	Nut- T+	-	-	ns	ns	ns	ns
	Nut+ T+	+	+				
Blanca	Nut- T+	-	-	+	-	-	-
	Nut+ T+	+	+	-	+	+	+
Mix	Nut- T+	-	-	ns	-	-	-
	Nut+ T+	+	+		+	+	+
	Nut+ T-	-	-	-	-	-	-
	Nut- T-	+	+	+	+	+	+
Escondida		-	-	-	-	-	
Blanca		+	+	-	+	+	+
Mix		+	+	+	+	+	+

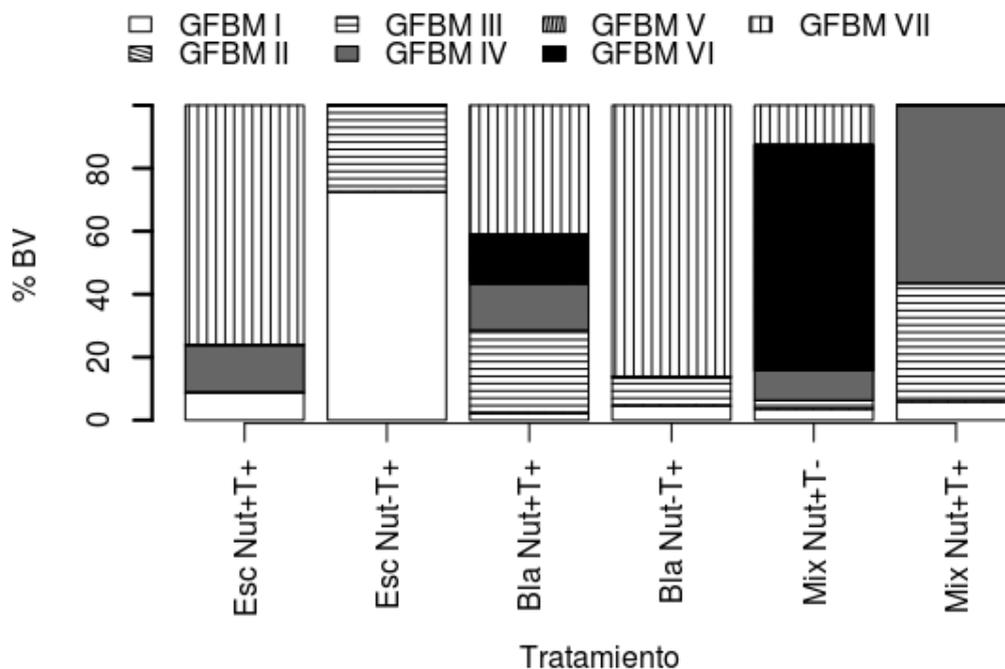


Figura 3.4. Composición de la comunidad fitoplanctónica en una réplica elegida al azar de cada tratamiento en términos de grupos funcionales basados en morfología (GFBM). Los resultados se expresan como porcentaje (%) del biovolumen total.

3.6 DISCUSIÓN

La combinación de altas temperaturas y alta concentración de nutrientes favoreció el desarrollo de toda la comunidad fitoplanctónica y en particular de las cianobacterias. Sin embargo, las cianobacterias dominantes pertenecieron a diferentes GFBM dependiendo del tratamiento

considerado. La estrategia aplicada permitió identificar que la Laguna Blanca presentaba, al momento de estos experimentos, mayor vulnerabilidad a desarrollar floraciones que la laguna Escondida, que está en un estado menos modificado, concordando con otros trabajos (Mazzeo et al., 2003; Kruk et al., 2006; Pacheco et al., 2010). Sin embargo, la presencia de *Microcystis* en el tratamiento con alta temperatura y concentración de nutrientes podría indicar un potencial deterioro del sistema.

Las altas concentraciones de nutrientes favorecen el aumento de la concentración clorofila-a de acuerdo a lo esperado según estudios globales (Paerl & Huisman, 2008) y regionales (Kruk et al., 2002; Pacheco et al., 2010). Sin embargo, la composición original del inóculo, con una biomasa menor al inicio del experimento en Escondida estimada a través de fluorimetría al inicio del experimento, afectó la forma y grado en que los nutrientes favorecieron al fitoplancton. En Laguna Blanca y Mix, la clorofila-a al final de la sucesión fue mayor que en Laguna Escondida. La Laguna Escondida presentaba menor biomasa y proporción de cianobacterias, así como menores concentraciones de nutrientes y mayores de sustancias húmicas que la Laguna Blanca (e.g. Kruk et al., 2006; Pacheco et al., 2010). Todo esto hace más lento el aumento de la

biomasa fitoplanctónica frente al aumento de los nutrientes, disminuyendo la posibilidad de desarrollo de cianobacterias al final de la sucesión. Además, las sustancias húmicas pueden secuestrar los nutrientes disueltos volviéndolos no disponibles para la comunidad (Jones, 1998).

En lo que refiere a la composición final de las comunidades, a altos nutrientes se encontraron similitudes entre los inóculos, generando comunidades con organismos de gran tamaño y gran porcentaje de cianobacterias. Independientemente de la composición del inóculo, se observó una convergencia en la pertenencia a determinado GFBM dada por los factores experimentales. Estas incluyeron especies potenciales formadoras de floraciones (Huisman et al., 2001). En la laguna Escondida se desarrolló *Microcystis* sp. (GFBM VII), grupo/complejo cuyas especies pueden alcanzar grandes biomásas en superficie, son difíciles de remover por los organismos herbívoros y son potencialmente tóxicas, características que las convierten en una amenaza para la calidad del agua (Dow & Swoboda, 2000). En laguna Blanca se observó la presencia de la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*. Esta especie, de origen tropical y formadora de floraciones (Paerl & Huisman, 2008), ha sido encontrada recientemente en ambientes lénticos del Uruguay (Vidal & Kruk, 2008; Fabre et al., 2010; Martínez de la Escalera et al., 2014). Su

definición como especie invasora esta actualmente en discusión (Piccini et al., 2011).

A bajas concentraciones de nutrientes los resultados fueron heterogéneos en composición de grupos, pero con una tendencia a la dominancia de organismos (o grupos) de pequeño tamaño corporal. Esto podría deberse a que, en condiciones donde los nutrientes son más escasos, los organismos de pequeño tamaño, debido a este y a su alta relación superficie/ volumen presentarían una menor capa límite para la difusión de nutrientes y una mayor cantidad de transportadores activos en sus membranas celulares, respectivamente, resultando en una mayor eficiencia en la captación de este recurso (Raven, 1998; Thingstad et al., 2005).

La ficocianina, un indicador de la presencia de cianobacterias, fue significativamente más alta a mayores temperaturas y nutrientes. Sin embargo, la relación Fico/Clo-a, un indicador de la proporción de cianobacterias respecto al total, mostró altos valores a baja concentración de nutrientes en la laguna Blanca. Esto indica que la alta concentración de nutrientes por sí misma no necesariamente favorece el desarrollo de las cianobacterias, ya que hay cianobacterias que pueden desarrollarse a baja concentraciones de nutrientes (Reynolds, 2006). Un ejemplo de ello

son las cianobacterias pertenecientes al GFBM I. Estos son organismos de pequeño tamaño y alta S/V, lo que les permite captar nutrientes con facilidad cuando éstos se encuentran a bajas concentraciones, alcanzando altas tasas de crecimiento y biomasa (Kruk et al., 2010). Reafirmando el efecto positivo de ambos factores para el crecimiento de cianobacterias encontramos que la relación Fico/Clo-a fue mayor con nutrientes y temperatura altos.

A altas concentraciones de nutrientes y bajas temperaturas dominaron las diatomeas (GFBM VI), mientras que a altas temperaturas dominaron las cianobacterias filamentosas (GFBM III). Estas últimas representan el principal componente de uno de los estados alternativos en lagos someros (Scheffer, 2007). Este estado se caracteriza por su baja transparencia, el dominio de cianobacterias Oscillatoriales, baja calidad de agua y biodiversidad y potencial toxicidad. Por lo tanto, con consecuencias alarmantes para el uso de los sistemas como fuente de agua potable o como sitios con alto valor para la conservación de biodiversidad.

3.7 CONCLUSIONES

Se logró evaluar el efecto del aumento de la carga de nutrientes y la temperatura sobre la biomasa total del fitoplancton y la composición de GFBM, confirmando la hipótesis de que cuando ambas variables tienen valores elevados favorecen aún más que por separado el desarrollo de organismos formadores de floraciones nocivas. Asimismo, se pudo evaluar la vulnerabilidad de dos lagunas al desarrollo de cianobacterias potencialmente tóxicas. En este sentido, pudimos demostrar que la resistencia a la formación de floraciones algales es mayor en la Laguna Escondida que en La Blanca.

Sería muy conveniente implementar medidas de monitoreo y manejo para evitar el deterioro del sistema y realizar un uso sustentable del mismo. Para una mejor aplicación de esta estrategia sería necesario integrar información sobre los usos de la cuenca (ej. carga de nutrientes que llega al sistema) con experimentos, para determinar condiciones críticas para el desarrollo de floraciones de cianobacterias y medidas de manejo apropiadas.

**CAPÍTULO 4: SUCESIÓN DE GFBM CON CIANOBACTERIAS
POTENCIALMENTE NOCIVAS EN UN LAGO SOMERO UTILIZADO
COMO FUENTE DE AGUA POTABLE**

4.1 INTRODUCCIÓN

Los lagos someros, son el tipo de lago más abundante del planeta (Wetzel, 2001), y son fundamentales para la preservación de la biodiversidad y otros numerosos servicios ecosistémicos (Scheffer, 1998). Por otra parte, estos sistemas serían más sensibles a la eutrofización en escenarios de calentamiento global ya que favorecerían un mayor impacto de la comunidad de peces sobre el zooplancton, reduciendo el control descendente sobre el fitoplancton (Meerhoff et al., 2007a, 2012). Es decir, a mayores temperaturas, una carga de nutrientes menor sería suficiente para promover los mismos efectos sobre la calidad del agua y diversidad (e.g. floraciones de cianobacterias) (Kosten et al., 2011), que en lagos similares en climas más fríos. Los cambios en el régimen de precipitaciones también intensificarían dichos síntomas. Las sequías intensificadas concentrarían los nutrientes y las sales en el agua, mientras que aumentos en las precipitaciones podrían implicar un mayor transporte de nutrientes hacia el agua por escorrentía superficial (Jeppesen et al., 2009), dependiendo de características de la cuenca como el tipo y los usos del suelo y características morfométricas del sistema. Paradójicamente, ambos efectos del cambio climático podrían intensificar el efecto de la eutrofización sobre el fitoplancton, especialmente en lagos

someros. Estos ambientes se caracterizan por presentar dos o más estados alternativos, relativamente estables, en particular, uno de agua clara dominado por macrófitas sumergidas y uno de aguas turbias dominado por fitoplancton (Scheffer et al., 1993). Los procesos antes mencionados favorecerían al estado turbio y en ocasiones a la ocurrencia de floraciones tóxicas, generando otro estado alternativo dominado por cianobacterias filamentosas (Scheffer et al., 1997).

4.1.1 Lagos someros subtropicales

Los lagos someros subtropicales tienen un comportamiento distinto al de los templados. Generalmente, presentan diferencias con los lagos templados en cuanto a la estructura y tamaños de sus comunidades biológicas; por ejemplo, presentan comunidades de peces más abundantes, más diversas, con menores tallas y dieta más omnívora con respecto a los templados similares (Teixeira-de Mello et al., 2009; González-Bergonzoni et al., 2012). El zooplancton está dominado por especies de pequeño tamaño y baja capacidad filtradora (Meerhoff et al., 2007a, 2007b). A su vez, estos lagos son más vulnerables a los efectos del calentamiento global (Meerhoff et al., 2012).

4.1.2 Lagos someros en Uruguay y Laguna Blanca

En Uruguay en las últimas década se han incrementado los estudios en lagos someros dulceacuícolas o estuarinos (Bonilla et al., 2006; Kruk et al., 2009). Estos estudios han incluido diversas aproximaciones que permiten explicar las diferencias encontradas con ambientes templados, que tradicionalmente han sido más estudiados, e involucran diversas comunidades, tanto pelágicas como bentónicas y litorales. La Laguna Blanca es un ecosistema somero utilizado para la extracción de agua potable que ha sufrido cambios en las condiciones ambientales que han generado problemas de calidad de agua (Mazzeo et al., 2001b), registrándose la presencia de floraciones de cianobacterias tóxicas. Este es uno de los ecosistemas más estudiados en Uruguay, y sobre el que se han publicado varios trabajos incluyendo aproximaciones de campo, experimentales y paleolimnológicas (Tabla 4.1). Estos permiten indicar que la laguna ha sufrido un proceso creciente de eutrofización, ya registrado en los estudios paleolimnológicos, y en trabajos actuales que indican la presencia de floraciones tóxicas.

4.1.3 GFBM III y *Cylindrospermopsis raciborskii*: estado turbio en Laguna Blanca

Dentro de las especies que pueden generar el estado estable dominado por cianobacterias filamentosas en los lagos someros se encuentra *Cylindrospermopsis raciborskii*. Esta especie y otras que forman este estado forman parte del GFBM III. Dentro de las especies descritas para Laguna Blanca, *Cylindrospermopsis raciborskii* ha sido una especie muy abundante. Esta especie fue originalmente registrada en el trópico (Java, Indonesia) por Woloszynka (1912) (Seenayya & Raju, 1972) y se supone ha expandido recientemente su distribución geográfica invadiendo latitudes más frías (Padisák, 1997; Wiedner et al., 2007; Vidal & Kruk, 2008). Sin embargo, se están desarrollando estudios que evalúan si su comportamiento es realmente invasor (Briand et al., 2004; Gugger et al., 2005; Piccini et al., 2011, 2013). En Uruguay se citó por primera vez en lagos de Canelones y Maldonado (Vidal & Kruk, 2008) y ha sido registrada en otros ecosistemas de los departamentos de Montevideo, Canelones, Maldonado y Rocha, incluyendo lagos someros

Tabla 4.1. Referencias, fechas y otros aspectos de investigaciones realizadas en la Laguna Blanca. V: verano; O: otoño; I: invierno.

Cita	Período de estudio	Actividades realizadas
Mazzeo et al., 2001b	O. 2000-O. 2001	9 muestreos de agua, plancton y sedimento para evaluar la calidad de agua de la laguna
De los Santos, et al., 2002	1996-2002	Estudio del régimen hidrológico de la laguna
García-Rodríguez et al., 2002	testigo de sedimento	Paleolimnología. Cambios en estado trófico
Mazzeo et al., 2003	O. 2000-O. 2001	Efecto de las plantas sumergidas sobre cascadas tróficas
García-Rodríguez et al., 2004	testigo de sedimento	Paleolimnología. Cambios en estado trófico
del Puerto et al., 2006	mayo 2000	Paleolimnología. Cambios climáticos durante el Holoceno
Meerhoff, 2006	V. 205	Efectos de complejidad de hábitat sobre diversas comunidades
Iglesias et al., 2007	I. 2003-O. 2004	Dinámica horizontal del zooplancton
Meerhoff et al., 2007b	2005	Estudio de la complejidad de hábitat para zooplancton
Rodó, 2007	I. 2003-O. 2004	Determinación de estados estables alternativos
Vidal & Kruk, 2008	2003	Características <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> registrada en Uruguay
Iglesias et al., 2008	I. 2003-O. 2004	Efecto de un pequeño pez omnívoro planctívoro sobre la distribución de tamaños en el zooplancton
Kruk et al., 2009	2003	Riqueza de distintas comunidades
Teixeira-de Mello et al., 2009	V. 2005	Efecto de la complejidad del hábitat sobre peces
Pacheco et al., 2010	2006	Estructura del fitoplancton, GBFM
Piccini et al., 2011	2007-01-01	Comparación de ecotipos de <i>C. raciborskii</i>
Goyenola et al., 2011	I. 2003-O. 2004	Análisis de la estrategia reproductiva del pez <i>Jenynsia multidentata</i>
Iglesias et al., 2011	V. 2008	Depredación sobre zooplancton. Experimentos de exclusión-mesocosmos con peces
Martínez de la Escalera, 2013	junio 2009	Diversidad microbiana, detección molecular de cianobacterias tóxicas en paleo-sedimentos
Martínez de la Escalera et al., 2014	2009-06-01	Estudios moleculares de <i>C. raciborskii</i> . Reconstrucción paleolimnológica en base a ADN
Gerhard, 2015	V. 2011-V. 2013	Variación temporal y espacial de cladóceros y su relación con banco de huevos de resistencia

naturales, lagos modificados y artificiales como canteras y tajamares (Vidal & Kruk, 2008; Fabre et al., 2010; Pacheco et al., 2010) Forma floraciones que se dispersan en toda la columna de agua, especialmente en ecosistemas acuáticos dulceacuícolas someros y eutróficos con mezcla frecuente. Puede producir toxinas incluyendo microcistina-LR, cilindrospermopsina, saxitoxina, neosaxitoxina, neusaxitoxina y lipopolisacáridos, cuya producción varía entre distintas cepas. Para Uruguay se han reportado saxitoxinas (Vidal et al., 2010; Piccini et al., 2011). La alta biomasa que alcanza y la producción de toxinas afectan los usos de los ecosistemas acuáticos (recreación y potabilización) y su conservación, siendo perjudiciales para la salud humana y animal. Representantes de esta especie han sido registrados en la Laguna Blanca.

Como se mencionó anteriormente, *C. raciborskii* pertenece al GFBM III, el cual está integrado por grandes filamentos de alta relación S/V que cuentan con la presencia de aerótopos y que por su alta relación S/V son más eficientes en la captación de luz en ambientes con mezcla continua, como los lagos someros. Las especies dentro de cada GFBM son funcionalmente redundantes, es decir tienen similares rasgos funcionales y respuestas a los cambios funcionales. Esto ocurre también para el

GFBM III y permitiría la codominancia o alternancia de distintas especies del mismo grupo en condiciones similares como por ejemplo durante el estado turbio de los lagos someros. En particular, *C. raciborskii* ha sido registrada en co-existencia con otras especies en condiciones de altos nutrientes y baja disponibilidad de luz en la columna de agua de lagos en distintas latitudes (Sperfeld et al., 2010; Bonilla et al., 2012).

4.2 HIPÓTESIS

Dadas las características del GFBM III, se espera que las floraciones de este GFBM ocurran en condiciones de baja intensidad lumínica y mezcla continua, las cuales están presentes en Laguna Blanca por tratarse de un lago somero en proceso de eutrofización.

Dentro de este GFBM, podrá dominar *C. raciborskii* u otra especie, mientras que también podría haber co-dominancia cuando se solapen en sus rasgos morfológicos y preferencias ambientales.

4.3 OBJETIVO

Evaluar las posibles variables ambientales, con énfasis en los nutrientes, la temperatura y el nivel del agua, que afectan el desarrollo del fitoplancton y en particular a las especies y GFBM formadoras de floraciones, así como la dinámica temporal del mismo en un lago somero utilizado como fuente de agua potable (Laguna Blanca, Maldonado-Uruguay). Analizar los cambios en la morfología de los organismos y la posible codominancia de especies dentro de los GFBM que incluyen cianobacterias potencialmente tóxicas.

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Área de estudio

La Laguna Blanca ($34^{\circ}54'S$, $54^{\circ}50'W$, Figura 4.1) es un lago costero somero ($Z_{\text{máx}}=1,5-3,6\text{m}$), con un área de 40,5 há y un área de cuenca de $0,54 \text{ km}^2$ (Mazzeo et al., 2001). Es un sistema polimíctico, con una temperatura que oscila entre los 11 y 27°C (Iglesias et al., 2007; Pacheco et al., 2010) y una importante zona litoral, con vegetación litoral

emergente y bancos de plantas sumergidas (Mazzeo et al., 2001). Se trata de un sistema eutrófico a hipereutrófico, con una alta carga de nutrientes asociados al sedimento y a la biomasa de macrófitas (Mazzeo et al., 2003).

De acuerdo con estudios paleolimnológicos, la cuenca ha sido sometida a varios cambios en el uso del suelo desde fines del siglo XIX, con actividades antrópicas tales como la cría de ganado, la forestación, la extracción de agua desde 1970 y el turismo, las cuales intensificaron el proceso de eutrofización que la afecta (García-Rodríguez et al., 2002).

Debido a una intensa sequía en conjunto con el fenómeno de El Niño y el aumento en el consumo de agua, la laguna sufrió un importante descenso del nivel del agua durante el período de 1997 a 1998, que favoreció una rápida colonización de *Egeria densa* y la eliminación de gran parte de la comunidad de peces. Luego de este episodio, la laguna ha alternado entre un estado de agua clara dominado por plantas sumergidas y un estado de agua turbia dominado por cianobacterias, entre ellas *Cylindrospermopsis raciborskii* (Vidal y Kruk, 2008; por más detalle sobre estudios realizados en la laguna ver Tabla 4.1).

4.4.2 Datos meteorológicos e hidrológicos

Se obtuvieron datos meteorológicos, hidrológicos y limnológicos diarios medidos en la planta potabilizadora ubicada en la laguna, que correspondientes al período entre enero de 2011 y febrero de 2013. Las variables fueron: precipitaciones (mm), nivel de agua (m), extracción de agua para potabilización ($\text{m}^3 \text{ día}^{-1}$) y turbidez del agua (NTU).

4.4.3 Muestreo

Se realizaron muestreos quincenales desde enero de 2011 hasta febrero de 2013 para determinar la composición fitoplanctónica y zooplanctónica, así como medir variables limnológicas *in situ* en un punto central de la laguna. Se alcanzó un total de 34 muestreos.

Las variables limnológicas medidas *in situ* fueron: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), profundidad del punto de muestreo (m), profundidad del disco de Secchi (m), oxígeno disuelto, pH y conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

Para el análisis de fitoplancton se tomaron muestras integradas de la columna de agua en un punto central de la laguna con un tubo vertical de PVC de 10 cm de diámetro. Además se realizaron arrastres subsuperficiales con redes de plancton (malla de 25 μm) para análisis cualitativo de composición taxonómica.

Las muestras de zooplancton fueron tomadas entre setiembre de 2011 y febrero de 2013. Se extrajeron muestras de 3 litros de agua con tubo muestreador vertical de PVC en cinco puntos de la zona pelágica, logrando una muestra final de 15 litros que integró la heterogeneidad horizontal y vertical de la zona pelágica de la laguna. Las mismas fueron filtradas por malla de 50 μm , fijadas con solución lugol y conservadas para su análisis.

Para el análisis de concentración de nutrientes y clorofila-a se realizaron muestreos mensuales durante todo el período de estudio, utilizándose la misma metodología de muestreo que en el caso del fitoplancton.

4.4.4. Análisis de muestras

Las muestras de agua fueron analizadas mediante métodos colorimétricos para determinar concentración ($\mu\text{g l}^{-1}$) de fósforo (PT) y nitrógeno total (NT) (Valderrama, 1981), fósforo reactivo soluble (PRS) (Murphy & Riley, 1962), nitratos (NO_3) (Müller & Widemann, 1955) y amonio (NH_4) (Koroleff, 1983). La concentración de clorofila-a ($\mu\text{g l}^{-1}$) fue determinada por espectrofotometría, previa extracción del pigmento con etanol frío (Jespersen & Christoffersen, 1987).

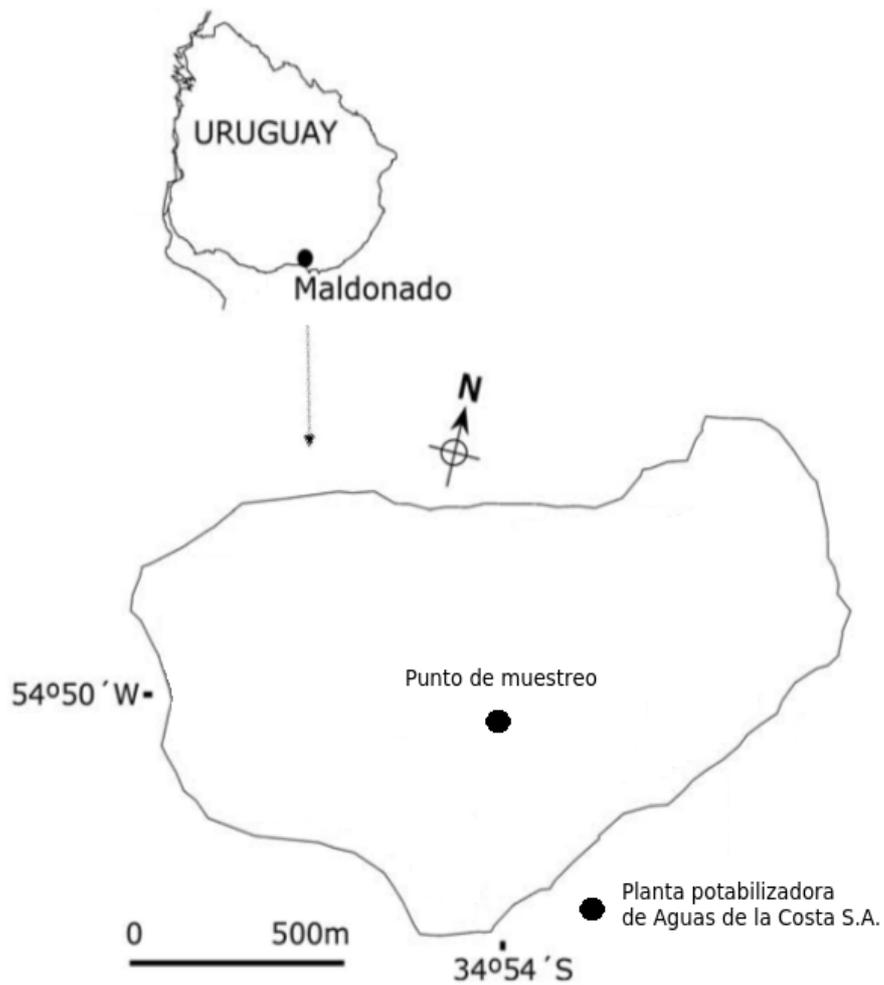


Figura 4.1. Mapa de la laguna Blanca y su ubicación en Uruguay. Modificado de Mazzeo et al., 2003.

Las muestras de fitoplancton fueron analizadas mediante microscopio óptico invertido (análisis cuantitativo) y directo (análisis cualitativo de taxa). La abundancia de los organismos, identificados a nivel de especie

en caso de ser posible, se estimó mediante conteos de campos al azar a aumentos de 200x, 400x y 1000x, habiendo realizado previamente la sedimentación de las muestras (Utermöhl, 1958). Los organismos encontrados durante los conteos fueron medidos para estimar el volumen y superficie por aproximación a cuerpos geométricos de acuerdo con Hillebrand (1999). En el caso de los filamentos que presentaron altas abundancias, se tomaron 30 medidas de largo y 10 de ancho para cada especie en cada muestra. Posteriormente, los organismos fueron clasificados en GFBM en base a los siguientes rasgos morfológicos: volumen ($V, \mu\text{m}^3$), relación superficie/volumen ($S/V, \mu\text{m}^{-1}$), dimensión lineal máxima (MLD, μm), presencia de flagelos, estructuras silíceas, mucílago y aerótopos (Kruk et al., 2010; Kruk & Segura, 2012). El biovolumen ($\text{mm}^3 \text{ l}^{-1}$) de cada especie, taxón o GFBM fue calculado multiplicando el volumen promedio de los organismos que lo integraron en cada muestra por su abundancia.

El análisis de las muestras de zooplancton consistió en el conteo de organismos, clasificados al menos en los principales grupos taxonómicos (cladóceros, copépodos y rotíferos) y a distintos niveles de resolución taxonómica, del total de una cámara Sedwick-Rafter de 5 ml bajo

microscopio óptico a un aumento de 40x (Paggi & De Paggi, 1974). Luego se calculó la abundancia de cada grupo (Ind. l⁻¹).

4.4.5 Análisis de datos

Se llevó a cabo el análisis estadístico descriptivo de las variables meteorológicas y limnológicas. Se realizaron análisis de correlación de Spearman, considerando los coeficientes calculados como significativos a un nivel alfa de 0,05.

El estado trófico de la laguna fue estimado para cada evento de muestreo en base a la concentración de fósforo total, empleando el índice de Salas & Martino (1991).

Se calculó la riqueza de especies de fitoplancton por conteo, el promedio y el rango para todo el período. Por otra parte, se definió la especie u taxón dominante en cada muestreo, siendo el umbral de biovolumen para considerar la dominancia un 70% del total de fitoplancton.

Se llevaron a cabo regresiones lineales múltiples para evaluar la relación existente entre las variables bióticas vinculadas al fitoplancton y a las cianobacterias potencialmente tóxicas (Biovolumen total, el de

cianobacterias y de *C. raciborskii*) y las siguientes variables ambientales: temperatura (T, °C), fósforo total, nitrógeno total, amonio, nitrato, fósforo reactivo soluble y turbidez. Se realizó un Análisis de Redundancia (RDA por su sigla en inglés, utilizando las variables abióticas mencionadas anteriormente como variables explicatorias y el biovolumen de los GFBM III, IV, VII y la suma de el resto de los GFBM ("Otros" en el análisis) como variables de respuesta. Las variables fueron estandarizadas empleando la función Decostand del paquete Vegan de R (Oksanen et al., 2007).

Posteriormente a la realización del RDA, las variables fueron elegidas por inspección de los factores de inflación de varianza (VIF's, valores >10 son utilizados para retirar una variable del análisis) y el método de selección hacia adelante. La significancia del análisis (el total de los ejes y por eje) fue evaluada a través de la prueba de permutaciones de Monte Carlo, con 999 permutaciones en cada caso.

Se evaluaron los cambios en biovolumen de los GFBM que incluyen cianobacterias potencialmente tóxicas, con énfasis en los grupos con mayor número de especies coexistiendo por muestreo.

En cuanto al GFBM III, se comparó la morfología de las especies que presentaron los mayores biovolúmenes, en los períodos de co-dominancia. Se realizaron gráficos de densidad en función de los valores

de MLD, V y S/V para evaluar la existencia de diferencias significativas en estos rasgos entre especies que aparezcan en forma simultánea con altos biovolúmenes. Por otra parte, a través de los mismos rasgos, se evaluaron los cambios en la morfología de *C. raciborskii* a lo largo de todo el período de estudio.

4.5 RESULTADOS

4.5.1 Variables meteorológicas e hidrológicas

En el período de estudio (enero 2011 a febrero 2013) la precipitación varió de 0 a 59 mm d⁻¹ con mayores valores en invierno y verano. La extracción de agua por la planta (media 1870,8 m³, rango: 0-3841) tuvo mayores valores en primavera y verano, lo cual resultó en una relación negativa entre las lluvias y el volumen de extracción ($r_s = -0,19$; $p < 0,001$). El nivel de agua varió estacionalmente entre 4,33 y 5,26 m (media 4,72), con mayores valores en invierno y primavera y estuvo correlacionado con el volumen de extracción ($r_s = -0,32$; $p < 0,001$)(Figura 4.2).

4.5.2 Variables ambientales limnológicas

El nivel medido en planta y la profundidad del sitio de estudio estuvieron fuertemente correlacionados ($r_s = 0,85$; $p < 0,05$). La temperatura tuvo una variación estacional de forma opuesta a la turbidez medida en planta ($r_s = -0,35$; $p = 0,07$) (Figura 4.3a) que se relacionó negativamente con la profundidad del DS ($r_s = -0,45$; $p < 0,05$).

Los mayores valores de NT ocurrieron en otoño e invierno del 2011, disminuyendo hacia el resto del periodo con otro pico en otoño del 2012. No hubo relaciones significativas entre las distintas formas de nitrógeno. Los máximos de concentración de NH_4 ocurrieron en invierno del 2011 y a fines de la primavera del 2012, mientras que el NO_3 tuvo sus valores máximos luego del NH_4 , en primavera del 2011. El PT y PRS variaron conjuntamente ($r_s = 0,58$; $p < 0,05$). El PT tuvo valores máximos en verano e invierno de 2011 y en verano-otoño de 2012. Las formas totales de N y P estuvieron negativa y marginalmente correlacionadas ($r_s = -0,41$; $p = 0,07$), mientras que las formas disueltas no mostraron cambios conjuntos. La precipitación del día y la acumulada no tuvieron relación con la turbidez, o con los nutrientes totales o disueltos, aunque si el nivel del agua que afectó negativamente a la turbidez ($r_s = -0,39$; $p < 0,05$), al PT ($r_s = -0,47$; $p < 0,05$) y positivamente al NH_4 ($r_s = 0,66$; $p < 0,05$).

De acuerdo con el índice de Salas y Martino (1991) para fósforo total, la Laguna Blanca se clasificó como oligotrófica ($PT < 28 \mu\text{g l}^{-1}$) durante la mayor parte de invierno y primavera de 2011, y eutrófica ($PT > 70 \mu\text{g l}^{-1}$) durante marzo y abril de 2012. El resto del período de muestreo se clasificó como mesotrófica ($28 < PT < 70 \mu\text{g l}^{-1}$). De acuerdo con el valor promedio anual de fósforo, el sistema se clasificó como mesotrófico en los dos años de muestreo. En cuanto a la limitación por nutrientes, la laguna estuvo limitada por fósforo (radio N:P promedio 38,02; 44,03-54,22) a lo largo de todo el período, con excepciones durante otoño de 2012, cuando hubo limitación por nitrógeno (N:P=14,65 en abril de 2012).

Para el zooplancton solo se cuenta con información para el periodo de noviembre 2011 en adelante. En éste, los máximos de abundancia total ocurrieron en otoño y primavera del 2012. Los rotíferos fueron el grupo taxonómico dominante (>50%) en la mayor parte de los muestreos, seguidos de los nauplios (estadios larvales de los copépodos). Los cladóceros fueron dominantes solamente en un muestreo de la primavera del 2011, alcanzando un 56% de la abundancia, alcanzando sus mayores valores en invierno y primavera del 2012. Dentro de los cladóceros, fueron dominantes géneros de tamaño pequeño o mediano (ej. *Bosmina* y *Diaphanosoma* spp.).

4.5.3 Abundancia, Biovolumen y composición de la comunidad de fitoplancton

La abundancia de fitoplancton tuvo una media de 485×10^3 org. ml⁻¹ ($52,2 \times 10^3$ - 1190×10^3) mientras que el biovolumen total tuvo una media de $46 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$ (3-784) en todo el período. Este presentó los mayores valores del período de muestreo en noviembre de 2011 y en abril-mayo de 2012. Los menores biovolúmenes fueron observados en octubre de 2011 y agosto de 2012 (Figura 4.4a).

Las cianobacterias fueron uno de los grupos taxonómicos que alcanzaron la mayor proporción del biovolumen total a lo largo de todas las estaciones del año (media=28,5, rango=0-727 $\text{mm}^3 \text{ l}^{-1}$) (correlación entre biovolumen total y de cianobacterias $r_s=0,41$, $p<0,05$), alcanzando más del 70% desde el inicio de los muestreos hasta agosto de 2011, y en el período comprendido entre noviembre de 2011 y enero de 2012. Durante el resto de 2012 no superaron el 50%. En invierno dominaron además las criptofitas (e.g. *Cryptomonas* sp.) y zygmatofitas (e.g. *Staurodesmus cuspidatus*), en otoño las zignematofitas (e.g. *Mougeotia* sp.) y en primavera las clorofitas (e.g. *Botryococcus braunii*, *Eutetramorus fottii*) y criptofitas (e.g. *Cryptomonas* cf. *ovata*).

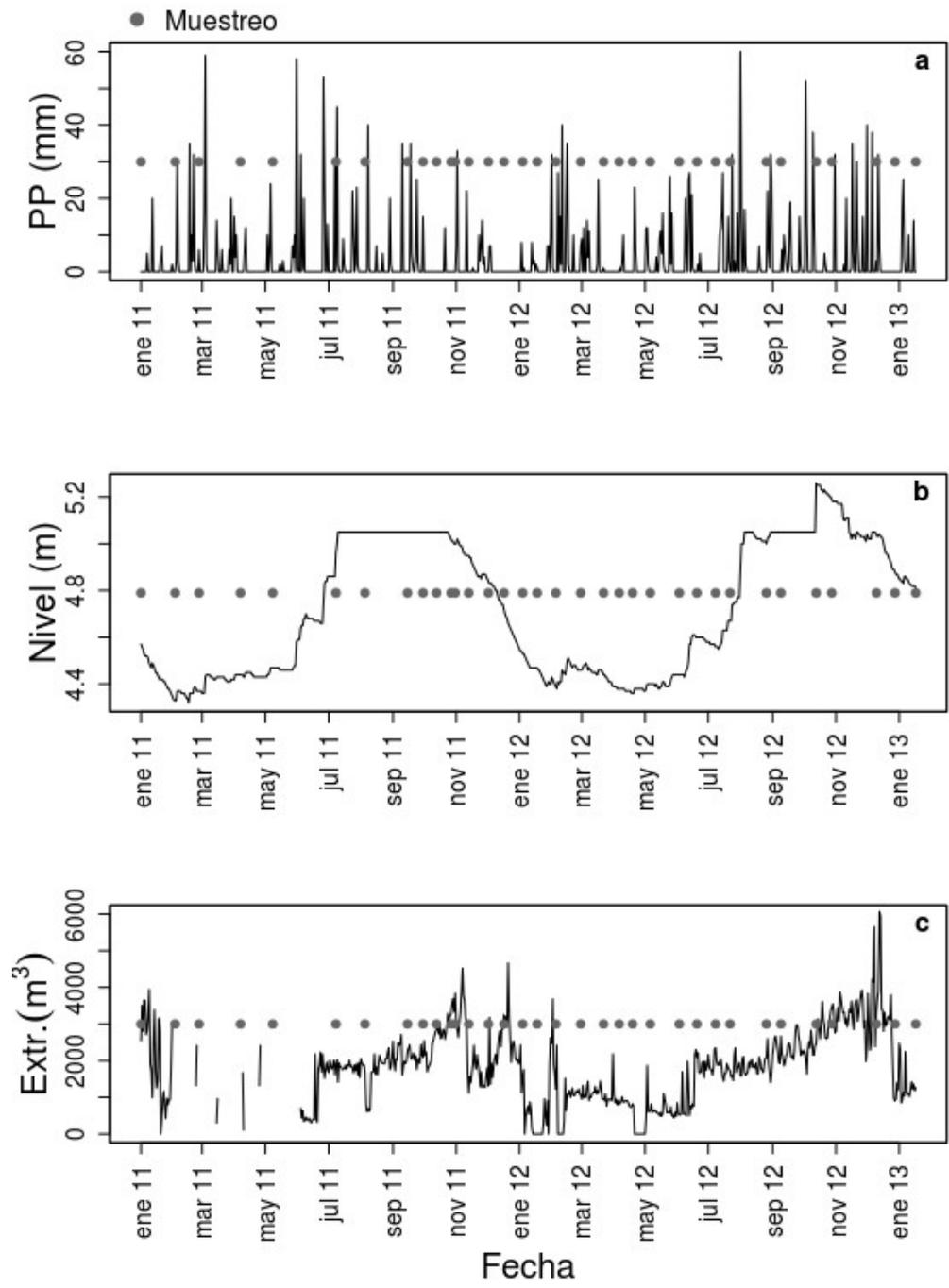


Figura 4.2 Variación diaria de las precipitaciones (PP, a), el nivel del agua (Nivel, b) y el volumen de extracción de agua por la planta potabilizadora (Extr., c) en la Laguna Blanca. Se marcan las fechas de muestreos con círculos.

Tabla 4.2. Valores medios y rangos de las principales variables limnológicas. PT: Fósforo Total; PRS: Fósforo Reactivo Soluble; NT: Nitrógeno Total; NH₄: Amonio; NO₃: Nitrato.

Variable	Media y rango	n
Temperatura (°C)	19,48 (8,3-28,4)	34
Profundidad (m) en punto de muestreo	1,52 (1-2)	24
Profundidad Disco de Secchi (m)	0,98 (0,20-1,7)	20
Turbidez (NTU)	5,76 (2,3-10,6)	28
Conductividad (μS cm ⁻¹)	623 (330-931)	12
Alcalinidad mg CaCO ₃ l ⁻¹	94,7 (78-140)	26
pH	8,8 (7,7-10,1)	34
PT (μg l ⁻¹)	47,9 (18,6-77,7)	21
PRS (μg l ⁻¹)	13,2 (2,7-24,9)	18
NT (μg l ⁻¹)	1347 (607,7-3118)	20
NH ₄ (μg l ⁻¹)	13,5 (0-45,9)	16
NO ₃ (μg l ⁻¹)	92,1 (27,1 -331,1)	20
NT:PT	33,3 (7,8-78)	20
Zooplancton total (Ind. l ⁻¹)	1530 (234,4-5357)	23

Se identificaron y cuantificaron un total de 99 géneros. Entre estos, se profundizó en la identificación de 64 especies pertenecientes a un total de 8 grupos taxonómicos y 7 GFBM. Incluyendo a los organismos identificados y no identificados, se contabilizó un total de 145 taxa.

La riqueza varió entre 6 y 40 con una media de 18 especies por muestreo.

Las estaciones del año con mayor número de especies fueron verano y otoño de 2012. Las especies encontradas pertenecieron en su mayoría al grupo de las clorofitas y al GFBM IV. Por otra parte, 32 géneros fueron cianobacterias (16 de ellos identificados a nivel de especie). De estos géneros, 6 pertenecieron al GFBM I, 6 al III, 8 al IV y 12 al VII.

Las especies dominantes dentro de este grupo taxonómico fueron *Aphanocapsa delicatissima*, *Planktolyngbya limnetica*, *Cyanoduction imperfectum*, *Aphanizomenon gracile* y *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Estas especies pertenecieron a los GFBM VII, IV, VII, y III respectivamente (Figura 4.5). En particular, *C. raciborskii* tuvo un biovolumen medio de $9,29 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$, con un rango de 0,10 a 51,75 durante el verano y otoño de 2011 y 2012.

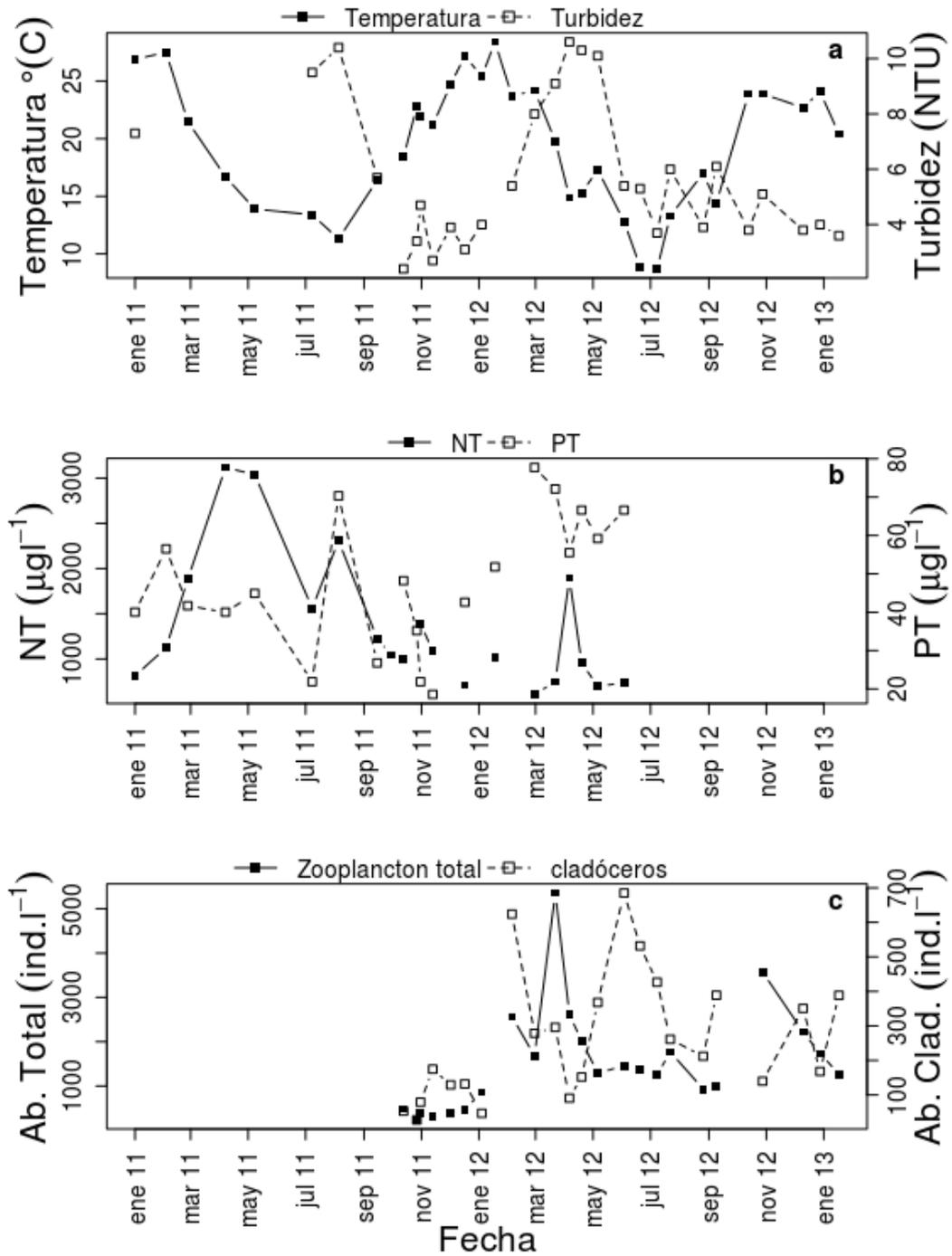


Figura 4.3. Variación temporal de las principales variables limnológicas; a-Temperatura y Turbidez, b-nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) y c- abundancia total de zooplankton y cladóceros (Clad.). La ausencia de puntos indica falta de muestreo en esa fecha.

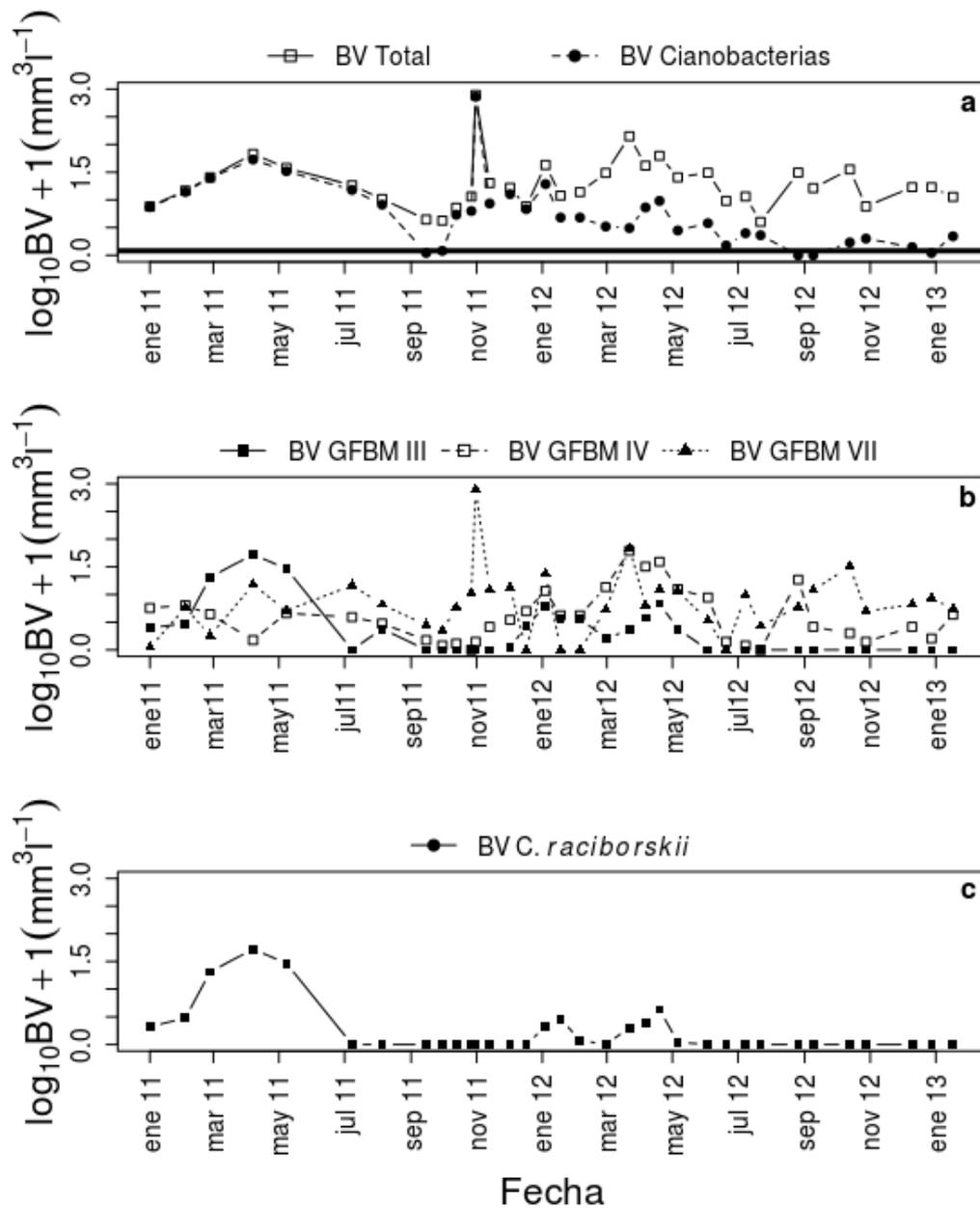


Figura 4.4. Variación temporal de las principales variables biológicas: Biovolumen Total (a), Biovolumen de Cianobacterias (a), Biovolumen de los GFBM III, IV y VII (b) y Biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii* (c). La línea horizontal negra en el gráfico a indica el umbral de biovolumen de Cianobacterias ($0,2 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$) para pasar del nivel de vigilancia al nivel de alerta I en agua para consumo humano en Uruguay (de acuerdo con norma interna de la Administración de Obras Sanitarias del Estado-OSE).

4.5.4 GFBM: composición, morfología y dinámica temporal

A lo largo de todo el período de muestreo, los GFBM que incluyen cianobacterias fueron los dominantes. Estos fueron el III, el IV y el VII. El GFBM III fue dominante a fines de verano y otoño de 2011, el IV al principio de verano de 2011, verano de 2012 y durante otoño de 2012. El VII fue dominante principalmente en los meses invierno y primavera de 2011 y 2012, así como en verano de 2013 (Figura 4.4).

Además de estos GFBM, uno que no presenta cianobacterias si no organismos flagelados (V), representó la mayor proporción del biovolumen total durante enero y febrero de 2012, junio y julio de 2012 y enero de 2013.

Tanto el GFBM III como el IV y el VII presentaron cianobacterias potencialmente tóxicas, sin embargo, el mayor número de especies fue observado en el III. Las especies presentes dentro del mismo fueron: *Aphanizomenon flos-aquae*, *Aphanizomenon* sp., *Cuspidotrrix issatschenkoi*, *Aphanizomenon gracile* y *Cylindrospermopsis raciborskii*, siendo estas dos últimas las que alcanzaron mayores biomásas y mayor frecuencia de ocurrencia.

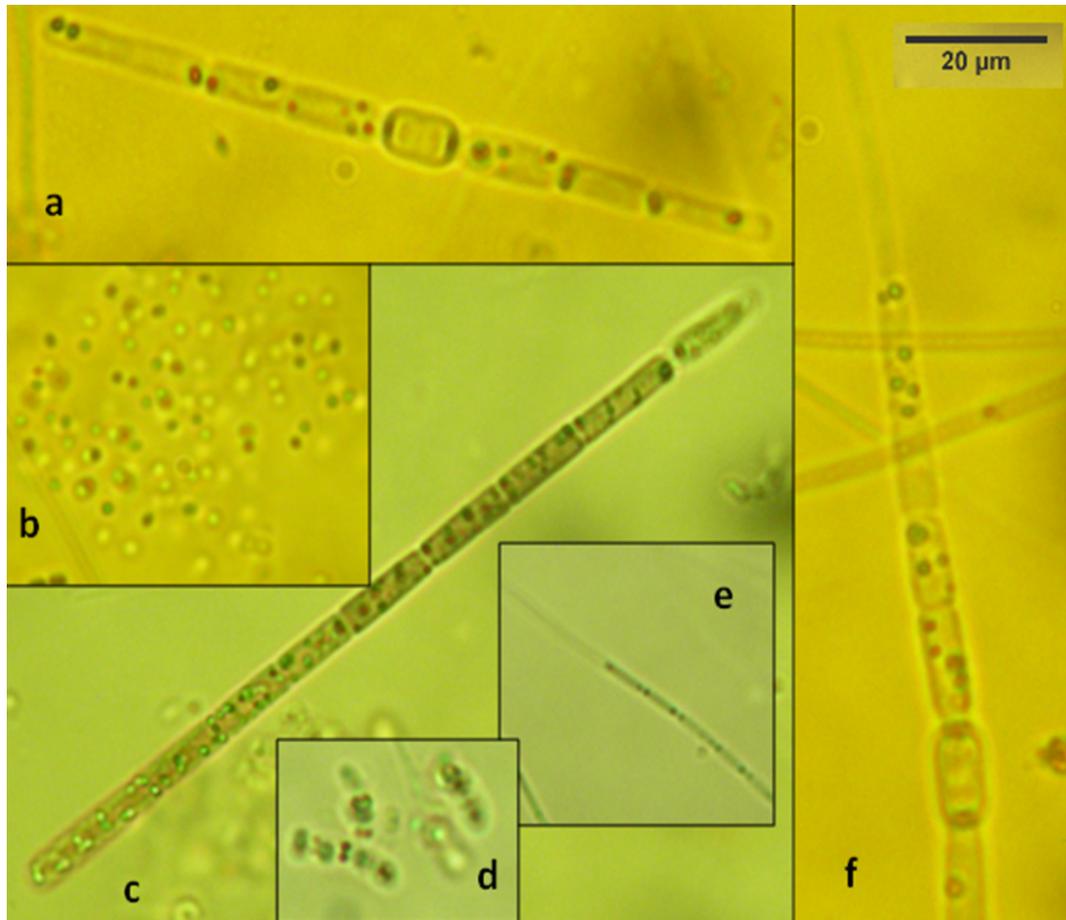


Figura 4.5. Especies de cianobacterias más abundantes en Laguna Blanca durante primavera y verano de 2011 y 2012. a) *Aphanizomenon gracile*, b) *Aphanocapsa delicatissima*, c) *Cylindrospermopsis raciborskii*, d) *Cyanoduction imperfectum*, e) *Planktolyngbya limnetica*, f) *Cuspidothrix issatschenkoii*.

Tabla 4.3. GFBM encontrados durante el período de muestreo. Se indican BV: Biovolumen (mm^3L^{-1}), MLD: Dimensión Lineal Máxima (μm), V: Volumen (μm^3), S: Superficie (μm^2), S/V: Relación Superficie/Volumen (μm^{-1}), número y ejemplos de taxa. El subíndice K indica los valores promedio y rango definidos por Kruk et al. 2010 para los mismos rasgos.

GFBM	BV mm^3L^{-1}	MLD μm	MLD _K μm	V μm^3	V _K μm^3	S μm^2	S _K μm^2	S/V μm^{-1}	S/V _K μm^{-1}	N° de Ej. de taxa	Ej. de taxa
I	0,8 0,1-6	2,6 1-6,3	7,8 0,8-43,6	6,9 0,5-88,5	12,9 0,3-120	30,4 3-362,85	134 2,3-8191	4,9 3,9-6,2	5,1 1,5-28,7	12	<i>Synechococcus</i> sp., <i>Synechoscystis</i> sp.
II	0,2 0-2	6,4 3-13	17,1 2,0-164	136,1 14,1-382,9	626 1-10469	139,9 28,2-314,16	308 4,7-2783	1,3 0,7-2,3	1,6 0,3-6,8	7	<i>Chromulina</i> sp., <i>Dynobryon divergens</i>
III	3,8 0-51,8	127,4 5-350,8	95,7 2,5-259	1080,1 3,9-3932,8	1541 8,1-8708	1428,7 17,2-4326,08	1553 19,6-4598	1,96 1,1-4,4	1,7 0,4-4,3	6	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> , <i>Aphanizomenon gracile</i>
IV	6,9 0-60,5	58,3 5-298,7	37 4,6-700	679,5 1,3-5939,6	1543 12,7-48255	1585,1 7,9-8594,5	791 29,1-18200	3,3 0,6-6,8	1,6 0,1-5,1	48	<i>Closterium acutum</i> , <i>Monoraphidium contortum</i> , <i>Planktolyngbya limetica</i>
V	2,1 0-15,2	18,7 7,3-57,5	17,5 2,1-190	3324 42,7-20767,4	2444 2,4-164779	2590,6 64,1-13966,3	764 8,9-20997	1,0 0,4-1,7	1,2 0,1-4,9	27	<i>Cryptomonas</i> sp., <i>Plagioselmis lacustris</i>
VI	0,6 0-11	48,1 5-100	44,1 2,8-244	534,4 24,3-3003,9	3143 7,8-57106	703,56 83,6-2703,5	1344 19,2-17473	1,7 0,9-3,9	1,1 0,2-3,6	11	<i>Aulacoseira granulata</i> , <i>Navicula</i> sp.
VII	31,5 0-783,1	17,9 5-58,2	30,1 3,5-244	5713,6 65,5-78264,9	43152 10,9-2,4x10 ⁶	6013,7 78,6-79438,4	3062 24,4-87616	1,2 0,7-2,8	1,0 0-6,0	33	<i>Aphanocapsa delicatissima</i> , <i>Dyctiosphaerium pulchellum</i>

4.5.5 Relación del fitoplancton con las variables ambientales

El modelo de regresión múltiple para el biovolumen del fitoplancton total en función de las variables ambientales no resultó significativo. En el caso del BV de cianobacterias, este estuvo asociado positivamente al PT, y negativamente al NO₃ y PRS. Por otra parte, en el modelo para el BV de *C. raciborskii*, la única variable que resultó significativa fue el nivel de la laguna (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Regresiones lineales múltiples ajustadas para explicar el biovolumen (BV, mm³ l⁻³) total, de cianobacterias y de *Cylindrospermopsis raciborskii* en base a variables ambientales. Las variables incluidas inicialmente fueron: temperatura (T), fósforo total (PT), nitrógeno total (NT), amonio (NH₄), nitratos (NO₃), fósforo reactivo soluble (PRS), turbidez (NTU) y nivel (Niv). Aquí se muestran los resultados luego de selección.

Variable biológica	Coefficientes	R ²	F	df	p
BV fitoplancton total	NT*: 10,25; Niv*: -61,2	0,96	7,6	8;2	0,12
BV Cianobacteria	Intercepto*: -0,8; PT**:2,06; NO ₃ **:-1,99; PRS*: -2,4	0,99	39,39	7;3	0,006
BV <i>C. raciborskii</i>	Niv*: -70,57	0,78	5,26	4,6	0,04

Códigos de significancia: p=0:(***);p=0,001:(**);p=0,01:(*);p=0,05:(.)

El RDA construido luego de inspeccionar el VIF incluyó las variables temperatura, fósforo total, nitrógeno total, amonio, nitratos, fósforo reactivo soluble, turbidez y nivel, tuvo un R² de 0,62 para todos los ejes (test de Monte Carlo: F(8,15)=3,06; p=0,001), y el del primer eje F(1,19)=17,72 y p=0,00. Luego de seleccionar las variables a incluir con el

RDA con selección hacia adelante, solo quedaron el nivel del agua y el NT, con un R^2 de 0,45 (test de Montecarlo para todos los ejes $F(2,21)=8,75$, $p=0,001$) (Figura 4.6). Los GFBM se distribuyeron homogéneamente uno en cada cuadrante, asociados a distintas combinaciones de valores de las variables ambientales. El GFBM III tuvo mayor Biovolumen con mayor NT y turbidez y menor nivel del agua. El GFBM IV, presentó mayores biovolúmenes ante mayores concentraciones de las dos formas de fósforo (total y disuelto) y temperatura. Finalmente el GFBM VII estuvo asociado a mayores concentraciones de nitrógeno disuelto y nivel del agua.

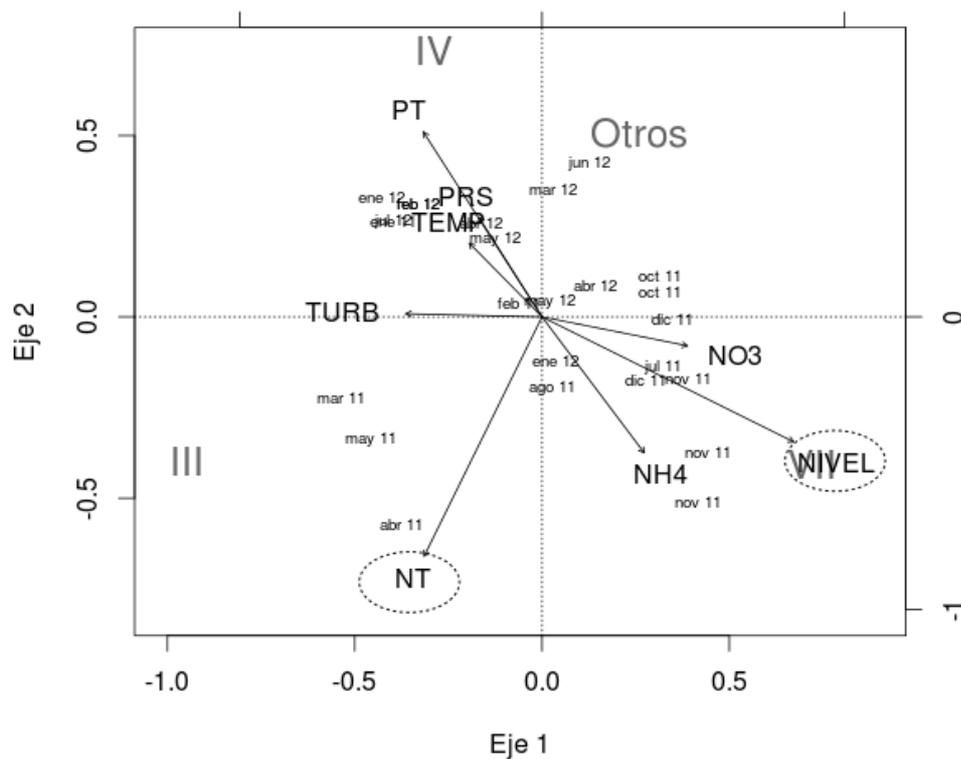


Figura 4.6. Diagrama de ordenación de Análisis de Redundancia para variables biológicas, variables abióticas y fechas de muestreo. Se incluyen los biovolúmenes (BV; mm³ l⁻¹) de GFBM III, IV VII y Otros (suma del BV del resto de los GFBM). T: temperatura (°C), PT: fósforo total (µg l⁻¹), NT: nitrógeno total (µg l⁻¹), NH₄: amonio (µg l⁻¹), NO₃: nitratos (µg l⁻¹), PRS: fósforo reactivo soluble (µg l⁻¹), TURB: turbidez (NTU), NIV: nivel (m). Las variables seleccionadas mediante el método de selección hacia adelante se muestran resaltadas con elipses de línea punteada).

4.5.6 Composición y dinámica del GFBM III

El biovolumen total de GFBM III tuvo una media de $1,99 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$ (0-27,1), estando presente en verano y otoño de 2011 y 2013. Durante el primer período, tanto el biovolumen de este grupo como el porcentaje que representó del total aumentaron en los meses de otoño, alcanzándose un máximo de 79,3% en el muestreo del 17/03/2011 y manteniéndose por encima del 70% hasta el final del período. Durante el mismo, *Cylindrospermopsis raciborskii* fue la especie dominante. Durante el segundo período el GFBM III alcanzó un máximo de 25% (el 05/01/2012) sobre el total de fitoplancton. Al contrario del primer período, los porcentajes fueron mayores en los meses de verano. En este caso aparecieron 5 especies distintas, y co-dominaron dos (en casi todos los muestreos) o hasta 3 especies (muestreo del 08/05). Las especies que coexistieron en la mayoría de los casos fueron *C. raciborskii* y *A. gracile* (Figura 4.7).

4.5.7 Comparación entre *C. raciborskii* y *A. gracile*

Se comparó la morfología de estas dos especies, que aparecieron como co-dominantes con mayor frecuencia, para evaluar si fueron funcionalmente redundantes. Al inicio del período de coexistencia se observó que el MLD de *A. gracile*, tuvo un amplio rango, con mayores densidades en valores cercanos a las 200 μm . En cambio *C. raciborskii* presentó valores menores, de entre 100 y 200. Luego, a finales de otoño de 2012, esta especie extendió su rango hacia valores mayores llegando a alcanzar los 400 μm y solapándose con los valores de *A. gracile*.

En cuanto al volumen, si bien *A. gracile* siempre presentó valores más altos, se observó que ambas especies extienden su rango hacia volúmenes mayores con el avance de las estaciones (Figura 4.8). La S/V

de *A. gracile* fue menor a la de *C. raciborskii* en todas las fechas menos en el muestreo del 25/05/2012, cuando aumentó su valor mientras que *Cylindrospermopsis* mostró un desplazamiento hacia valores más bajos (Figura 4.9). Por otra parte se observó una relación positiva ($r^2=0,24$, $p<0,01$) entre el volumen de estas especies (Figura 4.9).

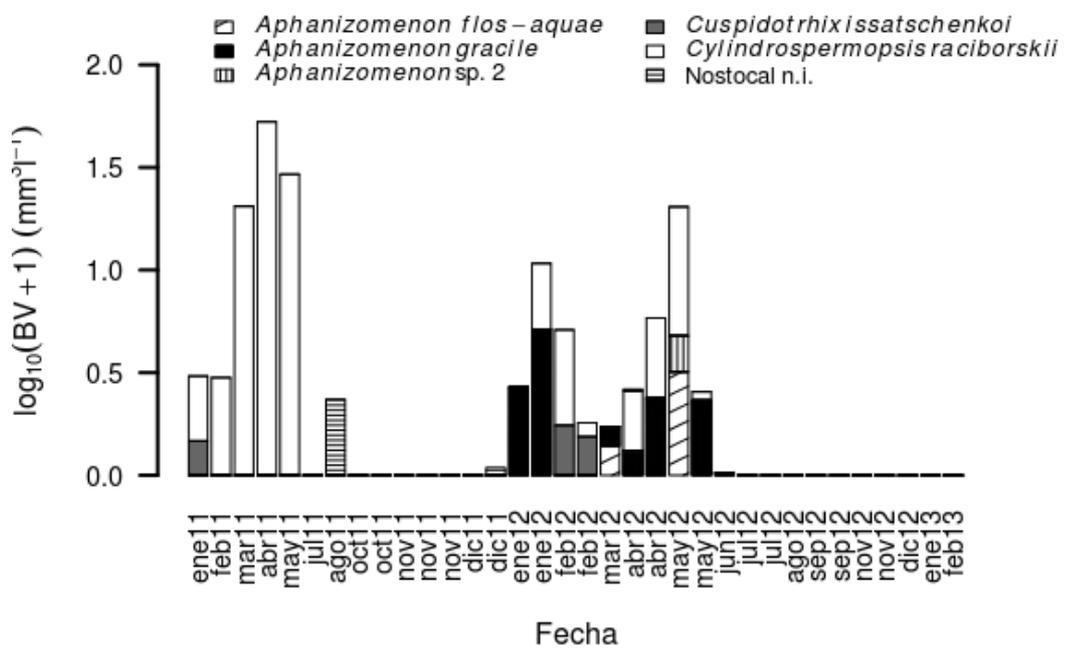


Figura 4.7. Log₁₀ del Biovolumen+1 (mm³ l⁻¹) de especies del GFBM III a lo largo del período de estudio.

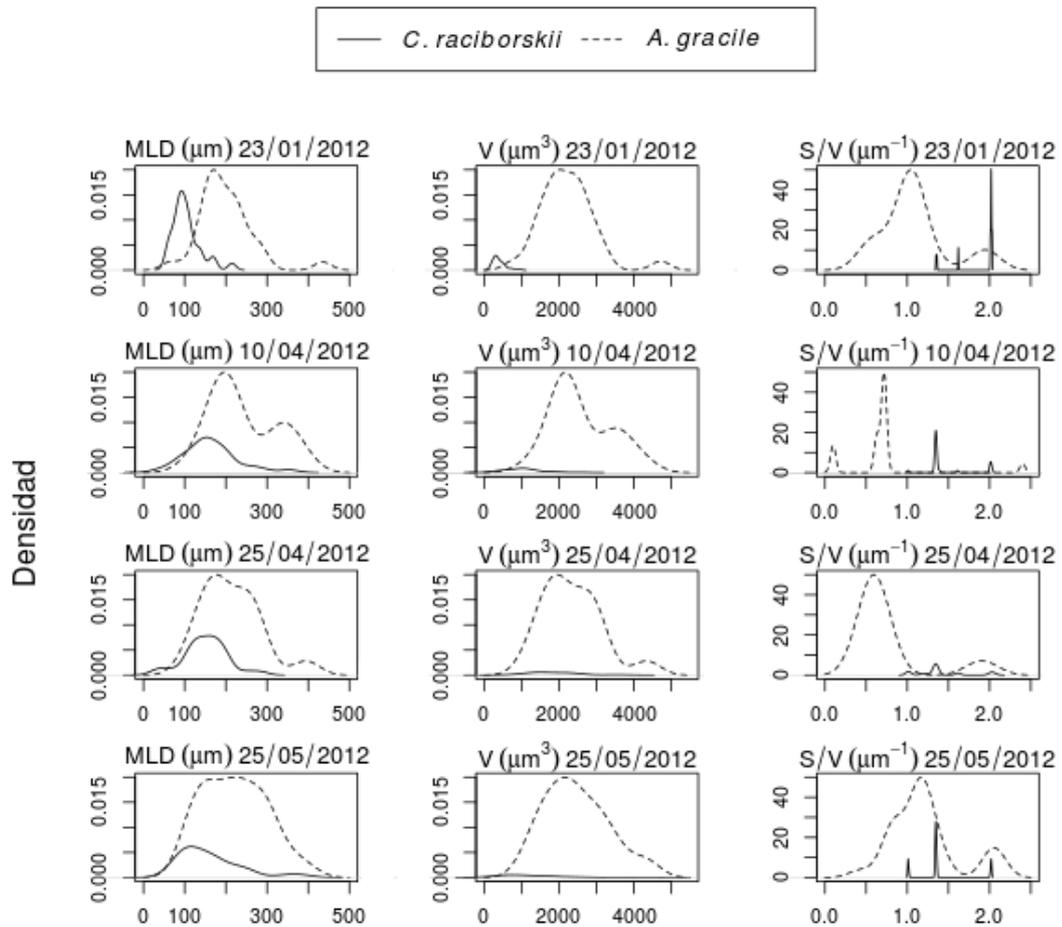


Figura 4.8. Comparación de la dimensión lineal máxima (MLD, μm), volumen (V, μm^3) y relación superficie/volumen (S/V, μm^{-1}) entre *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Aphanizomenon gracile* en 4 fechas del período de muestreo.

4.5.8 Análisis de Morfología de *C. raciborskii* en el tiempo

Al analizar por separado la distribución de la morfología de *C. raciborskii* a lo largo del tiempo, se evidenció un aumento en el MLD y el volumen, así como una disminución de la relación S/V hacia otoño de 2011, que corresponde al primer período de desarrollo de la especie en la laguna. En cambio, durante el segundo período el patrón mencionado se repitió

solamente en verano, dado que al iniciarse el otoño hubo una disminución de MLD y volumen junto con un aumento de S/V, alcanzándose valores que se mantuvieron estables por el resto del período (Figura 4.10). Por otra parte, en todos los muestreos en que se registró esta especie, se evidenció la presencia de heterocitos, alcanzándose las mayores de organismos con células diferenciadas durante los meses de verano.

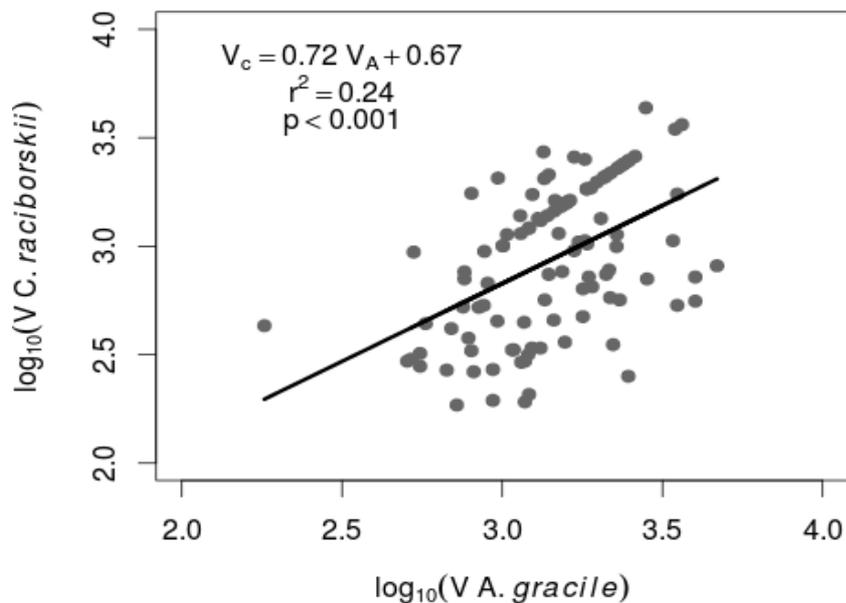


Figura 4.9. Variación del \log_{10} del volumen de *C. raciborskii* en función del \log_{10} del volumen ($V, \mu\text{m}^3$) de *A. gracile*.

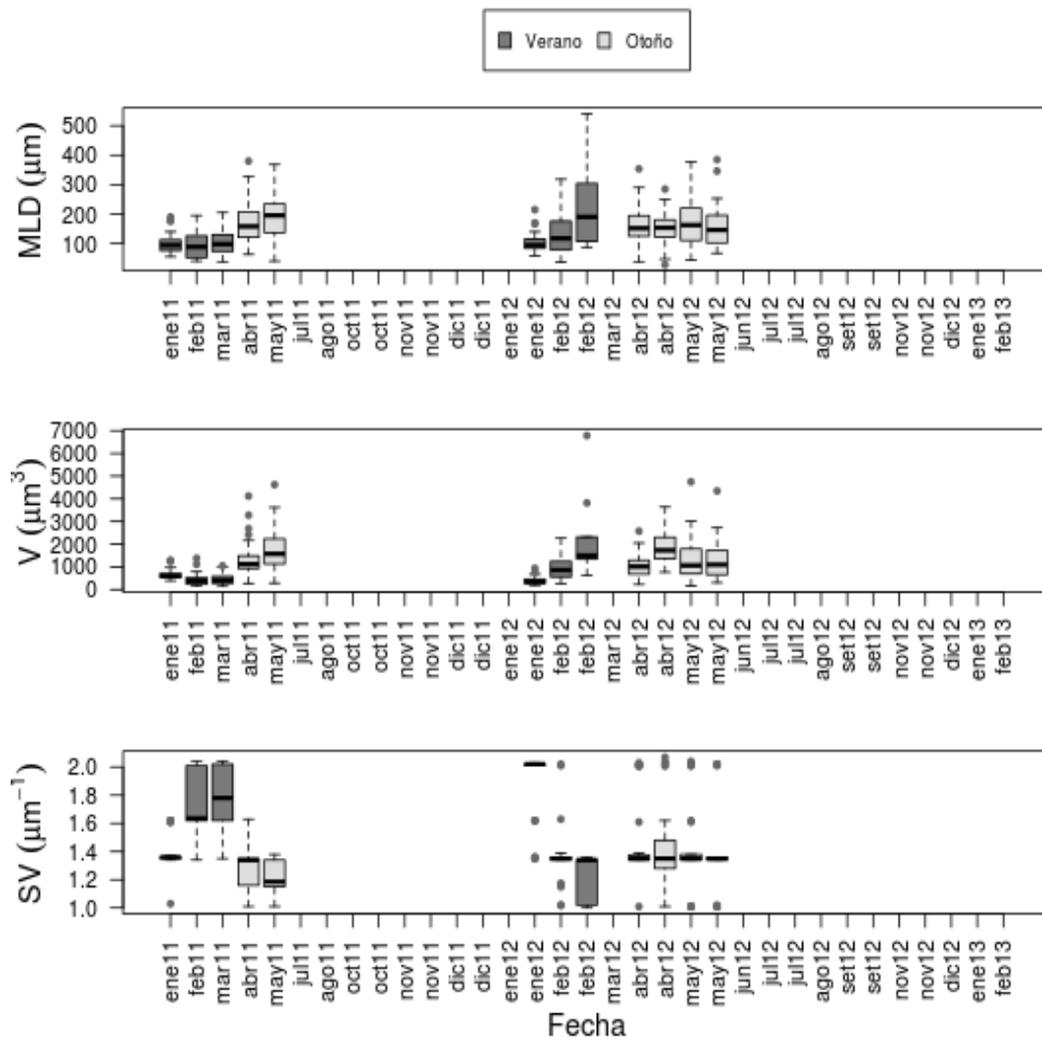


Figura 4.10. Diagramas de cajas para la dimensión lineal máxima (MLD, μm), el volumen (V , μm^3) y la relación superficie/volumen (S/V , μm^{-1}) de *C. raciborskii* en el tiempo. Las líneas centrales horizontales representan la mediana de los datos, los bordes inferiores y superiores de las cajas representan el cuantil 25 y 75 respectivamente y los puntos de color gris los valores extremos.

4.6 DISCUSIÓN

En este trabajo fue posible evaluar los efectos de las condiciones ambientales en especies de cianobacterias formadoras de floraciones agrupadas en GFBM. La utilización de GFBM permitió observar que especies en diferentes grupos tienen distintas preferencias ambientales y que por lo tanto responden de diferente manera a la eutrofización y a los cambios climáticos, incluyendo sus efectos en la temperatura y profundidad de los ambientes. En este sentido, la morfología de los distintos GFBM fue un buen predictor de las condiciones de dominancia de los organismos, por ejemplo la mayor relación S/V característica del GFBM III, permitió a sus integrantes ser dominantes en condiciones de alta turbidez del agua, asociados a bajo nivel del agua y alta concentración de nitrógeno total.

4.6.1 Descripción del ambiente acuático

El nivel de la laguna fue una variable clave en explicar la variabilidad de la comunidad de fitoplancton y así como la alternancia de distintos GFBM formadores de floraciones. Mayores niveles de agua estuvieron asociados a mayores lluvias y menores volúmenes de extracción por la planta potabilizadora como ya ha sido observado previamente (Mazzeo et al., 2001). Distintos autores han mencionado la relevancia del nivel del agua para la dinámica de las comunidades biológicas de la laguna (Mazzeo et al., 2001), a través de su efecto en la concentración de nutrientes y la turbidez (Jeppesen et al., 2009). En Laguna Blanca, la lluvia se ha asociado a la entrada de material alóctono y al mismo tiempo a un efecto

de dilución, no generando un aporte en la concentración de nutrientes (Mazzeo et al. 2001). En este estudio en condiciones de menor volumen de agua y nivel (menos precipitaciones y mayor extracción) aumentó la turbidez posiblemente debido a que menores profundidades favorecen la mezcla del agua por el viento (Fabre et al., 2010) y el desarrollo fitoplanctónico.

La temperatura varió estacionalmente con un amplio rango de valores, mayor que varios estudios antes realizados en la laguna (Pacheco et al. 2010, Mazzeo et al., 2003). Fueron particularmente bajos los valores mínimos registrados en dos oportunidades en julio de 2012 (< 9), siendo menores a los valores esperados para ecosistemas subtropicales (Köppen, 1923). Esto pudo haber condicionado el crecimiento de algunos grupos de fitoplancton (Reynolds et al., 2002; capítulo 2 de esta tesis).

De acuerdo con el índice de Salas y Martino, según los promedios anuales de fósforo total, la laguna se clasificó como mesotrófica. A diferencia de lo observado en trabajos previos (Mazzeo et al. 2001) los mayores valores de PT y NT se dieron no solo en verano, sino también en otoño e invierno, lo que podría explicar las altas biomásas alcanzadas por el fitoplancton durante estaciones caracterizadas por presentar menores temperaturas.

El zooplancton fue característico de este tipo de sistema incluyendo pequeños cladóceros, altas abundancias de rotíferos y copépodos

(Gerhard, 2015) y coincide con trabajos previos (Mazzeo et al., 2001; Pacheco et al., 2010, Iglesias et al. 2007; Meerhoff et al. 2007). La aparición de grupos de mayor tamaño (e.g. cladóceros del género *Diaphanosoma*) en primavera fue observada en trabajos previos (Mazzeo et al 2003) y es un indicador de mayor tasa de aclarado y presión de herbívora potencial sobre el fitoplancton, especialmente sobre el GFBM IV (Colina et al., 2015).

4.6.2 Descripción del fitoplancton general

Los valores de abundancia y biovolumen de fitoplancton fueron relativamente altos siendo característicos de un sistema eutrofizado con dominancia de cianobacterias (Mazzeo et al., 2001; Pacheco et al., 2010). Si bien no hubo floraciones observables como manchas verdes superficiales, el biovolumen total estuvo casi todo el periodo estudiado por encima o en el valor de $10 \text{ mm}^3\text{l}^{-1}$ indicado como un nivel de alerta para la calidad del agua para uso por el hombre (Chorus, 2012). El biovolumen de cianobacterias estuvo por encima de ese nivel desde enero a julio 2011, en noviembre 2011 y en abril y mayo 2012.

Se observó un cambio notorio del inicio al final de periodo de estudio, con una disminución en la biomasa de cianobacterias, que podría indicar una mejora en la calidad el agua pero que pudo estar asociado a las muy bajas temperaturas de julio del 2012. El sistema ya ha experimentado cambios bruscos en la composición de las comunidades, pasando por estados de agua turbia con fitoplancton y de agua clara dominada por plantas sumergidas (Mazzeo et al., 2003), proceso también evidenciado en estudios paleolimnológicos (García-Rodríguez et al., 2002; Martínez de la Escalera et al., 2014).

La riqueza del fitoplancton varió entre bajos a muy altos valores de número de especies de fitoplancton. La riqueza en este tipo de lagos someros se ha asociado a la cobertura de plantas sumergidas, quienes son favorecidas en lagos de pequeño tamaño y en condiciones de agua clara, aumentando el número de microhabitats donde pueden desarrollarse distintas especies y evitando la formación de floraciones (Kruk et al., 2009). La riqueza fue intermedia entre la registrada por Mazzeo et al. (2001) durante un período mayoritariamente de agua clara y la observada por Pacheco et al. (2010), cuyo periodo correspondió a un estado de agua turbia. Tanto en este trabajo como en los previos (Mazzeo et al. 2001, Vidal & Kruk, 2008, Pacheco et al., 2010), se registró la presencia y altas abundancias de cianobacterias, especialmente en los meses de verano, tanto del GFBM III (e.g. *C. raciborskii*) como del VII (e.g. *Aphanocapsa delicatissima*).

4.6.3 Descripción de los GFBM

Se encontraron los siete GFBM descritos por Kruk et al. (2010), indicando una gran variabilidad de las condiciones ambientales, con dominancia de los GFBM III, IV, V y VII. La morfología de los organismos presentes en todos los GFBM estuvo en general dentro del rango definido por Kruk et al. (2010), con variaciones al comparar los valores medios que en general fueron menores (Tabla 4.2). Los valores de S/V encontrados en este trabajo también fueron similares, exceptuando el caso del IV, donde la relación media calculada fue del doble de la citada. Tal como indican Kruk et al. (2010), el MLD de los organismos fue mayor para el GFBM III, seguido del VI, el IV y el VII. En cuanto a la relación S/V, los GFBM con mayores valores calculados fueron el I y el IV, seguidos por el III (Tabla 4.2).

4.6.4 Relación del fitoplancton con las condiciones ambientales

La temperatura, la concentración de nutrientes y el nivel del agua, fueron importantes en condicionar la estructura y dinámica de la comunidad de fitoplancton. Esto indica que varios procesos asociados a la eutrofización y al cambio climático (cambios en régimen de temperatura, precipitación y nivel del agua) podrían estar involucrados. El biovolumen de las cianobacterias en su conjunto estuvo asociado principalmente a los nutrientes. Sin embargo, hubo diferencias en las respuestas de los GFBM, encontrándose distintos grupos como dominantes en distintas condiciones. La morfología de cada uno de ellos reflejó las preferencias ambientales (Kruk & Segura, 2012).

El GFBM VII se caracteriza por su gran tamaño y por formar colonias mucilaginosas con baja S/V. Este, estuvo asociado a menor turbidez e indicadores de mejor calidad de agua en comparación con las que acompañaron a otros grupos, incluyendo menores concentraciones de nutrientes totales y mayores de disueltos. Estas condiciones además se asociaron a mayor nivel del agua y mayores precipitaciones. El mayor nivel del agua permitiría una mayor estabilidad de la misma y potencialmente la estratificación, al menos durante algunas horas del día. Esto favorecería al VII, que si bien puede tolerar la mezcla, la mayor estabilidad favorece la formación de floraciones superficiales (Kruk & Segura, 2012).

El GFBM IV se caracteriza por su tamaño medio y ausencia de otros rasgos categóricos (ej. aerótopos, mucilago). Combinó clorofitas y cianobacterias, en ambos casos las formas filamentosas fueron predominantes, especialmente en los momentos de mayor abundancia de este GFBM. Estuvieron asociados a mayores concentraciones de PT, ya

que fueron los organismos que más aportan a la biomasa total y ocurrieron, al igual que el GFBM III, cuando el nivel del agua fue menor y la turbidez mayor. Fueron además favorecidos por mayores temperaturas. Este GFBM incluye a los organismos más palatables y se ha encontrado que el zooplancton tiene un mayor efecto controlador sobre este grupo que sobre otros GFBM (Colina et al., 2015). Ello podría explicar que en laguna Blanca se encontraran organismos de este GFBM que por su morfología pueden evadir la herbivoría, tales como las formas filamentosas.

El GFBM III se caracteriza por su alta S/V y MLD, y la presencia de aerótopos (Kruk et al., 2010). Esto explica su dominancia en condiciones de alta turbidez y bajo nivel del agua en condiciones de menores precipitaciones, coincidiendo con estudios previos (Kruk & Segura, 2012). La presencia del GFBM III estuvo asociada a bajas concentraciones de formas disueltas de nitrógeno. Los organismos de este GFBM pueden fijar nitrógeno atmosférico, lo cual fue evidenciado en este estudio por la presencia de heterocitos, o tomar nitrógeno del sedimento debido a que pueden controlar su posición en la columna de agua (Oliver & Ganf, 2000; Ferber et al., 2004). Dichas estrategias le permiten a este GFBM mantener la obtención de este recurso cuando su concentración en el medio es baja, tal como lo fue durante los meses de verano del período de muestreo, permitiendo la acumulación de biomasa, explicándose así los altos valores de NT asociados a este GFBM. Por lo tanto, dadas sus características morfológicas, que lo hacen tolerante a condiciones de baja intensidad lumínica, y sus diversas estrategias para captar nutrientes, mayor grado que el GFBM VII, el III podría ser capaz de dominar el fitoplancton de sistemas someros con distinto estado trófico.

En este estudio el biovolumen de *C.raciborskii* estuvo únicamente explicado por el nivel del agua. Esto, en conjunto con otros estudios donde *C. raciborskii* que ha sido registrada bajo condiciones tanto de alta (Bouvy et al., 1999) como baja concentración de nitrógeno (Sinha et al., 2012), indicaría que se trata de una especie generalista con respecto a este recurso (Moisander et al., 2012). Esto tendría consecuencias negativas para este y otros ecosistema debido a la potencialidad para producir toxinas de muchas de las especies integrantes de este GFBM.

Finalmente, el NT y nivel del agua fueron las variables más importantes y menos redundantes para explicar a todos los GFBM en conjunto (RDA) y al biovolumen total del fitoplancton (GLM). Estas variables resumen el efecto de la eutrofización y de la estacionalidad, así como posibles efectos de los cambios climáticos y del uso del ecosistema (extracción de grandes volúmenes de agua para potabilizar) y de su cuenca (entrada de nutrientes). El nitrógeno ha sido mencionado en trabajos previos como una variable condicionantes importantes de los grupos formadores de floraciones (Pacheco et al., 2010; Kruk & Segura, 2012), observándose un un efecto similar en los GFBM III y VII. Sin embargo, en este trabajo se evidenciaron diferencias en las respuestas entre estos GFBM, asociadas a diferencias en las estrategias de obtención de nutrientes y la morfología. Si bien la temperatura no figuró como una variable importante en los modelos, los valores extremos bajos registrados en julio de 2012 podrían haber afectado drásticamente la estructura comunitaria, evitando el desarrollo de cianobacterias, y permitiendo en cambio la dominancia por parte diatomeas y flagelados.

4.6.5 Codominancia de especies del GFBM III

Los GFBM están compuestos por organismos similares en su morfología y preferencias ambientales y por lo tanto se hipotetiza que son funcionalmente redundantes (Scheffer & van Nes, 2006; Kruk et al., 2010; Segura et al., 2013). En este trabajo se observó la dominancia simultánea de hasta 3 especies del GFBM III. Esto podría ser el resultado de dos mecanismos. El primero es que sean muy similares en sus características ecológicas, tanto como organismos de la misma especie, no desplazándose competitivamente (Scheffer y van Nes, 2006; Segura et al., 2013). El segundo es que se diferencien en otros aspectos no evaluados en este trabajo, por ejemplo diferencias en el potencial de acumular nutrientes en gránulos de polifosfato (Kulaev & Vagabov, 1983) y utilizarlos como fuente de este nutriente cuando es escaso en el medio (Liss & Langen, 1962). Sin embargo, los nutrientes disueltos no fueron seleccionados como una variable importante en los modelos del GFBM III. Por otra parte, y en concordancia con el primer mecanismo mencionado, se encontró que la morfología de las especies codominantes era similar. Si bien hubo diferencias menores al principio de la temporada de crecimiento, se observó una convergencia durante gran parte del periodo de dominancia. Asimismo, se observó un cambio conjunto en la morfología lo cual podría reflejar el ciclo de vida de estas especies que son reclutadas a partir de acinetes en los sedimentos y se transforman en filamentos de pocas células que alcanzan su tamaño final luego de algunos días (Hense & Beckmann, 2006).

4.7 CONCLUSIONES

En general las cianobacterias se vieron favorecidas en condiciones de altas concentraciones de nutrientes y temperaturas, pero dentro de las cianobacterias hubo diferencias que fueron reflejadas en su asignación a GFBM. En particular el III fue dominante en condiciones de baja intensidad lumínica, alto NT y bajo nivel del agua. Los resultados permiten generar distintos escenarios donde se puede pronosticar el dominio de distintos GFBM.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

A lo largo de este trabajo fue posible evaluar los efectos de factores ambientales asociados al cambio climático (cambios en la temperatura, en el nivel del agua como efecto de modificaciones en los regímenes de precipitaciones) y la eutrofización (aumento de fósforo y nitrógeno) sobre el fitoplancton agrupado en GFBM (con énfasis sobre los grupos con cianobacterias potencialmente tóxicas) a través de diferentes aproximaciones.

Los resultados de este estudio no apoyarían la hipótesis de que todas las cianobacterias (como un todo) responden de manera positiva al aumento de la temperatura (como se sostiene en gran parte de la literatura científica actual, ej. (Kosten et al., 2012; Havens & Paerl, 2015), sino que la pertenencia a distintos GFBM, entre otros mecanismos, implicaría distintas respuestas (Capítulo 2).

Por otra parte, a través de experimentos comunitarios con inóculos de varios ecosistemas naturales, se encontró que la combinación de altas temperaturas y concentraciones de nutrientes estimulan el desarrollo de GFBM que incluyen cianobacterias potenciales tóxicas, coincidiendo con diversos estudios a nivel internacional (Jöhnk et al., 2008a; Huber et al., 2012; Rigosi et al., 2014)(Capítulo 3).

Finalmente, en el monitoreo de Laguna Blanca (Capítulo 4), factores asociados a la eutrofización (nitrógeno) y al cambio climático (nivel del agua) fueron los más relevantes a la hora de explicar el desarrollo cianobacterias, reafirmando la idea de sinergia entre ambos fenómenos. Dentro del GFBM con cianobacterias dominante (III) hubo coexistencia de especies, solapadas en sus rasgos morfológicos, apoyando la hipótesis

de redundancia funcional de las especies de un mismo GFBM. Los resultados permiten generar distintos escenarios donde se puede pronosticar el dominio de distintos GFBM (Figura 5.1).

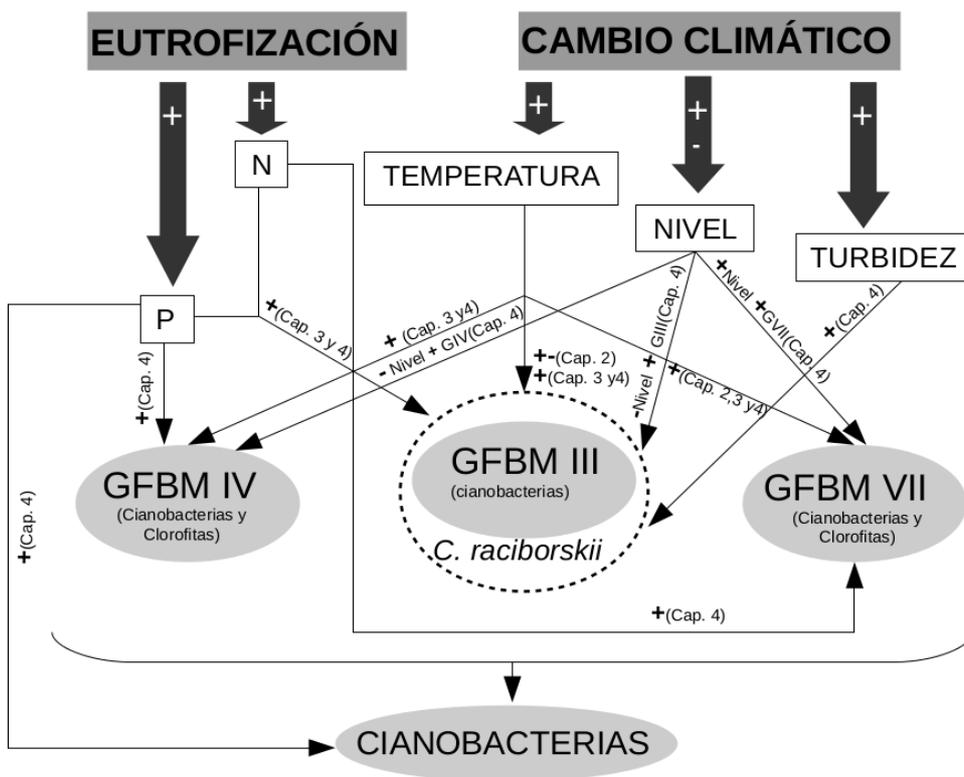


Figura 5.1. Representación esquemática de los efectos de las variables ambientales relacionadas con el cambio climático y la eutrofización evaluadas en este trabajo sobre los GFBM que incluyen cianobacterias y sobre las cianobacterias en general. Los signos “+” representan un aumento de biomasa, mientras que “-” una disminución, asociada a un cambio en determinado factor ambiental. Sobre las flechas se indica de qué capítulo proviene cada resultado.

Dada la variedad de respuestas encontradas mediante las aproximaciones empleadas en este estudio, se destaca la importancia de analizar en conjunto los efectos de la temperatura, el nivel del agua y la carga de nutrientes, con diferentes combinaciones de estas variables. Asimismo, sería de gran relevancia el estudio más detallado de la interacción del fitoplancton con otras comunidades biológicas (e.g. macrófitas y zooplancton) bajo estos escenarios ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Arrigo, K., 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 437: 349–355.
- Aubriot, L., D. Conde, S. Bonilla, V. Hein, & A. Brito, 2005. Vulnerabilidad de una laguna costera reserva de Biósfera: indicios recientes de eutrofización. In J. V. P. I. & P. K. (ed), *Taller Internacional de Eutrofización y Embalses CYTED VXII B. Patagonia Impresores, Santiago de Chile*: 65–87.
- Badger, M. R., G. D. Price, B. M. Long, & F. J. Woodger, 2006. The environmental plasticity and ecological genomics of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism. *Journal of Experimental Botany* 57: 249–265.
- Benincà, E., J. Huisman, R. Heerkloss, K. D. Jöhnk, P. Branco, E. H. Van Nes, M. Scheffer, & S. P. Ellner, 2008. Chaos in a long-term experiment with a plankton community. *Nature* 451: 822–825.
- Bonilla, S., L. Aubriot, M. C. S. Soares, M. González-Piana, A. Fabre, V. L. M. Huszar, M. Lürling, D. Antoniades, J. Padisák, & C. Kruk, 2012. What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*?. *FEMS Microbiology Ecology* 79: 594–607.
- Bonilla, S., & D. Conde, 2000. El fitoplancton como descriptor sensible de cambios ambientales en las lagunas costeras de la Reserva Bañados del Este. *Probides/UNESCO* 31: 63–74.
- Bonilla, S., D. Conde, L. Aubriot, L. Rodríguez-Gallego, C. Piccini, E. Meerhoff, L. Rodríguez, P. Gómez, & I. Machado, 2006. Procesos estructuradores de las comunidades biológicas en lagunas costeras de Uruguay In Menafrá, R., L. Rodríguez-Gallego, F. Scarabino, & D. Conde (eds), *Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo*: 611–630.
- Bonilla, S., & M. Meerhoff, 2013. Informe CASAS: Calidad de Agua de Sistemas Acuáticos Superficiales. Estado actual de la calidad del agua de sistemas acuáticos superficiales en Uruguay y recomendaciones, con énfasis en la cuenca del Río Santa Lucía. .
- Borges Machado, K., P. Paulino Borges, F. Melo Carneiro, J. Ferreira de Santana, L. Cardoso Galli Vieira, V. L. M. Huszar, & J. C. Nabout, 2015. Using lower taxonomic resolution and ecological approaches as a surrogate for plankton species. *Hydrobiologia* 255–267.
- Bortolini, J. C., G. A. Moresco, A. C. Magro de Paula, S. Jati, & L. C. Rodrigues, 2015. Functional approach based on morphology as a model of phytoplankton variability in a subtropical floodplain lake: a long-term study. *Hydrobiologia* .

- Bouvy, M., R. Molica, S. De Oliveira, M. Marinho, & B. Beker, 1999. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microbial Ecology* 20: 285–297.
- Box, G. E. P., & D. R. Cox, 1964. An Analysis of Transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 26: 211–252.
- Bratbak, G., & T. F. Thingstad, 1985. Phytoplankton-bacteria interactions: an apparent paradox? Analysis of a model system with both competition and commensalism. *Marine Ecological Progress Series* 25: 23–30.
- Briand, J. F., C. Leboulanger, J. F. Humbert, C. Bernard, & P. Dufour, 2004. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming?. *Journal of Phycology* 40: 231–238.
- Butterwick, C., S. I. Heaney, & J. F. Talling, 2005. Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance. *Freshwater Biology* 50: 291–300.
- Caroni, R., G. Free, A. Visconti, & M. Manca, 2012. Phytoplankton functional traits and seston stable isotopes signature: a functional-based approach in a deep, subalpine lake, Lake Maggiore (N. Italy). *Journal of Limnology* 71: 84–94.
- Chisholm, S. W., 1992. Phytoplankton size. In Falkowski, P. G., & A. D. Woodhead (eds), *Primary Productivity and Bio-geochemical Cycles in the Sea*. Plenum Press, Nueva York: 213–237.
- Chorus, I., 2012. Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environment Agency, Dessau-Roßlau, Alemania.
- Chorus, I., & J. Bartram, 1999. *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Chapman & Hall, London.
- Coles, J. F., & R. C. Jones, 2000. Effect of temperature on photosynthesis-light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. *Journal of Phycology* 36: 7–16.
- Colina, M., D. Calliari, C. Caraballo, & C. Kruk, 2015. A trait-based approach to summarize zooplankton–phytoplankton interactions in freshwaters. *Hydrobiologia* 1–13.
- De los Santos, J., G. Castagnino, A. Schipilov, M. Robano, M. Guimaraens, F. Corbo, F. Valsecchi, & J. Faure, 2002. Recuperación de una laguna somera para suministro de agua potable. Grupo de Hidrología Subterránea Instituto de Mecánica de los Fluidos e Ingeniería Ambiental. Facultad de Ingeniería. Universidad de la República.
- del Puerto, L., F. García-Rodríguez, H. Inda, R. Bracco, C. Castiñeira, & J. Adams, 2006. Paleolimnological evidence of Holocene climatic changes

- in Lake Blanca, southern Uruguay. *Journal of Paleolimnology* 36: 151–163.
- Dow, C. S., & U. K. Swoboda, 2000. Cyanotoxins In Whitton, B. A., & M. Potts (eds), *Ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*. Kluwer Academic, The Netherlands: 613–632.
- Eppley, R. W., 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin* 70: 1063–1085.
- Eppley, R. W., & P. R. Sloan, 1966. Growth rates of marine Phytoplankton: correlation with light absorption by cell Chlorophyll a. *Physiologia Plantarum* 19: 47–59.
- Fabre, A., C. Carballo, E. Hernández, P. Píriz, L. Bergamino, L. Mello, S. González, G. Pérez, J. C. León, L. Aubriot, S. Bonilla, & C. Kruk, 2010. El nitrógeno y la relación profundidad de zona eufótica/mezcla explican las floraciones de cianobacterias en lagos subtropicales artificiales de Uruguay. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 5: 112–125.
- Falkowski, P. G., M. E. Katz, A. H. Knoll, A. Quigg, J. A. Raven, O. Schofield, & F. J. R. Taylor, 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305: 354–360.
- Ferber, L., S. Levine, A. Lini, & G. Livingston, 2004. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen?. *Freshwater Biology* 49: 690–708.
- Finkel, Z. V., J. Beardall, K. Flynn, A. Quigg, A. T. Rees, & J. A. Raven, 2009. Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. *Journal of Plankton Research* .
- Gallego, I., T. A. Davidson, E. Jeppesen, C. Pérez-Martínez, P. Sánchez-Castillo, M. Juan, F. Fuentes-Rodríguez, D. León, P. Peñalver, J. Toja, & J. J. Casas, 2012. Taxonomic or ecological approaches? Searching for phytoplankton surrogates in the determination of richness and assemblage composition in ponds. 18: 575–585.
- García-Rodríguez, F., N. Mazzeo, P. Sprechmann, D. Metzeltin, F. Sosa, H. C. Treutler, M. Renom, B. Scharf, & C. Gaucher, 2002. Paleolimnological assessment of human impacts in Lake Blanca, SE Uruguay. *Journal of Paleolimnology* 28: 457–468.
- García-Rodríguez, F., P. Sprechmann, D. Metzeltin, L. Scafati, D. Melendi, W. Volkheimer, N. Mazzeo, A. Hiller, W. Tümpling Jr, & F. Scasso, 2004. Holocene trophic state changes in relation to sea level variation in Lake Blanca, SE Uruguay. *Journal of Paleolimnology* 31: 99–115.
- Gerhard, M., 2015. Rol del banco de epífitos en la variación anual de la comunidad de Cladóceros en un lago somero subtropical. Tesis de Maestría, PEDECIBA - Biología, Facultad de Ciencias.
- Goldman, J. C., & E. J. Carpenter, 1974. A kinetic approach to the effect of temperature on algal growth. *Limnology & Oceanography* 19: 756–766.

- González-Bergonzoni, I., M. Meerhoff, T. A. Davidson, F. Teixeira-de Mello, A. Baattrup-Pedersen, & E. Jeppesen, 2012. Meta-analysis Shows a Consistent and Strong Latitudinal Pattern in Fish Omnivory Across Ecosystems. *Ecosystems* .
- Goyenola, G., C. Iglesias, N. Mazzeo, & E. Jeppesen, 2011. Analysis of the reproductive strategy of *Jenynsia multidentata* (Cyprinodontiformes, Anablepidae) with focus on sexual differences in growth, size, and abundance. *Hydrobiologia* 674: 245–257.
- Graham, L. E., C. Graham, & L. W. Wilcox, 2000. *Algae*. Prentice-Hall, Upper Saddle River.
- Gugger, M., R. Molica, B. Le Berre, P. Dufour, C. Bernard, & J.-F. Humbert, 2005. Genetic Diversity of *Cylindrospermopsis* Strains (Cyanobacteria) Isolated from Four Continents. *Applied Environmental Microbiology* 71: 1097–1100.
- Guillard, R. R., & L. Lorenzen, 1972. Yellow–green algae with chlorophyllide c. *Journal of Phycology* 8: 10–14.
- Havens, K. E., & H. W. Paerl, 2015. Climate Change at a Crossroad for Control of Harmful Algal Blooms. *Environmental science & technology* 49: 12605–12606.
- Hense, I., & A. Beckmann, 2006. Towards a model of cyanobacteria life cycle—effects of growing and resting stages on bloom formation of N₂-fixing species. *Ecological Modelling* 195: 205–218.
- Hillebrand, H., C. Dürselen, D. Kirschtel, T. Zohary, & U. Pollinger, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403–424.
- Huber, V., C. Wagner, D. Gerten, & R. Adrian, 2012. To bloom or not to bloom: contrasting responses of cyanobacteria to recent heat waves explained by critical thresholds of abiotic drivers. *Oecologia* 169: 245–256.
- Huisman, J., A. Johansson, E. Folmer, & F. Weissing, 2001. Towards a solution of the plankton paradox: the importance of physiology and life history. *Ecology Letters* 4: 408–411.
- Hu, R., B. Han, & L. Naselli-Flores, 2013. Comparing biological classifications of freshwater phytoplankton a case study from South China. *Hydrobiologia* 701: 219–233.
- Iglesias, C., G. Goyenola, N. Mazzeo, M. Meerhoff, E. Rodó, & E. Jeppesen, 2007. Horizontal dynamics of zooplankton in subtropical Lake Blanca (Uruguay) hosting multiple zooplankton predators and aquatic plant refuges. *Hydrobiologia* 584: 179–189.
- Iglesias, C., N. Mazzeo, G. Goyenola, C. Fosalba, F. Teixeira de Mello, S. García, & E. Jeppesen, 2008. Field and experimental evidence of the effect of *Jenynsia multidentata*, a small omnivorous–planktivorous fish, on the size distribution of zooplankton in subtropical lakes. *Freshwater Biology* 53: 1797–1807.

- Iglesias, C., N. Mazzeo, M. Meerhoff, G. Lacerot, J. M. Clemente, F. Scasso, C. Kruk, G. Goyenola, J. García-Alonso, S. L. Amsinck, J. C. Paggi, S. J. de Paggi, & E. Jeppesen, 2011. High predation is of key importance for dominance of small-bodied zooplankton in warm shallow lakes: evidence from lakes, fish exclosures and surface sediments. *Hydrobiologia* 667: 133–147.
- IPCC, 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. IPCC, Ginebra, Suiza: 104.
- Izaguirre, I., L. Allende, R. Escaray, J. Bustingorry, G. Pérez, & G. Tell, 2012. Comparison of morpho-functional phytoplankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. *Hydrobiologia* .
- Jeppesen, B., B. Kronvang, M. Meerhoff, M. Søndergaard, K. M. Hansen, H. E. Andersen, T. L. Lauridsen, L. Liboriussen, M. Beklioglu, A. Özen, & J. E. Olesen, 2009. Climate Change Effects on Runoff , Catchment Phosphorus Loading and Lake Ecological State, and Potential Adaptations. *Journal of Environmental Quality* 38: 12.
- Jeppesen, E., M. Meerhoff, K. Holmgren, I. González-Bergonzoni, F. Teixeira-de Mello, S. Declerk, L. DeMeester, M. T. Søndergaard, L. Lauridsen, J.-M. Conde-Percuna, N. Mazzeo, C. Iglesias, M. Reizenstein, H. Malmquist, Z. Liu, D. Balayla, & X. Lazzaro, 2010. Impacts of climate warming on lake fish community structure and potential effects on ecosystem function. *Hydrobiologia* 646: 73–90.
- Jespersen, A. M., & K. Christoffersen, 1987. Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv für Hydrobiologie* 109: 10.
- Jöhnk, K. D., J. Huisman, J. Sharples, B. Sommeijer, P. M. Visser, & J. M. Strooms, 2008. Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology* 14.:
- Jones, R. I., 1998. Phytoplankton, primary production and nutrient cycling In Hessen, D. O., & L. J. Tranvik (eds), *Aquatic Humic Substances*. Springer, Berlín: 145–175.
- Köppen, W., 1923. *Die Klimate der Erde-Grundriss der Klimakunde*. Walter de Gruyter & Co., Berlín.
- Koroleff, F., 1983. Determination of ammonia In Grasshoff, K., M. Ehrhardt, & K. Kremling (eds), *Methods of Seawater Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, Alemania: 150–157.
- Kosten, S., V. L. M. Huszar, E. Bécares, L. S. Costa, E. Donk, L. A. Hansson, & L. Meester, 2012. Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology* 118: 118–126.
- Kosten, S., B. Jeppesen E, V. L. M. Huszar, N. Mazzeo, E. van Nes, E. Peeters, & M. Scheffer, 2011. Ambiguous climate impacts on competition between

- submerged macrophytes and phytoplankton in shallow lakes. *Freshwater Biology* 56: 14.
- Kruk, C., 2010. Morphology captures function in phytoplankton a large-scale analysis of phytoplankton communities in relation to their environment. Doctorado, Wageningen University.
- Kruk, C., & L. De León, 2002. Asociaciones de fitoplancton en lagos y embalses del Uruguay: validación y aplicación a la gestión de sistemas acuáticos In Fernández-Cirelli, A., & G. Chalar (eds), *El agua en Iberoamérica: de la limnología a la gestión en Sudamérica*. CYTED XVII y CETA: 143–155.
- Kruk, C., V. L. M. Huszar, E. T. H. M. Peeters, S. Bonilla, L. Costa, M. Lürling, C. S. Reynolds, & M. Scheffer, 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614–627.
- Kruk, C., N. Mazzeo, G. Lacerot, & C. S. Reynolds, 2002. Classification schemes for phytoplankton: a local validation of a functional approach to the analysis of species temporal replacement. *Journal of Plankton Research* 24: 901–912.
- Kruk, C., L. Rodríguez-Gallego, M. Meerhoff, F. Quintans, G. Lacerot, N. Mazzeo, F. Scasso, J. Paggi, E. T. H. M. Peeters, & M. Scheffer, 2009. Determinants of biodiversity in subtropical shallow lakes (Atlantic coast, Uruguay). *Freshwater Biology* 54: 2628–2641.
- Kruk, C., L. Rodríguez-Gallego, F. Quintans, G. Lacerot, F. Scasso, N. Mazzeo, M. Meerhoff, & J. Paggi, 2006. Biodiversidad y calidad de agua de 18 pequeñas lagunas en la costa sureste de Uruguay In Menafrá, R., L. Rodríguez-Gallego, F. Scarabino, & D. Conde (eds), *Para la conservación y el manejo de la costa uruguaya*. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo: 599–610.
- Kruk, C., & A. M. Segura, 2012. The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. *Hydrobiologia* .
- Kruk, C., A. M. Segura, E. T. H. M. Peeters, V. L. M. Huszar, L. S. Costa, S. Kosten, G. Lacerot, & M. Scheffer, 2012. Phytoplankton species predictability increases towards warmer regions. *Limnology & Oceanography* 57: 1126–1135.
- Kulaev, I., & V. M. Vagabov, 1983. Polyphosphate metabolism in microorganisms.
- Levin, S. A., 1992. The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology* 73: 1943:1967.
- Levin, S. A., 1998. Ecosystems and the Biosphere as Complex Adaptive Systems. *Ecosystems* 1: 431–436.
- Liss, E., & P. Langen, 1962. Versuche zur polyphosphat-überkompensation in hefezellen nach phosphatverarmung. *Archives of Microbiology* 41: 383–392.

- Litchman, E., P. de Tezanos Pinto, C. A. Klausmeier, M. K. Thomas, & K. Yoshiyama, 2010. Linking traits to species diversity and community structure in phytoplankton. *Hydrobiologia* 653: 15–28.
- Litchman, E., & C. A. Klausmeier, 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 39: 615–639.
- Litchman, E., C. A. Klausmeier, O. M. Schofield, & P. G. Falkowski, 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters* 10: 1170–1181.
- Lürling, M., F. Eshetu, E. J. Faassen, S. Kosten, & V. L. M. Huszar, 2012. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology* .
- Marengo, J. A., R. Jones, L. M. Alves, & M. C. Valverde, 2009. Future change of temperature and precipitation extremes in South America as derived from the PRECIS regional climate modeling system. *International Journal of Climatology* .
- Martínez de la Escalera, G., 2013. Diversidad microbiana, detección e identificación de cianobacterias tóxicas paleo-sedimentos de la Laguna Blanca a través de métodos moleculares. Tesis de Grado. Licenciatura en Bioquímica.
- Martínez de la Escalera, G., D. Antoniades, S. Bonilla, & C. Piccini, 2014. Application of ancient DNA to the reconstruction of past microbial assemblages and for the detection of toxic cyanobacteria in subtropical freshwater ecosystems. *Molecular Ecology* 23: 5791–5802.
- Mazzeo, N., J. Gorga, E. Brugnoli, C. Kruk, M. Meerhoff, L. Rodríguez, F. Quintans, & D. Larrea, 2001a. Caracterización limnológica y principales lineamientos para el manejo del lago Canteras. Informe. Sección Limnología - Facultad de Ciencias, UdelaR, Montevideo: 22.
- Mazzeo, N., C. Kruk, M. Meerhoff, F. Quintans, G. Lacerot, J. Gorga, L. Rodríguez, M. Loureiro, F. García, B. Scharf, & D. Larrea, 2001b. Evaluación de la calidad del agua de la Laguna Blanca: sus causas y respuestas. Financiamiento: Aguas de la Costa y CSIC (programa de vinculación al sector productivo). Sección Limnología, Facultad de Ciencias-UdelaR, Montevideo: 69.
- Mazzeo, N., L. Rodríguez-Gallego, C. Kruk, M. Meerhoff, J. Gorga, G. Lacerot, F. Quintans, M. Loureiro, D. Larrea, & F. García-Rodríguez, 2003. Effects of *Egeria densa* Planch. beds on a shallow lake without piscivorous fish. *Hydrobiologia* 506-509: 591–602.
- Meerhoff, M., 2006. The structuring role of macrophytes on trophic dynamics in shallow lakes under a climate warming scenario. Tesis de Doctorado, Department of Biological Sciences, University of Aarhus. Departmentt. of Freshwater Ecology, NERI. National Environmental Research Institute.

- Meerhoff, M., J. M. Clemente, F. Teixeira de Mello, C. Iglesias, A. R. Pedersen, & E. Jeppesen, 2007a. Can warm climate-related structure of littoral predator assemblies weaken the clear water state in shallow lakes?. *Global Change Biology* 13: 1888–1897.
- Meerhoff, M., C. Iglesias, F. Teixeira de Mello, J. M. Clemente, E. Jensen, T. L. Lauridsen, & E. Jeppesen, 2007b. Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behaviour of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes. *Freshwater Biology* 52: 1009–1021.
- Meerhoff, M., F. Teixeira de Mello, C. Kruk, C. Alonso, I. G. Bergonzoni, J. P. Pacheco, G. Lacerot, M. Arim, M. Beklioglu, S. Brucet, G. Goyenola, C. Iglesias, N. Mazzeo, S. Kosten, & E. Jeppesen, 2012. Environmental warming in shallow lakes: a review of potential changes in community structure as evidenced from space-for-time substitution approaches. *Advances in Ecological Research* 259-349.:
- MGAP, 2010. Anuario Estadístico Agropecuario. Montevideo.
- Miller, S. R., 2003. Evidence for the adaptive evolution of the carbon fixation gene *rbcL* during diversification in temperature tolerance of a clade of hot spring cyanobacteria. *Molecular Ecology* 12: 1237–1246.
- Moisander, P. H., L. A. Cheshire, J. Braddy, E. S. Calandrino, M. Hoffman, M. F. Piehler, & H. Paerl, 2012. Faculative diazotrophy increases *Cylindrospermopsis raciborskii* competitiveness under fluctuating nitrogen availability. *FEMS Microbiology Ecology* 79.:
- Morabito, G., A. Oggioni, E. Caravati, & P. Panzani, 2007. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). *Hydrobiologia* 578: 47–57.
- Moss, B., S. Kosten, M. Meerhoff, R. W. Battarbee, B. Jeppesen E, N. Mazzeo, K. Havens, G. Lacerot, Z. Liu, L. De Meester, H. Paerl, & M. Scheffer, 2011. Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland Waters* 1: 5.
- Muggeo, V. M. R., 2008. segmented: an R Package to Fit Regression Models with Broken-Line Relationships. *R News* 8: 20–25.
- Müller, R., & O. Widemann, 1955. Die Bestimmung des Nitrat-Ions in Wasser. *Von Wasser* 22: 247.
- Murphy, J., & J. P. Riley, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemical Acta* 27: 31–36.
- Oksanen, J., R. Kindt, P. Legendre, B. O'Hara, M. H. H. Stevens, M. J. Oksanen, & M. A. S. S. Suggests, 2007. The vegan package. .
- Oliver, R., & G. Ganf, 2000. Freshwater blooms In Whiton, B., & M. Potts (eds), *The Ecology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Press, Dordrecht.

- Pacheco, J. P., C. Iglesias, M. Meerhoff, C. Fosalba, G. Goyenola, F. Teixeira-de Mello, S. García, M. Gelós, & F. García-Rodríguez, 2010. Phytoplankton community structure in five subtropical shallow lakes with different trophic status (Uruguay): a morphology based approach. *Hydrobiologia* .
- Padisák, J., 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 107: 563–593.
- Paerl, H. W., 1988. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (cyanobacteria). In Sandgren, C. D. (ed), *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge: 261–315.
- Paerl, H. W., & J. Huisman, 2008. Blooms Like It Hot. *Science* 320: 57–58.
- Paerl, H. W., & J. Huisman, 2009. Minireview Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*. 1 1: 27–37.
- Paggi, J., & J. De Paggi, 1974. Primeros estudios sobre el zooplancton de las aguas lóxicas del Paraná medio. *Physis* (secc. B) 33: 94–114.
- Petar, Z., G. U. Marija, K. B. Koraljka, P. M. Andelka, & J. Padisák, 2014. Morphofunctional classifications of phytoplankton assemblages of two deep karstic lakes. *Hydrobiologia* .
- Piccini, C., L. Aubriot, B. D'Alessandro, F. Martigani, & S. Bonilla, 2013. Revealing Toxin Signatures in Cyanobacteria: Report of Genes Involved in Cylindrospermopsin Synthesis from Saxitoxin-Producing *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Advances in Microbiology* 3: 289–296.
- Piccini, C., L. Aubriot, A. Fabre, V. Amaral, M. González-Piana, A. Giani, C. C. Figueredo, L. Vidal, C. Kruk, & S. Bonilla, 2011. Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae* .
- Raven, J. A., 1998. Small is beautiful: the picophytoplankton. *Functional Ecology* 12: 503–513.
- Raven, J. A., & R. J. Geider, 1988. Temperature and algal growth. *New Phytologist* 110: 441–461.
- R Core Team, 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <https://www.R-project.org/>.
- Reynolds, C. S., 1984. *The Ecology of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds, C. S., 1997. *Vegetation Process in the pelagic: a model for ecosystem theory*. Excellence in Ecology. Ecology Institute.

- Reynolds, C. S., 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reynolds, C. S., V. Huszar, C. Kruk, L. Naselli-Flores, & S. Melo, 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24: 417–428.
- Rigosi, A., C. C. Carey, & B. W. Ibelings, 2014. The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. *Limnology & Oceanography* 59.:
- Robarts, R. D., & T. Zohary, 1987. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21: 391–399.
- Rodó, E., 2007. Estados Estables Alternativos en la Laguna Blanca. (Maldonado-Uruguay). Tesis de Grado, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Rusticucci, M., J. Marengo, O. Penalba, & M. Renom, 2010. An intercomparison of model-simulated in extreme rainfall and temperature events during the last half of the twentieth century. Part 1: mean values and variability. *Climatic Change* 98: 493–508.
- Rusticucci, M., & M. Renom, 2008. Variability and trends in indices of quality-controlled daily temperature extremes in Uruguay. *International Journal of Climatology* 28: 1083–1095.
- Salas, H. J., & P. Martino, 1991. A simplified phosphorus trophic state model for warm-water tropical lakes. *Water Research* 25: 341–350.
- Salmaso, N., L. Naselli-Flores, & J. Padisák, 2015. Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshwater Biology* 60: 603–619.
- Scheffer, M., 1998. Ecology of shallow lakes. Chapman & Hall, London.
- Scheffer, M., 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia* 584: 455–466.
- Scheffer, M., S. H. Hosper, M. L. Meijer, & et al., 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 275–279.
- Scheffer, M., S. Rinaldi, A. Gagnani, L. Mur, & E. H. van Nes, 1997. On the dominance of filamentous Cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology* 78: 272–282.
- Scheffer, M., & E. H. van Nes, 2006. Self-organized similarity, the evolutionary emergence of groups of similar species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103: 6230–6235.
- Schindler, D., 2006. Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography* 51: 356–363.
- Seenayya, G., & N. S. Raju, 1972. On the ecology and systematic position of the alga known as *Anabaenopsis raciborskii* (Wolosz.) Elenk. and a critical

- evaluation of the forms described under the genus *Anabaenopsis*. 1, Madras.
- Segura, A. M., D. Calliari, C. Kruk, H. Fort, I. Izaguirre, J. F. Saad, & M. Arim, 2015. Metabolic dependence of phytoplankton species richness. *Global Ecology and Biogeography* .
- Segura, A. M., C. Kruk, D. Calliari, & H. Fort, 2012. Use of a morphology-based functional approach to model phytoplankton community succession in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology* .
- Segura, A. M., C. Kruk, D. Calliari, & H. Fort, 2013. Use of a morphology-based functional approach to model phytoplankton community succession in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology* 58: 504–512.
- Sinha, R., L. A. Pearson, T. W. Davis, M. A. Burford, P. T. Orr, & B. A. Neilan, 2012. Increased incidence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in temperate zones—is climate change responsible?. *Water Research* 46: 1408–1419.
- Sperfeld, E., A. Schmidtke, U. Gaedke, & G. Weithoff, 2010. Productivity, herbivory, and species traits rather than diversity influence invasibility of experimental phytoplankton communities. *Oecologia* 163: 997–1010.
- Teixeira-de Mello, F., M. Meerhoff, Z. Pekcan-Hekim, & E. Jeppesen, 2009. Substantial differences in littoral fish community structure and dynamics in subtropical and temperate shallow lakes. *Freshwater Biology* 54: 1202–1215.
- Thingstad, T. F., L. Øvrea^os, J. K. Egge, T. Løvdal, & M. Heldal, 2005. Use of non-limiting substrates to increase size; a generic strategy to simultaneously optimize uptake and minimize predation in pelagic osmotrophs?. *Ecology Letters* 8: 675–682.
- Utermöhl, H., 1958. Zur Vervollkomnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 9: 1–38.
- Valderrama, J. C., 1981. The simultaneous analysis of total Nitrogen and total Phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10: 109–122.
- Vidal, L., A. Fabre, L. Gabito, C. Kruk, A. Gravier, A. Britos, M. C. Pérez, L. Aubriot, & S. Bonilla, 2010. Capítulo 10 - Fichas de identificación de las especies, orden CHROOCOCCALES, orden OSCILLATORIALES y orden NOSTOCALES In In: Bonilla, S. (Org.). (ed), *Cianobacterias planctónicas del Uruguay: Manual para la identificación y medidas de gestión*. Documento Técnico PHI N^o 16. UNESCO, Montevideo: 45–74.
- Vidal, L., & C. Kruk, 2008. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 3: 142–151.
- Wetzel, R. G., 2001. *Limnology. Lake and river ecosystems*. Academic Press, San Diego, USA.

- Wiedner, C., J. Rucker, R. Brüggemann, & B. Nixdorf, 2007. Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. *Oecologia* 152: 473–484.
- Wilken, S., J. Huisman, S. Naus-Wiezer, & E. Van Donk, 2012. Mixotrophic organisms become more heterotrophic with rising temperature. *Ecology Letters* .
- Wilson, A. E., R. B. Kaul, & O. Sarnelle, 2010. Growth Rate Consequences of Coloniality in a Harmful Phytoplankter. *PLoS one* 5.: Arrigo, K., 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature* 437: 349–355.