



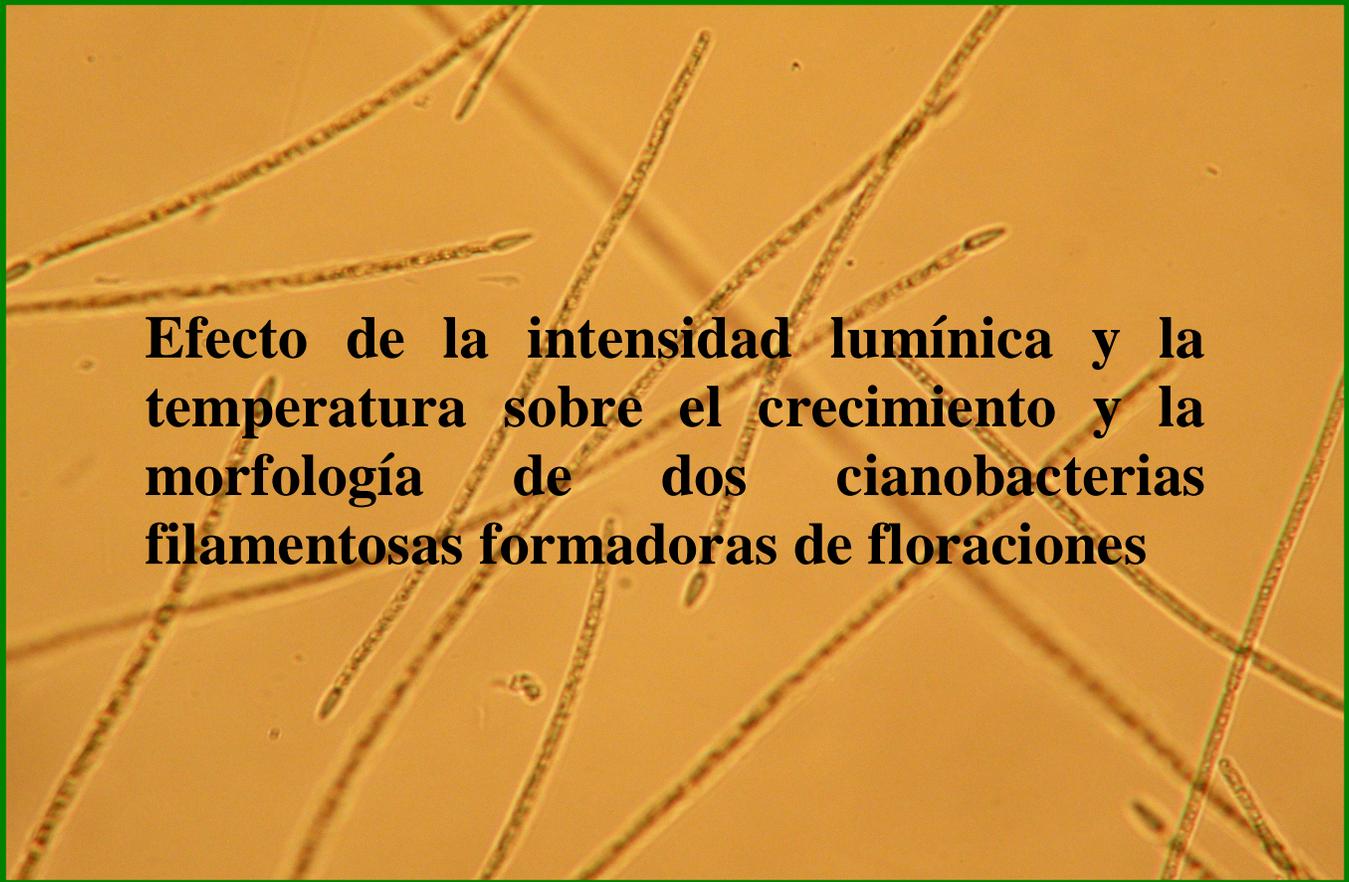
PEDECIBA

Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas
Universidad de la República - Ministerio de Educación y Cultura



**FACULTAD DE
CIENCIAS**

UDELAR | fcien.edu.uy



Efecto de la intensidad lumínica y la temperatura sobre el crecimiento y la morfología de dos cianobacterias filamentosas formadoras de floraciones

Mauricio González-Piana

2012

**Efecto de la intensidad lumínica y la temperatura sobre el
crecimiento y la morfología de dos cianobacterias
filamentosas formadoras de floraciones**

Sub Área: Ecología y Evolución

Autor: Lic. Mauricio González-Piana

Director de Tesis: Dra. Sylvia Bonilla

Laboratorio de ejecución: Sección Limnología, Instituto de Ecología y Ciencias
Ambientales, Facultad de Ciencias, UdelaR

Resumen

La eutrofización y el cambio climático son factores que pueden promover el crecimiento excesivo de cianobacterias (floraciones) en ecosistemas límnicos, siendo claves la luz y la temperatura para entender su respuesta y distribución. Las floraciones de cianobacterias filamentosas son comunes en ecosistemas eutróficos someros de todo el mundo. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales) se ha expandido desde el trópico a latitudes intermedias formando floraciones tóxicas, siendo también registrada en nuestro país. Se ha hipotetizado que esta especie es tolerante a bajas intensidades lumínicas y que su crecimiento se ve limitado por debajo de 20 °C. *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales) es otra cianobacteria que comúnmente forma floraciones resilientes en ecosistemas acuáticos someros. Crece en un amplio rango de temperatura tolerando y promoviendo condiciones de baja intensidad lumínica. Ambas especies comparten dimensiones del nicho ecológico y podrían florecer en condiciones ambientales similares. En esta tesis se realizó un análisis comparativo del crecimiento y de las variaciones morfológicas de una cepa de *C. raciborskii* y de *P. agardhii* y en cultivos mixtos a distintas intensidades de luz (5, 20, 60, 100, 135 y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y temperatura (15, 20 y 25 °C) para evaluar la influencia de estas variables en el crecimiento de ambas especies y en la invasibilidad de *C. raciborskii*. La máxima tasa de crecimiento de *C. raciborskii* ocurrió a 85 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y para *P. agardhii* a 49 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, ambas a 25 °C. *C. raciborskii* presentó mayor plasticidad fenotípica (morfología, tasa de crecimiento) que *P. agardhii* ante cambios de intensidad lumínica, que podría conferirle ventajas para colonizar nuevos hábitats. El incremento de la luz y la temperatura mejoraron la capacidad de invasibilidad (en cuanto al crecimiento) de *C. raciborskii*. El incremento del crecimiento cuando aumenta la temperatura 10 °C (Q_{10}) indicaron que *C. raciborskii* responde con mayor eficiencia que *P. agardhii*. Por otro lado, al comparar los valores de Q_{10} a baja y alta intensidad de luz, los resultados indican que la intensidad lumínica sería también clave para explicar el crecimiento de esta especie invasora. El cambio climático podría favorecer la expansión de *C. raciborskii*.

Palabras claves: cianobacteria, cultivos, luz, temperatura, invasibilidad, eutrofización, limnología.

Abstract

Eutrophication and climate change can promote cyanobacteria blooms in freshwaters. Light and temperature are key factors to understand their response and geographic distribution. Filamentous species are common representatives of cyanobacterial blooms in eutrophic shallow lakes. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales) produce toxic blooms worldwide and has been expanded its distribution from the tropics to middle latitudes, including Uruguay. It has been hypothesized that this species is tolerant of low light intensities and grows above 20 °C. *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales) also form resilient blooms in freshwaters, grows in a wide range of temperature and tolerates low light intensity in the water column. Both species share some of the ecological niche dimensions and could proliferate in similar conditions. In this study, we compare the growth and morphological changes of both species in response to light (5, 20, 60, 100, 135 and 170 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$) and temperature (15, 20 and 25 °C), assessed with an experimental approach using a strain of *C. raciborskii* and of *P. agardhii* and mixed cultures. The experiments were performed to characterize the relevance of light intensity and temperature on the performance of the two species and the invasibility of *C. raciborskii*. The maximum growth rate of *C. raciborskii* occurred at 85 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$, while in *P. agardhii* was at 49 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$, both at 25 °C. *C. raciborskii* showed higher phenotypic plasticity (morphology, growth rate) than *P. agardhii* to changes in light intensity. This plasticity may confer advantages to the species to colonize new habitats. An increment of temperature and light improved the invasion capacity of *C. raciborskii*. The growth increase with increasing temperature 10 °C (Q10) indicated that *C. raciborskii* responds more efficiently than *P. agardhii*. Furthermore, when comparing the values of Q10 at low and high light intensity, the results indicate that the light intensity would also be key to explaining the growth of this invasive species. Climate change could benefit the expansion of *C. raciborskii*.

Key words: Cyanobacteria, culture, light, temperature, invasibility, eutrophication.

Agradecimientos

A la Dra. Sylvia Bonilla, ya que gracias a su invaluable apoyo, paciencia, experiencia y dedicación hicieron posible que este trabajo se concretara. A Luis Aubriot por sus sugerencias y comentarios sobre diferentes experimentos, a Carla Kruk y Raquel Correa por su guía en varios análisis estadísticos. A mis compañeros de licenciatura Guillermo, Javier y Sylvia por sus colaboraciones. Dermot Antoniades por su ayuda con las traducciones al Inglés. A mi familia, Mariana, Valentín y Joaquín por su paciencia por las horas robadas a la vida familiar, a mis padres, hermana. A mis compañeros de la sección Limnología. Al Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA) y al Fondo Clemente Estable (ANII FCE2007_353) cuyo financiamiento posibilitó la realización de los experimentos. A los Dres. Célia Leite Sant´anna, Daniel Conde y Diego Lercari integrantes del tribunal cuyos aportes han enriquecieron este trabajo.

Índice general

Resumen	III
Abstract	IV
Agradecimientos	V
Índice general	IV
Índice de figuras	IIIIV
Índice de tablas	X
Introducción	
Floraciones de cianobacterias un fenómeno multicausal	1
Invasiones biológicas: el caso de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	3
Factores ambientales que afectan la dispersión de <i>C. raciborskii</i>	4
Estados estables y dominancia de cianobacterias en lagos someros	5
La presencia de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> en Uruguay	7
Justificación del estudio	7
Objetivos e hipótesis	9
Materiales y métodos	
Aspectos generales	11
Aclimatación previa de las cepas	12
Experimentos de variaciones de intensidad lumínica, temperatura e interacción	12
Estimación del crecimiento	14
Experimentos de interacción con cultivos mixtos	16
Índice de invasibilidad	16
Análisis de datos	16
Resultados	
Efecto de la intensidad de la luz sobre <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i>	19
Interacción entre <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo intensidades de luz de 5, 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a 25 °C	24

Efectos de la temperatura 25, 20 y 15 °C a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ sobre <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i>	25
Interacción entre <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> a 15, 20 y 25 °C e intensidad lumínica de 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$	29
Índice de invasibilidad	31
Discusión	
Respuestas frente a la luz	33
La respuesta frente a los cambios de temperatura	36
Interacciones entre especies	41
Conclusiones	44
Perspectivas y publicaciones generadas	45
Bibliografía	46
Anexo	52

Índice de Figuras

Figura 1. Modelo conceptual de la relación entre <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> en función de luz y temperatura extraído de (Kokocinski et al., 2010)	7
Figura 2. Experimentos de crecimiento de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo diferentes intensidades de luz a 25 °C en cultivos unialgales y en interacción.	13
Figura 3. Experimentos de crecimiento de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo diferentes temperaturas a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en cultivos unialgales e interacción.	13
Figura 4. Curvas de acumulación de biomasa de: (A) <i>C. raciborskii</i> y (B) <i>P. agardhii</i> bajo diferentes intensidades de luz a 25 °C. Circulo negro = 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; triángulo negro = 20 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; cuadrado gris = 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; rombo gris = 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; triángulo gris = 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; hexágono gris = 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Tasas de crecimiento μ (d^{-1}) en respuesta al gradiente lumínico: (C) <i>C. raciborskii</i> y (D) <i>P. agardhii</i> . Rectángulo cerrado, línea con guiones = réplica 1; triángulo cerrado, línea punteada = réplica 2; rombo abierto, línea gruesa con guiones = réplica 3; círculo cerrado, línea continua = réplica.	20
Figura 5. Variaciones de los atributos morfológicos de los filamentos de: <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> (barras negras = tiempo inicial; barras grises = tiempo final) bajo diferentes intensidades de luz. Los gráficos de Volumen y S/V se presentan en diferentes escalas para cada especie.	22
Figura 6. Amplitud de cambio de los atributos morfológicos de los filamentos de <i>P. agardhii</i> y <i>C. raciborskii</i> en relación al tratamiento de menor luz con las otras intensidades de luz (x) a 25 °C. Las diferentes líneas indican los tratamientos de luz en $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (ver recuadro abajo de gráficos).	23
Figura 7. Curvas de acumulación de biomasa de <i>C. raciborskii</i> bajo diferentes temperaturas, (A) 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; (B) 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y <i>P. agardhii</i> , (C) 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; (D) 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (círculo negro = 25 °C; triángulo gris = 20 °C; cuadrado gris oscuro = 15 °C).	27
Figura 8. Tasas de crecimiento (μ) de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> en las tres temperaturas y a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (barras negras = <i>P. agardhii</i> ; barras grises = <i>C. raciborskii</i>). * indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos de <i>P. agardhii</i> y <i>C. raciborskii</i> , Anova 2 vías, test de Holm-Sidak.	28
Figura 9. Variaciones del Largo (μm) y Volumen (μm^3) de los filamentos de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo diferentes temperaturas a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (barras negras = tiempo inicial; barras grises = tiempo final). Notar diferentes escalas de los atributos entre ambas especies.	29

Figura 10. Tasas de crecimiento (μ) de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes temperaturas a $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (A) controles mono-específicos, (B) tratamientos interacción. (barras negras = *P. agardhii*; barras grises = *C. raciborskii*). Se destacan las diferencias estadísticas, (Anova, $p < 0.05$) entre: (a) controles de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 y 20 °C y (b) tratamientos de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 y 20 °C. 31

Figura 11. Índice de invasibilidad de *C. raciborskii* en experimentos de variación de temperatura (A = $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; B = $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y de luz (C = 25 °C). (*) indican diferencias significativas ($p < 0.05$). 32

Figura 12. Modelo conceptual de la relación entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* en función de luz y temperatura de Kokocinski et al. (2010) modificado según los resultados obtenidos en éste estudio ver modelo original (Fig. 1, pag. 7). 43

Índice de Tablas

Tabla 1. Tasas de crecimiento máximas μ (d^{-1}) de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> en los diferentes tratamientos de luz. La luz promedio dentro de la botella (interna) se indica para cada tratamiento. Letras iguales, sin diferencias significativas entre las μ (Anova, $p > 0,05$).	19
Tabla 2. Parámetros de la curva crecimiento obtenidos del modelo ajustado para tasa de crecimiento en función del gradiente lumínico. Datos son promedios \pm desvío estándar, $n=4$. Letras iguales, sin diferencias significativas (Anova, $p < 0,05$).	21
Tabla 3. Rasgos morfológicos para los que se encontraron diferencias significativas en el Δ (atributo) de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo diferentes tratamientos de luz. Test de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples ($p < 0,05$), (L = largo del filamento; A = ancho; V = volumen; S/V = relación superficie/volumen; ns = sin diferencias significativas en ningún atributo). Comparaciones múltiples, ver anexo Tabla IIIa IIIb.	24
Tabla 4. Anova de medidas repetidas experimento de interacción <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> ante variaciones de luz a 25 °C. * = diferencias significativas ($p < 0,05$).	25
Tabla 5. Anova de 2 vías para los experimentos unialgales de variaciones de temperatura (15, 20, 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0,05$).	26
Tabla 6. Anova de 2 vías, cepas de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> ante variaciones de temperaturas (15, 20, 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0,05$).	26
Tabla 7. Cambios significativos en los Δ (atributo) morfológicos de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> bajo diferentes tratamientos de temperatura a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (test de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples, $p < 0,05$), L = largo del filamento; A = ancho; V = volumen; S/V = relación superficie/volumen; ns = sin diferencias significativas en ningún atributo. Comparaciones múltiples, ver anexo Tablas VIIa, VIIb, VIIc.	28
Tabla 8. Anova de medidas repetidas experimento de interacción <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> ante variaciones de temperatura (15, 20 y 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencia significativa ($p < 0,05$).	29
Tabla 9. Anova de 2 vías experimento de invasibilidad de <i>C. raciborskii</i> y <i>P. agardhii</i> (15, 20 y 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0,05$).	31

Introducción

Floraciones de cianobacterias: un fenómeno multicausal

Las cianobacterias constituyen un antiguo y diverso grupo de microorganismos procariotas fotosintetizadores que surgieron durante el período precámbrico (2,5 billones de años) (Schopf, 2002). Actualmente crecen exitosamente en cuerpos de agua de todo el mundo, principalmente límnicos (Reynolds & Walsby, 1975). Las cianobacterias son organismos con plasticidad fenotípica lo cual corresponde a variaciones individuales reversibles en respuesta a cambios ambientales predecibles o estocásticos (Piersma & Drent, 2003) y representa una ventaja para crecer en ambientes fluctuantes (Aubriot et al., 2011). Se ha demostrado que las cianobacterias tienen alta plasticidad fenotípica y pueden desarrollar floraciones persistentes en condiciones de fluctuaciones de fosfato o de baja disponibilidad del mismo (Aubriot et al., 2011). La morfología de los organismos está relacionada con su funcionalidad y juega un papel importante tanto en la incorporación de nutrientes como en la captación de luz (Reynolds, 2006). Por ejemplo los cambios en el biovolumen celular ante variaciones en la intensidad de luz es un fenómeno común en las algas en respuesta a la eficiencia fotosintética (Thomson et al., 1991).

El aumento de la concentración de nutrientes en especial de nitrógeno (N) y fósforo (P) que lleva a la eutrofización de los cuerpos de agua (Oliver & Ganf, 2002) puede desencadenar el crecimiento excesivo del fitoplancton fenómeno conocido como floración (Reynolds, 1987; Steinberg & Hartmann, 1988). En este sentido existe una correlación positiva entre la concentración de N y P en los sistemas acuáticos y la ocurrencia de floraciones (Paerl, 1988). En particular se destacan las floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas las cuales además de afectar la calidad del medio ambiente, pueden ocasionar efectos nocivos sobre la salud humana y animal (Chorus & Bartram, 1999). Las floraciones también contribuyen a la pérdida de la calidad del agua, inhabilitando el recurso acuático, ya sea como fuente de agua potable, riego, pesca y/o recreación (Bonilla, 2009). En Uruguay el incremento de las actividades agrícola-ganaderas y la urbanización han promovido la ocurrencia de floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas en lagos y lagunas de todo el territorio (Bonilla, 2009).

El crecimiento y la distribución de las cianobacterias no solo están influidos por concentraciones de nutrientes sino también por la temperatura y la intensidad de luz. En general su máximo crecimiento ocurre a temperaturas superiores a los 25 °C (Chorus & Bartram, 1999). En sistemas naturales se ha visto que el incremento de la temperatura del agua permite un predominio de las cianobacterias dentro de la comunidad fitoplanctónica (Kosten et al., 2012). El aumento de la temperatura puede tener efectos directos o indirectos sobre las cianobacterias. Los efectos directos se dan básicamente a través del incremento de la tasa de crecimiento mientras que los indirectos favorecen a algunas especies al promover la estratificación térmica vertical en lagos. Esta estratificación es explotada por algunas especies de cianobacterias que se acumulan en la superficie como por ejemplo de los géneros *Microcystis* y *Dolichospermum* (Huisman et al., 2005; Paerl & Fulton, 2006). El aumento de la temperatura es una de las consecuencias promovidas por el cambio climático (Walther et al., 2002). En el siglo pasado la temperatura de la superficie del planeta se elevó en 0.74 ± 0.18 °C (Trenberth et al., 2007). El incremento de temperatura promovería el aumento de la ocurrencia y frecuencias de floraciones de cianobacterias en diferentes regiones del planeta (Doney, 2006; Markensten et al., 2010).

En general se considera a las cianobacterias como buenas competidoras a baja intensidad de luz estando mejor adaptadas a estas condiciones que otras algas, aunque presentan variaciones en cuanto a sus requerimientos lumínicos (Huisman & Hulot, 2005). Por ejemplo *Planktothrix agardhii* tiene requerimientos de luz muy bajos lo que favorece su dominancia en sistemas someros, turbios y eutróficos (Huisman & Hulot, 2005). Otras especies de los géneros *Aphanizomenon* y *Microcystis* presentan requerimientos de luz superiores que *Planktothrix* por lo que éstas serían poco tolerantes a bajas intensidades de luz por ejemplo en sistemas turbios (Huisman & Hulot, 2005). El crecimiento de las cianobacterias a baja intensidad de luz se refleja por los valores altos de (α) (pendiente de la curva de crecimiento en función de la intensidad de luz), por las bajas intensidades de luz óptimas (I_{opt}) así también por los bajos I_k (intensidad lumínica a la cual la tasa fotosintética es máxima) (Schwaderer et al., 2011).

Invasiones biológicas: el caso de *Cylindrospermopsis raciborskii*

Las invasiones biológicas son consideradas una de las mayores amenazas para la biodiversidad pudiendo estar vinculadas a los efectos del cambio climático (Vitousek et al., 1997; Kokocinski et al., 2010). Algunas especies de cianobacterias se destacan debido a su comportamiento invasor y porque han comenzado a proliferar en nuevos habitats (Kokocinski et al., 2010; Sukenik et al., 2012). Según Mack et al. (2000) las especies invasoras son aquellas capaces de colonizar, establecerse, expandirse y persistir en nuevos ambientes. Litchman (2010) define a los microorganismos invasores como todo virus, archaea, bacteria, protista o fungi que prolifera en un nuevo ambiente e impacta localmente las comunidades y ecosistemas, teniendo efecto a corto o largo plazo. Existen tres factores principales que influyen en la invasión de las especies de microorganismos. El número de propágulos que llegan del invasor, las características propias de la especie invasora y la susceptibilidad de la comunidad residente a las invasiones de nuevas especies lo cual se denomina invasibilidad (Lonsdale, 1999). *C. raciborskii* se destaca por ser fuertemente invasora, apareciendo en las últimas décadas formando floraciones en regiones subtropicales y templadas del planeta (Padisák, 1997; Wiedner et al., 2002; Vidal & Kruk, 2008).

Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenaya et Subba Raju (1972) es una cianobacteria planctónica de agua dulce del Orden Nostocales. Se caracteriza por formar heterocistos (células diferenciadas para la fijación de N₂) en los extremos de los filamentos y acinetes intercalares (células de resistencia). Presenta aerotopos que le permiten regular su posición en la columna de agua según sus requerimientos de luz y nutrientes. Es capaz de producir toxinas como cylindrospermopsina (citotoxina) y saxitoxina (neurotoxina) (van Apeldoorn et al., 2007), pudiendo afectar por lo tanto la salud humana y animal (Hawkins et al., 1985; Humpage et al., 2000). *C. raciborskii* fue primeramente registrada en Java, Indonesia (Woloszynska, 1912) y clasificada como especie tropical (Padisák, 1997). Actualmente su distribución abarca diferentes regiones geográficas por ejemplo es reportada formando floraciones en Alemania, Francia, Hungría, Austria, (Dokulil & Meyer, 1996; Padisák, 1997; Coute et al., 1997; Wiedner et al., 2002), Estados Unidos (Hill, 1970; Hamilton et al., 2005), Nueva Zelanda (Ryan et al., 2003), Sudáfrica (Harding, 1996) así también en Argentina, Brasil, Uruguay (Zalocar et al., 1998; Huszar et al., 2000; Vidal & Kruk, 2008; Sant'Anna et al., 2008).

Se han planteado dos hipótesis que explicarían su expansión biogeográfica hacia las latitudes mayores. Una primera hipótesis sostiene que la especie se extiende hacia las regiones subtropicales y templadas del planeta debido al aumento de la temperatura del agua producto del calentamiento global (Wiedner et al., 2007). La segunda hipótesis plantea que la especie tiene flexibilidad fenotípica y es capaz de aclimatarse y adaptarse a diferentes temperaturas (Briand et al., 2004). Esta característica de acuerdo a Piccini et al. (2011) estaría dada por la presencia de diferentes ecotipos adaptados a diversas condiciones locales propias de cada región geográfica. De acuerdo a Briand et al. (2004) la combinación de la capacidad de tolerar amplio rango de temperatura y el fenómeno del calentamiento global permitirían a *C. raciborskii* expandirse hacia las latitudes intermedias.

Factores ambientales que afectan la dispersión de *C. raciborskii*

De todos los factores ambientales estudiados, la temperatura parece ser el principal determinante para la presencia y desarrollo de *C. raciborskii*. En diversos estudios llevados a cabo en regiones tropicales se ha encontrado que la máxima biomasa ocurre entre 27 y 30 °C (Branco & Senna, 1994; Bouvy et al., 1999). Resultados similares obtuvo Briand et al. (2004) en experimentos con cepas de *C. raciborskii* de diferentes regiones geográficas. Sin embargo, otros trabajos en latitudes superiores han demostrado que la especie también puede crecer a temperaturas más bajas (Bonilla et al., 2012). Por ejemplo, ha sido registrada en lagos de Austria o en Alemania creciendo a temperaturas de 15 a 17 °C (Dokulil & Mayer, 1996). Mientras que por otra parte Zalocar et al. (1998) reportaron la desaparición de *C. raciborskii* de la columna de agua en un lago subtropical en Argentina durante otoño, a temperaturas inferiores a los 20 °C.

Con respecto a la luz se ha visto que *C. raciborskii* tolera bajas intensidades lumínicas (Padisák & Reynolds, 1998). Según estudios de campo la especie aumenta su población conforme disminuye la intensidad de la luz (Dokulil & Mayer, 1996). En estudios realizados en Brasil se ha visto que la especie puede producir floraciones en lagos someros y turbios a una intensidad menor a 63 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Bouvy et al., 1999). También se ha visto, por ejemplo, que en el Lago Balaton (Hungría) *C. raciborskii* puede tolerar intensidades lumínicas del orden de los 26 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ la cual es similar a la intensidad de luz tolerable por otras especies adaptadas a la baja intensidad

de luz (Shafik et al., 2001). En condiciones de cultivo *C. raciborskii* puede crecer en un amplio rango de intensidades lumínicas. Briand et al. (2004) determinó el óptimo de crecimiento entre 80 - 120 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ comparando diferentes cepas. En lo referente a la información que se tiene de las cepas uruguayas, recientemente Fabre (2011) trabajó con cultivos de una cepa autóctona obtenida de la Laguna Blanca y obtuvo un valor de I_k de 39 ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) el cual fue elevado comparado con otras especies de estrategia de sombra y un α de 0.024 ($\text{d}^{-1} \mu\text{mol fotón}^{-1} \text{m}^2\text{s}$). De acuerdo a la autora la cepa tendría una ecoestrategia intermedia a la ecoestrategia de luz alta o baja.

Estados estables y dominancia de cianobacterias en lagos someros

En los lagos someros eutróficos las comunidades de productores primarios macrófitas y fitoplancton están determinadas por la disponibilidad de luz y de nutrientes. En este sentido tanto las plantas sumergidas como el fitoplancton pueden dominar alternativamente la producción primaria en lagos someros templados y eutróficos. Esta dominancia sucede dentro de un determinado rango de nutrientes y de turbidez de acuerdo al modelo de estados estables alternativos de Scheffer et al. (1993). Cada grupo dominante puede representar un estado estable que puede dominar la producción primaria global indistintamente dentro de un rango de turbidez y nutrientes. Un estado transparente dominado por plantas macrófitas y otro estado estable sin vegetación dominado por el fitoplancton (Scheffer & Van Nes, 2007). También dentro de la comunidad fitoplanctónica y presentando un comportamiento diferente existe un grupo formado exclusivamente por cianobacterias filamentosas especialmente del orden Oscillatoriales como *Planktothrix* sp. y *Limnothrix* sp. (Scheffer et al., 1993; Scheffer et al., 1997; Scheffer & Van Nes, 2007). Estas cianobacterias se ven favorecidas por la baja intensidad de luz, por lo que son capaces de establecerse y proliferar en sistemas turbios con escasa penetración lumínica. Como consecuencia de su crecimiento se reduce aun más la penetración de luz en el agua, lo que termina excluyendo a otras cianobacterias y a la mayoría de las algas eucariotas. Esto vuelve al sistema cada vez más turbio en un mecanismo de autoperpetuación o retroalimentación positiva, lo cual conduce hacia un estado estable denominado “tercer estado estable” caracterizado por la dominancia de cianobacterias del orden Oscillatoriales (Scheffer et al., 1997). Estas cianobacterias se caracterizan por ser filamentosas, no formar acinetes o heterocitos y no son capaces de fijar nitrógeno atmosférico.

Planktothrix agardhii (Gomont) Anag. et Kómarek (1988) es una cianobacteria que puede formar floraciones resilientes en lagos someros polimícticos en condiciones de baja intensidad de luz, siendo la especie modelo del tercer estado estable de Scheffer (Scheffer et al., 1997). La capacidad de tolerar bajas intensidades de luz posibilita que la especie se establezca en ambientes turbios (Scheffer & Van Nes, 2007). Esta capacidad se ve reflejada por ejemplo en los valores de α y de I_k que presenta la especie, por ejemplo Oberhaus et al. (2007) obtuvo valores de α de $0.03 \text{ (d}^{-1} \mu\text{mol fotón}^{-1} \text{ m}^2\text{s)}$ y de I_k de $17 \text{ (}\mu\text{mol fotón m}^2\text{s}^{-1}\text{)}$. Al igual que *C. raciborskii*, debido a la presencia de aerotopos en su interior, puede migrar verticalmente en la columna de agua lo que le permite posicionarse en zonas de intensidad de luz favorable. Es además potencialmente tóxica ya que puede producir microcistina (Chorus & Bartram, 1999).

En cuanto a los requerimientos de temperatura las poblaciones de *P. agardhii* pueden crecer a temperaturas $> 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (Toporowska et al., 2010) y tolerar por ejemplo inviernos en zonas templadas del hemisferio Norte (Dokulil & Teubner, 2000). Su crecimiento óptimo está por encima de los $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (Van Liere & Mur, 1978) llegando hasta $29 \text{ }^\circ\text{C}$ (Crossetti & Bicudo, 2008; Gemelgo et al., 2009). Existe abundante información sobre su ecología y distribución por lo que es empleada comúnmente como modelo de estudio ecológico. Hallazgos recientes muestran a *C. raciborskii* ocurriendo conjuntamente con *Planktothrix agardhii* en lagos someros, polimícticos y eutrofizados (Kokocinski et al., 2010). Aunque ambas especies presentan similar tolerancia a la baja intensidad de luz, *C. raciborskii* contaría con una ventaja adaptativa al ser una especie con mayor plasticidad fenotípica que le posibilita tolerar un mayor rango de intensidades de luz que *P. agardhii* (Bonilla et al., 2012). De acuerdo al modelo conceptual de Kokocinski et al. (2010) a baja intensidad de luz y temperatura *P. agardhii* puede dominar la comunidad de fitoplancton mientras que *C. raciborskii* se beneficiaría de las altas temperaturas dentro de un rango de intensidades de luz superiores a *P. agardhii*. El modelo también propone una zona de condiciones de luz y temperatura donde ambas especies coexistirían (Fig. 1).

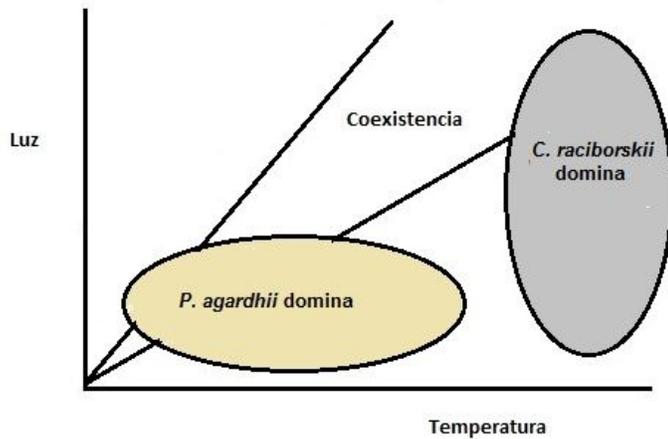


Figura 1. Modelo conceptual de la relación entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* en función de luz y temperatura extraído de Kokocinski et al. (2010)

La presencia de *C. raciborskii* y *P. agardhii* en Uruguay

En nuestro país *C. raciborskii* fue recientemente hallada en la Laguna Blanca, en el Lago Javier, en la Laguna Chica y en la Laguna del Sauce en el año 2003, siendo éstos los registros más australes en el continente sudamericano (Vidal & Kruk, 2008). *P. agardhii* puede ser encontrada todo el año distribuida en la columna de agua dominando el fitoplancton de lagos eutróficos, por ejemplo en el lago Rodó de Montevideo. En este sistema ha sido registrada a temperaturas de 10 °C (Sommaruga, 1995; Scasso et al., 2001). Pese a que estas especies están presentes en determinados cuerpos de aguas la información sobre las características ecológicas de las cepas locales es muy limitada.

Justificación del estudio

Durante las últimas décadas el registro de floraciones de cianobacterias Nostocales en ecosistemas continentales ha ido aumentando (Sukeník et al., 2012). La invasión y la proliferación de Nostocales en nuevos hábitat tienen el potencial de alterar significativamente la estructura de las comunidades nativas y modificar el funcionamiento de los ecosistemas (Sukeník et al., 2012). Debido al calentamiento global muchas especies pueden expandir su rango de distribución desde zonas de bajas latitudes hacia otras superiores (Menhert et al., 2010). Tal es el caso de *C. raciborskii* cuya capacidad de tolerar bajas intensidades de luz la haría muy competitiva en sistemas de aguas someras y turbias como por ejemplo tajamares. Estos son sistemas artificiales

muy comunes como fuente de agua para la ganadería lo que podría generar en un futuro un costo sanitario importante para el país.

De acuerdo al modelo conceptual propuesto por Kokocinski et al. (2010) y en un escenario de incremento de temperatura (Walther et al., 2002), la capacidad de *C. raciborskii* de crecer en condiciones de baja intensidad de luz y alta temperatura le permitirían establecerse y proliferar. Dada la importancia que tiene *C. raciborskii* debido a su potencial toxicidad, sumado al desconocimiento de las características de crecimiento de las cepas locales y de los factores que regularían su crecimiento en regiones subtropicales se plantearon los objetivos de este estudio.

Objetivos e hipótesis

Objetivo general del trabajo

Determinar la respuesta de *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Planktothrix agardhii* en términos de crecimiento y variaciones morfológicas frente a diferentes intensidades de luz y temperatura, en cultivos unialgales y mixtos.

Objetivos específicos

- 1) Evaluar el crecimiento de la cepa MVCC14 de *C. raciborskii* y MVCC11 de *P. agardhii* en cultivos unialgales y mixtos, en términos de incremento de biomasa, variaciones de tasa de crecimiento (μ) y morfología, ante cambios de luz y de temperatura.
- 2) Determinar los efectos sinérgicos de la luz y la temperatura en el crecimiento y la morfología de las especies.
- 3) Evaluar la invasibilidad de *C. raciborskii* ante cambios de luz y temperatura

Hipótesis

La luz y la temperatura son dos factores claves que afectan el crecimiento y condicionan la distribución de las especies de fitoplancton. En general se considera que muchas especies de cianobacterias son tolerantes o prefieren condiciones de alta turbidez, como *C. raciborskii* y *P. agardhii* (Dokulil & Mayer, 1996; Padisák, 1997; Padisák & Reynolds, 1998). Por otro lado resultados experimentales recientes indicarían que *C. raciborskii* tiene su crecimiento óptimo a altas intensidades de luz (Fabre, 2011). De acuerdo a la bibliografía actual el crecimiento de *C. raciborskii* ocurre a temperatura superiores a 20 °C, siendo *C. raciborskii* considerada como una especie tropical. Sin embargo, aún no hay consenso sobre la temperatura mínima que *C. raciborskii* necesita para crecer sin embargo Fabre et al. (2010) la hallaron en la columna de agua a 11,2 °C (Lago Javier, Canelones, Uruguay). *P. agardhii* es una especie típica de sistemas someros eutróficos y está presente en ecosistemas eutróficos de todo el mundo, desde tropicales a templados. Esta cianobacteria permanece todo el año en la columna de agua

y dominando la comunidad por ejemplo en el lago Rodó de Montevideo con altas biomazas (Scasso et al., 2001, Aubriot et al., 2011).

HIPOTESIS 1: La luz es un factor que afecta en forma diferente a las especies tanto a nivel del crecimiento como morfológico. En *Cylindrospermopsis raciborskii* la tasa de crecimiento es más alta con el aumento de la intensidad de luz mientras que *Planktothrix agardhii* crece más rápido en condiciones de baja intensidad de luz. *C. raciborskii* presenta una mayor plasticidad morfológica ante los cambios de intensidad lumínica que *P. agardhii*.

HIPOTESIS 2: La temperatura afecta el metabolismo general y por lo tanto el crecimiento de las especies. La tasa de crecimiento disminuye con el descenso de temperatura, sin embargo es posible detectar diferencias entre las especies en estudio, en donde *C. raciborskii* tiene un crecimiento menor que *P. agardhii* a bajas temperaturas. Las variaciones de temperatura modifican el tamaño de las especies el que será menor a bajas temperaturas para ambas especies.

HIPOTESIS 3: En cultivos mixtos de *C. raciborskii* y *P. agardhii* la capacidad de invasibilidad de *C. raciborskii* se verá afectada por las condiciones de luz, de temperatura y por la interacción de ambos factores.

Materiales y métodos

Aspectos generales

Cepas

Se emplearon dos cepas aisladas y cultivadas en la Sección Limnología de la Facultad de Ciencias, UdelaR:

-MVCC14 de *Cylindrospermopsis raciborskii* aislada de la Laguna Blanca en 2007, Maldonado (34° 53' S, 54° 20' W) sistema que se utiliza para la extracción de agua potable (Vidal & Kruk, 2008).

-MVCC11 de *Planktothrix agardhii* aislada del lago Rodó en 2006, Montevideo (34°55'S, 56°10'W) usado con fines recreacionales (Scasso et al., 2001).

Las cepas fueron mantenidas en cultivos líquidos estáticos a una temperatura de 26 ± 1 °C, $80 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y un fotoperíodo luz/oscuridad de 16:8 hs. El medio de cultivo empleado fue BG11 (Stanier et al., 1971). A éste se le adicionó cycloheximida en una concentración de 50 mg l^{-1} a modo de eliminar contaminantes eucariotas.

Condiciones generales de los experimentos

Los experimentos de variaciones de luz y temperatura fueron realizados en una sala de cultivo o en un refrigerador acondicionado para alcanzar las temperaturas experimentales. Se utilizaron frascos Schott de 100 ml de volumen con sistema de burbujeo continuo de aire filtrado y prehumedecido con agua Milli-Q estéril. Estos frascos fueron llenados con 80 ml de medio de cultivo BG11 e inoculados con las cianobacterias, completando cuatro réplicas por tratamiento. Los frascos fueron iluminados con tubos fluorescentes con fotoperíodo luz/oscuridad de 16:8 hs. Las intensidades de luz se midieron con radiómetro (Licor Instruments, 4Π) modelo Li 250. El crecimiento de los cultivos se siguió diariamente mediante el aumento de biomasa medida a través del incremento de densidad óptica (DO a 750 nm). Ésta se realizó mediante un espectrofotómetro (Thermo Evolution 60) tomándose alícuotas de 4 ml de cada réplica del cultivo cada 24 horas. Las muestras para recuentos y análisis morfológicos se tomaron cada 48 hs y fueron fijadas con formaldehído al 4% y no con Lugol el cual afecta el tamaño de las células (Hawkins et al., 2005). En este sentido el formaldehído se empleó con la finalidad de evitar cambios en las dimensiones de los filamentos debido al tiempo transcurrido entre el experimento y la realización de las

medidas morfométricas. Los recuentos se hicieron en cámaras de tipo Sedgwick-rafter de ~ 2 ml de volumen de agua especialmente construidas para este trabajo. Todos los experimentos tuvieron una duración de 5 días como forma de evitar alteraciones en la intensidad de luz promovida por el aumento de la biomasa debido al crecimiento.

Para determinar las variables morfométricas, se midió el largo y el diámetro de 30 filamentos diferentes de cada especie tomados al azar. Las observaciones se hicieron en cada réplica de cada tratamiento mediante un microscopio Olympus BX40 a 400 y 1000X aumentos. El volumen (μm^3) y superficie (μm^2) individual de los filamentos fue calculado asumiendo forma cilíndrica (Hillebrand et al., 1999) y se determinó además la relación superficie/volumen (μm^{-1}).

Aclimatación previa de las cepas

Para los experimentos de luz ($> 5 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y de temperatura de 20 y 25 °C ± 1 °C la aclimatación se hizo por un período de 10 días aproximadamente, mientras que para el experimento de 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fue por 15 días. En todos los casos se hizo un repique del cultivo luego de la duplicación de la biomasa de la población y se continuó la aclimatación por el tiempo que llevara alcanzar 2 duplicaciones consecutivas más. Para los experimentos de temperatura a 15 °C ± 1 °C la aclimatación llevó 15 días debido al bajo crecimiento de los cultivos.

Experimentos de variación de intensidad lumínica, temperatura e interacción

Para la validación de la Hipótesis 1 se realizaron experimentos de variaciones de luz los cuales comenzaron a partir de cultivos “stock” previamente aclimatados a las intensidades de luz requeridas y creciendo en fase exponencial a 25 ± 1 °C. Las intensidades de luz empleadas fueron 5, 20, 60, 100, 135 y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ las cuales abarcaron un espectro de intensidad de luz desde muy baja (5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) hasta alta (170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$), (Fig. 2).

Para validar la Hipótesis 2 se hicieron experimentos de variaciones temperatura en donde se emplearon valores promedio que comúnmente se alcanzan en Uruguay (zona subtropical). Las temperaturas empleadas fueron 15, 20 y 25 °C ± 1 °C a 60 y 135 μmol

fotón $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig 3). Los experimentos comenzaron a partir de cultivos “stock” previamente aclimatados a las temperaturas requeridas y creciendo en fase exponencial. Para la validación de la Hipótesis 3 se hicieron experimentos de interacción los cuales se realizaron en frascos Schott a 15, 20 y 25 $^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$ y 60 y 135 μmol fotón $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 5 μmol fotón $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a 25 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ (Fig. 2 y 3). Se emplearon cultivos aclimatados como descrito anteriormente. Se prepararon 2 cultivos de *C. raciborskii* y *P. agardhii* de 400 ml cada uno, con una (DO) inicial similar en ambos buscando que el efecto en el sombreadamiento del cultivo mixto fuera similar de las dos especies, repitiendo las condiciones de los controles unialgales.

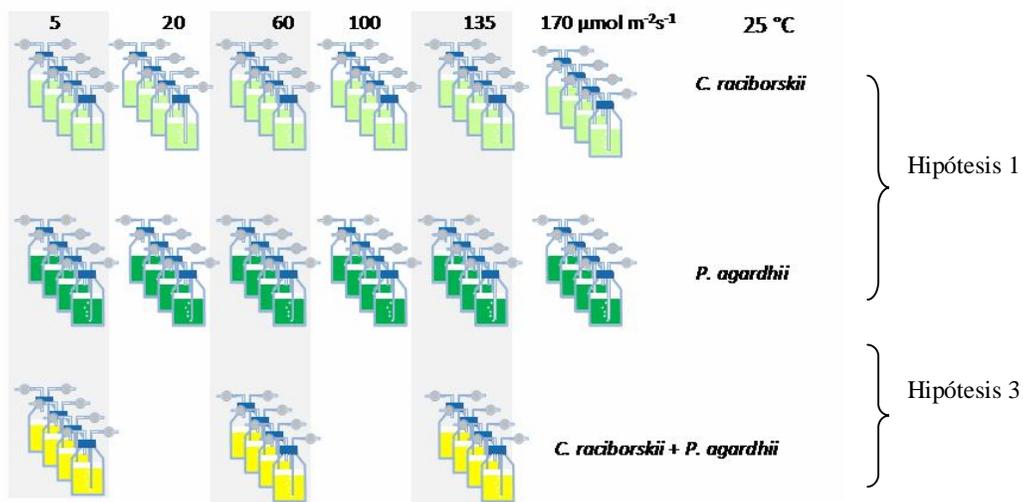


Figura 2. Experimentos de crecimiento de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes intensidades de luz a 25 $^{\circ}\text{C}$ en cultivos unialgales y en interacción.

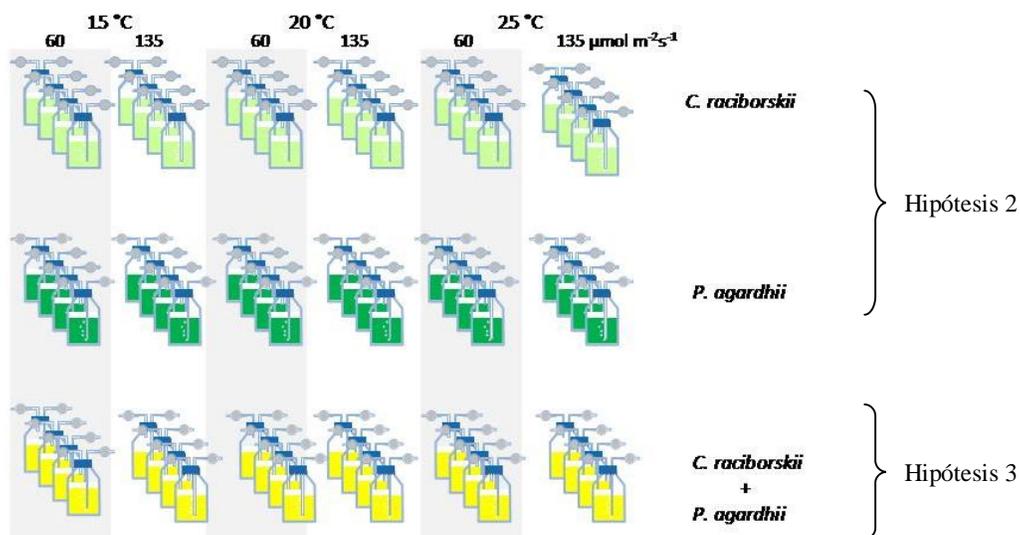


Figura 3. Experimentos de crecimiento de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes temperaturas a 60 y 135 μmol fotón $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en cultivos unialgales e interacción.

Se tomaron 200 ml del cultivo de cada especie y se mezclaron en partes iguales manteniendo la misma (DO) del control, siendo éste el inóculo inicial. Los restantes 200 ml de los cultivos de *C. raciborskii* y *P. agardhii* se emplearon como inóculo para los controles. El biovolumen inicial de las dos especies fue diferente, en donde siempre fue menor en *C. raciborskii* ya que se buscaba evaluar su capacidad de invasión (biovolumen inicial: *P. agardhii* estuvo en el entorno del 75 % y para *C. raciborskii* en el 25% del total del cultivo mixto a tiempo cero).

Estimación del crecimiento

Experimentos con cultivos unialgales

Como estimador de crecimiento se empleó el aumento de la densidad óptica (DO) a 750 nm, y se calculó la velocidad de crecimiento diaria μ (d^{-1}) según:

$$\mu \text{ (d}^{-1}\text{)} = \frac{\ln DO_{t_1} - \ln DO_{t_0}}{t_1 - t_0}$$

donde; μ (d^{-1})= crecimiento por día, DO_{t_1} = densidad óptica al tiempo final, DO_{t_0} = densidad óptica al tiempo inicial (t_0), siendo $t_1 > t_0$.

Se midió la absorbancia a 440 nm la cual fue empleada para calcular el coeficiente de extinción (K_d) de acuerdo a Kirk (1994):

$$K_d = 2,303 * \frac{\text{Abs}_{440} - \text{Abs}_{750}}{z}$$

donde; K_d = coeficiente de extinción de la luz (cm^{-1}); z = diámetro del frasco de cultivo (cm).

El valor de K_d calculado se empleó para determinar la luz en el centro de las botellas de cultivo de acuerdo a:

$$I_z = I_0 * \exp^{(-K_d * z)}$$

donde; I_z = intensidad de luz en el centro de la botella ($\mu\text{mol fotones m}^{-2}\text{s}^{-1}$); I_0 = intensidad de luz incidente experimental 5, 20, 60, 100, 135 y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; K_d = coeficiente de extinción de la luz; z = diámetro del frasco de cultivo (cm).

con el valor de I_z se calculó la luz promedio que percibieron las células durante el experimento de acuerdo a:

$$I_p = \frac{I_0 + I_z}{2}$$

donde; I_p = luz promedio dentro del frasco de cultivo que percibieron las células ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$); I_0 = intensidad de luz incidente entre 5, 20, 60, 100, 135 y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; I_z = intensidad de luz en el centro de la botella ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$).

La tasa de crecimiento en respuesta a la intensidad de luz dentro de los frascos de cultivo se ajustó con la curva para fotosíntesis sin inhibición de Jassby & Platt (1976) de acuerdo a:

$$\mu = \mu_{\max} [1 - \exp(-\alpha I / \mu_{\max})]$$

donde; μ = tasa de crecimiento observada (d^{-1}), μ_{\max} = tasa de crecimiento máxima (d^{-1}), α = pendiente inicial de la curva que corresponde a la fase de crecimiento limitado por la luz ($\text{d}^{-1} \mu\text{mol fotón}^{-1} \text{m}^2\text{s}$), I = intensidad de luz que reciben las células ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

A partir de la curva generada se determinaron los parámetros velocidad máxima (μ_{\max}), la pendiente inicial α ($\text{d}^{-1} \mu\text{mol fotón}^{-1} \text{m}^2\text{s}$) y el punto de sub saturación I_k ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de acuerdo a:

$$I_k = \frac{\mu_{\max}}{\alpha}$$

Como estimador del incremento del crecimiento cuando aumenta la temperatura 10°C se empleó el (Q_{10}). Éste se calculó usando la máxima tasa de crecimiento obtenida para ambas especies a los 15 y 25°C para las intensidades de luz a 60 y 135 ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) de acuerdo a:

$$Q_{10} = \frac{k_2}{k_1}^{10/(t_2 - t_1)}$$

donde; t_1 = temperatura inferior en $^\circ\text{C}$, t_2 = temperatura superior en $^\circ\text{C}$, k_1 = max μ a t_1 (tasa de crecimiento a t_1), k_2 = max μ a t_2 (tasa de crecimiento a t_2)

Para el cálculo de grado de variación de los atributos morfológicos se empleó la siguiente expresión:

$$\text{Amplitud de cambio} = \frac{A_i X_{(\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1})} / A_f X_{(\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1})}}{A t_i S_{(\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1})} / A_f S_{(\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1})}}$$

donde A = atributo morfológico (Largo, volumen o S/V), t_i = tiempo inicial, t_f = tiempo final, X = 20, 60, 100, 135, y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Experimentos de interacción con cultivos mixtos

Para la determinación del crecimiento se hicieron recuentos de filamentos al tiempo inicial t_0 , t_{48} y t_{96} horas en cada experimento. Para ello se sacaron alícuotas de cada réplica, se fijaron con formaldehído al 4% y se sedimentaron en cámaras de sedimentación de 3 ml de volumen por 24 horas. Los conteos se hicieron mediante un microscopio invertido modelo Nikon a 200 y 400X de aumentos. Se enumeraron los organismos por campos al azar y se contaron como mínimo 100 filamentos (Lund et al., 1958) de cada réplica. Se determinó el biovolumen (mm^3l^{-1}) a partir de multiplicar las densidades de cada especie por el volumen promedio de los organismos calculados en microscopio Olympus. Los valores de biovolumen (mm^3l^{-1}) se emplearon para calcular la tasa de crecimiento μ (d^{-1}) entre el tiempo 0-48 horas y 48-96 horas con la fórmula descripta anteriormente.

Índice de invasibilidad

Para indicar la invasibilidad de *C. raciborskii* frente a *P. agardhii* se calculó el índice de invasibilidad se realizó según (Sperfeld et al., 2010).

$$\text{Invasibilidad } i = \frac{\text{Log}_2(\text{BV}_5)}{(\text{BV}_1)}$$

Donde BV_5 es el biovolumen de *C. raciborskii* en cultivo mixto (mm^3l^{-1}) a los 5 días y BV_1 biovolumen de *C. raciborskii* en cultivo mixto (mm^3l^{-1}) al tiempo inicial del experimento

Valores superiores a 0 indican un incremento de la biomasa y por lo tanto se asume invasión (Sperfeld et al., 2010). Según varios autores se considera que un organismo invade un nuevo ambiente cuando es capaz de proliferar y expandirse en tal ambiente (Mack et al., 2000, Litchman, 2010).

Análisis de datos

Las diferencias de las tasas de crecimiento (μ) entre las diferentes intensidades de luz se probaron mediante análisis de Varianza de 1 vía para cada especie y comparaciones múltiples par a par mediante el test de Holm-Sidak si así lo correspondiere. Los datos de *C. raciborskii* presentaron normalidad (test de Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad de varianza (test de Levene). Los datos de *P. agardhii* fueron

transformados a Raíz(x) por falta de homocedasticidad. Las diferencias de las μ ante cambios de temperatura se analizaron mediante análisis de Varianza de 2 vías y comparaciones múltiples mediante el test de Holm-Sidak. Se emplearon la luz y la temperatura como factores fijos para cada especie. Para el caso de *C. raciborskii* las μ fueron transformadas con Raíz(x) por falta de normalidad en los datos.

Los atributos morfológicos (largo, ancho, volumen y superficie/volumen) al inicio de los experimentos (tiempo 0) presentaron diferencias entre las distintas luces y entre las diferentes temperaturas. Estas diferencias, producto de las aclimataciones previas de los “stock”, fueron analizadas mediante el test de Kruskal & Wallis (H). En los experimentos de variaciones de intensidad de luz las diferencias se dieron en ambas especies: En *C. raciborskii* (Largo $H_{5,540} = 176.46$; Ancho $H_{5,540} = 402.00$; superficie/volumen $H_{5,540} = 381.80$; Volumen $H_{5,540} = 344.70$ $p < 0,001$ para todos, anexo Tabla Ia). En *P. agardhii* (Largo $H_{5,540} = 56.70$; Ancho $H_{5,540} = 196.30$; S/V $H_{5,540} = 160.12$; Volumen $H_{5,540} = 64,64$ $p < 0.001$ para todos, anexo Tabla Ib). En los experimentos de variaciones de temperatura las diferencias también se dieron en ambas especies: En *C. raciborskii* a $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (Largo $H_{2,270} = 46.42$; Ancho $H_{2,270} = 12.71$; S/V $H_{2,270} = 142.17$; Volumen $H_{2,270} = 131.40$ $p < 0.001$ para todos, anexo Tabla IIa). A $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Largo $H_{2,270} = 38.79$; Ancho $H_{2,270} = 74.57$; S/V $H_{2,270} = 95.47$; Volumen $H_{2,270} = 85.82$ $p < 0,001$ para todos, anexo Tabla IIb). En *P. agardhii* a $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Largo $H_{2,270} = 25.28$ $p < 0.001$; S/V $H_{2,270} = 8.39$ $p = 0.015$; Volumen $H_{2,270} = 21.23$ $p < 0.001$, anexo Tabla IIc). A $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Largo $H_{2,270} = 8.00$ $p = 0.018$; Ancho $H_{2,270} = 81.80$ $p < 0.001$; S/V $H_{2,270} = 58.23$ $p < 0.001$; Volumen $H_{2,270} = 9.99$ $p < 0.001$, anexo Tabla IId).

Para analizar los cambios en los atributos morfológicos que ocurrieron entre el inicio y final de los experimentos se calculó una nueva variable el $\Delta(\text{atributo})$ para cada atributo morfológico (largo, ancho, volumen y superficie/volumen).

$$\Delta(\text{atributo}) = At_5 - At_0$$

donde: At_5 = atributo(X) al tiempo final (5 días), At_0 = atributo(X) al tiempo inicial

Las diferencias de los $\Delta(\text{atributo})$ fueron analizadas para cada condición experimental de luz y temperatura mediante el test de Kruskal-Wallis (H). Este test fue empleado por

falta de normalidad y homocedasticidad de los datos (datos no transformables aun con ecuaciones simples), se realizaron comparaciones múltiples mediante el test de Mann-Whitney.

En los experimentos de interacción las diferencias en las μ de *C. raciborskii* y *P. agardhii* entre controles y tratamientos (cultivos mixtos) fueron analizadas mediante análisis de Varianza de 2 factores para muestras repetidas. Se tomaron como variable las tasas de crecimiento al día 2 y día 4 de los experimentos tanto en el cultivo control como tratamiento y se emplearon como factores la luz y la temperatura. Los datos presentaron normalidad pero no homocedasticidad por lo que fueron transformados con \sqrt{x} . Las comparaciones múltiples par a par se hicieron mediante el test de Fisher (MDS). Las diferencias entre los índices de invasibilidad de *C. raciborskii* fueron analizados mediante análisis de Varianza de 2 vías (luz y temperaturas como factores) y comparaciones múltiples mediante el test de Holm-Sidak. El ajuste de la tasa de crecimiento en función de la intensidad de luz utilizando el modelo sin inhibición de Jassby & Platt (1976) se realizó por el método de mínimos cuadrados con el programa Table Curve 2D (2.0). Los análisis estadísticos se hicieron mediante los programas, Statistica 8 y Sigmaplot 11.0.

Resultados

Efecto de la intensidad de la luz sobre el crecimiento de *C. raciborskii* y *P. agardhii*

Crecimiento

El máximo incremento de biomasa de *C. raciborskii* se alcanzó en el tratamiento de 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 4A) mientras que para *P. agardhii* el máximo incremento se alcanzó en el tratamiento de 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Fig. 4B). Ambas especies presentaron el mínimo incremento de biomasa a los 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En *C. raciborskii* las tasas de crecimiento μ (d^{-1}) variaron con las diferentes intensidades de luz (Anova $F_{5,20} = 38.45$ $p < 0.00$). Los crecimientos diarios (μ) mayores se dieron entre los tratamientos de 100 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 1). Por su parte la μ más baja se registró en el tratamiento de 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con diferencias significativas con el resto (Tabla 1). En el tratamiento de 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ hubo una disminución de μ situándose en el rango de las alcanzadas en los tratamientos de 20 a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y sin diferencias significativas con éstas, (Tabla 1), (Anova $F_{5,20} = 38.45$ $p > 0.05$, test de Holm-Sidak, anexo Tabla I). En *P. agardhii* las mayores μ se registraron en un amplio rango de luces comprendido entre 20 y 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y solo hubieron diferencias significativas entre 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y el resto de las luces (Anova $F_{5,19} = 19.42$ $p = 0.00$). Al igual que para *C. raciborskii* la menor μ se dio en el tratamiento de 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ siendo significativamente diferente al resto de las luces, (Tabla 1), (Anova $F_{5,19} = 19.42$, $p < 0.05$, test de Holm-Sidak, anexo Tabla III).

Tabla 1. Tasas de crecimiento máximas μ (d^{-1}) de *C. raciborskii* y *P. agardhii* en los diferentes tratamientos de luz. La luz promedio dentro de la botella (interna) se indica para cada tratamiento. Letras iguales, sin diferencias significativas entre las μ (Anova, $p > 0.05$).

Luz incidente ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	<i>C. raciborskii</i>		<i>P. agardhii</i>	
	Luz promedio interna ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	máxima μ (d^{-1})	Luz promedio interna ($\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	máxima μ (d^{-1})
170	144	0.48 ± 0.04 a	132	0.54 ± 0.16 a
135	100	0.68 ± 0.07 b	77	0.50 ± 0.02 a
100	79	0.69 ± 0.09 b	60	0.50 ± 0.05 a
60	36	0.54 ± 0.04 a	45	0.60 ± 0.03 a
20	17	0.47 ± 0.06 a	14	0.49 ± 0.08 a
5	4	0.15 ± 0.07 c	4	0.15 ± 0.04 b

Nota: luz promedio a la que se alcanzó μ (d^{-1}) corresponde al promedio de las luces internas de los frascos entre las 48 horas previas a la mayor μ .

De acuerdo a la curva de crecimiento ajustada con el modelo de Jassby & Plat (1976) para el gradiente lumínico ambas especies se comportaron en forma similar según los parámetros α e I_k (Tabla 2, Fig. 4). La μ max obtenida fue mayor en *C. raciborskii* con diferencias significativas con la de *P. agardhii* (Anova $F_{1,7} = 23.64$ $p = 0.00$), la intensidad de luz bajo la cual se alcanzó las μ max fue superior en *C. raciborskii* (Tabla 2).

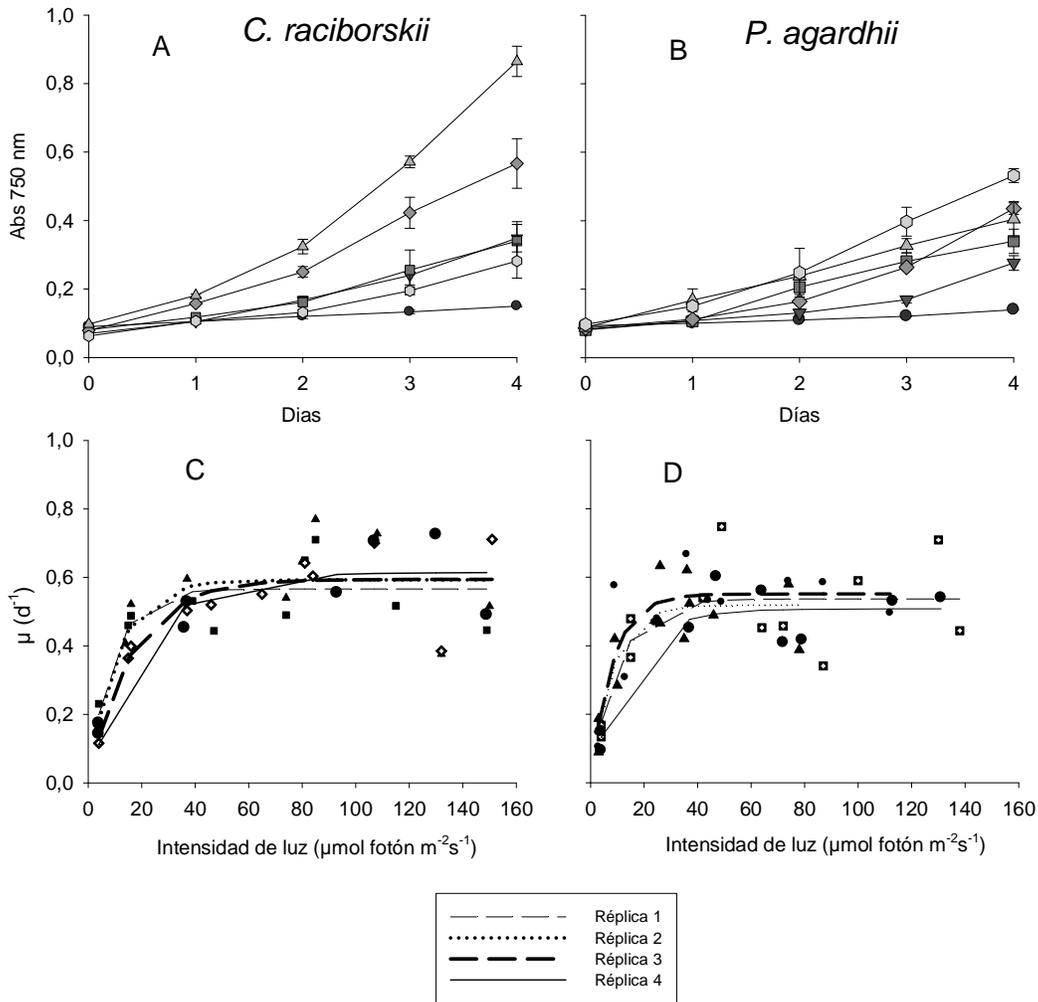


Figura 4. Curvas de acumulación de biomasa de: (A) *C. raciborskii* y (B) *P. agardhii* bajo diferentes intensidades de luz a 25 °C. Circulo negro = 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; triángulo negro = 20 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; cuadrado gris = 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; rombo gris = 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; triángulo gris = 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; hexágono gris = 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Tasas de crecimiento μ (d^{-1}) en respuesta al gradiente lumínico: (C) *C. raciborskii* y (D) *P. agardhii*. Rectángulo cerrado, línea con guiones = réplica 1; triángulo cerrado, línea punteada = réplica 2; rombo abierto, línea gruesa con guiones = réplica 3; círculo cerrado, línea continua = réplica 4.

Tabla 2. Parámetros de la curva crecimiento obtenidos del modelo ajustado para tasa de crecimiento en función del gradiente lumínico. Promedios \pm desvío estándar, n=4. Letras iguales, sin diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$).

Parámetro	<i>C. raciborskii</i>	<i>P. agardhii</i>
μ max (d^{-1})	0.60 \pm 0.02 a	0.53 \pm 0.01 b
α (d^{-1} μ mol fotón $^{-1}$ m 2 s)	0.08 \pm 0.03 c	0.11 \pm 0.02 c
I_k (μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$)	8.3 \pm 3 d	5.2 \pm 1.2 d
Intensidad de luz a la cual se alcanzó la μ max (μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$)	85	49

Atributos morfológicos

En *C. raciborskii* el largo, el ancho y el volumen de los filamentos se incrementaron en forma positiva con el aumento de la intensidad de luz. El volumen máximo de los filamentos ocurrió en el tratamiento de 135 μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$, mientras que la relación superficie/volumen (S/V) presentó una tendencia inversa y disminuyó con el incremento de la intensidad de luz (Fig. 5). *C. raciborskii* presentó diferencias en el Δ (atributo) entre varios tratamientos (Δ Largo $H_{5,540} = 41.75$; Δ Ancho $H_{5,540} = 195.08$; Δ S/V $H_{5,540} = 211.86$; Δ Volumen $H_{5,540} = 59.91$ $p < 0.00$ para todos, anexo Tabla IVa) (Tabla 3). En anexo (Figs. I y II) se muestra el aspecto que presentaron los filamentos de *C. raciborskii* a 135 μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$ y 25 °C. No se observó la formación de acinetes en ningún tratamiento. En *P. agardhii* el largo y el volumen máximo de los filamentos ocurrieron en el tratamiento a 60 μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$ (Fig. 5). La relación S/V presentó similitud entre los tratamientos a diferentes intensidades lumínicas sin un claro patrón de variación. Existieron diferencias entre Δ (atributo) en varios tratamientos de luz (Δ Largo $H_{5,540} = 33.61$; Δ Ancho $H_{5,540} = 45.87$; Δ S/V $H_{5,540} = 52.70$; Δ Volumen $H_{5,540} = 42.40$ $p < 0.00$ para todos, anexo Tabla IVb), siendo el ancho el atributo más estable (Tabla 3). En anexo (Figs. III y IV) se muestran el aspecto que presentaron los filamentos de *P. agardhii* a 60 μ mol fotón m $^{-2}$ s $^{-1}$ y 25 °C.

C. raciborskii mostró tener mayor amplitud de cambio en sus atributos morfológicos y por lo tanto una mayor variabilidad que *P. agardhii*. En *C. raciborskii* el largo y el volumen de los filamentos fueron los más variables, mientras que en *P. agardhii* la relación S/V fue el atributo más estable (Fig. 5 y 6).

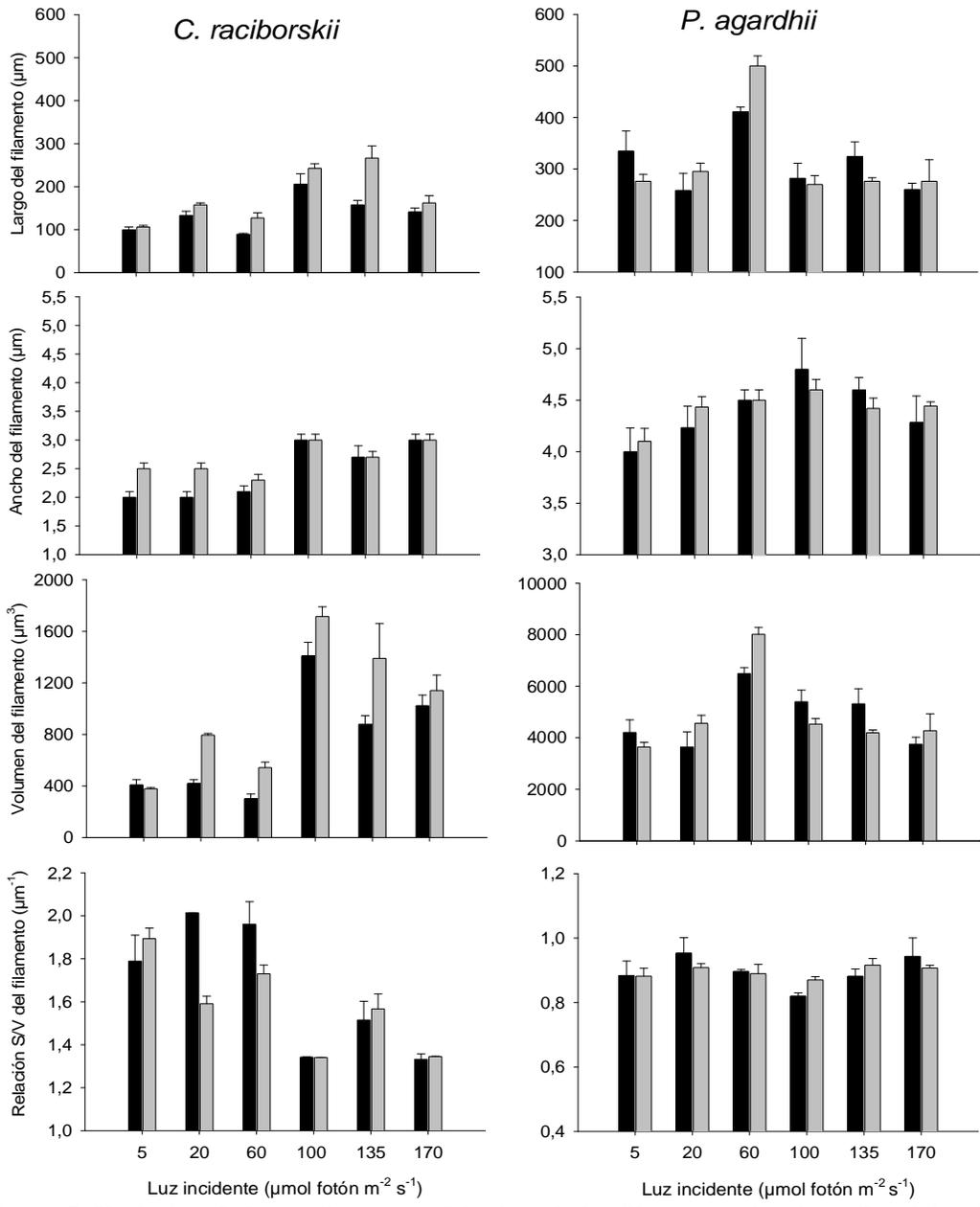


Figura 5. Variación de los atributos morfológicos de los filamentos de: *C. raciborskii* y *P. agardhii* (barras negras = tiempo inicial; barras grises = tiempo final) bajo diferentes intensidades de luz. Los gráficos de Volumen y S/V se presentan en diferentes escalas para cada especie, (n=3).

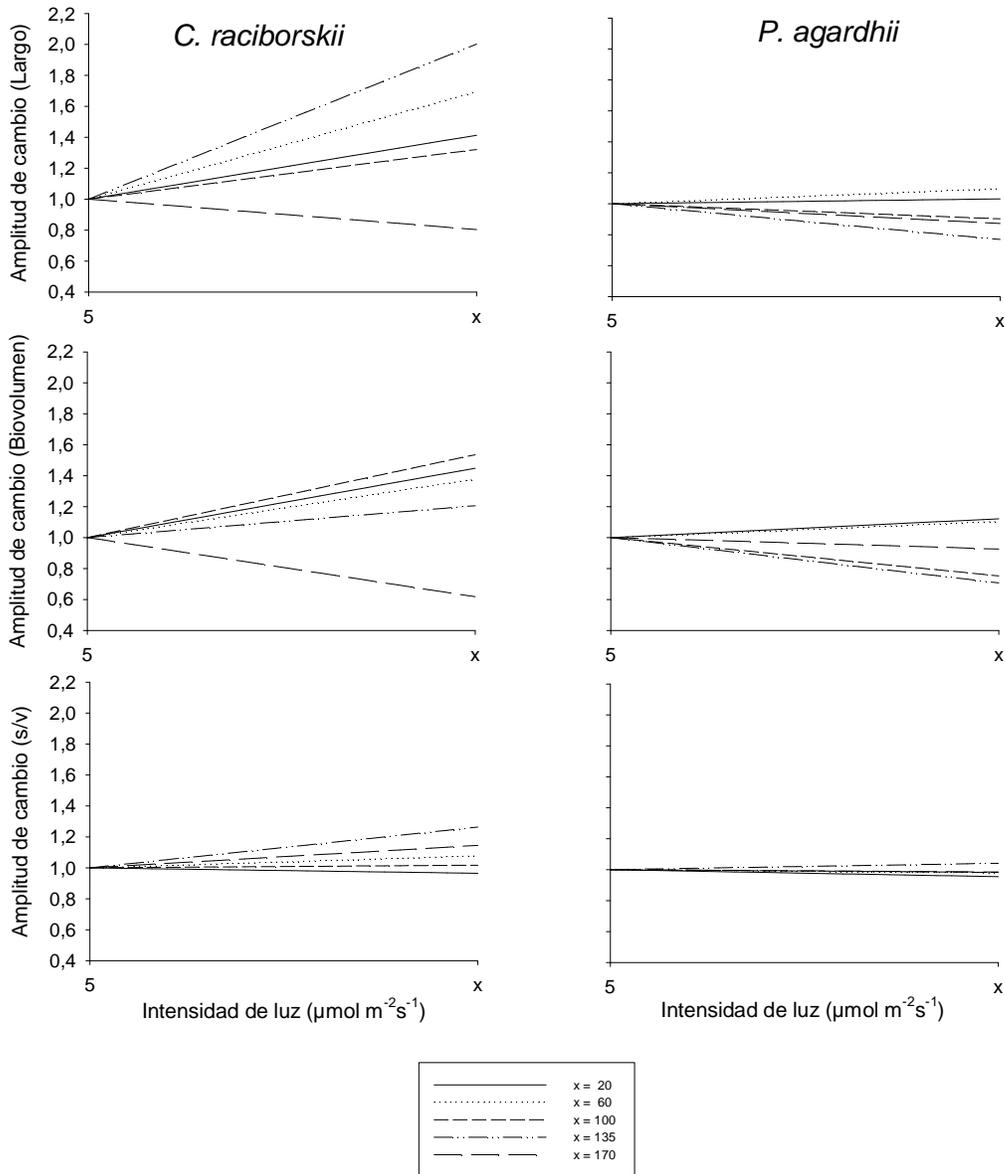


Figura 6. Amplitud de cambio de los atributos morfológicos de los filamentos de *P. agardhii* y *C. raciborskii* en relación al tratamiento de menor luz con las otras intensidades de luz (x) a 25 °C. Las diferentes líneas indican los tratamientos de luz en $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (ver recuadro abajo de gráficos).

Tabla 3. Rasgos morfológicos para los que se encontraron diferencias significativas en el Δ (atributo) de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes tratamientos de luz. Test de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples ($p < 0.05$), (L = largo del filamento; A = ancho; V = volumen; S/V = relación superficie/volumen; ns = sin diferencias significativas en ningún atributo). Ver anexo Tabla IIIa IIIb.

<i>C. raciborskii</i>					
Tratamiento de luz ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	20	60	100	135	170
5	A, S/V, V	L, A, S/V, V	A, V	L, A, V	ns
20		A, S/V	S/V,	L, A, S/V,	A, S/V
60			A, S/V,	A, S/V, V	S/V
100				L, A	A, V
135					L, A, V
<i>P. agardhii</i>					
Tratamiento de luz ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	20	60	100	135	170
5	L, V	L, V	A, S/V,	ns	V
20		ns	L, A, S/V, V	L, A, S/V, V	ns
60			L, A, S/V, V	V	ns
100				ns	A, S/V, V
135					A, S/V, V

Interacción entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes intensidades de luz a 25 °C

A la intensidad de luz de 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en ambas especies se registraron las μ más bajas tanto en los cultivos controles (monoespecíficos) como en los tratamientos (cultivos mixtos). Se registró diferencia significativa en la μ entre el control de *C. raciborskii* y tratamiento al inicio del experimento a la intensidad de luz de 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anova medidas repetidas, $p < 0.05$, Tabla 4, test de Fisher MDS, anexo Tabla Va). A esta intensidad de luz, al comienzo del experimento, el cultivo control registró una μ superior al tratamiento la cual decayó hacia el tiempo final, mientras que en el tratamiento la μ se mantuvo constante y superando al control hacia el final del experimento. Para el caso de *P. agardhii* se registró una diferencia significativa en la μ entre el control y tratamiento hacia el final del experimento a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anova medidas repetidas, $p < 0.05$, Tabla 4, test de Fisher MDS, anexo Tabla Vb). A esta intensidad lumínica el cultivo control decayó en su crecimiento hacia el final del experimento mientras que el tratamiento se mantuvo constante en el tiempo. Hubo interacción entre los factores, (Anova medidas repetidas $p < 0.05$, Tabla 4).

Tabla 4. Anova de medidas repetidas experimento de interacción *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de luz a 25 °C. * = diferencias significativas (p < 0.05).

Factores	F	p
Cultivos	F _{6,46} = 1.52	0.19
Luz	F _{4,46} = 56.04	< 0.00 *
Interacción Cultivos - Luz	F _{12,46} = 2.96	< 0.00 *

Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *C. raciborskii* y *P. agardhii* a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Crecimiento

En *C. raciborskii* tanto el máximo incremento de biomasa como la mayor μ se dieron a 25 °C y a la intensidad lumínica de 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. A los 20 y 15 °C hubo un descenso tanto en el crecimiento como en la μ en ambas intensidades de luz, (Fig. 7 y 8). Se registraron diferencias significativas en las μ entre los diferentes tratamientos de temperatura, (Anova 2 vías, p < 0.05, Tabla 5, test de Holm-Sidak anexo Tabla VI). En *P. agardhii* el máximo incremento de biomasa se dio a los 25 °C en ambos tratamientos de luz (Fig. 7). La mayor μ ocurrió a los 25 °C, mientras que la mínima a los 15 °C tanto a 60 como 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (Fig. 8). Hubieron diferencias significativas en las μ entre las diferentes temperaturas, (Anova 2 vías, p < 0.00, Tabla 5, test de Holm-Sidak anexo Tabla VI). Entre ambas especies hubieron diferencias significativas en la μ a 20 y 25 °C a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anova 2 vías, p < 0.00, Tabla 6, a 20 °C test de Holm-Sidak = 4.55 p < 0.00 y 25 °C test de Holm-Sidak = 2.32 p = 0.04) las que fueron superiores en *P. agardhii*. También hubo diferencias significativas entre ambas especies a 25 °C y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Anova 2 vías, p < 0.00, Tabla 6, test de Holm-Sidak = 2.75 p = 0.02) la que fue superior en *C. raciborskii* (Fig. 8).

Q₁₀

Los valores de Q₁₀ entre 15 - 25 °C más altos se obtuvieron a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para ambas especies. A esta intensidad de luz el valor Q₁₀ fue mayor en *C. raciborskii* (6.2) que para *P. agardhii* (5.5). Mientras que a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ el valor de Q₁₀ fue mas bajo y similar en entre ambas especies (3.4 y 3.3 para *C. raciborskii* y *P. agardhii* respectivamente)

Tabla 5. Anova de 2 vías para los experimentos unialgales de variaciones de temperatura (15, 20, 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0.05$).

<i>C. raciborskii</i>		
Factores	F	p
Luz	$F_{1,17} = 12.42$	0.00 *
Temp	$F_{2,17} = 59.78$	< 0,00 *
Interacción Luz - Temp	$F_{2,17} = 3.32$	0.07
<i>P. agardhii</i>		
Factores	F	p
Luz	$F_{1,19} = 6.78$	0.02*
Temp	$F_{2,19} = 82.47$	0.00 *
Interacción Luz - Temp	$F_{2,19} = 0.04$	0.96

Tabla 6. Anova de 2 vías, cepas de *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de temperaturas (15, 20, 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0.05$).

60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$		
Factores	F	p
Cepas	$F_{1,19} = 20.23$	< 0.00*
Temp	$F_{2,19} = 24.12$	0.00*
Interacción Cepas - Temp	$F_{2,19} = 3.53$	0.06
135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$		
Factores	F	p
Cepas	$F_{1,19} = 1.17$	0.30
Temp	$F_{2,19} = 116.66$	< 0.00 *
Interacción Cepas - Temp	$F_{2,19} = 3.66$	0.05

Atributos morfológicos

En *C. raciborskii* a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ tanto el largo como el volumen máximo de los filamentos ocurrieron a los 15 °C con disminución hacia los 25 °C (Fig. 9). El ancho de los filamentos por su parte varió entre 2.00 y 2.80 μm y la S/V estuvo entre 1.39 y 2.02 μm^{-1} . A 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, el largo y el volumen de los filamentos se incrementaron con la temperatura alcanzando los máximos a los 25 °C. (Fig. 9). El ancho de los filamentos se incremento con la temperatura y varió entre 2.20 y 2.80 μm mientras que la S/V estuvo comprendida entre 1.44 y 1.84 μm^{-1} . A 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se encontraron diferencias entre algunas temperaturas en el Δ (atributo) (Tabla 7). Para el caso de 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ los atributos que difirieron fueron el (Δ Ancho $H_{2,270} = 38.33$ $p < 0.00$; Δ S/V $H_{2,270} = 55.65$ $p < 0.00$; Δ Volumen $H_{2,270} = 7.34$ $p = 0.03$, anexo Tabla VIIa). Hubo una tendencia al incremento del Δ Ancho y Δ Volumen con la temperatura en donde los mayores aumentos se dieron a los 25 °C. A 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ todos los atributos difirieron con los cambios de temperaturas (Δ Largo $H_{2,270} = 52.64$ $p < 0.00$; Δ Ancho $H_{2,270} = 32.49$ $p < 0.00$; Δ S/V $H_{2,270} = 35.05$ $p < 0.00$; Δ Volumen $H_{2,270} = 15.56$ $p = 0.00$, anexo Tabla VIIb). Al igual que en la luz anterior, los mayores incrementos de los Δ (atributo) se dieron a los 25 °C y correspondieron al

Δ Largo y Δ Volumen. No se observó la formación de acinetes en ninguna temperatura experimental.

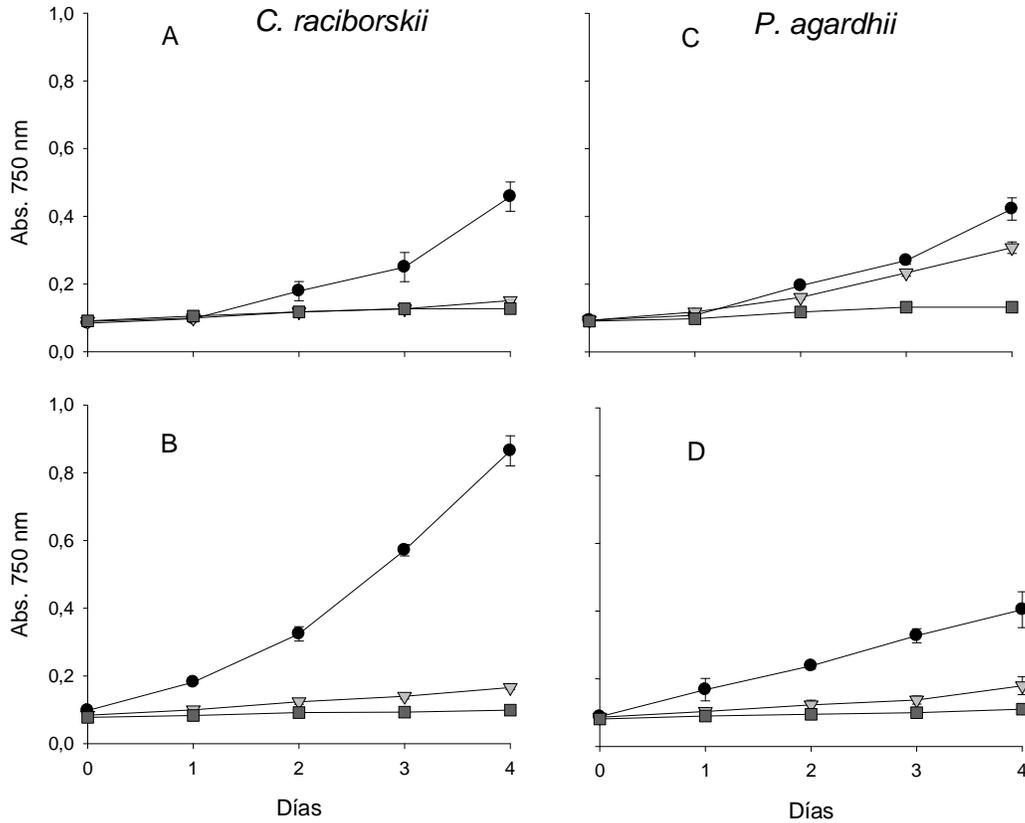


Figura 7. Curvas de acumulación de biomasa de *C. raciborskii* bajo diferentes temperaturas, (A) 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; (B) 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y *P. agardhii*, (C) 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; (D) 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (círculo negro = 25 °C; triángulo gris = 20 °C; cuadrado gris oscuro = 15 °C).

En *P. agardhii* a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ el largo y el volumen de los filamentos se incrementaron con la temperatura alcanzando el máximo a los 25 °C, (Fig. 9). El ancho de los filamentos varió entre 4 y 4.5 μm y la S/V entre 0.89 y 0.91 μm^{-1} siendo éstos los atributos más estables. En el tratamiento de 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ el máximo largo de los filamentos ocurrió a los 20 °C, mientras el volumen máximo fue a los 25 °C. (Fig. 9). El ancho de los filamentos estuvo comprendido entre 4.0 y 4.7 μm mientras que la S/V lo fue entre 0.86 y 1.00 μm^{-1} . A 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ no hubieron variaciones significativas estadísticamente en el Δ (atributo) con los cambios de temperaturas (Δ Largo $H_{2,270} = 38.33$ $p = 0.06$; Δ Ancho $H_{2,270} = 0.49$ $p = 0.78$; Δ S/V $H_{2,270} = 55.08$ $p = 0.76$; Δ Volumen $H_{2,270} = 47.44$ $p = 0.07$). A 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ el incremento de la intensidad lumínica si promovió variaciones significativas en los Δ (atributo) con las distintas temperaturas (Δ Ancho $H_{2,270} = 36.06$ $p < 0.00$; Δ S/V $H_{2,270} = 34.02$ $p < 0.00$;

Δ Volumen $H_{2,270} = 10.00$ $p = 0.00$, anexo Tabla VIIc) (Tabla 7). Hubo una tendencia al incremento del Δ (atributo) con el aumento de la temperatura, los mayores incrementos se dieron a los 25 °C y correspondió al Δ Volumen. Se observó la presencia de vaina mucilaginosa rodeando a los filamentos a la temperatura de 15 °C y $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ así como la formación de matas de filamentos a esta temperatura, anexo (Figs. V y VI).

Tabla 7. Cambios significativos en los Δ (atributo) morfológicos de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes tratamientos de temperatura a 60 y $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (test de Kruskal-Wallis y comparaciones múltiples, $p < 0.05$), L = largo del filamento; A = ancho; V = volumen; S/V = relación superficie/volumen; ns = sin diferencias significativas en ningún atributo. Ver anexo Tablas VIIa, VIIb, VIIc

	$60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$		$135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$	
	20 °C	25 °C	20 °C	25 °C
<i>C. raciborskii</i>				
15 °C	ns	A, V, S/V, V	15 °C	A, S/V
25 °C	A, V, S/V		25 °C	A, L, V
<i>P. agardhii</i>				
15 °C	ns	ns	15 °C	A
25 °C	ns		25 °C	A, S/V, V

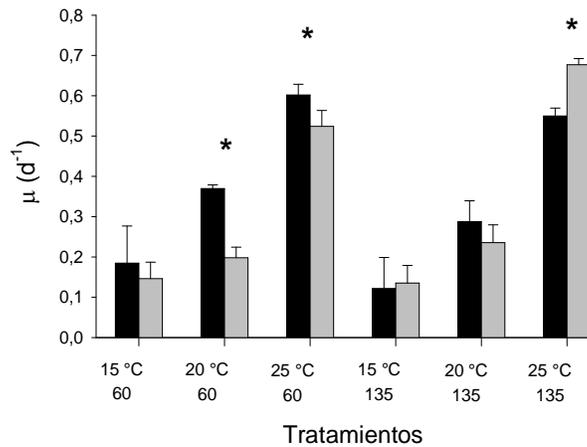


Figura 8. Tasas de crecimiento (μ) de *C. raciborskii* y *P. agardhii* en las tres temperaturas y a 60 y $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Barras negras = *P. agardhii*; barras grises = *C. raciborskii*. * indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos de *P. agardhii* y *C. raciborskii*, Anova 2 vías, test de Holm-Sidak.

Interacción entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* a 15, 20 y 25 °C e intensidad lumínica de 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$

En ambas especies las mínimas μ de los controles y de los tratamientos ocurrieron tanto del cultivo control como del tratamiento ocurrieron a la temperatura de 15 °C en ambas intensidades de luz. En el experimento de variaciones de temperatura a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se registraron diferencias significativas en las μ de *C. raciborskii* entre los controles y los tratamientos (cultivos mixtos) al tiempo inicial (0) de los experimentos a 20 y 25 °C. A 20 °C el crecimiento fue más alto en el tratamiento, mientras que a 25 °C lo fue en el cultivo control (Tabla 8), (Test de Fisher MDS, anexo Tabla VIIIa). Se registraron diferencias significativas entre las μ de los controles de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 °C (Anova $F_{1,5} = 9.61$ $p = 0.04$) y 20 °C (Anova $F_{1,5} = 7.60$ $p = 0.05$) siendo superiores en *P. agardhii* (Fig. 10). También existieron diferencias significativas entre las μ de los tratamientos de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 °C (Anova $F_{1,5} = 18.48$ $p = 0.013$) y 25 °C (Anova $F_{1,5} = 11.59$ $p = 0.027$) que fueron superiores en *P. agardhii*, (Fig. 10). Para el experimento de variaciones de temperatura a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se registraron diferencias significativas en la μ entre el control y el tratamiento de *P. agardhii* al final en el experimento a 25 °C donde el crecimiento fue más alto en el tratamiento (Tabla 8), (Test de Fisher MDS, anexo Tabla VIIIb). Hubo interacción entre los factores en ambas intensidades de luz (Tabla 8).

Tabla 8. Anova de medidas repetidas para el experimento de interacción *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de temperatura (15, 20 y 25 °C) a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tratamiento de luz a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$	F	p
Cultivos	$F_{6,44} = 7.53$	< 0.00 *
Temperatura	$F_{4,44} = 25.88$	< 0.00 *
Interacción Cultivos –Temperatura	$F_{12,44} = 4.48$	< 0.00 *
Tratamiento de luz a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$		
Cultivos	$F_{6,44} = 4.99$	< 0.00 *
Temperatura	$F_{4,44} = 39.98$	< 0.00 *
Interacción Cultivos –Temperatura	$F_{12,44} = 1.99$	< 0.04 *

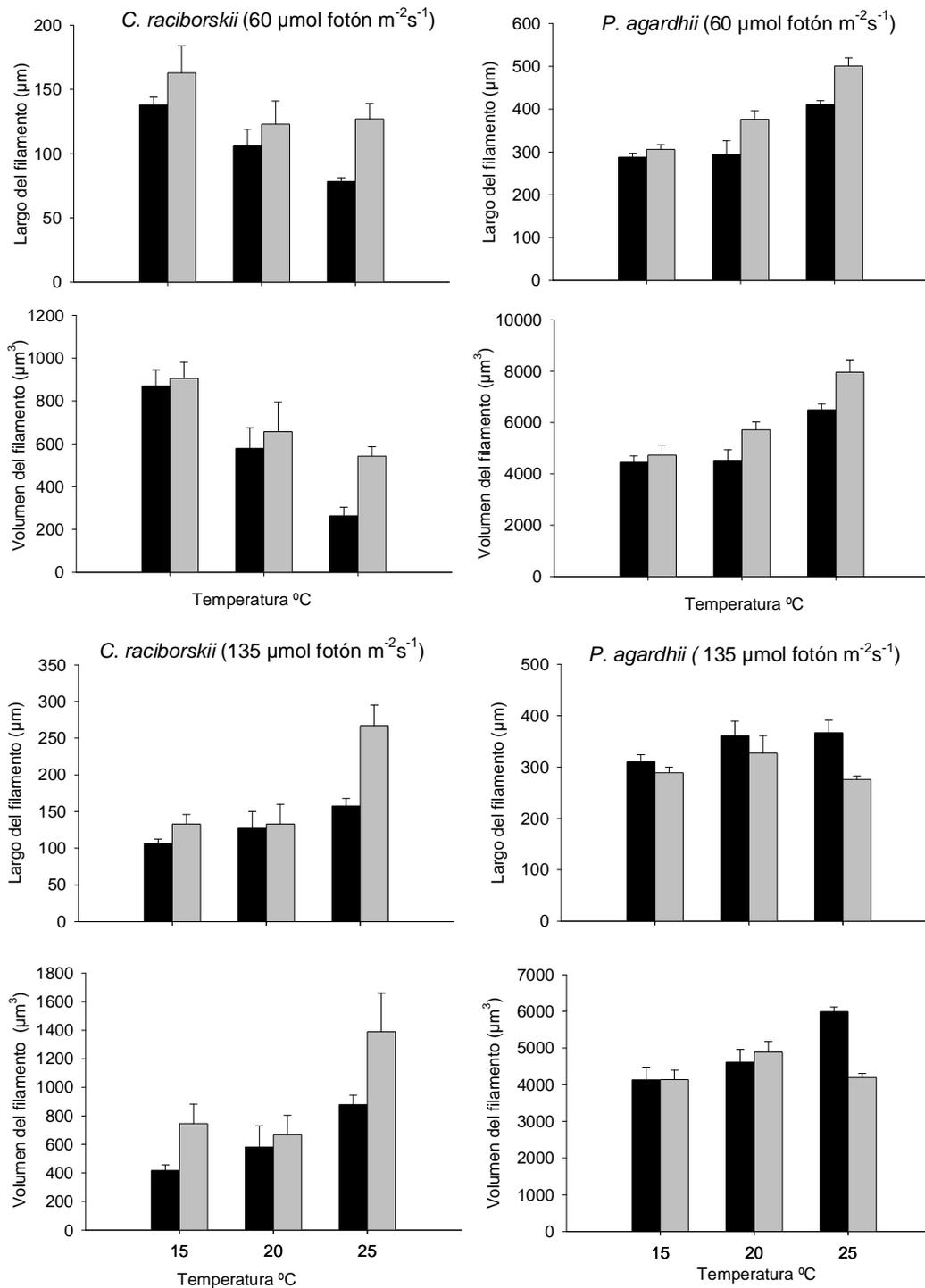


Figura 9. Variaciones del Largo (μm) y Volumen (μm^3) de los filamentos de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes temperaturas a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (barras negras = tiempo inicial; barras grises = tiempo final). Notar diferentes escalas de los atributos entre ambas especies, (n=3).

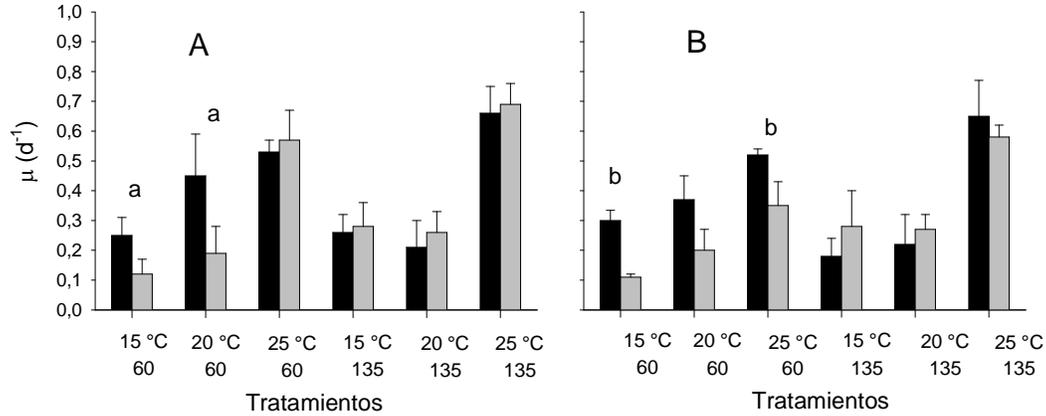


Figura 10. Tasas de crecimiento (μ) de *C. raciborskii* y *P. agardhii* bajo diferentes temperaturas a 60 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$ y 135 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$. (A) controles monoespecíficos, (B) tratamientos interacción. (barras negras = *P. agardhii*; barras grises = *C. raciborskii*). Se destacan las diferencias significativas (Anova, $p < 0,05$) entre: (a) controles de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 y 20 °C y (b) tratamientos de *P. agardhii* y *C. raciborskii* a 15 y 20 °C.

Índice de invasibilidad

C. raciborskii presentó capacidad de invasibilidad positiva en todas las situaciones experimentales de luz y temperatura en los experimentos de interacción. Además, se registraron diferencias significativas en el índice de invasibilidad entre los tratamientos de luz y de temperatura pero no se encontró interacción entre los factores. (Tabla 9). El índice de invasibilidad tuvo diferencias significativas entre los 15 y 25 °C (Anova 2 vías, test de Holm-Sidak = 8.96 $p < 0.00$) y entre 20 y 25 °C (Anova 2 vías, test de Holm-Sidak = 8.12 $p < 0.00$). El aumento de la intensidad lumínica promovió un incremento en el índice de invasibilidad con diferencias significativas (Anova 2 vías test, de Holm-Sidak = 6.48 $p < 0.00$) (Fig. 11), (Tabla 9). Hubieron diferencias significativas entre las distintas intensidades de luz a 25 °C (Anova $F_{2,8} = 141.12$ $p < 0.00$, entre 5 y 60 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$ test de Holm-Sidak = 8.71 $p < 0.00$; entre 5 y 135 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$ test de Holm-Sidak = 16.80 $p < 0.00$; entre 60 y 135 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$ test de Holm-Sidak = 8.09 $p < 0.00$) (Fig. 11).

Tabla 9. Anova de 2 vías experimento de invasibilidad de *C. raciborskii* y *P. agardhii* (15, 20 y 25 °C) a 60 y 135 $\mu mol\ fot\acute{o}n\ m^{-2}s^{-1}$. * = diferencias significativas ($p < 0.05$).

Factores	F	p
Luz	$F_{1,17} = 42.01$	< 0.00 *
Temperatura	$F_{2,17} = 48.97$	< 0.00 *
Interacción Luz-Temperatura	$F_{2,17} = 2.30$	0.14

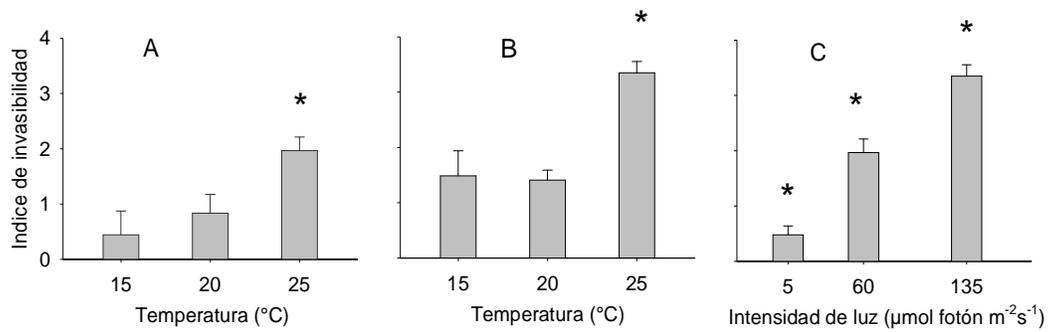


Figura 11. Índice de invasibilidad de *C. raciborskii* en experimentos de variación de temperatura (A = 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$; B = 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y de luz (C = 25 °C). (*) indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Discusión

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron comparar la capacidad de crecimiento de *C. raciborskii* y *P. agardhii* dentro de un rango de intensidades de luz y temperaturas y establecer que ambas especies difirieron en su plasticidad fenotípica, lo que puede tener consecuencias para su dispersión en un contexto de cambio climático.

Respuestas frente a cambios en la intensidad de luz

Los parámetros de crecimiento μ , α e I_k obtenidos en ambas especies indican que son similares funcionalmente y podrían crecer en los mismos hábitats lumínicos. En el caso de *C. raciborskii* el valor de I_k obtenido ($8.3 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) fue inferior a los calculados por otros autores. Shafik et al. (2001) obtuvo valores entre 22 - 26 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, Briand et al. (2004) encontró valores de I_k entre 15 - 26 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, mientras que Fabre (2011) empleando la cepa uruguaya MVCC19 registró un valor de I_k de 39 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. *C. raciborskii* presenta variaciones en el I_k entre cepas indicando diferentes tolerancias intraespecíficas a la baja intensidad de luz. En el caso de nuestra cepa corresponde con el de aquellas especies con ecoestrategia de sombra (Padisák & Reynolds, 1998). Las variaciones que presenta *C. raciborskii* depende tanto del ambiente como de la adaptación a las condiciones locales de las cepas (Piccini et al., 2011). La μ_{max} de *C. raciborskii* obtenida en nuestro trabajo (0.60 d^{-1}) fue menor a la registrada por Fabre (2011) con la cepa (MVCC19) de (1.8 d^{-1}) lo que indicaría diferencias fisiológicas en el comportamiento frente a la luz entre distintas cepas (Piccini et al., 2011). La tasa máxima de este estudio también fue diferente a lo reportado por otros autores (Shafik et al., 2001; Menhert et al., 2010) trabajando con *C. raciborskii* entre otras cianobacterias Nostocales. Nuestros datos estuvieron dentro del rango de tasas de crecimiento obtenidos por Briand et al. (2004). Este autor empleando un amplio rango de intensidades lumínicas entre 30 - 400 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y cepas de diferentes latitudes obtuvieron las máximas μ entre 0.4 - 0.8 d^{-1} . En nuestro estudio se encontró una disminución en el crecimiento de *C. raciborskii* a 170 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, lo que coincidiría con lo reportado en otros trabajos. Por ejemplo, Saker et al. (1999) encontraron inhibición en el crecimiento en una cepa australiana de *C. raciborskii* a una intensidad lumínica de 165 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ mientras que Bittencourt-Oliveira et al. (2012) trabajando con dos morfotipos (curvo y espiralado), encontraron que ninguno

toleró intensidades de crecimiento superiores a $130 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Sin embargo, otros trabajos muestran efectos negativos de la luz solamente a intensidades superiores. Por ejemplo Fabre (2011) registró una disminución significativa del crecimiento a $350 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en la cepa MVCC19, mientras que Vårkonyi et al. (2000) observaron inhibición de la fotosíntesis a $1000 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La intensidad de luz de fotoinhibición de la fotosíntesis es una característica propia de cada cepa, lo que afecta consecuentemente el crecimiento. *C. raciborskii* presenta flexibilidad fenotípica que le permite aclimatarse a los cambios en la intensidad lumínica de forma de optimizar la captación de luz y crecer mejor a intensidades de luz más altas (Wu et al., 2009, Bonilla et al., 2012), características que fueron observadas en éste trabajo. De acuerdo a nuestros resultados *C. raciborskii* sería una especie de sombra como previamente fue señalado por otros autores (Padisák & Reynolds, 1998).

En *P. agardhii* el valor de I_k ($5,2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) fue inferior al registrado en *C. raciborskii* y se corresponde con el de aquellas especies tolerantes a la baja luz, con ecoestrategia de sombra (Padisák & Reynolds, 1998). Contrariamente, las especies con ecoestrategia de luz alta como *Synechococcus* sp., *Dolichospermum* spp. tienen por ejemplo valores de I_k uno o dos ordenes de magnitud superiores como $52 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Shafik et al., 2001) o $155 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Coles & Jones, 2000). El máximo crecimiento de *P. agardhii* lo obtuvimos a los $49 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ siendo similar a la encontrada por Da Silva (2009) para una cepa de Brasil ($40 - 50 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$). En nuestro trabajo la máxima tasa de crecimiento fue de $0,53 \text{ d}^{-1}$ mientras que en el citado trabajo fue de $0,25 \text{ d}^{-1}$ por lo que nuestra cepa tendría un crecimiento superior a la misma intensidad de luz que la cepa brasilera. En nuestro estudio solamente se encontró limitación en el crecimiento a $5 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Dicho comportamiento estaría en concordancia con la tolerancia que presenta *P. agardhii* a la baja intensidad de luz, característica ésta que le permite crecer en ambientes turbios, con baja penetración de ese recurso (Huisman & Hulot, 2005). Además, no encontramos una disminución del crecimiento en la máxima intensidad de luz de $170 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ como fue encontrado por Da Silva (2009) a partir de $90 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Nuestros resultados concuerdan con las características de crecimiento que presenta *P. agardhii* en la naturaleza en donde puede crecer tanto en zonas con altos niveles de irradiación (Oberhaus et al., 2007) como en condiciones de bajas intensidades de luz (Reynolds, 1994). Se ha planteado que las cianobacterias tienen mayor tolerancia a la variación de intensidades lumínicas que las algas eucariotas

(Chorus & Bartram, 1999) y estarían mejor adaptadas evolutivamente a ambientes con baja intensidad de luz (Schwaderer et al., 2011). Estas obtienen eficientemente energía a baja intensidad de luz por lo que se pueden desarrollar en ambientes con baja disponibilidad de este recurso (Oliver & Ganf, 2002). Esta característica explicaría la capacidad de crecimiento de *P. agardhii* a bajas intensidades de luz, por lo que concuerda con una ecoestrategia de sombra (Padisák & Reynolds, 1998). Al comparar la respuesta del crecimiento de ambas especies con respecto a las variaciones en la intensidad de luz, podemos remarcar que *C. raciborskii* presentó un mayor crecimiento que *P. agardhii* a altas intensidades lumínicas. Por el contrario *P. agardhii* creció mejor a bajas intensidades de luz, apoyando el modelo del tercer estado estable de Scheffer (et al 1993). Estos resultados apoyan la primera parte de la **Hipótesis 1** planteada para el crecimiento de ambas especies.

Ambas especies presentaron variaciones significativas en caracteres morfológicos (largo, volumen, ancho o relación S/V) frente a cambios en la intensidad lumínica, pero con diferencias en la respuesta entre ellas. En *C. raciborskii* la morfología se vio modificada en el largo y en el ancho alterando la relación S/V. Esta relación tiene influencia en la captación de luz y de nutrientes (Lewis, 1976; Reynolds, 1984). A baja intensidad lumínica, los organismos con mayor relación S/V tienen mayor exposición pigmentaria lo que facilita la captación energética (Reynolds, 1984). Esto implica una alta superficie de intercambio y de captación de luz por parte de los tilacoides optimizando estos procesos. Por el contrario, a altas intensidades de luz, una relación S/V baja implica menor riesgo de sobre-exposición del aparato fotosintetizador y daño celular (Walters, 2005). Además los organismos presentan plasticidad morfológica, por lo que de acuerdo a las condiciones preponderantes, pueden modificar el tamaño y por ende la relación S/V. En este sentido, nosotros observamos un incremento en la relación S/V hacia las luces bajas y una disminución hacia las altas. Estos resultados evidencian la plasticidad fenotípica de *C. raciborskii* y su capacidad de aclimatación aun en un corto plazo (4 días) ante cambios de intensidad de luz, lo que sería un factor clave para poder explicar la capacidad que tiene la especie de colonizar diferentes ambientes (Bouvy et al., 1999; Shafik et al., 2003; Bonilla et al., 2012). Dicha propiedad puede conferir a la especie una ventaja en la captación de recursos para la colonización y explotación de diferentes hábitat (Litchman, 2010). *C. raciborskii* presenta ecotipos que podrían estar adaptados a las diferentes condiciones ambientales propias de cada

ecosistema. La existencia de ecotipos con diferentes tolerancias ambientales (Piccini et al., 2011) explicaría su amplia distribución y expansión recientes en diferentes ambientes (Bonilla et al., 2012). Piccini et al. (2011) demostraron que las cepas MVCC19 empleada por Fabre et al. (2011) y la MVCC14 (utilizada en este trabajo), provenientes de la misma región geográfica, corresponden a ecotipos diferentes, lo que explicaría las diferencias encontradas entre ambas cepas, por ejemplo, en las tasas de crecimiento o en el I_k . En el caso de *P. agardhii* la variación morfológica fue menor que en *C. raciborskii*. El tamaño de los filamentos fue máximo a los 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ resultado similar al obtenido por Da Silva (2009) en el cual el tamaño máximo de los filamentos de esta especie se alcanzó en el rango de luces de entre 40 - 50 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La “estabilidad” morfológica que presenta *P. agardhii* implicaría que la especie presenta menor plasticidad fenotípica que *C. raciborskii*, lo que explicaría su comportamiento y ocurrencia en la naturaleza (Bonilla et al., 2012). *P. agardhii* y *C. raciborskii* difirieron en su plasticidad morfológica siendo *P. agardhii* la especie fenotípicamente “menos plástica” en algunos rasgos. Por lo tanto, de acuerdo a nuestros resultados se cumple la segunda parte de la **Hipótesis 1** planteada para la variación en los rasgos morfológicos.

La respuesta frente a cambios de temperatura

Nuestros resultados mostraron que ambas especies se comportaron de modo similar ante los cambios de temperatura, con un mínimo crecimiento a 15 °C y un máximo a los 25 °C. Para el caso de *C. raciborskii* estudios anteriores han reportado temperaturas óptimas de crecimiento por encima de los 25 °C (Padisák, 1997) o entre 29 y 31 °C en estudios de laboratorio (Briand et al., 2004). Shafik et al. (2001) reportó tasas de crecimiento máximas a 30 °C y mínimas a 20 °C. Trabajos realizados con cepas originarias de Japón mostraron tener un óptimo de crecimiento entre 30 - 35 °C y un crecimiento bueno a moderado entre los 15 - 17 °C (Chonudomkul et al., 2004). Nuestra cepa creció a 15 °C y la tasa determinada fue mayor a la obtenida por Chonudomkul et al. (2004) en un estudio con 24 cepas originarias de Tailandia y Japón (0.01 – 0.1 d^{-1}). La capacidad de tolerar diferentes temperaturas y desarrollar biomásas elevadas ha sido constatada en ambientes naturales en diversas regiones geográficas del planeta. Por ejemplo, Tucci & Sant’Anna (2003) reportaron a *C. raciborskii* en una densidad de $2.1 \times 10^5 \text{ cel ml}^{-1}$ al inicio del verano en un lago urbano de Brasil (Lago das Garças), en

un período donde la temperatura del agua osciló entre 13 - 27 °C. Briand et al. (2002) también encontraron concentraciones altas de *C. raciborskii* ($\sim 2.0 \times 10^6$ fil mL^{-1}) en el período estival (21 - 26 °C) en un lago en Francia. Berger et al. (2006), estudiando la comunidad fitoplanctónica en un lago en Senegal, encontraron dominancia de *C. raciborskii* (41,3 % del total del fitoplancton y picos del 58.3 %, del total de la biomasa) en un periodo donde la temperatura estuvo entre 20 y 30.3 °C. En un lago subtropical (Argentina) Zalocar et al. (1998) reportó a *C. raciborskii* dominando la biomasa fitoplanctónica a temperaturas superiores a los 20 °C y una declinación de la población por debajo de esa temperatura en invierno, pero permaneciendo filamentos y acinetes como un inóculo potencial sobre el sedimento. También *C. raciborskii* fue dominante en un lago tropical en Brasil durante todo un año y alcanzando un biovolumen del 70 % del fitoplancton, en donde la temperatura del agua estuvo entre 17.2 y 24.1 °C, (Figueredo & Giani, 2009). Por otro lado, en estudios de campo en lagos eutrofizados de Uruguay se ha encontrado a *C. raciborskii* en temperaturas de ~ 11 °C (Lago Javier, Canelones) (Fabre et al., 2010). En este sistema la especie alcanzó una biomasa de $2.2 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$ lo que representó el 95 % del biovolumen total del fitoplancton (Bonilla et al., 2012). Dicho reporte constituye la temperatura más baja a la que se ha encontrado a *C. raciborskii* dominando la comunidad con un alto biovolumen (Bonilla et al., 2012). En otro trabajo se ha reportado concentraciones altas de *C. raciborskii* del orden de los 8.0×10^4 cel mL^{-1} a una temperatura de 19 °C (Everson et al., 2011) en Australia. Sin embargo Tucci & Sant'Anna (2003) reportaron la desaparición de *C. raciborskii* de la columna de agua durante el otoño e invierno en el Lago das Garças (Brasil). Nuestros resultados experimentales sugieren que la cepa estudiada toleraría por lo menos la temperatura promedio de primavera (16.9 °C) o del otoño (17.7 °C) (datos Dirección Nacional de Meteorología) que ocurren en Uruguay, localizado en el límite inferior de la zona subtropical. La aceptación generalizada de que *C. raciborskii* es una especie tropical podría deberse más a una falta de información sobre las capacidades de crecimiento que a restricciones fisiológica de la especie.

Para el caso de *P. agardhii*, las mayores μ ocurrieron a 25 °C y las menores a 15 °C, comparables a los resultados obtenidos por Da Silva (2009). Las tasas de crecimiento máximas obtenidas por nosotros fueron superiores a las del citado trabajo para las tres temperaturas experimentales y dentro del rango de intensidad de luz de 40 - 50 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Sin embargo las μ obtenida en nuestro trabajo a 15 °C tanto a 60 como a

135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fueron inferiores a las reportadas por Talbot et al. (1991), mientras que a 20 y 25 °C fueron superiores. Nuestros resultados coincidirían con la temperatura óptima de crecimiento de *P. agardhii* que estaría entre 20 - 25 °C, (Post et al., 1985; Sivonen, 1990). Oberhaus et al. (2007), comparando el efecto de la calidad, cantidad de luz y temperatura sobre *P. agardhii* y *P. rubescens* también encontraron las mejores μ a temperaturas \sim 25 °C. *P. agardhii* es una especie que también presenta capacidad de tolerar bajas temperaturas lo cual ha sido observado en estudios de campo como por ejemplo en el Lago Rodó en Montevideo. Este lago urbano es un sistema polimíctico, eutrofizado con altas concentraciones de fósforo y nitrógeno (Scasso et al., 2001). En ese sistema eutrófico la especie domina la comunidad durante todo el año y ha sido encontrada en la columna de agua a temperaturas de 10 °C y ha representado entre 82 - 99 % del total del fitoplancton (Scasso et al., 2001). *P. agardhii* puede alcanzar altas biomásas dentro de un rango de temperatura desde < 2 °C (Toporowska et al., 2010) hasta 29 °C (Crosetti & Bicudo, 2008; Gemelgo et al., 2009). De acuerdo a varios autores *P. agardhii* puede permanecer todo el año en regiones templadas (Berger, 1975; Sas, 1989). Dicho rango de temperatura reflejaría la amplia capacidad de tolerancia para esta variable que presenta la especie.

Nuestros resultados permiten confirmar la **Hipótesis 2** planteada para este trabajo en forma parcial. Si bien como se mencionó anteriormente las tasas de crecimiento de las especies disminuyeron con la temperatura, a los 15 °C y para ambas intensidades de luz no hubieron diferencias significativas en el crecimiento entre *P. agardhii* y *C. raciborskii*. Similar situación ocurrió a los 20 °C y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, por lo que el efecto de la temperatura dependerá también de la intensidad de luz en la cual se encuentren creciendo las especies.

De acuerdo a nuestros resultados, en ambas especies diferentes morfologías podrían ser encontradas en la naturaleza a lo largo del año en regiones con estaciones marcadas, pero que dependerá también de la intensidad de luz a la que crezcan. Para el caso de *C. raciborskii* variaciones morfológicas han sido observadas por ejemplo en un lago de Israel en un estudio realizado durante 7 años consecutivos (Alster et al., 2010). En éste estudio diferentes formas de los filamentos tanto a nivel del largo, ancho así como los extremos de los mismos fueron hallados dependiendo de la época del año, en donde las variaciones de temperatura oscilaron entre 16 a 29 °C. *C. raciborskii* también puede

presentar en la naturaleza morfotipos con filamentos espiralados o rectos, condición ésta que puede verse modificada por la temperatura. En éste sentido Bittencourt-Oliveira et al. (2012) observaron cambios en la forma en dos cepas de *C. raciborskii*, una con morfotipo espiralado y otra recto, en un estudio de laboratorio. En este trabajo se presenta que el morfotipo espiralado se volvió sigmoideo a recto cuando fue cultivado a 31 °C y que parte de éstos reversionaron nuevamente a la condición inicial espiralada cuando fueron cultivados a 21 °C. Las especies del Orden Nostocales pueden diferenciar y producir acinetes ante condiciones desfavorables de crecimiento, como cambios de temperatura, luz, nutrientes o una desecación (Sukenik et al., 2012; Chorus & Bartram, 1999). El metabolismo de los acinetes es basal lo que les permite sobrevivir por grandes períodos de tiempo hasta que las condiciones se vuelvan favorables para germinar (Adams & Duggan, 1999). En este estudio no se observó formación de acinetes en ninguna de las temperaturas ensayadas, por lo que la mínima temperatura empleada de 15 °C no estimuló la producción de los mismos. Shafik et al. (2003) sugiere que la diferenciación de acinetes estaría relacionada con condiciones de altas temperaturas, esto explicaría la ausencia de acinetes en nuestro estudio. Las Oscillatoriales no producen acinetes pero se observan variaciones en el tamaño del organismo. En *P. agardhii* también se ha visto en ambientes naturales una variación estacional del largo de los filamentos. Por ejemplo esto ha sido observado a lo largo de un año en un estudio en el lago Syczyńskie (Polonia) donde la temperatura fluctuó entre (1.7 y 19.8 °C). En ese lago los largos máximos de *P. agardhii* ocurrieron en primavera mientras que los mínimos en verano (Toporowska et al., 2010). La formación de una vaina rodeando los filamentos solo se registró a los 15 °C y 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. La formación de una vaina en *P. agardhii* es facultativa y se daría como respuesta del organismo a condiciones extremas (Komarek & Komarkova, 2004). En nuestro estudio tal respuesta nos podría estar indicando que 15 °C representó una condición de stress para la especie afectando su crecimiento. Conjuntamente con la formación de una vaina, *P. agardhii* también desarrollo matas de filamentos que solo se observaron a esta temperatura. Los cambios morfológicos, en las especies, según las condiciones ambientales tienen implicancias para la determinación taxonómica de ambas especies y los rangos de variación de los tamaños celulares y de filamentos, que son más amplios a los que aparecen en algunos trabajos. Esto implica que la identificación taxonómica debe de hacerse con cautela y considerar la variación natural según los cambios ambientales naturales de la región geográfica en estudio. Ambas especies presentaron

variaciones morfológicas con los cambios de temperatura en donde los mayores incrementos de los atributos morfológicos se dieron a 25 °C y los mínimos a bajas temperaturas. Sin embargo esta variación depende de las condiciones lumínicas presentes. De acuerdo a nuestros resultados se cumple la segunda parte de la **Hipótesis 2** planteada para la variación de los atributos morfológicos.

Los resultados obtenidos en los experimentos de variaciones de luz y temperatura indicarían que el crecimiento de *C. raciborskii* es estimulado por el incremento de temperatura y luz, la cual sería un factor fundamental para explicar su capacidad de expansión. De este modo la dominancia de la especie no puede ser explicada a partir de un solo factor (Bonilla et. al., 2012). Los valores obtenidos por nosotros del Q_{10} de *C. raciborskii* entre (15 y 25 °C a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$) sugerirían que la especie tendría una ventaja competitiva sobre *P. agardhii* no solo en condiciones de alta temperatura sino también de alta luz. El aumento de la intensidad de luz de 60 a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ implicó que el Q_{10} de *C. raciborskii* se incrementara al doble (pasando de 3.4 a 6.2). Esto reflejaría la capacidad de aprovechamiento de la energía para el crecimiento en esta especie. Tal comportamiento sería atribuido a que esta especie tiene la capacidad de incrementar la captación de luz a través de cambios morfológicos o de su composición pigmentaria (Bonilla et al., 2012). Los resultados del Q_{10} de nuestra cepa fueron superiores a los reportados por Mehnert et al. (2010) para *C. raciborskii* y otras especies de Nostocales. En dicho trabajo se determinó un valor de Q_{10} de 3.2 a 80 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, similar al obtenido por nosotros a una intensidad de luz inferior 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Nuestros resultados también fueron superiores (con una excepción) a los obtenidos por Briand et al. (2004) con varias cepas de diferentes países. El aumento en el crecimiento de *C. raciborskii* con el incremento de la temperatura y luminosidad sería una ventaja en la explotación de los recursos que podría conducir hacia una dominancia de la especie en un escenario de calentamiento global. El incremento de estos factores podría deberse a variaciones estacionales o bien asociadas a efectos directos o indirectos a largo plazo (e.g. cambio climático), (Walther et al., 2002).

Además de la luz y la temperatura existen otros factores implicados en el éxito de *C. raciborskii* que si bien no fueron estudiados en este trabajo son también importantes. La capacidad de formar acinetes podrían otorgarle a la especie mayor resistencia, por ejemplo a la variación de nutrientes debido a alteraciones en el régimen de

precipitaciones o cambios en la intensidad de luz. También es capaz de fijar nitrógeno debido a la presencia de heterocitos por lo que son buenas competidoras en sistemas con deficiencia en este nutriente (Mehnert et al., 2010). En estudios de laboratorio, se observó que *C. raciborskii* tiene la capacidad de incorporar y acumular fosfato rápidamente debido a su gran afinidad por el nutriente y la alta capacidad de almacenamiento (Istvánovics et al., 2000). El fósforo juega un papel de importancia en la dominancia de *C. raciborskii* y se ha visto que la especie forma floraciones en ambientes con deficiencia de este nutriente (O'Neil et al., 2011). La eficiencia en la obtención de un recurso limitante, sumado a la flexibilidad fenotípica para optimizar su crecimiento, le confieren capacidad de crecimiento y de colonización de ambientes en condiciones sub-óptimas (Amaral, 2011). La disponibilidad de nutrientes es además importante en la producción de toxinas. En este sentido Martigani (2012), trabajando con 3 cepas de *C. raciborskii* (entre ellas la MVCC14), reportó que la síntesis de cylindrospermopsina y saxitoxina es estimulada por deficiencia de nitrógeno y alta concentración de fósforo. Las cianotoxinas pueden generar diversos efectos en la biota, por ejemplo sobre depredadores como parálisis en cladóceros (Reynolds, 2006), efectos aleloquímicos frente a otras cianobacterias o algas eucariotas (Figueredo et al., 2007), o bien ser infoquímicos que provocan respuestas fisiológicas en especies eucariotas del fitoplancton (Bar-Yosef et al., 2010).

Interacción entre especies

Nuestros experimentos mostraron que las cepas empleadas de *C. raciborskii* y *P. agardhii* presentaron similares características ecológicas en términos de luz y temperatura, por lo que el nicho ecológico para estas variables tendría puntos de solapamiento. Diversas especies de los géneros *Aphanizomenon*, *Anabaena* y *Limnothrix* y *P. agardhii* comparten algunas dimensiones del nicho ecológico (ej. luz, temperatura, baja concentración de nitrógeno) con *C. raciborskii* (Wiedner et al., 2007). En nuestro estudio, la limitación de energía ocurrida en los experimentos de 5 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, o de temperatura (15 °C) solo permitió sostener un crecimiento basal de las poblaciones. Nuestros resultados sugieren que *P. agardhii* en condiciones de baja intensidad de luz optimizaría su crecimiento a diferencia de *C. raciborskii*. Con el incremento de la intensidad de luz a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ya no encontramos diferencias significativas en el crecimiento entre ambas especies bajo ninguna

temperatura, lo que indicaría la mayor capacidad de *C. raciborskii* de optimizar su crecimiento frente a altas intensidades de luz en comparación con *P. agardhii*. Este comportamiento podría ser comparable al encontrado en la naturaleza, por ejemplo en estudios a nivel de campo realizados por Kokocinski et al. (2011) en 2 lagos de Polonia. Estos investigadores observaron que *P. agardhii* domina la comunidad a baja temperatura e intensidad de luz, mientras que *C. raciborskii* se beneficia con los incrementos de temperaturas y de la alta intensidad lumínica. La invasibilidad de *C. raciborskii* junto con otra especie (*Cryptomonas* sp.) ha sido recientemente estudiada por Sperfeld et al. (2010) aunque con respecto a otras variables como la diversidad, productividad y herbivoría. En este trabajo los autores resaltan el efecto negativo de la herbivoría sobre la invasibilidad de *C. raciborskii*, así como la competencia por nutrientes y la tasa de reproducción de las especies. En nuestro trabajo observamos que la luz y la temperatura también afectaron positivamente la capacidad de invasibilidad de *C. raciborskii* sobre *P. agardhii*. Por lo que estos factores determinarían el éxito o no de *C. raciborskii* para invadir nuevas comunidades. De acuerdo a estos resultados podemos aceptar la **Hipótesis 3** planteada pero en forma parcial ya que si bien, el aumento de luz y de temperatura provocan mayor capacidad de invasibilidad de *C. raciborskii*, no encontramos un efecto de interacción luz-temperatura.

De acuerdo al modelo conceptual de Kokocinski et al. (2010) a baja intensidad de luz y dentro de un amplio rango de temperatura, *P. agardhii* domina la comunidad mientras que *C. raciborskii* lo haría a altas temperaturas y en un rango de intensidades de luces superior que *P. agardhii* (ver introducción pág. 7, Fig. 1). Nuestros resultados experimentales de luz y temperatura junto con los de interacción sugieren que *C. raciborskii* tendría un rango de luz de dominancia más estrecho que el propuesto por Kokocinski et al. (2010). De este modo *C. raciborskii* dominaría a intensidades de luz y temperaturas altas mientras que *P. agardhii* lo haría a intensidades de luces medias a bajas dentro de un amplio rango de temperatura. El modelo dejaría una zona de coexistencia entre ambas especies a bajas temperaturas indistintamente de la intensidad de luz así como una zona de temperaturas medias y de alta intensidad de luz (Fig. 12).

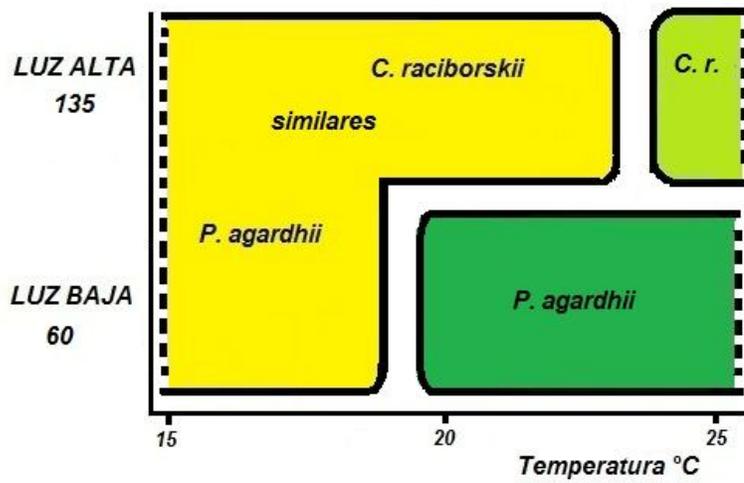


Figura 12. Modelo conceptual en relación a las tasas de crecimiento entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* en función de luz y temperatura. Basado en el modelo de Kokocinski et al. (2010) modificado según los resultados obtenidos en este estudio (ver modelo original en Fig. 1, pág. 7). (Luz alta y baja expresada como $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$, C. r. = *Cylindropermopsis raciborskii*).

Conclusiones

- 1- *C. raciborskii* es una especie que creció mejor a alta intensidad de luz mientras que *P. agardhii* lo hizo a baja intensidad de luz apoyando la Hipótesis 1.
- 2- Sin embargo, ambas especies presentaron crecimientos comparables gran parte del gradiente lumínico ensayado por lo que presentan solapamiento del nicho ecológico para esta variable y por lo tanto pueden co-ocurrir en ambientes lumínicos similares.
- 3- *C. raciborskii* y *P. agardhii* crecieron de manera similar a baja temperatura indistintamente de la intensidad de luz, por lo que nuestros resultados apoyan en forma parcial la Hipótesis 2.
- 4- A alta temperatura (25 °C), la luz fue el factor que explicó el mejor crecimiento de una u otra especie.
- 5- *C. raciborskii* presentó plasticidad fenotípica ante variaciones de luz y de temperatura evidenciado en el crecimiento y en cambios morfológicos, lo que permitiría a la especie aclimatarse y colonizar nuevos hábitats, apoyando la Hipótesis 1 y 2.
- 6- El incremento de la luz fue un factor clave junto a la temperatura, para explicar la invasibilidad de *C. raciborskii* lo que apoyaría en forma parcial la Hipótesis 3.
- 7- Nuestros resultados sostienen la hipótesis de la existencia de múltiples ecotipos de *C. raciborskii* adaptados a las condiciones locales propias de cada región geográfica.
- 8- De acuerdo a nuestros resultados *C. raciborskii* se vería beneficiada por el incremento de temperatura y luz de los cuerpos de agua, y por lo tanto el cambio climático podría favorecer la expansión de esta especie.

Perspectivas

Conocido el potencial de crecimiento de *C. raciborskii* en nuestro país y dada la capacidad invasiva de la especie sería necesario realizar un seguimiento del desarrollo de las poblaciones de la especie en ambientes naturales. Así mismo se hace necesario complementar más estudios sobre los requerimientos nutricionales y de producción de toxinas de las cepas locales de *C. raciborskii*, lo que permitiría obtener un conocimiento integral de la capacidad de crecimiento y desarrollo de la especie en nuestro país. La mayoría de la información existente de *C. raciborskii* procede de cepas de origen tropical y templado siendo escasa en las regiones subtropicales.

Los resultados de esta tesis contribuyeron con 2 publicaciones en revistas internacionales especializadas y una en preparación

Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., **González-Piana, M.**, Gianni, A., Figueredo, C., Vidal, L., Kruk, C. & Bonilla, S. 2011. Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae* 10: 644-653.

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

Sylvia Bonilla, **Mauricio González-Piana**, Carolina S. Soares, Vera L. M. Huszar, Vanessa Becker, Claudia Piccini, Luis Aubriot Combined effects of light and temperature on growth and the invasive behaviour of *Cylindrospermopsis raciborskii*, Cyanobacteria. (en preparación).

Bibliografía

- Adams, D. & Duggan, P. 1999. Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. *New Phytologist* 144: 3-33.
- Alster, A., Kaplan-Levy, R., Sukenik, A. & Zohary, T. 2010. Morphology and phylogeny of a non-toxic invasive *Cylindrospermopsis raciborskii* from a mediterranean Lake. *Hydrobiologia* 639: 115-128.
- Amaral, V. 2011. Flexibilidad fenotípica de la cianobacteria invasora *Cylindrospermopsis raciborskii* a fluctuaciones de la disponibilidad de fósforo. Tesis, Licenciatura de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Aubriot, L., Bonilla, S. & Falkner, G. 2011. Adaptive phosphate uptake behaviour of phytoplankton to environmental phosphate fluctuations. *FEMS Microbiology Ecology* 77: 1-16.
- Bar-Yosef Y., Sukenik A., Hadas O., Viner-Mozzini Y., Kaplan A. 2010. Enslavement in the water body by toxic *Aphanizomenon ovalisporum*, inducing alkaline phosphatase in phytoplanktons. *Current Biology* 20: 1557-1561.
- Berger, C., Ngansoumana, B., Gugger, M., Bouvy, M., Rusconi, F., Couté, A., Troussellier, M., & Bernard, C. 2006. Seasonal dynamics and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Lake Guiers (Senegal, West Africa). *FEMS Microbiology Ecology* 57: 355-366.
- Berger, C. 1975. Occurrence of *Oscillatoria agardhii* Gom. in some shallow eutrophic lakes. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie, Verhandlungen* 19: 2689-2697.
- Bittencourt-Oliveira, MC., Buch, B., Hereman, T., Arruda-Neto, J., Moura, A. & Zocchi, S. 2012. Effects of light intensity and temperature on *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) with straight and coiled trichomes: growth rate and morphology. *Brazilian Journal of Biology*. 72: 343-351
- Bonilla, S., Aubriot, L., Soares, M., González-Piana, M., Fabre, A., Huszar, V., Lüring, M., Antoniades, D., Padišák, J. & Kruk. C. 2012. What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? *FEMS Microbiology Ecology* 79: 594-607.
- Bonilla, S. 2009. Cianobacterias planctónicas del Uruguay, manual para la identificación y medidas de gestión. Documento técnico PHI-LAC, N°16. UNESCO, Montevideo.
- Bouvy, M., Molica, R., Oliveira, S., Marinho, M. & Becker, B. 1999. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom *Cylindrospermopsis raciborskii* in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microbiology Ecology* 20: 285-297.
- Branco, C. & Senna, P. 1994. Factors influencing the development of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* in the Paranoa Reservoir, Brasilia, Brazil. *Algalogical Studies* 75: 85-96.
- Briand, J., Leboulanger, C. & Humbert, J. 2004. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: Selection, wide physiological tolerance or global warming?. *Journal of Phycology* 40: 231-238.

- Briand, J., Robillot, C., Quiblier-Llobéras, C., Humbert, J., Couté, A. & Bernarda, C. 2002. Environmental context of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) blooms in a shallow pond in France. *Water Research* 36: 3183-3192.
- Chonudomkul, D., Yongmanitchai, W., Theeragool, G., Kawachi, M., Kasai, F., Kaya, K. & Watanabe, M. 2004. Morphology, genetic diversity, temperature tolerance and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) strains from Thailand and Japan. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 345-355.
- Chorus, I. & Bartram, J. 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. WHO, E & F Spon, London.
- Coles, J. & Jones, R. 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.
- Couté, A., Leitao, M. & Martin, C. 1997. Première observation du genre *Cylindrospermopsis* (Cyanophyceae, Nostocales) en France. *Cryptogamie Algologie* 18: 57-70.
- Crossetti, L. & Bicudo, C. 2008. Adaptations in phytoplankton life strategies to imposed change in a shallow urban tropical eutrophic reservoir, Garcas Reservoir, over 8 years. *Hydrobiologia* 614: 91-105.
- Da Silva, D. 2009. Revisão do gênero *Planktothrix* Anagnostidis & Komárek, 1988 (Cyanobacteria/ Oscillatoriales), no Brasil. Tesis de Doctorado, Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, Brasil.
- Dirección Nacional de Meteorología.
<http://www.meteorologia.gub.uy/index.php/caracteristicas-estacionales-del-clima>.
 Acceso 20/10/2012.
- Dokulil, M. & Teubner, K. 2000. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 438: 1-12.
- Dokulil, M. & Mayer, J. 1996. Population dynamics and photosynthetic rates of a *Cylindrospermopsis-Limnothrix* association in a highly eutrophic urban lake, Alte Donau, Vienna. *Algological Studies* 83: 179-195.
- Doney, S. 2006. Plankton in a warmer world. *Nature* 447: 695-696.
- Everson, S., Larelle, L., Kinnear, S. & Wright, P. 2011. Extreme differences in akinete, heterocyte and cylindrospermopsin concentrations with depth in a successive bloom involving *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti) and *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju. *Harmful Algae* 10: 265-276.
- Fabre, A. 2011. Flexibilidad fenotípica de la cianobacteria invasora *Cylindrospermopsis raciborskii* en un gradiente lumínico. Tesis de grado, Licenciatura de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
- Fabre, A., Carballo, C., Hernández, E., Piriz, P., Bergamino, L., Mello, L., González, S., Pérez, G., León, J., Aubriot, L., Bonilla, S. & Kruk, C. 2010. El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay. *Panamerican Journal of Aquatic Science* 5: 112-125.

- Figueredo, C. & Giani, A. 2009. Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): conditions favoring a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Limnologia* 39: 264-272.
- Figueredo, C., Giani, A. & Bird, D. 2007. Does allelopathy contribute to *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) bloom occurrence and geographic expansion? *Journal of Phycology* 43: 256-265.
- Gemelgo, M., Mucci, J. & Navas-Pereira, D. 2009. Population dynamics: seasonal variation of phytoplankton functional groups in Brazilian reservoirs (Billings and Guarapiranga, São Paulo). *Brazilian Journal of Biology* 69: 1001-1013.
- Hamilton, P., Ley, M., Dean, S. & Pick, F. 2005. The occurrence of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in Constance Lake: an exotic cyanoprokaryote new to Canada. *Phycologia* 44: 17-25.
- Harding, W. 1996. The phytoplankton ecology of a hypertrophic shallow lake, with particular reference to primary production, periodicity and diversity. PhD Tesis. University of Cape Town, South Africa.
- Hawkins, P., Holliday, J., Kathuria, A. & Bowling, L. 2005. Change in Cyanobacterial biovolume due to preservation by Lugol's Iodine. *Harmful Algae* 4: 1033-1043.
- Hawkins, P., Runnegar M., Jackson, A. & Falconer, I. 1985. Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (bluegreen alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Applied and Environmental Microbiology* 50: 1292-1295.
- Hill, H. 1970. *Anabaenopsis raciborskii* Woloszynska in Minnesota lakes. *Journal of Minnesota Academy of Science*. 36: 80-82.
- Hillebrand, H., Dürselen, C., Kirschtel, D., Pollinger, U. & Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35: 403-424.
- Huisman, J. & Hulot D. 2005. Population dynamics of harmful cyanobacteria. En: *Harmful Cyanobacteria*, Huisman, J., Matthijs C. & Visser, P. (Eds.), pp 143-177, Dordrecht, Springer, Netherlands.
- Huisman, J., Matthijs, M. & Visser, P. 2005. *Harmful Cyanobacteria* Dordrecht, Springer, Netherlands.
- Humpage, A., Fenech, M., Thomas, P. & Falconer, I. 2000. Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action on the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutation Research* 472: 155-161.
- Huszar, V., Silva, L., Marinho, M., Domingos, P. & Anna, C. 2000. Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. *Hydrobiologia* 424: 67-77.
- Istvánovics, V., Shafik, H., Présing, M., Juhos, S. 2000. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshwater Biology* 43: 257-275.
- Jassby, A. & Platt, T. 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 21: 540-547.

- Kirk, J. 1994. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. London, Cambridge University Press.
- Kokocinski, M., Stefaniak, K., Mankiewicz-Boczek, J., Izydorczyk, K. & Soininen, J. 2010. The ecology of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyta) in two hypereutrophic lakes dominated by *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyta). *European Journal of Phycology* 45: 365-374.
- Komarek, J. & Komarkova, J. 2004. Taxonomic review of the cyanoprokaryotoc genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. *Czech Phycology, Olomouc* 4: 1-18.
- Kosten, S., Huszar, V., Bécares, E., Costa, L., van Donk, E., Hansson, L., Jeppesen, E., Kruk, C., Lacerot, G., Mazzeo, N., De Meester, L., Moss, B., Lürling, M., Noges, T., Romo, S. & Scheffer, M., 2012. Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology* 18: 118-126.
- Lewis, W. 1976. Surface/volume ratio: implications for phytoplankton morphology. *Science* 192: 885-887.
- Litchman, E. 2010. Invisible invaders: non-pathogenic invasive microbes in aquatic and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 13: 1560-1572.
- Lonsdale, W. 1999. Global patterns of plant invasions and the concept of invasibility. *Ecology* 80: 1522-1536
- Lund, J., Kipling, C. & Le Gren, E. 1958. The inverted microscope method of estimating algal number and statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 2: 143-170.
- Mack, R., Simberloff, D., Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M. & Bazzaz, F. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. *Ecological Applications* 10: 689-710.
- Markensten, H., Moore, K. & Persson, I. 2010. Simulated lake phytoplankton composition shifts toward cyanobacteria dominance in a future warmer climate. *Ecological Applications* 20: 752-767.
- Martigani, F. 2012. Influencia de la deficiencia por nutrientes en el crecimiento y la producción de toxinas de una cianobacteria invasora Tesis, Licenciatura de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
- Mehnert, G., Leunert, F., Cirés, S., Jöhnk, K., Rucker, J., Nixdorf, B. & Wiedner, C. 2010. Competitiveness of invasive and native cyanobacteria from temperate freshwaters under various light and temperature conditions. *Journal of Plankton Research* 32: 1009-1021.
- Oberhaus, L., Briand, J., Leboulanger, C., Jacquet, S. & Humbert, J. 2007. Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens*. 2007. *Journal of Phycology* 43: 1191-1199.
- O'Neil, J., Davis, T., Burford, M. & Gobler, C. 2011. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful algae* doi:10.1016/j.hal.2011.10.027.
- Oliver, R. & Ganf, G. 2002. Freshwater blooms. En: *The ecology of cyanobacteria*, Whitton, B and Potts, M. (Eds.), pp 150-183, Kluber Academic Publishers.

- Padisák, J. & Reynolds, C. 1998. Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to cyanoprokaryotes. *Hydrobiologia* 384: 41-53.
- Padisák, J. 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 107: 563-593.
- Paerl, H. & Fulton, R. 2006. Ecology of harmful marine algae, E. Graneli, J. Turner, (Eds.) pp 95-107, Springer, Berlin.
- Paerl, H. 1988. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology and Oceanography* 33: 823-847
- Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., González-Piana, M., Gianni, A., Figueredo, C., Vidal, L., Kruk, C. & Bonilla, S. 2011. Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae* 10: 644-653.
- Piersma, T. & Drent, J. 2003. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 228-233.
- Post, A., de Wit, R. & Mur, L. 1985. Interactions between temperature and light intensity on growth and photosynthesis of the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii*. *Journal of Plankton Research* 7: 487-495.
- Sivonen, K. 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Applied Environmental Microbiology* 56: 2658-2666.
- Sommaruga, R. 1995. Microbial and classic food webs: A visit to a hypertrophic lake. *FEMS Microbiology Ecology*. 17: 257-270.
- Reynolds, C. 2006. Ecology of Phytoplankton. Cambridge University Press, Cambridge,
- Reynolds, C. 1994. The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers. *Hydrobiologia* 289: 9-21.
- Reynolds, C. 1987. Cyanobacterial water bloom. En: *Advances in botanical research*, Callow J. (Ed.), pp 67-143. Academic press London.
- Reynolds, C. & Walsby, A. 1975. Water blooms. *Biological Review* 50: 437-481
- Ryan, E., Hamilton, D. & Barnes, G. 2003. Recent occurrence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in Waikato lakes of New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 7: 829-836.
- Saker, M., Neilan, B. & Grifhitts, B. 1999. Two morphological forms of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolated from Solomon Dam, Palm Island, Queensland. *Journal of Phycology* 35: 599-606.
- Sant'Anna, C., Azevedo, M. T., Werner, V., Dogo, C., Rios, F. & Carvalho, L. 2008. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. *Algological Studies* 126: 251-265.
- Sas, H. 1989. Lake restoration by reduction of nutrient loading: expectations, experiences, extrapolations. *Academia Verlag Richarz, St. Augustin, Germany.*
- Scasso, F., Mazzeo, N., Gorga, J., Kruk, C., Lacerot, G., Clemente, J., Fabian, D. & Bonilla, S. 2001. Limnological changes in a sub-tropical shallow hypertrophic lake

- during its restoration: two years of a whole-lake experiment. *Aquatic Conserv: Marine and Freshwater Ecosystems* 11: 31-44.
- Scheffer, M. & Van Nes, E. 2007. Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia* 584: 455-466.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L. & van Nes, E. 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallows turbid lakes. *Ecology* 78: 272-282.
- Scheffer, M., Hosper, S., Meijer, M., Moss, B. & Jeppesen, E. 1993. Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 275-279.
- Schopf, J. 2002. The fossil record: Tracing the roots of cyanobacterial lineage. En: *The ecology of cyanobacteria*, Whitton, B and Potts, M. (Eds.), pp 13-32, Kluber Academic Publishers.
- Schwaderer, A., Yoshiyama, K., Tezanos Pinto, P., Swenson, N., Klausmeier, C. & Litchman, E. 2011. Eco-evolutionary differences in light utilization traits and distributions of freshwater phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 56: 589-598.
- Seenayya, G. & Raju, S. 1972. On the ecology and systematic of the alga known as *Anabaenopsis raciborskii* (Wolosz.) Elenk. and a critical evaluation of the forms described under the genus *Anabaenopsis*. En: *First International Symposium on Taxonomy and Biology of bluegreen algae*, Desikachary, T. (Ed.). pp 52-57, Madras University, Madras,.
- Shafik, H., Vörös, L., Spróber, P., Présing, M. & Kovács, A. 2003. Some especial morphological features of *Cylindrospermopsis raciborskii* in batch and continuous cultures. *Hydrobiologia*, 506-509: 163-167.
- Shafik, H., Herodek, S., Présing, M. & Vörös, L. 2001. Factors effecting growth and cell composition of cyanoprokaryote *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Algological Studies* 103: 75-93.
- Sivonen, K. 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2658-2666.
- Sperfeld, E., Schmidtke, A., Gaedke, U. & Weithoff, G. 2010. Productivity, herbivory, and species traits rather than diversity influence invasibility of experimental phytoplankton communities. *Oecologia* doi:10.1007/s00442-010-1594-4.
- Stanier, R., Kunisawa, R., Mandel, M., & Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriological Review* 35: 171-205.
- Steinberg, C. & Hartmman, H. 1988. Planktonic bloom-forming cyanobacteria and eutrophication of lakes and rivers. *Freshwater Biology* 20: 279-287.
- Sukenik, S., Hadas, O., Kaplan, A. & Quesada, A. 2012. Invasion of Nostocales (cyanobacteria) to sub tropical and temperate freshwater lakes-physiological, regional, and global driving forces. *Frontiers in Microbiology* 3: 1-9.
- Talbot, P., Thebault, J., Dauta, A. & De La Noue, J. 1991. A comparative study and mathematical modeling of temperature, light and growth of three microalgae potentially useful for wastewater treatment. *Water Research* 25: 465-472.

- Thompson, P., Harrison, P. & Parslow, J. 1991. Influence of irradiance on cell volume and carbon quota for ten species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology* 27: 351-360.
- Toporowska, M., Paulik-Skowronska, B., Krupa, D. & Kornijow, R. 2010. Winter versus summer blooming of phytoplankton in a shallow lake: effect of hypertrophic conditions. *Polish Journal of Ecology* 58: 3-12.
- Trenberth, K., Jones, P., Ambenje, P., Bojariu, R., Easterling, D., Klein Tank, A., Parker, D., Rahimzadeh, F., Renwick, J., Rusticucci, M., Soden, B. & Zhai, P. 2007. Observations: surface and atmospheric climate change. In: Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L. (Eds.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Tucci, A. & Sant'Anna, C. 2003. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 97-112.
- van Apeldoorn, M., van Egmond, H., Speijers, G. & Bakker, G. 2007. Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition and Food Research* 51: 7- 60
- Van Liere, L. & Mur, L. 1978. Light-limited cultures of the blue-green alga *Oscillatoria agardhii*. *Mitt. Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie* 21: 158-167.
- Várkonyi, Z. Zciros, O., Farkas, T., Garab., G & Gombos, Z. 2000. The tolerance of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* to low temperature photo-inhibition affected by induction of polyunsaturated fatty acid synthesis. *Biochemical Society Transactions* 28: 892-894.
- Vidal, L. & Kruk, C. 2008. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Panamerican Journal of Aquatic Science* 3: 142-151.
- Vitousek, P., D'Antonio, C., Loope, L., Rejmanek, M. & Westbrooks, R. 1997. Introduced species: a significant component of human caused Global Change. *New Zeland Journal of Ecology* 21: 1-16.
- Walther, G., Post E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T., Fromentin J., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein F. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389-395
- Walters, R. 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of Experimental Botany* 56: 435-447.
- Wiedner, C., Nixdorf, B., Heinze, R., Wirsing, B., Neumann, U. & Weckesser, J. 2002. Regulation of cyanobacteria and microcystin dynamics in polymictic shallow lakes. *Archiv für Hydrobiologie* 155: 383-400.
- Woloszynska, J. 1912. Das phytoplankton einiger Javanian Seen mit Berücksichtigung des Sawa-Planktons. *Bulletin of the International Academy of Science Cracoviae* 6: 649-709.

Zalocar, Y., Asselborn, V., & Casco, S. 1998. Variaciones espaciales y temporales del fitoplancton en un lago subtropical de Argentina. *Revista Brasileira de Biologia* 58: 359-382.

Anexo

Tabla Ia. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos morfológicos de *C. raciborskii* al tiempo inicial ante variaciones de luz. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Luz	20	60	100	135	170
	($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
	5	4.30 *	1.45	9.77 *	6.81 *	5.06 *
	20		5.75 *	5.48 *	2.51	0.76
	60			11.22 *	8.26 *	6.50 *
	100				2.96 *	4.72 *
	135					1.75
Ancho						
	5	3.36 *	2.43	9.19 *	5.16 *	9.73 *
	20		0.92	12.55 *	8.51 *	13.09 *
	60			11.62 *	7.59 *	12.16 *
	100				4.03 *	0.54
	135					4.57 *
Sup/Vol						
	5	1.03	2.57 *	11.83 *	6.67 *	9.97 *
	20		2.04	12.53 *	7.70 *	11.00 *
	60			14.60 *	9.75 *	13.05 *
	100				4.86 *	1.55
	135					3.29 *
Volumen						
	5	0.62	2.57	11.83 *	7.71 *	9.29 *
	20		3.19 *	11.21 *	7.09 *	8.67 *
	60			14.40 *	10.28 *	11.86 *
	100				4.12 *	2.54
	135					1.58

Tabla Ib. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos morfológicos de *P. agardhii* al tiempo inicial ante variaciones de luz. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Luz ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
	5	20	60	100	135	170
	5	3.92 *	2.04	2.54	1.02	4.03 *
	20		5.96 *	1.39 *	2.90	0.10
	60			4.58 *	3.06 *	6.08 *
	100				1.52	1.49
	135					3.01 *
Ancho						
	5	2.96 *	5.76	11.48 *	7.04 *	3.47 *
	20		2.79	8.48 *	4.06 *	0.50
	60			5.71 *	1.27	2.29
	100				4.44 *	8.00
	135					3.56 *
Sup/Vol						
	5	0.95	6.45 *	10.10 *	6.19 *	1.43
	20		5.49 *	9.16 *	5.22 *	0.48
	60			3.69 *	0.26	5.02 *
	100				3.95 *	8.71
	135					4.76 *
Volumen						
	5	1.94	4.25 *	2.68	2.20	1.82
	20		6.18 *	4.62 *	4.14 *	30.13
	60			1.56	2.06	6.07 *
	100				0.48	4.51 *
	135					4.02 *

Tabla IIa. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos al tiempo inicial de *C. raciborskii* ante variaciones de temperatura a $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	3.43 *	6.52 *		15 °C	2.45 *	10.20 *
	20 °C		3.09 *		20 °C		7.67 *
Sup/Vol				Volumen			
	15 °C	3.35 *	11.58 *		15 °C	4.05 *	11.31 *
	20 °C		8.22 *		20 °C		7.26 *

Tabla IIb. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos al tiempo inicial de *C. raciborskii* ante variaciones de temperatura a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	2.43 *	6.18 *		15 °C	4.06 *	8.03 *
	20 °C		3.76 *		20 °C		3.98 *
Sup/Vol		Volumen					
	15 °C	4.97 *	9.77 *		15 °C	4.15 *	9.25 *
	20 °C		4.80 *		20 °C		5.09 *

Tabla IIc. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos al tiempo inicial de *P. agardhii* ante variaciones de temperatura a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	0.39	4.54 *		15 °C	0.25	0.63
	20 °C		4.15 *		20 °C		0.38
Sup/Vol		Volumen					
	15 °C	0.36	2.67 *		15 °C	0.42	4.18 *
	20 °C		2.31		20 °C		3.76 *

Tabla II d. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los atributos al tiempo inicial de *P. agardhii* ante variaciones de temperatura a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	2.73 *	0.72		15 °C	1.31	6.19 *
	20 °C		2.00		20 °C		7.45 *
Sup/Vol		Volumen					
	15 °C	0.19	6.70 *		15 °C	1.80	3.15 *
	20 °C		6.50 *		20 °C		1.35

Tabla III. Test de Holm-Sidak del Anova de las μ de *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de luz, (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

<i>C. raciborskii</i>					
Luz ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	20	60	100	135	170
5	t = 6.77 p < 0.00 *	t = 8.96 p < 0.00 *	t = 11.49 p < 0.00 *	t = 12.02 p < 0.00 *	t = 7.08 p < 0.00 *
20		t = 1.52 p = 0.15	t = 4.41 p < 0.00 *	t = 4.36 p < 0.00 *	t = 0.28 p = 0.78
60			t = 3.19 p = 0.01 *	t = 3.06 p = 0.01 *	t = 1.22 p = 0.24
100				t = 0.36 p = 0.73	t = 4.13 p < 0.00 *
135					t = 4.06 p = 0.00 *
<i>P. agardhii</i>					
Luz ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	20	60	100	135	170
5	t = 6.48 p < 0.00 *	t = 8.04 p < 0.00 *	t = 6.65 p < 0.00 *	t = 7.34 p < 0.00 *	t = 7.63 p < 0.00 *
20		t = 1.46 p < 0.17	t = 0.15 p = 0.88	t = 0.80 p = 0.44	t = 0.58 p = 0.57
60			t = 1.31 p = 0.21	t = 0.66 p = 0.52	t = 0.98 p = 0.34
100				t = 0.65 p = 0.53	t = 0.42 p = 0.68
135					t = 0.28 p = 0.79

Tabla IVa. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los (Δ atributo) de los filamentos de *C. raciborskii* bajo diferentes variaciones de luz. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Δ Largo	Luz	20	60	100	135	170
	($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
	5	1.17	3.58 *	1.45	5.46 *	0.81
	20		2.40	0.27	4.29 *	0.37
	60			2.13	1.88	2.77
	100				4.01 *	0.64
	135					4.66 *
ΔAncho						
	5	7.77 *	3.66 *	8.21 *	11.49 *	1.57
	20		4.12 *	0.44	3.71 *	6.21 *
	60			4.55 *	7.83 *	2.09
	100				3.27 *	6.65 *
	135					9.92 *
ΔSup/Vol						
	5	11.08 *	7.31 *	1.10	0.77	0.39
	20		3.69 *	9.90 *	10.23 *	10.61 *
	60			6.21 *	6.54 *	6.92 *
	100				0.33	0.71
	135					0.38
ΔVolumen						
	5	6.55 *	4.44 *	4.33 *	6.28 *	2.60
	20		2.09	2.21	0.27	3.95*
	60			0.11	1.83	1.85
	100				1.95	1.74
	135					3.68 *

Tabla IVb. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de de los (Δ atributo) de los filamentos de *P. agardhii* bajo diferentes variaciones de luz. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Δ Largo	Luz	20	60	100	135	170
	($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)					
	5	3.66 *	4.62 *	1.33	0.54	2.86
	20		0.97	2.33	3.12 *	0.76
	60			3.30 *	4.09 *	1.76
	100				0.79	1.73
	135					2.33
ΔAncho						
	5	1.09	0.59	4.07 *	2.62	0.54
	20		1.69	5.17 *	3.71 *	0.56
	60			3.47 *	2.02	1.14
	100				1.45	4.61 *
	135					3.16 *
ΔSup/Vol						
	5	2.56	0.56	3.66 *	2.20	1.25
	20		2.00	6.22 *	4.77 *	1.31
	60			4.22 *	2.77	0.69
	100				1.46	4.91 *
	135					3.45 *
ΔVolumen						
	5	3.59 *	3.58 *	0.52	0.81	2.46
	20		0.00	4.10 *	4.40 *	1.13
	60			4.10 *	4.39 *	1.13
	100				0.29	2.97 *
	135					3.27 *

Tabla Va. Resultado del test de Fisher MDS del Anova de medidas repetidas de las μ iniciales del experimento de interacción entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de luz a 25 °C. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tratamientos	Luz ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	C.	C.	C.	P.	P.	P.
		<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control
		5	60	135	5	60	135
<i>C. raciborskii</i> interacción	5	p = 0.93					
<i>C. raciborskii</i> interacción	60	p = 0.03*					
<i>C. raciborskii</i> interacción	135	p = 0.60					
<i>P. agardhii</i> interacción	5	p = 0.85					
<i>P. agardhii</i> interacción	60	p = 0.80					
<i>P. agardhii</i> interacción	135	p = 0.88					

Tabla Vb. Resultado del test de Fisher MDS del Anova de medidas repetidas de las μ finales del experimento de interacción entre *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de luz a 25 °C. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tratamientos	Luz ($\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	<i>C.</i>	<i>C.</i>	<i>C.</i>	<i>P.</i>	<i>P.</i>	<i>P.</i>
		<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control
		5	60	135	5	60	135
<i>C. raciborskii</i> interacción	5	p = 0.40					
<i>C. raciborskii</i> interacción	60	p = 0.09					
<i>C. raciborskii</i> interacción	135	p = 0.31					
<i>P. agardhii</i> en interacción	5	p = 0.73					
<i>P. agardhii</i> en interacción	60	p = 0.93					
<i>P. agardhii</i> en interacción	135	p = 0.00 *					

Tabla VI. Resultado del test de Holm-Sidak del Anova de 2 vías de las μ de *C. raciborskii* y *P. agardhii* ante variaciones de temperatura, a 60 y 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

<i>C. raciborskii</i> (60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			<i>C. raciborskii</i> (135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		
Temperatura	20	25	Temperatura	20	25
15	t = 0.79 p < 0.44	t = 7.44 p < 0.00 *	15	t = 4.08 p = 0.00*	t = 7.71 p < 0.00 *
20		t = 6.64 p < 0.00 *	20		t = 3.63 p = 0.00*
<i>P. agardhii</i> (60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			<i>P. agardhii</i> (135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		
Temperatura	20	25	Temperatura	20	25
15	t = 3.59 p = 0.00 *	t = 9.19 p < 0.00 *	15	t = 3.44 p = 0.00 *	t = 8.88 p < 0.00 *
20		t = 5.35 p < 0.00 *	20		t = 5.08 p < 0.00 *

Tabla VIIa. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los (Δ atributo) de los filamentos de *C. raciborskii* bajo diferentes tratamientos de temperatura a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Δ Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Δ Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
		15 °C	0.13			1.21	15 °C
	20 °C		1.34		20 °C		4.43 *
Δ Sup/Vol	Temperatura	Δ Volumen		Temperatura	20 °C	25 °C	
		15 °C	1.06		6.92 *	15 °C	0.47
	20 °C		5.87 *		20 °C	2.07	

Tabla VIIb. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los (Δ atributo) de los filamentos de *C. raciborskii* bajo diferentes tratamientos de temperatura a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Δ Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Δ Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	1.29	5.54 *		15 °C	2.70 *	5.53 *
	20 °C		6.83 *	20 °C		2.83 *	
Δ Sup/Vol		Δ Volumen					
	15 °C	3.26 *	5.64 *	15 °C	2.27 *	1.65	
	20 °C		2.37 *	20 °C		3.93 *	

Tabla VIIc. Resultado de las comparaciones múltiples del test de Kruskal-Wallis de los (Δ atributo) de los filamentos de *P. agardhii* bajo diferentes tratamientos de temperatura a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Δ Largo	Temperatura	20 °C	25 °C	Δ Ancho	Temperatura	20 °C	25 °C
	15 °C	0.58	1.00		15 °C	2.44 *	3.23 *
	20 °C		0.43	20 °C		5.68 *	
Δ Sup/Vol		Δ Volumen					
	15 °C	2.24	3.54 *	15 °C	0.61	2.38	
	20 °C		5.79 *	20 °C		2.99 *	

Tabla VIIa. Resultado del test de Fisher MDS del Anova de medidas repetidas de las μ iniciales del experimento de interacción entre *P. agardhii* y *C. raciborskii* bajo diferentes temperaturas a 60 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tratamiento	Temperatura (°C)	<i>C. raciborskii</i> control	<i>C. raciborskii</i> control	<i>C. raciborskii</i> control	<i>P. agardhii</i> control	<i>P. agardhii</i> control	<i>P. agardhii</i> control
		15	20	25	15	20	25
<i>C. raciborskii</i> interacción	15	p = 0.71					
<i>C. raciborskii</i> interacción	20	p < 0.00 *					
<i>C. raciborskii</i> interacción	25	p = 0.01 *					
<i>P. agardhii</i> interacción	15	p = 0.72					
<i>P. agardhii</i> interacción	20	p = 0.30					
<i>P. agardhii</i> interacción	25	p = 0.84					

Tabla VIIIb. Resultado del test de Fisher MDS del Anova de medidas repetidas de las μ finales del experimento de interacción entre *P. agardhii* y *C. raciborskii* bajo diferentes temperaturas a 135 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$. (*) representa diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tratamiento	Temperatura (°C)	<i>C.</i>	<i>C.</i>	<i>C.</i>	<i>P.</i>	<i>P.</i>	<i>P.</i>
		<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>raciborskii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control	<i>agardhii</i> control
		15	20	25	15	20	25
<i>C. raciborskii</i> interacción	15	p = 0.62					
<i>C. raciborskii</i> interacción	20		p = 0.52				
<i>C. raciborskii</i> interacción	25			p = 0.12			
<i>P. agardhii</i> interacción	15				p = 0.79		
<i>P. agardhii</i> interacción	20					p = 0.65	
<i>P. agardhii</i> interacción	25						p < 0.00 *

Figuras



Figura I. Filamentos de *C. raciborskii* con heterocistos terminales, cultivo $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a 25°C . Aumento 400x, barra de escala = $10 \mu\text{m}$.



Figura II. Filamentos de *C. raciborskii* con heterocistos terminales, cultivo $135 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a 25°C . Aumento 1000x, barra de escala = $5 \mu\text{m}$.

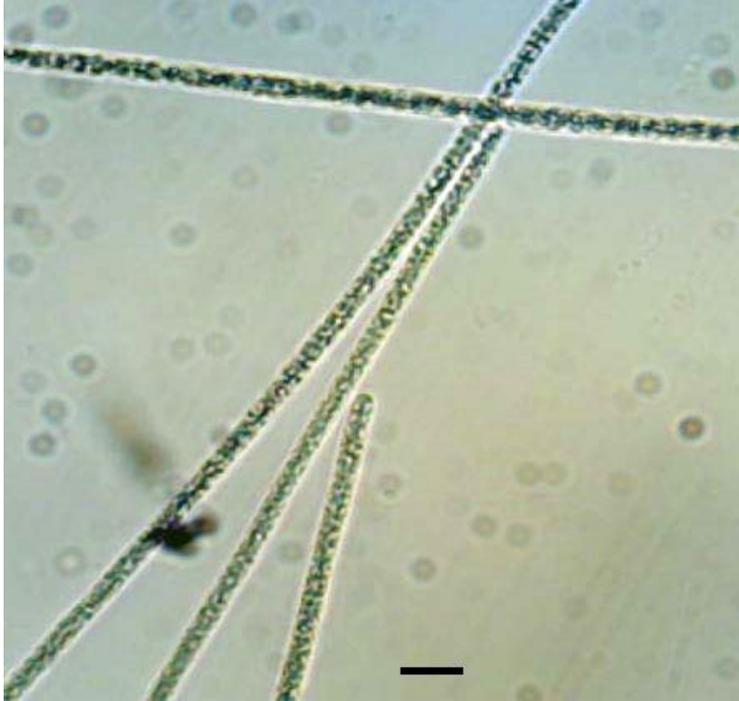


Figura III. Filamentos de *P. agardhii* cultivo $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 25°C . Aumento 400x, barra de escala = $10 \mu\text{m}$.



Figura IV. Filamentos de *P. agardhii* cultivo $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 25°C . Aumento 1000x, barra de escala = $5 \mu\text{m}$.



Figura V. Filamento de *P. agardhii* presentando vaina transparente, cultivo $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $15 \text{ }^\circ\text{C}$. Aumento 1000x, barra de escala = $5 \mu\text{m}$.



Figura VI. Matas de filamentos de *P. agardhii*, cultivo $60 \mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $15 \text{ }^\circ\text{C}$. Aumento 200x, barra de escala = $20 \mu\text{m}$