



Universidad de la República  
Facultad de Ciencias  
Programa de Posgrado en  
Ciencias Ambientales



## **Floraciones de fitoplancton en embalses agropecuarios de la cuenca del Río Santa Lucía: promotores de su crecimiento y alternativas para su detección**

Lic. Hernán Olano ([holano@fcien.edu.uy](mailto:holano@fcien.edu.uy))

Tutor: Dr. Luis Aubriot ([luis.aubriot@gmail.com](mailto:luis.aubriot@gmail.com))

Co-Tutor: Dr. Marcel Achkar ([achkarmarcel@gmail.com](mailto:achkarmarcel@gmail.com))

Tribunal: Dra. Sylvia Bonilla ([sylvia.e.bonilla@gmail.com](mailto:sylvia.e.bonilla@gmail.com)), Dr. Ismael Díaz  
([idiaz@fcien.edu.uy](mailto:idiaz@fcien.edu.uy)), y Dra. Verónica Ciganda ([vciganda@inia.org.uy](mailto:vciganda@inia.org.uy))

2024

Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales

## Resumen

Los embalses eutróficos favorecen el desarrollo de floraciones fitoplanctónicas nocivas, las cuales pueden ser descargadas en cursos fluviales y llegar a zonas pobladas y plantas de potabilización. En Uruguay existen más de 1300 embalses agropecuarios, generalmente asociados al uso intensivo del suelo. En estos embalses no existe un monitoreo sistemático dado su gran número y difícil acceso. El Río Santa Lucía (RSL), principal fuente de agua potable del país, cuenta con antecedentes de floraciones fitoplanctónicas. Resultados recientes indican que los embalses productivos de la cuenca contribuirían al aporte de fitoplancton al RSL. En esta tesis se evaluaron 14 embalses agropecuarios de la cuenca del RSL para conocer su estado trófico y los factores ambientales relacionados con la presencia de floraciones fitoplanctónicas. También se exploraron metodologías de detección *in situ* mediante fluorescencia y reflectancias captadas por teléfonos inteligentes para su uso ciudadano. Los embalses fueron en su mayoría hipereutróficos y productores de elevadas biomásas de fitoplancton, destacándose la presencia de cianobacterias potencialmente tóxicas. El nitrógeno fue la principal variable explicadora de la ocurrencia de las floraciones de cianobacterias en un contexto de concentraciones de fósforo extremas. La fluorescencia *in vivo* aplicada a embalses turbios para estimar clorofila *a* presentó un buen desempeño, lo cual reafirma su confiabilidad para su utilización en los niveles guía de la OMS. Las reflectancias obtenidas con teléfonos inteligentes presentaron resultados prometedores, aunque las limitaciones operativas dificultan su utilización en embalses agropecuarios, restringiendo un posible uso en el monitoreo ciudadano. Ante el creciente número de embalses en zonas de uso intensivo del suelo, será clave la implementación de sistemas de monitoreo de fitoplancton que permitan la toma de acciones tempranas para minimizar los riesgos de eutrofización y de aporte de organismos nocivos a cursos fluviales.

*Palabras claves:* Embalses agropecuarios; Eutrofización; Floraciones de fitoplancton; Cianobacterias; Clorofila *a in vivo* por fluorescencia; Reflectancias *in situ*.

## Agradecimientos

Agradezco a mis orientadores de tesis Luis y Marcel por todas sus enseñanzas y por haberme acompañado en este proceso. En particular, a Luis por su guía y especial dedicación en mi formación.

Mi agradecimiento a Andrea por su asesoramiento en la pasantía en taxonomía y técnicas de conteo de fitoplancton para el análisis de las muestras de agua.

Agradezco al posgrado de Ciencias Ambientales del IECA de Facultad de Ciencias (UDELAR), y especialmente a los integrantes del tribunal, Sylvia Bonilla, Ismael Díaz, y Verónica Ciganda.

Gracias a mis compañeros, amigos y docentes de la Sección de Limnología. En especial a Leandro, Manuel, Julieta, Victoria, Lucila, y Sol, quienes estuvieron presentes desde con ayudas y consejos en programas estadísticos hasta compartiendo risas y momentos agradables. A Bernardo con quien compartí los muestreos y actividades de laboratorio, en donde si bien fueron intensas jornadas de trabajo se pasaron momentos muy disfrutables.

Agradezco a mi familia y amigos de la vida por haberme acompañado siempre. Especialmente a mis padres Luis y Alicia, mi hermana Vero y Fernando, así como a mis tíos y mi abuela.

Agradezco a mi compañera Maca por todo su apoyo fundamental en este proceso.

Finalmente, mi agradecimiento a la ANII (Agencia Nacional de Investigación e Innovación) por financiar mi beca en esta investigación (POS\_NAC\_2019\_1\_158013). Además, destaco que el trabajo de campo y de laboratorio se enmarcó en el proyecto CSIC I+D 354 denominado: "Validación de índices para la detección remota de floraciones algales y evaluación de estado trófico de embalses de uso productivo".

## Índice

Resumen.....	2
Agradecimientos .....	3
Introducción.....	7
Floraciones de fitoplancton en aguas continentales y riesgos asociados.....	7
Crecimiento fitoplanctónico: factores ambientales que favorecen su desarrollo y métodos alternativos de detección .....	8
Justificación del estudio: embalses agropecuarios de la cuenca del Río Santa Lucía .....	10
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos .....	12
Preguntas que la tesis se plantea responder y estructura general: .....	12
Capítulo 1: Comunidad de fitoplancton de embalses agropecuarios y factores ambientales explicativos .....	14
Introducción.....	14
Metodología.....	16
Área de estudio.....	16
Muestreo de variables limnológicas .....	20
Análisis de laboratorio.....	20
Análisis de datos.....	21
Resultados.....	23
Caracterización fisicoquímica general .....	23
Transparencia del agua y sólidos en suspensión .....	26
Estado trófico: variables descriptivas .....	28
Comunidad de fitoplancton .....	29
Biovolumen y composición de fitoplancton.....	32
Estados tróficos y comunidad de fitoplancton.....	36
Exploración de relaciones entre variables limnológicas.....	37
Variables descriptivas de floraciones de fitoplancton y cianobacterias .....	38
Nutrientes y fitoplancton: relaciones de clorofila a y biovolumen .....	39
Variables condicionantes de grupos de fitoplancton.....	43
Umrales de respuesta en la comunidad fitoplanctónica.....	44
Discusión .....	45
Características fisicoquímicas de embalses agropecuarios .....	46
Comunidad de fitoplancton de embalses agropecuarios .....	48
Factores asociados al desarrollo de floraciones de fitoplancton .....	50

Capítulo 2: Métodos alternativos de detección de floraciones de fitoplancton en embalses agropecuarios .....	55
Introducción .....	55
Metodología.....	57
Aplicación de Hydrocolor.....	58
Análisis de datos.....	60
Resultados.....	61
Estimación de la clorofila <i>a in vivo</i> por fluorometría.....	61
Desempeño de la clorofila <i>a in vivo</i> en diferentes condiciones de turbidez.....	63
Desempeño de la clorofila <i>a in vivo</i> en las categorías de alerta de la OMS.....	63
Clorofila <i>a</i> por extracción y clorofila <i>a in vivo</i> versus biovolumen de fitoplancton..	64
Relación entre clorofila <i>a</i> y biovolumen de grupos de fitoplancton .....	66
Reflectancias de Hydrocolor: medición de turbidez y CDOM en embalses.....	69
Reflectancias de Hydrocolor: estimación de clorofila <i>a</i> y biovolumen de fitoplancton en embalses.....	72
Desempeño de la clorofila <i>a</i> estimada con Hydrocolor en niveles de alerta de la OMS.....	75
Corrección de clorofila <i>a</i> de Hydrocolor y de reflectancias B/G por sólidos totales en suspensión y CDOM.....	76
Discusión .....	77
Clorofila <i>a</i> por fluorescencia <i>in vivo</i> en ambientes turbios: relación con clorofila <i>a</i> por extracción y biovolumen .....	78
Medición de reflectancias por Hydrocolor en embalses turbios.....	80
Discusión general .....	84
Conclusiones y perspectivas .....	86
Bibliografía.....	88
Anexos .....	100
Anexo 1. Microfotografías de organismos de fitoplancton .....	100
Anexo 2. Biovolumen total de fitoplancton en mm <sup>3</sup> /L por embalse .....	104
Anexo 3. Boxplot y violinplot de biovolumen por grupo taxonómico de fitoplancton.....	105
Anexo 4. NMDS de comunidad de fitoplancton de acuerdo al estado trófico.....	106
Anexo 5. Coeficientes de correlación de Spearman $r_s$ ( $\rho$ ) de las principales variables estudiadas .....	107
Anexo 6. Relación de nutrientes y fitoplancton por subcuencas .....	107
Anexo 7. Relación lineal entre clorofila <i>a</i> por extracción y clorofila <i>a in vivo</i> , en condiciones contrastantes (alta/baja) de turbidez y materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) .....	110

Anexo 8. Comparación de clases en niveles guía y de alerta de la propuesta de 2021 de la OMS, de acuerdo a la clorofila <i>a in vivo</i> y a la clorofila <i>a</i> por extracción. ....	111
Anexo 9. Comparación de clases de turbidez medida por sonda multi-paramétrica y turbidez calculada a través de Hydrocolor .....	111
Anexo 10. Relación lineal entre la clorofila <i>a</i> por extracción, el biovolumen de fitoplancton, y el cociente de las reflectancias (R/G).....	112
Anexo 11. Comparación de clases en niveles guía y de alerta de la propuesta de 2021 de la OMS, de acuerdo a la clorofila <i>a</i> calculada por reflectancias y a la clorofila <i>a</i> por extracción .....	113
Anexo 12. Artículo publicado en coautoría.....	113

## Introducción

### Floraciones de fitoplancton en aguas continentales y riesgos asociados

Las actividades humanas han promovido el aporte de nutrientes a los cuerpos de agua continentales, lo que resulta en un aumento de la producción primaria y en particular en el crecimiento del fitoplancton (Schindler 1977). Dependiendo de las condiciones ambientales, el exceso de aporte de nutrientes puede promover la generación de floraciones de cianobacterias y de fitoplancton en general, fenómeno que se ha convertido en uno de los problemas más habituales en aguas superficiales de todo el mundo (Chorus y Bartram 1999; Huisman y Hulot 2005; Watson *et al.* 2015). Algunos grupos como las cianobacterias, pueden producir toxinas, con efectos neurotóxicos, hepatotóxicos y citotóxicos, que afectan la salud humana y animal (Chorus y Bartram 1999; Bernard *et al.* 2017; Dreher *et al.* 2018; Vidal *et al.* 2017). Si bien las cianobacterias son consideradas el grupo de fitoplancton de mayor problemática por la producción de compuestos tóxicos, el crecimiento excesivo de microalgas eucariotas también ha sido reportado como síntoma del deterioro de la calidad del agua y como amenaza sanitaria para el abastecimiento de agua (Watson *et al.* 2015).

En las últimas décadas la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha desarrollado el uso de rangos y valores guía para simplificar la detección de cianobacterias y facilitar la implementación de medidas de gestión frente a la generación de floraciones algales nocivas. Estos rangos se basan en la concentración de clorofila *a* y biovolumen de cianobacterias, y establecen Niveles de Alerta para las aguas destinadas a la potabilización, y para aguas de uso recreativo (Tabla I) (Chorus y Bartram 1999; Chorus y Welker 2021). En Uruguay, la Comisión Administradora del Río Uruguay (CARU) y la Intendencia de Montevideo, implementan programas regulares de vigilancia. Ambos programas se desarrollan en el marco de la generación de información y recomendaciones para el uso de playas para baño. Estos incluyen el registro visual *in situ*, y el análisis en laboratorio de variables descriptivas (CARU 2014; Risso *et al.* 2018). Debido a los efectos negativos de las floraciones de cianobacterias a la salud de la población, dichos niveles de alertas y recomendaciones son ampliamente empleados para reducir los riesgos de exposición (Chorus 2012).

Tabla I. Niveles Guía y Niveles de Alerta de la OMS para aguas destinadas a la recreación y potabilización, en función de la concentración de clorofila *a* ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y biovolumen de cianobacterias ( $\text{mm}^3\text{L}^{-1}$ ) (Chorus y Welker 2021).

Aguas destinadas a la potabilización	Biovolumen $\text{mm}^3\text{L}^{-1}$ / $\mu\text{g L}^{-1}$ clorofila <i>a</i>	Aguas destinadas al uso recreativo
Nivel Alerta 1	0.3 / 1	
Nivel Alerta 2	4 / 12	
	8 / 24	Nivel Alerta 2

### Crecimiento fitoplanctónico: factores ambientales que favorecen su desarrollo y métodos alternativos de detección

Entre las principales variables utilizadas en el estudio de las floraciones algales, se destacan variables fisicoquímicas descriptivas de calidad de agua, y variables biológicas indicadoras de biomasa fitoplanctónica (ejemplo la clorofila *a*, el biovolumen). En general, las variables fisicoquímicas descriptivas, se encuentran estrechamente asociadas a los factores ambientales que favorecen o limitan el crecimiento fitoplanctónico. Por ejemplo, la disponibilidad de luz, temperatura, nutrientes y el tiempo de residencia, pueden considerarse los principales factores ambientales relacionados al crecimiento fitoplanctónico (Michalak *et al.* 2013; Paerl y Huisman 2008; Schindler 1977). Sin embargo, a pesar de que pueden ser diversos los factores que inciden en el crecimiento del fitoplancton, en general, los nutrientes y la transparencia del agua son de las variables comúnmente más utilizadas, debido a sus fuertes relaciones con la ocurrencia de floraciones fitoplanctónicas (Carlson 1977; Cunha *et al.* 2013). El estudio de las características fisicoquímicas permite una aproximación al estado de situación de los ecosistemas acuáticos y contribuye al conocimiento de las variables que explican el desarrollo del fitoplancton y de las floraciones de cianobacterias.

Las técnicas de monitoreo de cianobacterias y fitoplancton en general deben permitir la implementación de alertas tempranas que faciliten la toma de medidas de prevención y mitigación (Chorus 2012). La detección temprana permite

conocer el estado del cuerpo de agua, y la generación de alertas, en caso de corresponder, de manera de evitar o reducir los riesgos de exposición. Sin embargo, los indicadores de biomasa fitoplanctónica tradicionales, como los recomendados por la Organización Mundial de la Salud, requieren de la cuantificación de la concentración de clorofila *a* y el empleo de técnicas de conteo de células de cianobacterias al microscopio, y el cálculo de biovolumen, lo que insume altos costos, tiempo y personal entrenado (Chorus y Welker 2021). Esto limita espacial y temporalmente la evaluación del estado trófico y la detección de las floraciones algales, particularmente en áreas remotas. Por lo tanto, para viabilizar grandes campañas de muestreos, y abarcar zonas rurales de acceso limitado, sería necesario evaluar métodos alternativos de detección de cianobacterias y de fitoplancton en general, de uso “no experto”, y que puedan ser implementados por los mismos usuarios.

La fluorimetría *in situ* es uno de los métodos más empleados para la detección de cianobacterias y fitoplancton en tiempo real, a través de la medición de pigmentos como la clorofila *a* y la ficocianina (pigmento presente en las cianobacterias). Por otro lado, otros métodos *in situ* de menor sensibilidad pero de mayor accesibilidad, posibilitan la estimación de la clorofila *a* en base a la medición de reflectancias en las bandas roja, verde y azul (RGB en inglés). El estudio de las relaciones entre reflectancias permite la evaluación por ejemplo, de la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) o la concentración de clorofila *a*, entre otras propiedades presentes en el agua (relación de reflectancias rojo/azul, y azul/verde, respectivamente) (Bowers *et al.* 2000; Goddijn y White 2006; Goddijn-Murphy *et al.* 2009). En este sentido, en los últimos años se han desarrollado aplicaciones en teléfonos inteligentes, como HydroColor®, que utilizan la cámara digital como un radiómetro de tres bandas RGB entre los 400 nm a 700 nm, con el potencial de generar información en tiempo real de forma descentralizada, de uso no experto, y a un bajo costo (Leeuw y Boss 2018). Sin embargo, en ocasiones estas metodologías son utilizadas como alternativa de detección, a expensas de una reducción de la confiabilidad y precisión de las mediciones. Entre los factores que pueden producir errores de medición se destacan las interferencias ópticas en ambientes turbios, por ejemplo, en estimaciones por fluorescencia (Ferreira *et al.* 2012; Gilerson *et al.* 2007).

Asimismo, las mediciones de reflectancias por aplicaciones como Hydrocolor han generado resultados contrastantes, y particularmente, la aplicabilidad para estimar clorofila aún no está determinada en pequeños cuerpos de agua (Ouma *et al.* 2018; Malthus *et al.* 2020).

### Justificación del estudio: embalses agropecuarios de la cuenca del Río Santa Lucía

En Uruguay, muchos de los sistemas acuáticos naturales sufren un proceso de eutrofización avanzado desde hace más de una década (Arocena *et al.* 2008; Aubriot *et al.* 2017; Bonilla *et al.* 2015). Cuando los cursos fluviales eutróficos son represados se generan condiciones favorables para el desarrollo de floraciones de fitoplancton, en particular de cianobacterias (Bonilla *et al.* 2015). Los registros existentes para nuestro país indican que los síntomas del aumento de nutrientes son más severos en cuerpos de agua lénticos (embalses o lagos), donde los tiempos de residencia del agua generan las condiciones propicias para el crecimiento microalgal (Bonilla *et al.* 2015). Actualmente, en el país existe un gran número de embalses de tamaño variado, principalmente destinados al uso agropecuario (1363 embalses declarados, 1300 para uso agropecuario, MVOTMA 2017), tendencia que aumentaría dados los incentivos a su construcción promovidos por las últimas modificaciones a la Ley de Riego (Ley N° 19.553, Uruguay 2017). Si estos sistemas contienen floraciones de cianobacterias, en situaciones de precipitaciones intensas, pueden descargar estos organismos hacia los cursos de agua receptores y llegar a zonas de recreación y tomas de agua para potabilizar (Olano *et al.* 2019; Somma *et al.* 2022). A pesar del gran número de embalses agropecuarios en el país, no se ha implementado un sistema de monitoreo en estos ambientes, y existe escasa información sobre su estado trófico y una comprensión limitada de los factores que podrían incidir en la ocurrencia de las floraciones algales. El gran número de estos embalses y su ubicación en predios privados de difícil acceso, impone restricciones al monitoreo tradicional de calidad de agua. Un avance significativo sobre el conocimiento de estos ambientes se ha logrado a través de la teledetección. Sin embargo, esta herramienta de gran cobertura espacial y alta

frecuencia temporal de generación de datos, requiere de condiciones atmosféricas adecuadas y de mediciones *in situ* para la validación de los modelos de estimación de clorofila y turbidez (Zabaleta *et al.* 2023). Esta situación plantea un escenario complejo para la gestión ambiental ya que requiere de la optimización de varias metodologías de monitoreo para la detección de floraciones algales en cuerpos de agua numerosos y de difícil acceso.

La cuenca del Río Santa Lucía abastece de agua potable al 60% de la población del país, lo que ha llevado a la implementación de medidas particulares de protección ambiental (DINAMA-JICA 2011; MVOTMA 2013). Esta cuenca posee un considerable número de embalses y pequeños cuerpos de agua de uso productivo (al menos  $n=486$ ), de los cuales muchos presentan preocupantes niveles de indicadores de eutrofización (Zabaleta *et al.* 2023). El objetivo del presente trabajo es evaluar los factores ambientales acuáticos que favorecen el desarrollo de las floraciones de fitoplancton, y explorar metodologías para su detección, en catorce embalses de uso agropecuario de la cuenca del Río Santa Lucía. Se plantea la evaluación de los principales factores ambientales mediante el estudio de variables limnológicas a escala de embalse, con el fin de identificar los condicionantes y promotores del desarrollo fitoplanctónico, y los tipos de organismos que puedan verse favorecidos. Por otra parte, los métodos basados en la fluorescencia *in vivo*, y en las reflectancias en el rango de luz visible medidas a través de cámaras de teléfonos inteligentes, tienen el potencial de permitir su uso descentralizado, la disminución de costos, y la obtención de datos en tiempo real, lo que podría viabilizar la obtención de información en sitios que no cuentan con registros previos. De esta forma, la presente investigación contribuye con información relevante para la comprensión de los principales factores que explican las floraciones de fitoplancton en embalses productivos. Asimismo aporta a la evaluación del riesgo potencial de exportación de biomasa algal en cuencas utilizadas para el abastecimiento de agua potable.

## Objetivo general

Evaluar los factores ambientales que se relacionan con la presencia de floraciones de fitoplancton en embalses de uso agropecuario de la cuenca del Río Santa Lucía y explorar metodologías para su detección *in situ*.

## Objetivos específicos

1. Caracterizar la comunidad de fitoplancton y las condiciones fisicoquímicas de embalses agropecuarios en la cuenca del Río Santa Lucía.
2. Identificar las variables ambientales limnológicas que se relacionan con la ocurrencia de floraciones de fitoplancton y de cianobacterias en embalses de uso agropecuario.
3. Evaluar métodos para la detección *in situ* de clorofila *a* total y de cianobacterias en embalses turbios: desempeño de la fluorescencia *in vivo* de clorofila *a* y de reflectancias medidas con una cámara de un teléfono inteligente.

## Preguntas que la tesis se plantea responder y estructura general:

La presente tesis contiene dos capítulos que abordan el objetivo principal de la investigación. El primer capítulo muestra la caracterización de los embalses agropecuarios de la cuenca, con énfasis en la comprensión de los factores que explican la presencia de floraciones de fitoplancton.

**Capítulo 1: Comunidad de fitoplancton de embalses agropecuarios y factores ambientales explicativos.** Interrogantes que se buscan responder:

1. ¿Qué variables ambientales se relacionan con la presencia de floraciones de fitoplancton en embalses agropecuarios de la cuenca del Río Santa Lucía?
2. ¿Cuáles son las variables que mejor explican la presencia de cianobacterias?

**Capítulo 2: Métodos alternativos de detección de floraciones de fitoplancton en embalses agropecuarios.** Interrogantes que se buscan responder:

3. ¿Es posible detectar de forma óptica y por fluorescencia, la presencia de fitoplancton y de cianobacterias en embalses turbios, dentro de los niveles guía para clorofila *a* de la OMS?
4. ¿Estos métodos son adecuados para un posible uso en el monitoreo ambiental ciudadano?

## Capítulo 1: Comunidad de fitoplancton de embalses agropecuarios y factores ambientales explicativos

### Introducción

En general, la disponibilidad de luz en la columna de agua, la temperatura, los nutrientes y el tiempo de residencia, pueden considerarse como los principales factores ambientales que inciden en el crecimiento fitoplanctónico (Michalak *et al.* 2013; Paerl y Huisman 2008; Schindler 1977). La disponibilidad de luz es un factor fundamental para el crecimiento del fitoplancton, y en ambientes acuáticos turbios, los sólidos y el material en suspensión pueden reducir el ingreso de la luz, limitando el crecimiento y la composición del fitoplancton, aun en condiciones favorables de nutrientes (Crisci *et al.* 2017; Dávalos *et al.* 1989; Dzialowski *et al.* 2011; Han *et al.* 2020).

Dada la fuerte dependencia del fitoplancton a la disponibilidad de nutrientes, desde hace décadas que diferentes rangos de concentración son utilizados para caracterizar los ecosistemas acuáticos y evaluar los riesgos de floraciones algales problemáticas (Dodds 2007). En aguas continentales, el fósforo y el nitrógeno han sido identificados como los principales nutrientes limitantes del crecimiento microalgal, por lo que su estudio es de gran relevancia tanto a nivel de la investigación, así como también en la gestión gubernamental. Aunque, cabe destacar que los requerimientos y necesidades de nutrientes pueden diferir entre las especies del fitoplancton (Gotham y Rhee 1981). Debido a la capacidad de fijación del nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>) de algunas cianobacterias, el fósforo suele considerarse como el nutriente limitante y con mayor relevancia ecológica (Havens *et al.* 2003; Karl *et al.* 2002; Schindler *et al.* 2008). Esto implica que algunos grupos de cianobacterias puedan verse favorecidas en condiciones limitantes de nitrógeno (baja relación N:P), frente a otros grupos fitoplanctónicos. Igualmente, a pesar de la capacidad de fijación de nitrógeno por parte de algunas cianobacterias, existe un amplio espectro de trabajos que demuestran que tanto el fósforo, como el nitrógeno pueden limitar el crecimiento fitoplanctónico dependiendo de las condiciones locales del ambiente (Lewis *et al.* 2008; Paerl *et al.* 2019; Schindler *et al.* 2008; Sterner 2008).

El Río Santa Lucía, es la principal fuente para el suministro de agua potable del país. Recibe el aporte de varios tributarios y de sistemas de embalses de

diversos tamaños (MVOTMA 2016). Su cuenca hidrológica posee un estado preocupante de eutrofización y cuenta con antecedentes de floraciones de cianobacterias, lo que ha llevado a la implementación de varias medidas de mitigación (Aubriot *et al.* 2017; Chalar *et al.* 2017; DINAMA-JICA 2011; MVOTMA 2013; Udelar 2013; Viak 1990). A nivel de cambios de cobertura del suelo, en los últimos años la cuenca del Río Santa Lucía presentó un incremento significativo en las áreas cultivadas, y una disminución de las áreas de cobertura herbácea natural (MVOTMA 2016; MVOTMA 2018). Las zonas de uso agrícola intensivas (cerealeras, hortofrutícolas, forrajeras para cría de animales, entre otras) generan mayores exportaciones de nutrientes que aquellas comprendidas por coberturas naturales o usos extensivos, las que en general utilizan menores cantidades de insumos para sustentar la producción agropecuaria (Abell *et al.* 2011; Mcfarland y Hauck 2001; Jeje 2006). Por ejemplo, en ocasiones la práctica de siembra directa reduce la erosión del suelo, pero la fertilización superficial puede aumentar la disponibilidad de la fracción de fósforo soluble, promoviendo las pérdidas por escorrentía (Osmond *et al.* 2019). En sistemas intensivos de cría de animales, además de las fertilizaciones, el aporte de fósforo mediante la deposición del estiércol (proveniente de la ración) también puede favorecer pérdidas excesivas del nutriente a las aguas superficiales (Reid *et al.* 2019). En este sentido, estudios en predios de producción de leche en Uruguay han mostrado un potencial de eutrofización por hectárea superior en los sistemas de mayor producción (Darré *et al.* 2020).

Resultados recientes indican que para una mejor comprensión de la dinámica del fitoplancton y del origen de las floraciones de cianobacterias en la cuenca, implicaría el estudio de los aportes de los tributarios, principalmente de sistemas lénticos, los cuales tienen un efecto relevante en el aporte de fitoplancton al cauce principal (Río Santa Lucía) (Olano *et al.* 2019, Somma *et al.* 2022). En nuestro país, existe una comprensión limitada de los factores que inciden en la ocurrencia de las floraciones algales en cursos fluviales y en particular en pequeños embalses agropecuarios. Si bien el conocimiento de los principales factores ambientales que promueven la eutrofización han sido estudiados, aun son objeto de discusión, por lo que los esfuerzos que contribuyan al entendimiento de los sistemas acuáticos son fundamentales para mejorar la

gestión (Alcántara *et al.* 2022). En este sentido, en este capítulo se abordan los objetivos específicos número 1 y número 2 de la presente tesis.

## Metodología

### Área de estudio

El trabajo se realizó en catorce embalses de la cuenca del Río Santa Lucía implantados en microcuencas rurales, con diversos usos productivos (agricultura, producción de leche y ganadería), y diferentes coberturas del suelo; campo natural, frutales, pasturas para forraje, y cultivos de verano (Figura 1 y Tabla II). Además, se destaca que los cuerpos de agua D, H e I cuentan con tambos en sus cercanías, ubicados sobre terrenos que derivan sus aguas hacia los propios embalses (por pendiente). Se trata de embalses de pequeña – mediana escala de tamaño, menores a 100 hectáreas de superficie de espejo de agua y de profundidad media  $\leq$  a 10 metros (someros). Se destaca que debido al tamaño de estos embalses, su construcción no se encuentra comprendida por el reglamento de evaluación de impacto ambiental (Decreto N° 349/005, Uruguay 2005). El número de embalses permite abarcar un amplio gradiente de condiciones ambientales, diferentes usos productivos, y diferentes condiciones ópticas y de biomasa algal. El trabajo de campo y laboratorio, así como la selección de los embalses, se enmarcó en las actividades del proyecto CSIC I+D 354 denominado: "Validación de índices para la detección remota de floraciones algales y evaluación de estado trófico de embalses de uso productivo".

El conjunto de embalses A, B, C, D, E y F se encuentra agrupado en la cuenca baja, ubicados en la subcuenca del Arroyo Canelón Grande (ACG). Por otro lado, los embalses G, H, I, J, K, L, M, y N se encuentran en la cuenca media, particularmente en las subcuencas del Río Santa Lucía Chico (RSLC), y Río Santa Lucía (RSL) entre nacientes y Río Santa Lucía Chico (Figura 2).

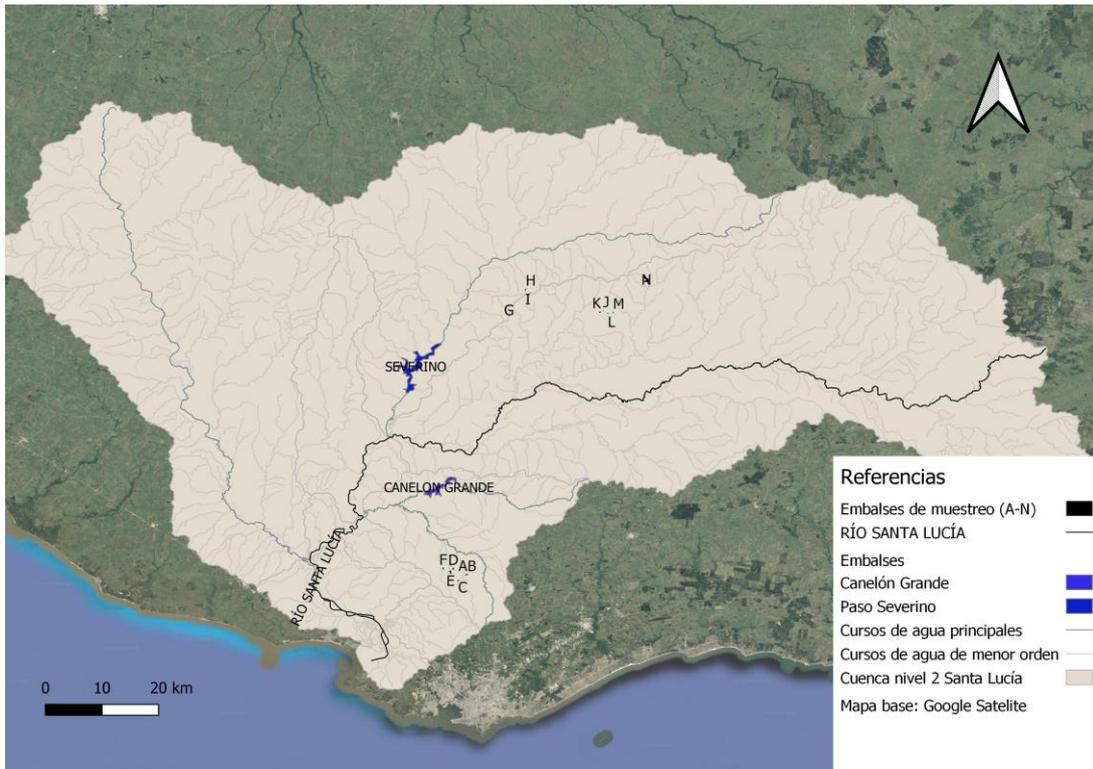


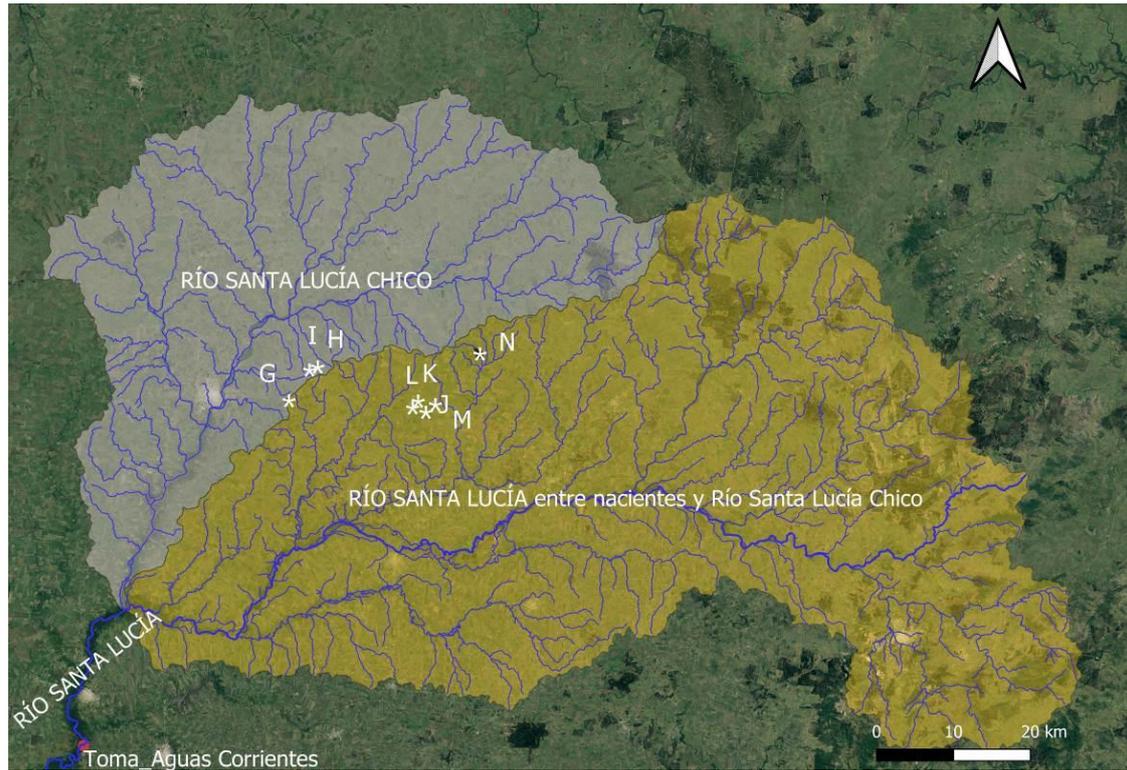
Figura 1. Cuenca del Río Santa Lucía con los sitios de muestreo (letras negras: A - N). Los embalses se ubican en las subcuencas del Arroyo Canelón Grande, Río Santa Lucía y Río Santa Lucía Chico.

Tabla II. Características generales de los catorce embalses. Se indica la superficie en hectáreas (ha) del espejo de agua y de la cuenca de drenaje, la subcuenca y la actividad general del predio.

<b>Embalse</b>	<b>Espejo de agua (ha)</b>	<b>Área (aproximada) de cuenca de drenaje* (ha)</b>	<b>Subcuenca</b>	<b>Actividad</b>
A	3,56	46	ACG	Sistema forrajero
B	1,42	25	ACG	Sistema forrajero
C	4	21	ACG	Sistema forrajero
D	5,1	33	ACG	Cría de cerdos / sistema forrajero
E	12,7	98	ACG	Sistema forrajero / cultivo
F	4,57	159	ACG	Cultivo
G	2,85	61	RSL	Sistema forrajero
H	1,75	17	RSLC	Sistema forrajero
I	0,85	6	RSLC	Sistema forrajero
J	0,43	31	RSL	Cultivo / sistema forrajero
K	3,52	37	RSL	Cultivo / sistema forrajero
L	1,1	7	RSL	Cultivo / sistema forrajero
M	1,95	85	RSL	Cultivo / sistema forrajero
N	52,4	695	RSL	Cultivo / sistema forrajero

\* Las áreas de las cuencas de drenajes de cada embalse fueron delimitadas con el software Q GIS 3.10.11-A Coruña con Grass, mediante el modelo de elevación de terreno de tamaño de pixel de 2.5 x 2.5 metros (disponible en la Infraestructura de Datos Espaciales de Uruguay, visor IDEUY).

b)



a)

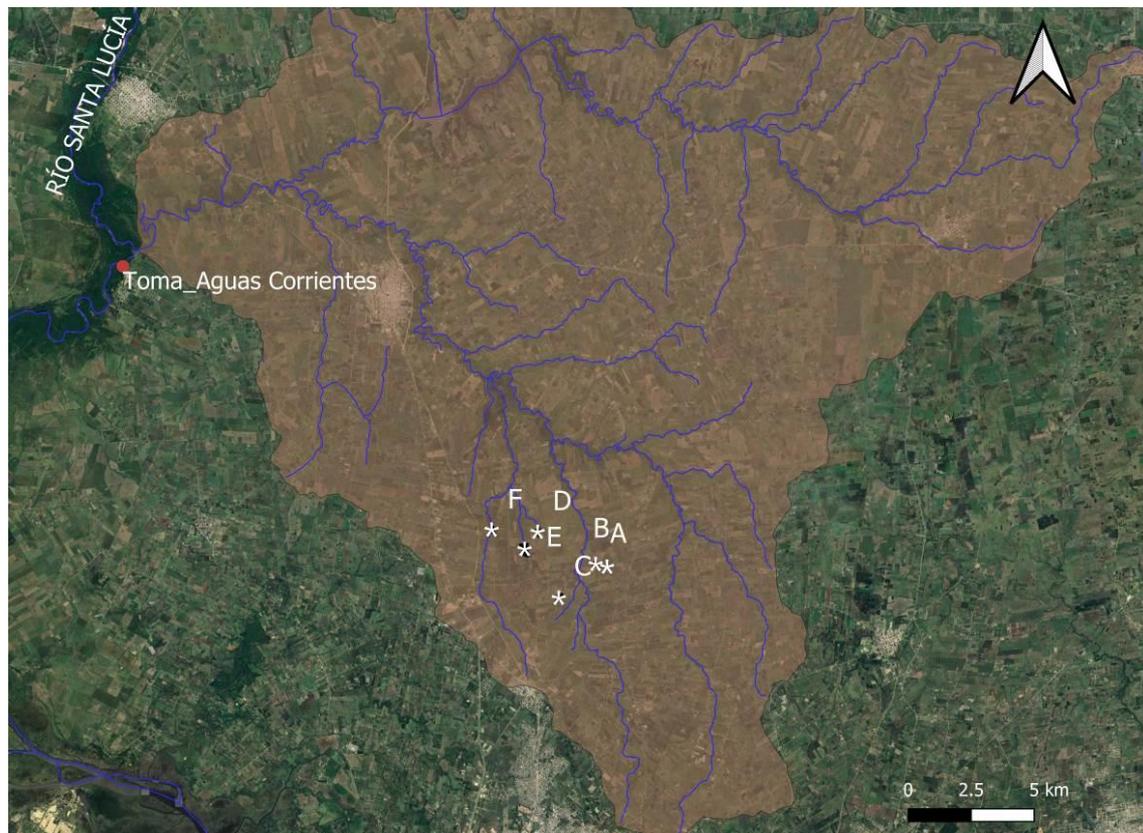


Figura 2. Cuenca del Río Santa Lucía con los sitios de muestreo (A - N). a): Embalses A, B, C, D, E, y F, ubicados en la subcuenca del Arroyo Canelón Grande. b): Embalses G, H, I, J, K, L, M, y N, ubicados en las subcuencas del Río Santa Lucía (entre nacientes y Río Santa Lucía Chico) y Río Santa Lucía Chico.

### Muestreo de variables limnológicas

El estudio comprende un total de tres muestreos *in situ* en cada embalse durante la primavera (07/11/2019, 03/12/2019 y 17/11/2020), con el fin de abarcar un período de alto crecimiento fitoplanctónico anual. Se determinó en cada embalse la transparencia del agua con disco de Secchi (desde los márgenes), y con una sonda multiparamétrica (Horiba U-52G): temperatura, oxígeno disuelto, turbidez, conductividad, y pH (datos georreferenciados). Se recolectaron tres réplicas de muestras de agua para el posterior análisis de nutrientes (totales y disueltos), material en suspensión (sólidos totales y materia orgánica en suspensión), clorofila *a* por extracción y biovolumen de fitoplancton. Se utilizó un muestreador extensible con bomba de succión para extraer las muestras de agua superficiales a una distancia  $\geq$  a 10 metros de la orilla. Se realizaron mediciones de fluorescencia de clorofila *a* y ficocianina *in vivo* con un fluorómetro de mano (Aquafluor, Turner Designs), para la determinación de la clorofila *a* con las correcciones de turbidez (Cremella *et al.* 2018). La descripción de la captura de imágenes y uso de Hydrocolor se realiza en el capítulo 2.

### Análisis de laboratorio

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio refrigeradas y en oscuridad. En el laboratorio se filtró cada réplica con dos filtros (MGF, Munktell, Alemania): uno previamente quemado a 540°C y pesado para el análisis gravimétrico, y otro para realizar la extracción de clorofila *a*. En el volumen filtrado se cuantificó la concentración de nitrito (método de sulfanilamida), nitrato (método de salicilato de sodio), amonio (método de azul de indofenol), y fosfato (método de molibdato de amonio) (APHA 1985). En un volumen de muestra sin filtrar se midieron el fósforo total y el nitrógeno total (método de oxidación con persulfato de potasio) (APHA 1985; Valderrama 1981). En paralelo, se determinaron la concentración de sólidos en suspensión, y materia orgánica en suspensión por el método gravimétrico/calcinación (APHA 1985). Se estimó la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) por fluorescencia en fluorómetro Turner Designs Trilogy (en unidades relativas de fluorescencia).

La concentración de clorofila *a* fue determinada por el método de extracción con etanol caliente (Nusch 1980). La identificación de los distintos taxa de fitoplancton se realizó mediante la observación en microscopio óptico directo e invertido entre 100x y 1000x y el uso de claves y bibliografía específica para cada grupo taxonómico (Aguilera *et al.* 2018; Javornický 2003; Komárek 1983; Komárek *et al.* 2014). Para algunos casos se utilizó de forma complementaria microscopía de epifluorescencia y contraste de fases. En particular, para la diferenciación de *Ceratium furcoides* y *Ceratium hirudinella* se realizó la despigmentación celular para eliminar la materia orgánica y poder visualizar y separar las placas de la teca con NaClO 20% (Pacheco *et al.* 2021).

El fitoplancton se cuantificó en cámaras de sedimentación Sedgewick Rafter (de 1 ml) y Utermöhl (de volumen variable, entre 2 y 25 ml) con microscopio óptico invertido (Olympus CKX41). El conteo se realizó siguiendo las recomendaciones de la bibliografía, mediante la selección de campos al azar hasta cuantificar 400 organismos totales o 100 organismos del taxa más abundante y/o por conteo de media cámara, según el tamaño y abundancia de los organismos presentes (Hötzel y Croome 1999; Sournia 1978). El volumen individual de cada organismo (en mm<sup>3</sup>) se estimó usando figuras geométricas aproximadas según Hillebrand *et al.* 1999, para lo que se midieron las dimensiones morfológicas (µm). Se realizó un promedio del volumen de los organismos de cada taxa y se calculó el biovolumen de cada taxa para cada muestra (volumen x abundancia, expresado en mm<sup>3</sup>L<sup>-1</sup>).

### Análisis de datos

Se contó con un número de datos totales  $n = 42$  (a partir de 126 de réplicas) por cada variable estudiada en los diferentes embalses. Se realizaron una serie de análisis descriptivos y de modelación. Se analizaron las relaciones entre las variables de crecimiento microalgal (clorofila *a* por extracción y fluorescencia, biovolumen total y biovolumen de cianobacterias) y las variables ambientales (nutrientes, turbidez, sólidos en suspensión, CDOM, entre otras). Dado que los datos en su conjunto no presentan distribución normal, se realizaron transformaciones logarítmicas (logaritmo natural: Ln), y se utilizaron métodos no

paramétricos, de tipo de correlaciones de Spearman, y comparaciones por rangos mediante la prueba de Kruskal-Wallis para los análisis de varianza. Adicionalmente, se realizaron análisis de similitud ANOSIM (por el índice de Bray Curtis) como una prueba no paramétrica que sirvió para determinar la significación estadística de las comparaciones por grupos y el análisis NMDS (análisis no paramétrico de Escalamiento Multidimensional) para la representación gráfica. Se utilizaron como variables de respuesta la clorofila *a*, el biovolumen total y el biovolumen por grupo taxonómico de fitoplancton (clados: Chlorophyta; Cryptophyta; Cyanobacteria; Dinophyta; Bacillariophyta; Euglenophyta). Asimismo, se establecieron variables categóricas, de acuerdo a los grupos taxonómicos de fitoplancton dominantes mediante las contribuciones a la biomasa de biovolumen total, y en función de los niveles guías de la OMS (Chorus y Welker 2021). Las variables explicativas empleadas son aquellas medidas *in situ*, como nutrientes, sólidos totales en suspensión, turbidez, entre otras variables fisicoquímicas. En las clasificaciones de fósforo total y clorofila *a* se utilizó el índice de estado trófico (ET) de Cunha *et al.* 2013. Por otro lado, en las clasificaciones de ET realizadas en base al nitrógeno total y a la profundidad de disco de Secchi fue empleado el índice propuesto por Lamparelli (2004). Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) (multivariado) para la identificación de patrones y reducir las dimensiones de las variables explicativas. En línea con lo anterior, se realizó un árbol de clasificación de inferencia condicional, para evaluar si es posible definir umbrales de las variables ambientales que puedan determinar la presencia de los grupos fitoplanctónicos. El árbol de inferencia condicional fue diseñado en base a un entrenamiento del 80% de la muestra y probado con un 20 % de los datos. Adicionalmente, se realizó un Análisis de Taxones Indicadores de Umbral (TITAN) con los taxa de mayor frecuencia de aparición (presencia en al menos seis sitios), para identificar cambios en las contribuciones de biovolumen de los taxones a lo largo de gradientes ambientales (Baker y King 2010). De esta forma, se obtienen indicadores relevantes para evaluar la respuesta del taxón, como la magnitud de la respuesta al gradiente ambiental (*z* score), la pureza (proporción de direcciones de respuesta de puntos de cambio que concuerdan con la respuesta observada, recomendada >0.95) y la confiabilidad (proporción de puntos de cambio que resultan en un *P* valor  $\leq 0.05$ , recomendada >0.95) (Baker y King

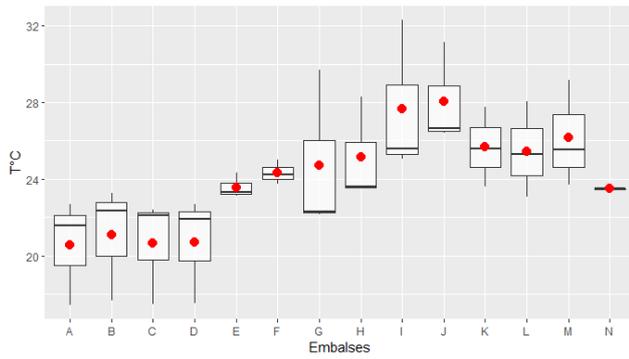
2010). Este método es apropiado para analizar datos provenientes de conteos, con alta presencia de 0 (ausencias de taxa) y falta de distribución normal en los datos (Baker y King 2013; King y Baker 2014). Por último, se realizaron modelos de regresión lineal simple y múltiple para la determinación de las variables explicativas y para modelar variables de respuestas de dinámica de fitoplancton. Se utilizó el criterio de información de Akaike AIC, considerando el modelo más parsimonioso con menor AIC, y los estadísticos de desempeño en regresiones (p-valor,  $R^2$ ) (Logan 2010). La normalidad se verificó mediante el Test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad de varianza por el Test de Breusch-Pagan. Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del software R, versión 4.2.2 y el software Past versión 4.03.

## Resultados

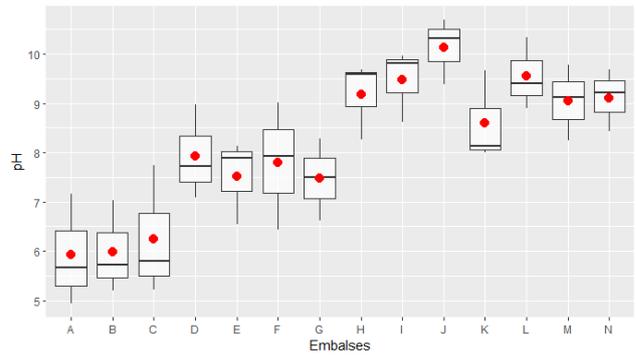
### Caracterización fisicoquímica general

Los valores medios por embalse de temperatura ( $T^{\circ}\text{C}$ ) (20.7-28.1  $^{\circ}\text{C}$ ), pH (6.0-10.1), conductividad (Cond) (70.0-727.9  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), turbidez (37.7-886.0 NTU), oxígeno disuelto (OD) (6.8-15.0 mg/L), sólidos totales en suspensión (STS) (38.0-557.3 mg/L), materia orgánica (MO) (5.8-438.1 mg/L), materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) (20211.7-95762.0 RFU), nitrógeno total (NT) (0.94-12.21 mg/L), y fósforo total (PT) (0.2-4.0 mg/L), mostraron un amplio rango de variación. Se destacan los embalses I y J, los cuales en las variables mencionadas presentaron los valores medios más elevados. Todas las variables presentaron diferencias significativas (Kruskal Wallis p valor < 0.05) en las comparaciones entre embalses (Figura 3).

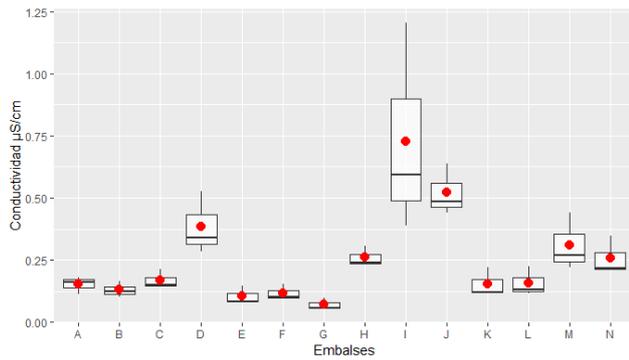
a) Kruskal Wallis  $p=4.19E-13$ ,  $p<0.05$



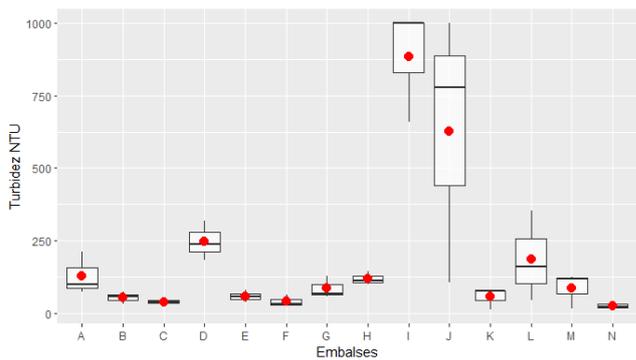
b) Kruskal Wallis  $p=2.688E-14$ ,  $p<0.05$



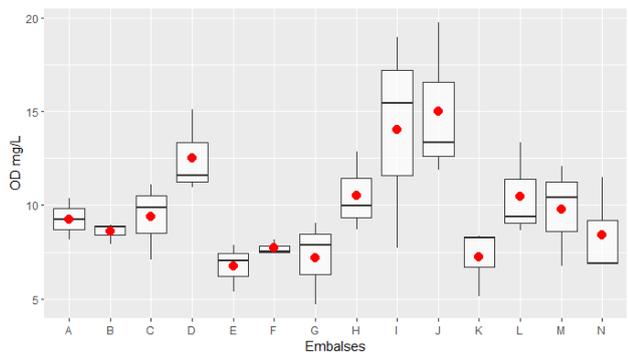
c) Kruskal Wallis  $p=1.206E-16$ ,  $p<0.05$



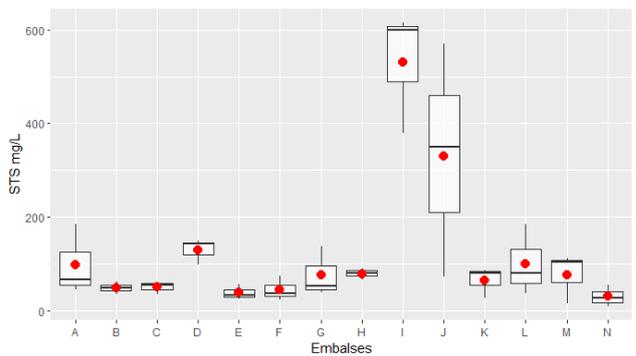
d) Kruskal Wallis  $p=1.644E-13$ ,  $p<0.05$



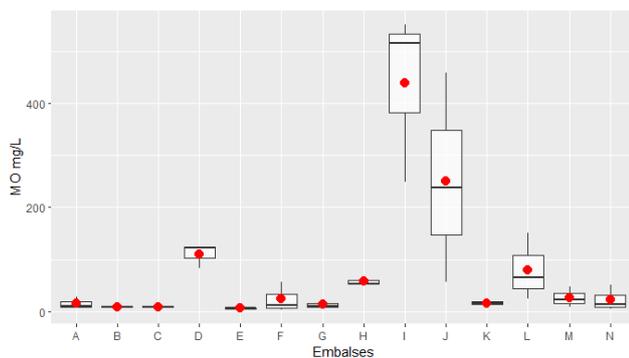
e) Kruskal Wallis  $p=3.056E-09$ ,  $p<0.05$



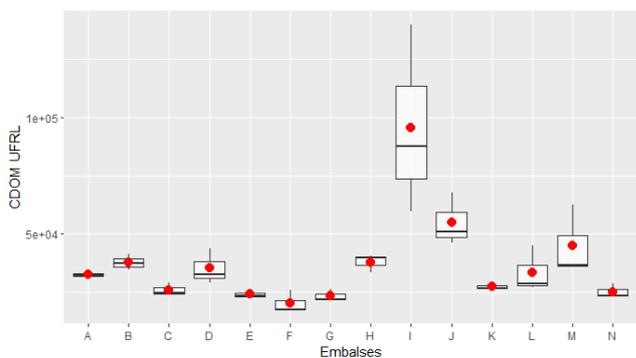
f) Kruskal Wallis  $p=4.482E-10$ ,  $p<0.05$



g) Kruskal Wallis  $p=1.565E-14$ ,  $p<0.05$



h) Kruskal Wallis  $p=4.417E-17$ ,  $p<0.05$



i) Kruskal Wallis  $p=7.774E-18$ ,  $p<0.05$

j) Kruskal Wallis  $p=2.485E-15$ ,  $p<0.05$

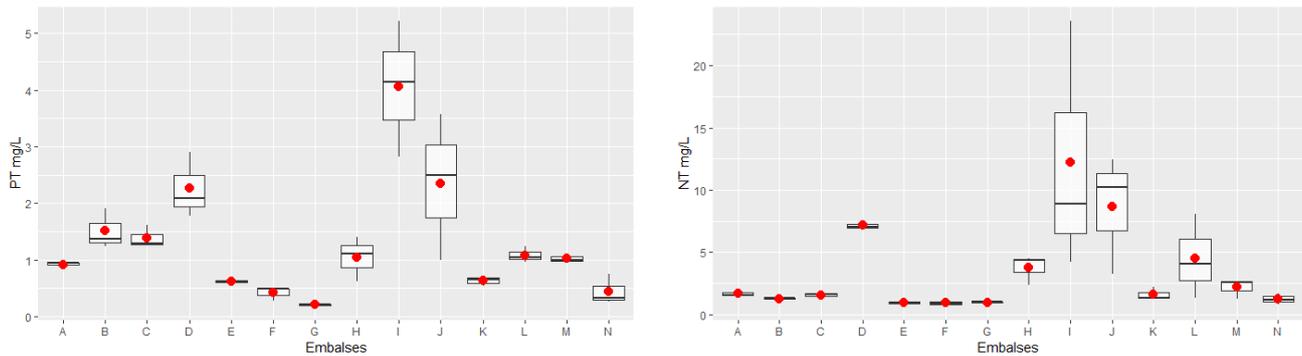
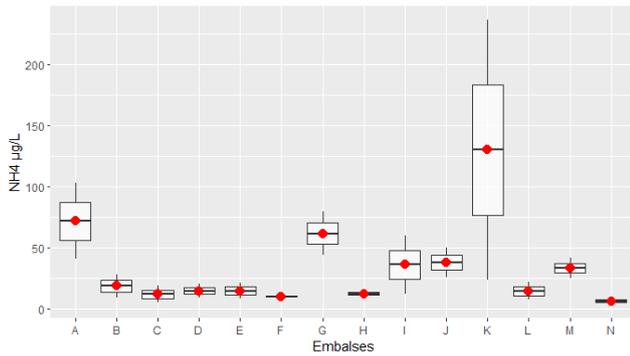


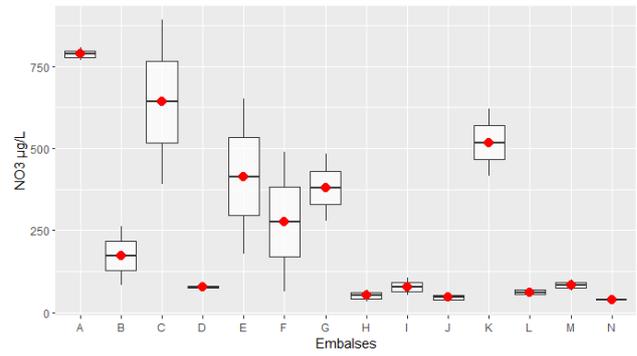
Figura 3. Boxplot de las principales variables fisicoquímicas por embalse: a): temperatura (T°C); b): pH; c): conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ); d) turbidez (NTU); e): oxígeno disuelto en mg/L (OD); f): sólidos totales en suspensión en mg/L (STS); g): materia orgánica en suspensión en mg/L (MO); h): materia orgánica disuelta coloreada en RFU (CDOM); i) fósforo total en mg/L (PT) y j): nitrógeno total en mg/L (NT). Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Se detalla el test de Kruskal Wallis para la evaluación de las diferencias entre embalses por cada variable.

Los valores medios por embalse de amonio ( $\text{NH}_4$ ) (5.85-130.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ ), nitratos ( $\text{NO}_3$ ) (38.254-787.7  $\mu\text{g}/\text{L}$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) (0.8-18.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ ), y fósforo reactivo soluble (PRS) (105.3-391.0  $\mu\text{g}/\text{L}$ ), también presentaron una importante variación (Figura 4). El  $\text{NO}_3$  y el  $\text{NO}_2$  presentaron las concentraciones medias más elevadas en los embalses A y M, respectivamente. En cambio, el  $\text{NH}_4$  y el PRS alcanzaron valores máximos en los embalses K y B, de forma respectiva. Todas las variables presentaron diferencias significativas (Kruskal Wallis p valor < 0.05) en las comparaciones entre embalses (Figura 4).

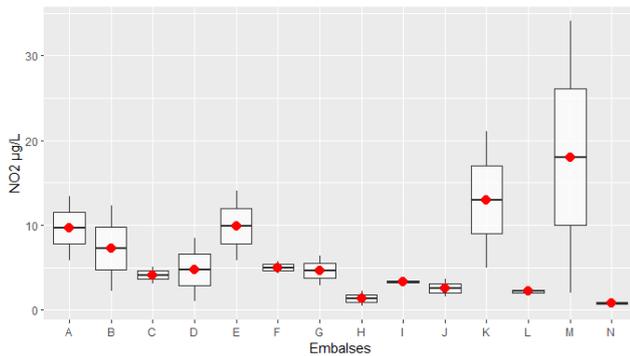
a) Kruskal Wallis  $p=8.231E-07$ ,  $p<0.05$



b) Kruskal Wallis  $p=9.597E-09$ ,  $p<0.05$



c) Kruskal Wallis  $p=3.523E-05$ ,  $p<0.05$



d) Kruskal Wallis  $p=0.0002959$ ,  $p<0.05$

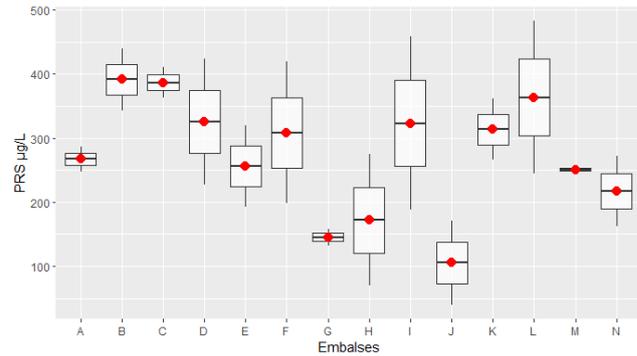


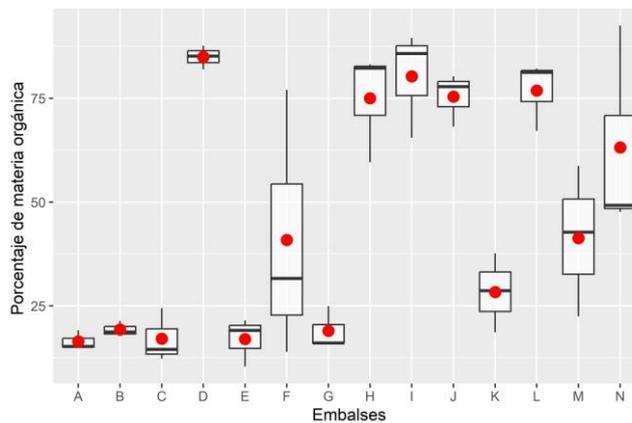
Figura 4. Boxplot de nutrientes disueltos por embalse: a): amonio en  $\mu\text{g/L}$  ( $\text{NH}_4$ ); b): nitratos en  $\mu\text{g/L}$  ( $\text{NO}_3$ ); c): nitritos en  $\mu\text{g/L}$  ( $\text{NO}_2$ ) y d): fósforo reactivo soluble en  $\mu\text{g/L}$  (PRS). Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Se detalla el test de Kruskal Wallis para la evaluación de las diferencias entre embalses por cada variable.

### Transparencia del agua y sólidos en suspensión

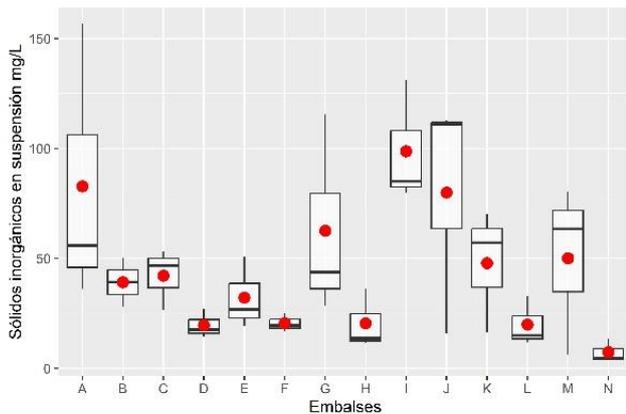
Las mediciones de transparencia con disco de Secchi (DS) no superaron los 60 cm de profundidad en la columna de agua. La profundidad mínima de DS fue de 4.0 cm, observada en el embalse I, y la máxima de 55.0 cm, en el embalse N. Los embalses N, M y L fueron los únicos cuerpos de agua que superaron los 30 cm de profundidad de DS. Por otro lado, los embalses D, G, I, J, K, L, y M presentaron transparencias iguales o menores a 10 cm de profundidad de DS. Los STS presentaron un rango de variación entre 8.9 mg/L, en el embalse N, y 615.0 mg/L, valor observado en el embalse I. Los embalses J e I presentaron las máximas concentraciones de STS, superando los 500 mg/L. Los embalses B, C, E, F, H, K y N mantuvieron concentraciones menores a los 100 mg/L de STS. El resto de los embalses superaron dicha concentración. En más de la mitad de las

ocasiones los sólidos inorgánicos en suspensión presentaron una mayor contribución en relación a la MO (total de 42). Los embalses D, H, I, J y L presentaron una mayor contribución de la fracción orgánica, y los embalses A, B, C, E, G, y K un mayor aporte de sólidos inorgánicos en suspensión (Figura 5).

a) Kruskal Wallis  $p=0.002201$ ,  $p<0.05$



b) Kruskal Wallis  $p=0.03598$ ,  $p<0.05$



c) Kruskal Wallis  $p=0.004199$ ,  $p<0.05$

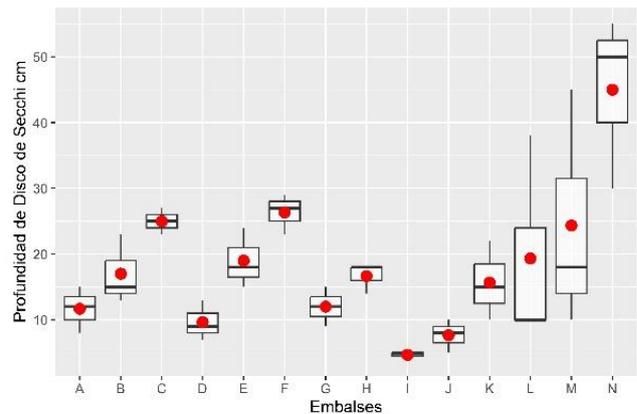


Figura 5. a): Boxplot del porcentaje (%) de la materia orgánica en suspensión. b): Boxplot de sólidos inorgánicos en suspensión (mg/L). c): Boxplot de profundidad de disco de Secchi en cm. Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Se detalla el test de Kruskal Wallis para la evaluación de las diferencias entre embalses por cada variable.

### Estado trófico: variables descriptivas

En treinta y cinco ocasiones el PT superó los 500  $\mu\text{g/L}$ , y siempre se encontró por encima de los 77.7  $\mu\text{g/L}$  (límite hipereutrófico). El NT en base al índice de estado trófico (ET), presentó en diecisiete ocasiones clasificaciones correspondientes a las categorías eutróficas, supereutróficas, e hipereutróficas, encontrándose por encima de los 1000  $\mu\text{g/L}$  en treinta y cinco ocasiones (Figura 3). Por otro lado, en base a la profundidad de DS, todos los embalses presentaron transparencias pertenecientes a la categoría hipereutrófica según la propuesta ET de Lamparelli (2004). La clorofila *a* por extracción presentó en treinta y tres ocasiones valores equivalentes a niveles “eutróficos”-“hipereutróficos” (clorofila *a* >10.1  $\mu\text{g/L}$ ), observándose altas concentraciones de clorofila correspondiente a cianobacterias en cinco embalses (D, H, I, J y L) (Figura 6).

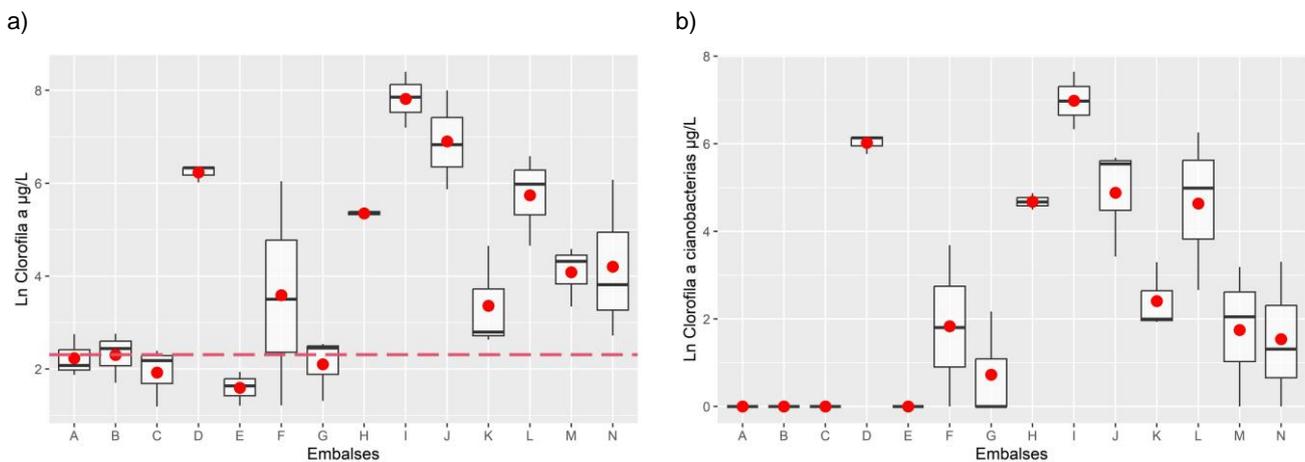


Figura 6. Boxplot de la concentración de clorofila *a* total por extracción (en a) y boxplot de la concentración de clorofila *a* de cianobacterias (en b) estimada por fluorescencia *in vivo*, en los catorce embalses (A-N). Los datos fueron transformados a la forma logarítmica. Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. La línea roja en el eje indica el límite eutrófico para la clorofila ( $\geq 10.1 \mu\text{g/L}$ ).

## Comunidad de fitoplancton

La comunidad del fitoplancton presentó diferentes composiciones de taxa entre los embalses, observándose una diversa presencia de los principales grupos de fitoplancton (Tabla III, y microfotografías de organismos en Anexo 1).

El grupo Cyanobacteria estuvo presente en diez embalses con varios géneros coloniales y filamentosos: *Planktolyngbya*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Dolichospermum*, *Merismopedia*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*, y *Raphidiopsis*. Salvo en el embalse D localizado en la cuenca baja, el mayor número de taxa de cianobacterias fue observado en embalses ubicados en la cuenca media-alta (embalses H, I, J, L, M). *Raphidiopsis* de morfotipo de *R. mediterranea* y *R. curvata*, y *Planktothrix agardhii* fueron las cianobacterias con mayor frecuencia de aparición en los tres muestreos. El grupo Bacillariophyta fue observado en todos los embalses, con la mayor frecuencia de aparición del género *Nitzschia*, seguido por *Cocconeis* y *Cyclotella*. El mayor número de taxa de este grupo se observó en embalses ubicados en la cuenca media-alta (J, K, L, M, N). El grupo Chlorophyta presentó la mayor diversidad con veintitrés taxa identificados, siendo observado el género *Monoraphidium* en todos los embalses estudiados. Además de este género, se destaca la presencia de *Schroederia*, *Didymocystis*, *Ankistrodesmus* y *Chlamydomonas*. El grupo Dinophyta fue observado en tres embalses (C, F, N), con la presencia de organismos del género *Ceratium*, entre la que se destaca la especie exótica invasora *Ceratium furcoides*. El grupo Chrysophyta presentó una baja aparición, únicamente en los embalses J y M. Por parte de este grupo fueron observados organismos del género *Mallomonas*. El grupo Cryptophyta estuvo presente en todos los embalses, siendo observados los géneros *Cryptomonas* y *Plagioselmis*. Finalmente, el grupo Euglenophyta fue observado en doce embalses, con la presencia mayoritaria de individuos de los géneros *Euglena* y *Trachelomonas*.

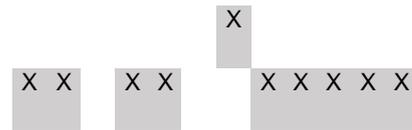
Tabla III. Tabla taxonómica con grupos (clados) fitoplanctónicos presentes en los catorce embalses en los 3 muestreos realizados. Se resumen los muestreos por sitio (noviembre de 2019, diciembre de 2019 y noviembre de 2020) y se indica con una X la presencia de organismos para cada taxón.

		EMBALSES														
Taxón		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
<b>Cyanobacteria</b>	<i>Anabaenopsis</i> sp.										X					
	<i>Aphanizomenon</i> sp.				X				X			X	X			
	<i>Aphanocapsa</i> spp.				X				X	X	X		X	X		
	<i>Dolichospermum</i> cf. <i>circinale</i>												X			
	<i>Dolichospermum</i> cf. <i>planctonicum</i>													X		
	<i>Merismopedia</i> sp.				X				X	X	X		X	X		
	<i>Planktolyngbya</i> sp.		X	X	X				X	X	X		X			
	<i>Planktothrix</i> sp.				X	X			X	X			X	X		
	<i>Pseudanabaena</i> sp.					X			X	X	X					
	<i>Raphidiopsis</i> sp.				X	X			X	X	X		X			
	Filamentosa cf. <i>Romeria</i>										X					
	<b>Bacillariophyta</b>	<i>Aulacoseira</i> sp.										X	X	X	X	
<i>Cocconeis</i> sp.		X						X			X	X	X	X	X	
<i>Cyclotella</i> sp.		X	X					X	X	X	X	X	X	X	X	
<i>Gyrosigma</i> sp.												X				
Pennada cf. <i>Gomphonema</i>						X					X	X	X	X	X	
<i>Melosira</i> sp.				X												
<i>Nitzschia</i> spp.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pinnularia</i> spp.			X		X							X	X	X	X	
<i>Skeletonema</i> sp.												X				
<i>Surirella</i> sp.													X			
Pennada cf. <i>Synedra</i>															X	
<b>Chlorophyta</b>	<i>Actinastrum</i> sp.									X	X		X			
	<i>Ankistrodesmus</i> spp.				X	X		X	X	X		X	X	X		



*Strombomonas* sp.

*Trachelomonas* sp.



### Biovolumen y composición de fitoplancton

El biovolumen presentó un amplio rango de variación, entre un valor mínimo de 0.075 mm<sup>3</sup>/L (en el embalse B) y un máximo de 1453.847 mm<sup>3</sup>/L (en el embalse I). Los embalses D, H, I, J y L presentaron biomásas superiores a 50 mm<sup>3</sup>/L en los 3 muestreos realizados. De forma contraria, los embalses A, B, C, E, y G presentaron una baja biomasa de fitoplancton  $\leq$  a 2.0 mm<sup>3</sup>/L. Por otro lado, en los embalses F, K y N se observaron cambios importantes en la biomasa microalgal, con aumentos y disminuciones radicales en los tres muestreos realizados. Se observaron diferencias significativas (Kruskal Wallis p valor < 0.05) en las comparaciones de biovolumen total entre los embalses (Figura 7 y Tabla I de Anexo 2). Los grupos Cyanobacteria, Chlorophyta y Dinophyta presentaron las mayores biomásas, en contraparte, los grupos Cryptophyta, Euglenophyta y Bacillariophyta presentaron bajas biomásas (Figura 6 de Anexo 3).

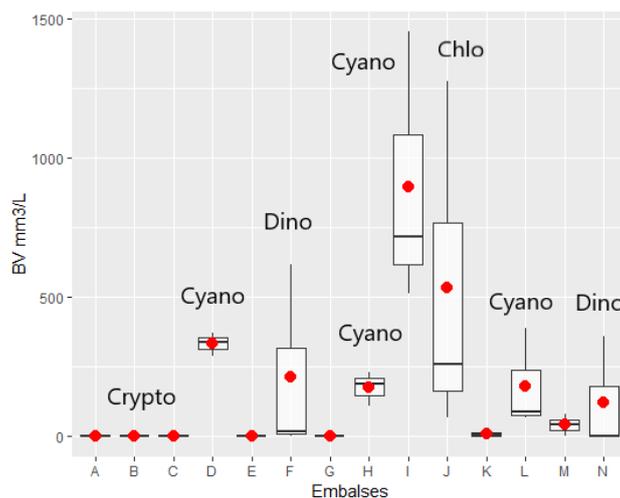


Figura 7. Boxplot de biovolumen (BV mm<sup>3</sup>/L) de fitoplancton por embalse. Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Test de Kruskal Wallis para la evaluación de las diferencias de biovolumen entre embalses: p valor= 0.002989, p<0.05. Se indica el grupo dominante de la comunidad de fitoplancton. Referencia; Chlo: Chlorophyta; Crypto: Cryptophyta; Cyano: Cyanobacteria; Dino: Dinophyta.

El biovolumen de los grupos taxonómicos de fitoplancton presentó diferencias significativas entre los embalses estudiados (ANOSIM, R de disimilitud de 0.57, p valor=0.0001 <0.05). Los embalses con baja biomasa de fitoplancton (biovolumen), se asociaron a la dominancia de Cryptophyta, Bacillariophyta y Chlorophyta (salvo en el embalse J). En estos cuerpos de agua, Cryptophyta fue observado como el principal grupo microalgal, particularmente en la subcuenca del Arroyo Canelón Grande (ACG) (zona sur). De forma contraria, Cyanobacteria fue el principal grupo fitoplanctónico en embalses con altas biomásas algales (Figura 8 y Tabla I de Anexo 2). En este sentido, las cianobacterias presentaron la mayor biomasa acumulada (en mm<sup>3</sup>/L), con una marcada dominancia de géneros filamentosos: *Planktothrix*, *Raphidiopsis* y *Aphanizomenon*. Los embalses D, H e I generaron grandes floraciones de cianobacterias de forma continua en todos los muestreos realizados. En general, Chlorophyta no desarrolló altas biomásas, salvo en los embalses I y J donde se alcanzó un biovolumen máximo de 1196.6 mm<sup>3</sup>/L por parte de *Dictyosphaerium*. Por otra parte, Bacillariophyta presentó bajos biovolúmenes, alternando su dominancia en embalses con baja biomasa microalgal. Dinophyta se observó de forma puntual en los embalses F (en muestreos de 2019) y N (en muestreo de 2020), con la ocurrencia de floraciones con elevadas biomásas de *Ceratium*. Por último, si bien Euglenophyta se observó en varios embalses, no presentó una dominancia respecto a la biomasa total del fitoplancton.

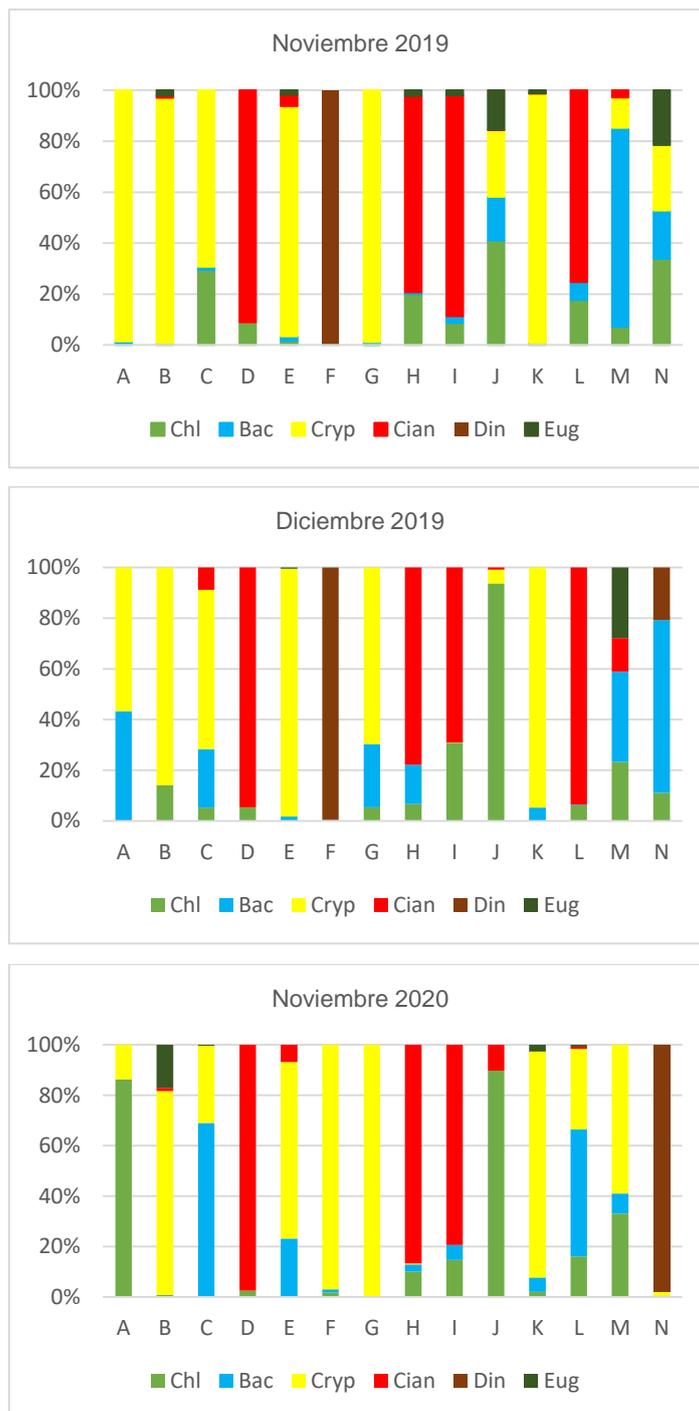


Figura 8. Contribución relativa de biovolumen (en %) de grupos fitoplanctónicos detectados en los muestreos realizados para los catorce embalses. Referencia: Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cryp: Cryptophyta; Cian: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Eug: Euglenophyta.

Los géneros filamentosos *Raphidiopsis* y *Planktothrix* fueron las principales cianobacterias dominantes generadoras de elevadas biomásas fitoplanctónicas

(Figura 9). *Raphidiopsis* presentó la mayor producción de biomasa, con un valor mayor a los 800 mm<sup>3</sup>/L. El género *Romeria*, el cual también es un género filamentoso, registró altas biomásas pero de forma puntual en el muestreo de noviembre de 2020, en el embalse I. Las cianobacterias coloniales presentaron una menor contribución al biovolumen total, salvo en el embalse J, en el cual *Merismopedia* presentó la mayor biomasa cianobacteriana, superando el valor de 75 mm<sup>3</sup>/L. Igualmente, se observaron embalses con alta producción de biomasa microalgal por parte de *Aphanocapsa*, alcanzando un valor de 14 mm<sup>3</sup>/L.

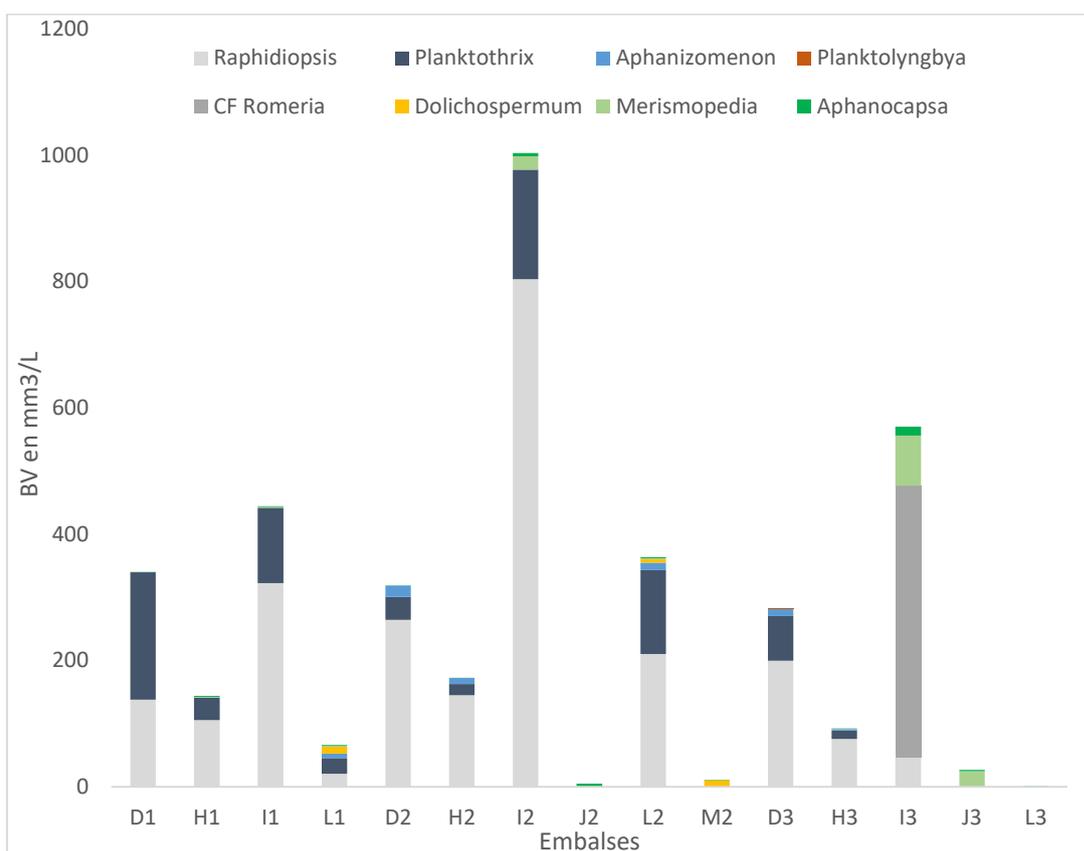


Figura 9. Biovolumen específico (BV en mm<sup>3</sup>/L) de los géneros de cianobacterias filamentosas y coloniales presentes en los embalses (noviembre de 2019, diciembre de 2019 y noviembre de 2020). Se incluyen los muestreos con una biomasa de cianobacterias total > 0.5 mm<sup>3</sup>/L. Se indica el número de muestreo por embalse (1: 07/11/2019; 2: 03/12/2019; 3: 17/11/2020).

### Estados tróficos y comunidad de fitoplancton

A diferencia del PT, que en todos los embalses se observaron estados hipereutróficos, las variables clorofila *a* y NT permitieron clasificar en un mayor número de clases al conjunto de embalses estudiados. Según el ANOSIM, las comunidades de fitoplancton (comparadas por biovolumen) presentaron diferencias significativas en su composición de acuerdo a los ET, presentando un  $R = 0.44$  para el ET determinado por clorofila *a* ( $p \text{ valor} = 0.0001 < 0.05$ ), y un  $R = 0.53$  para el ET clasificado por NT ( $p \text{ valor} = 0.0001 < 0.05$ ). Para mayor detalle ver el NMDS del Anexo 4 con la representación gráfica de la comunidad de fitoplancton de acuerdo a los niveles de ET.

En la Figura 10, se presenta la contribución relativa de los grupos de fitoplancton dominantes en los muestreos por categoría de ET. En las clasificaciones realizadas mediante el NT el grupo Cyanobacteria dominó en embalses eutróficos, supereutróficos e hipereutróficos. Chlorophyta predominó en la categoría hipereutrófico, eutrófico y mesotrófico. Bacillariophyta y Cryptophyta dominaron en las categorías de cuerpos de agua mesotrófico y eutrófico. La dominancia de Dinophyta estuvo presente en las categorías oligotrófico y mesotrófico. Por otro lado, en las categorías de ET en base a la clorofila *a*, Cyanobacteria y Dinophyta dominaron en los embalses hipereutróficos. Chlorophyta dominó en la categoría de embalses hipereutrófico, eutrófico y mesotrófico. Bacillariophyta dominó en las categorías de embalses eutróficos e hipereutróficos. Cryptophyta presentó una dominancia en todas las categorías de ET. Finalmente, se destaca que en los ET determinados por ambas variables las cianobacterias no presentaron una dominancia en biomasa en estados oligotróficos, ni mesotróficos.

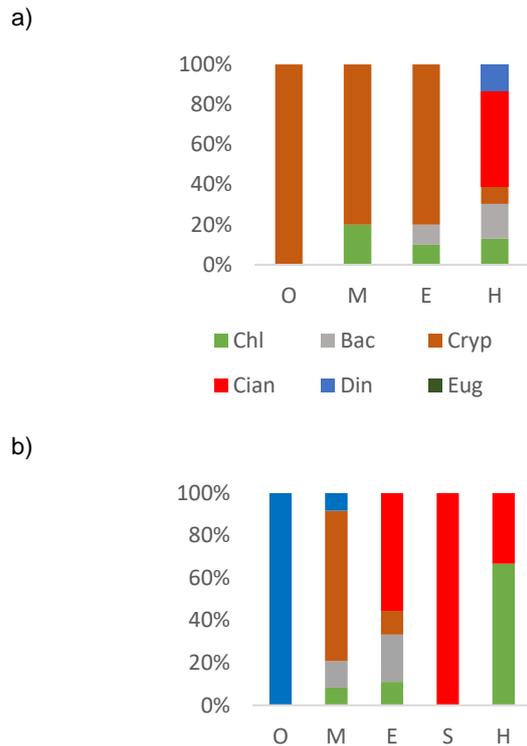


Figura 10. a): Contribución relativa (en %) de grupos fitoplanctónicos dominantes por muestreo, agrupados por estados tróficos para clorofila *a* según el índice de Cunha *et al.* (2013). b): Contribución relativa (en %) de grupos fitoplanctónicos dominantes por muestreo, agrupados por estados tróficos para nitrógeno total según valores propuestos por Lamparelli (2004). Referencia: O: Oligotrófico; M: Mesotrófico; E: Eutrófico; S: Supereutrófico; H: Hipereutrófico; Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cryp: Cryptophyta; Cian: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Eug: Euglenophyta.

### Exploración de relaciones entre variables limnológicas

Se detallan las correlaciones de Spearman  $r_s$  positivas  $> +0.65$ , y negativas  $< -0.5$ , en ambos casos significativas ( $p$  valor  $< 0.05$ ). En el Anexo 5 se presenta la tabla completa con los coeficientes de correlación de Spearman  $r_s$  ( $\rho$ ) para todas las variables.

La clorofila *a* por extracción presentó una relación positiva con el pH (coeficiente de Spearman  $r_s$   $\rho = 0.67$ ), la Cond (0.68), los STS (0.66), la MO (0.91), el NT (0.74), el biovolumen total de fitoplancton (0.96), el biovolumen de cianobacterias (0.71), y la clorofila *a* por fluorescencia (0.97). La clorofila *a* por fluorescencia presentó una alta correlación positiva con la turbidez (0.68), el pH (0.65), los STS (0.71), la MO (0.94), el NT (0.73), el biovolumen total de fitoplancton (0.95), y el biovolumen de cianobacterias (0.72). El NT presentó una alta relación positiva

con la Cond (0.70), la turbidez (0.73), los STS (0.74), la MO (0.79), el PT (0.74), el biovolumen de cianobacterias (0.77) y el biovolumen de fitoplancton (0.66). El PT, además de las relaciones positivas mencionadas, también presentó una relación positiva con el biovolumen de cianobacterias (0.67), y la CDOM (0.77). Los STS presentaron una relación positiva con la turbidez (0.92), y la MO (0.83). La MO presentó una relación con la turbidez (0.79), el biovolumen de fitoplancton (0.87) y el biovolumen de cianobacterias (0.72). El NO<sub>3</sub> presentó una relación positiva con la relación ND/PRS (0.72) y con el NO<sub>2</sub> (0.67). El CDOM y la Cond presentaron una relación positiva (0.78), así como también el biovolumen de cianobacterias y la turbidez (0.70). Además, el biovolumen de cianobacterias presentó una relación positiva con el biovolumen de fitoplancton (0.69).

Por otro lado, también se observaron relaciones negativas entre las variables estudiadas. La clorofila *a* por extracción presentó una relación negativa con el NO<sub>3</sub> (-0.72). La clorofila *a* por fluorescencia se correlacionó de forma negativa con las mismas variables que la clorofila *a* por extracción. Como era esperable, el DS presentó una relación negativa con la turbidez (-0.86), y los STS (-0.83). Finalmente, la superficie de embalses presentó una relación negativa con el CDOM (-0.70).

#### Variables descriptivas de floraciones de fitoplancton y cianobacterias

Las variables ambientales utilizadas en el Análisis de Componentes Principales (PCA) se contrastaron con la variable categórica “grupo (taxonómico) de fitoplancton dominante” compuesta por: Chlorophyta; Cryptophyta; Cyanobacteria; Dinophyta; Bacillariophyta. Se seleccionaron dos componentes principales, los cuales explican el 72% de la varianza de los datos (Figura 11). El primer componente estuvo determinado principalmente por la Cond (0.37), los STS (0.43), el NT (0.35), el PT (0.42), y la CDOM (0.39). En la segunda componente, las variables con mayor importancia fueron los sólidos inorgánicos en suspensión (0.36), el pH (-0.45), la profundidad de disco de Secchi (-0.48), y la superficie de los embalses (-0.51). Se observó una distribución diferencial de los grupos de fitoplancton de acuerdo a la dirección de las variables. Los grupos

Cyanobacteria y Chlorophyta se alinearon principalmente en dirección de las variables de la componente principal 1 (gradiente positivo).

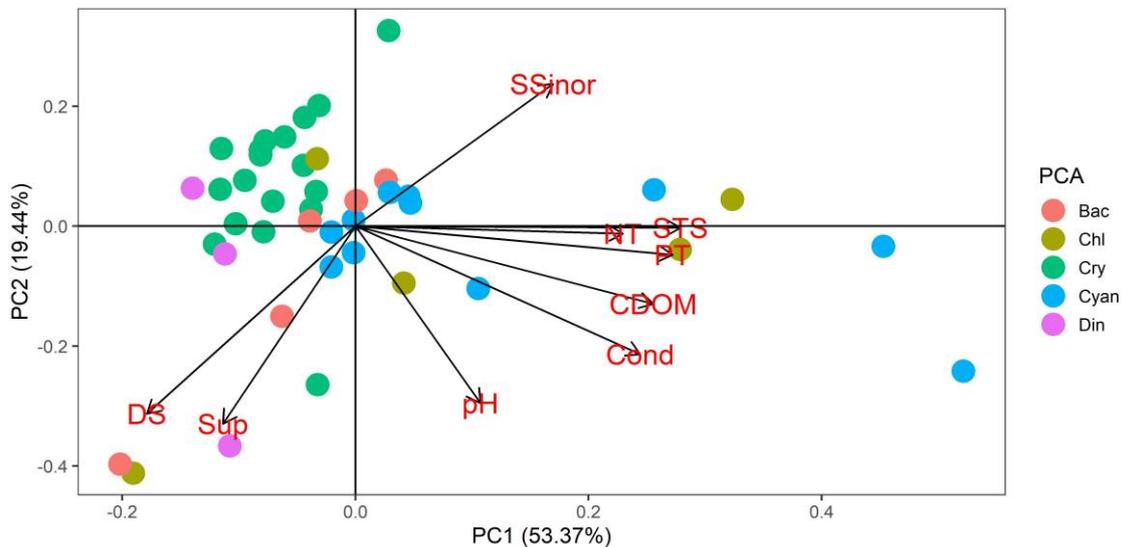


Figura 11. Análisis de Componentes Principales. Los puntos indican las observaciones por grupo de fitoplancton dominante, y las flechas las variables ambientales. El porcentaje de varianza explicada del componente principal 1 y 2 corresponde al 53.4 % y 19.4 % respectivamente. Referencias: Cond: conductividad; STS: sólidos totales en suspensión; NT: nitrógeno total; PT: fósforo total; CDOM: materia orgánica coloreada disuelta; SSinor: sólidos inorgánicos en suspensión; DS: disco de Secchi; Sup: superficie de embalses; Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta.

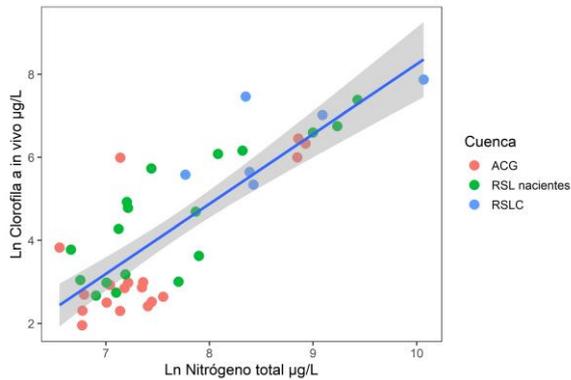
#### Nutrientes y fitoplancton: relaciones de clorofila *a* y biovolumen

La clorofila *a* *in vivo* por fluorescencia y el biovolumen de fitoplancton mantuvieron tendencias lineales positivas con la concentración de NT y PT (Figura 12). Las variables de respuesta clorofila *a* y el biovolumen, presentaron un  $R^2$  superior en las relaciones con el NT que en el PT (clorofila *a*,  $R^2= 0.69$  en NT versus  $R^2= 0.35$  en PT; biovolumen,  $R^2= 0.54$  en NT versus  $R^2= 0.23$  en PT). La clorofila *a* *in vivo* presentó una relación lineal con el NT (homocedasticidad de varianza:  $p= 0.1401$ ,  $p > 0.05$ ; normalidad:  $p= 0.06536$ ,  $p > 0.05$ ), a diferencia de la relación con el PT que no cumplió con el supuesto de normalidad (homocedasticidad de varianza:  $p= 0.2459$ ,  $p > 0.05$ ; normalidad:  $p= 0.01447$ ,  $p <$

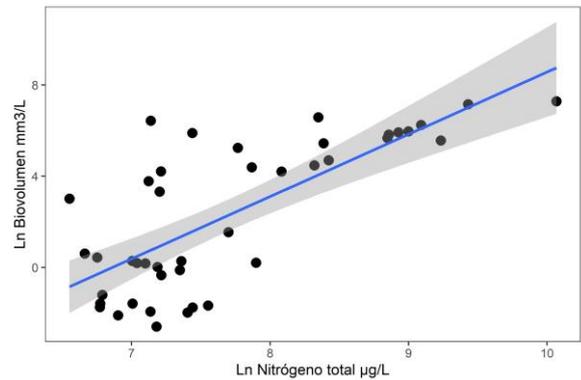
0.05). Se destaca el comportamiento diferencial en la cuenca baja (subcuenca ACG) y la cuenca media (RSL nacientes y RSLC), respecto a las relaciones entre el PT y NT, y la biomasa fitoplanctónica (clorofila *a*) (Figura 12 -a) y -c). En la subcuenca del ACG, aún en altas concentraciones de PT se observan bajas concentraciones de clorofila *a* y biovolumen de fitoplancton. En contraste, en la cuenca media, ambos nutrientes presentaron una relación lineal positiva con la clorofila *a* y el biovolumen (clorofila *a*,  $R^2= 0.72$  en NT *versus*  $R^2= 0.77$  en PT; biovolumen,  $R^2= 0.60$  en NT *versus*  $R^2= 0.70$  en PT). En el Anexo 6 se detalla el análisis de las relaciones de nutrientes por subcuencas.

En referencia al cociente NT/PT, se observaron tendencias positivas con el aumento de la clorofila *a* y del biovolumen de fitoplancton. La relación lineal entre la clorofila *a* y el cociente NT/PT presentó un  $R^2= 0.17$ , y cumple con los supuestos de normalidad ( $p= 0.1109$ ,  $p > 0.05$ ) y homocedasticidad de varianza ( $p= 0.8572$ ,  $p > 0.05$ ). Se destaca que las proporciones NT/PT en el conjunto de embalses presentaron una marcada tendencia a valores  $<$  de 16 (Figura 12 -e) y f).

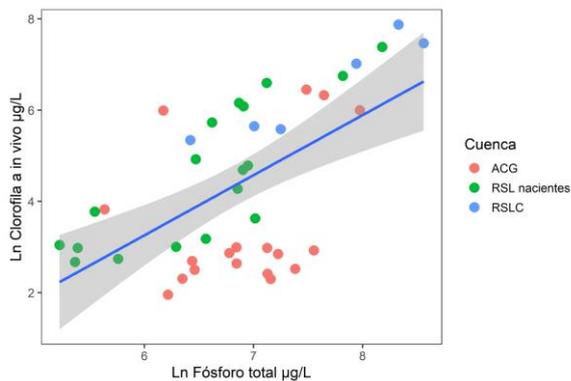
a) p valor= 8.833e-12, R<sup>2</sup>= 0.69, intercepto= -8.5791, pendiente= 1.682



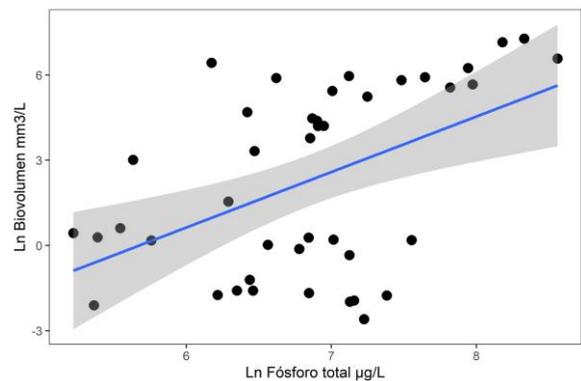
b) p valor= 2.594e-08; R<sup>2</sup>= 0.54, intercepto= -18.7202, pendiente= 2.7283



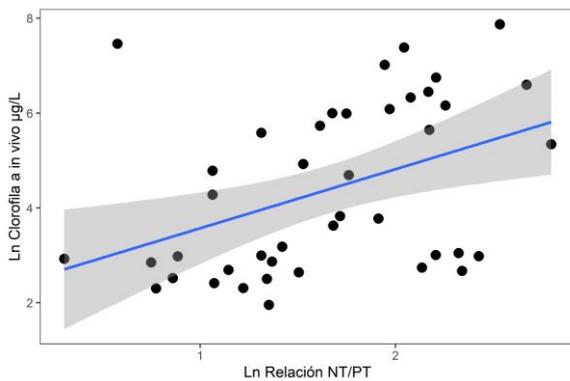
c) p valor= 3.417e-05, R<sup>2</sup>= 0.35, intercepto= -4.635, pendiente= 1.316



d) p valor= 0.001261, R<sup>2</sup>= 0.23, intercepto= -11.0729, pendiente= 1.9514



e) p valor= 0.005406, R<sup>2</sup>= 0.17, intercepto= 2.3271, pendiente= 1.2448



f) p valor= 0.004137, R<sup>2</sup>=0.18, intercepto= -1.5641, pendiente= 2.3415

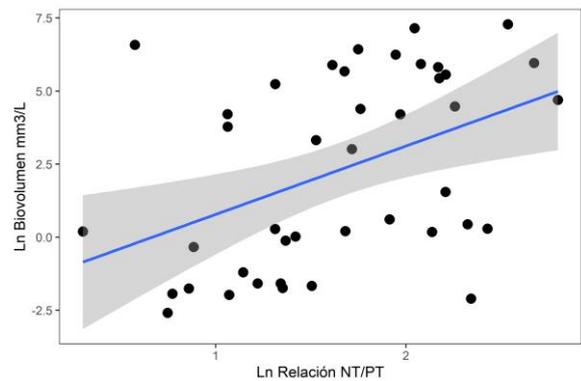


Figura 12. Relación lineal de clorofila *a* por fluorescencia *in vivo* y biovolumen de fitoplancton en función del nitrógeno total (NT), fósforo total (PT), y el cociente atómico NT/PT. Los datos utilizados fueron transformados a la forma logarítmica.

A fin de comprender la importancia de los nutrientes con la biomasa fitoplanctónica, se evaluaron las variables explicativas PT, NT en un modelo

lineal múltiple. Además de los nutrientes, se incluyeron a los sólidos inorgánicos en suspensión, como una variable que puede producir un efecto negativo en el crecimiento del fitoplancton. El conjunto de datos de todas las variables fueron transformados a la función logarítmica. Se ajustó un modelo para la variable de respuesta clorofila *a* y otro, para la variable de respuesta biovolumen de fitoplancton (Tabla IV). El mejor modelo ajustado para la variable de respuesta biovolumen, explica el 62% de la variabilidad, e incluye al NT con un coeficiente positivo, y a los sólidos inorgánicos en suspensión con un coeficiente negativo (modelo 1, *p* valor <0.05). El PT presentó una baja significancia, por lo que no fue seleccionado como una variable predictora. El modelo 1 no presenta evidencia de falta de normalidad (*p*= 0.4395, *p* > 0.05), ni de homocedasticidad de varianzas (*p*= 0.1299, *p* > 0.05), ni independencia (*p*= 0.2114, *p* > 0.05) o presencia de autocorrelación (*p*= 0.5, *p* > 0.05).

Por otra parte, la clorofila *a* por fluorescencia presentó un desempeño similar a la modelación realizada con el biovolumen. El mejor modelo ajustado explica el 72% de la variabilidad de clorofila *a*, e incluye al NT con un coeficiente positivo, y a los sólidos inorgánicos en suspensión con un coeficiente negativo (modelo 2, *p* valor <0.05). En este caso, los sólidos inorgánicos en suspensión mantienen una baja significancia, aunque aportan información al modelo de acuerdo al criterio AIC. El modelo 2 no presenta evidencia de falta de normalidad (*p*= 0.2167, *p* > 0.05), ni de homocedasticidad de varianzas (*p*= 0.5185, *p* > 0.05), ni independencia (*p*= 0.06084, *p* > 0.05) o presencia de autocorrelación (*p*= 0.2, *p* > 0.05).

Tabla IV. Estadísticos comparativos de los modelos evaluados, para las variables de respuesta clorofila *a* por fluorescencia y biovolumen de fitoplancton. Se indica el *p* valor del modelo y de cada variable predictora, el AIC y el R<sup>2</sup>.

Modelos	Pvalor	Pvalor	Pvalor	AIC	R <sup>2</sup>
	PT	NT	SSinor		
Modelo 1: $\ln(\text{biovolumen}) = 2.9927\ln(\text{NT}) - 1.0374\ln(\text{SSinor}) - 17.1804$ . P valor= 6.948e-09	-	1.25e-09	0.00856	184.8	0.62
Modelo 2: $\ln(\text{clorofila}) = 1.7687\ln(\text{NT}) - 0.3394\ln(\text{SSinor}) - 8.0754$ . P valor= 1.797e-11	-	2.81e-12	0.0607	121.2	0.72

### Variables condicionantes de grupos de fitoplancton

En función de los análisis exploratorios realizados anteriormente, se realizó un árbol de inferencia condicional de clasificación, donde se seleccionó la variable de respuesta "Grupo (taxonómico) de fitoplancton dominante" (determinada por biovolumen) y las siguientes variables explicativas: "nitrógeno total", "fósforo total", "sólidos inorgánicos en suspensión", "conductividad", "superficie de embalse", "materia orgánica disuelta coloreada", "pH", y "profundidad de DS". La concentración de NT resultó en la primera y única variable que dividió al árbol en dos, con un umbral de 3.237 mg/L (p valor de significancia < 0.05), indicando que a concentraciones superiores se presenta una dominancia de las cianobacterias, en una proporción del 80%. En sentido opuesto, a menores concentraciones de 3.237 mg/L de NT se presenta una dominancia de Cryptophyta, seguido de Bacillariophyta y Dinophyta. En esta rama del árbol, Chlorophyta, y Cyanobacteria presentan la menor dominancia. El árbol presenta una precisión del 71.4% en base a la simulación con parte de la misma base de datos (Figura 13).

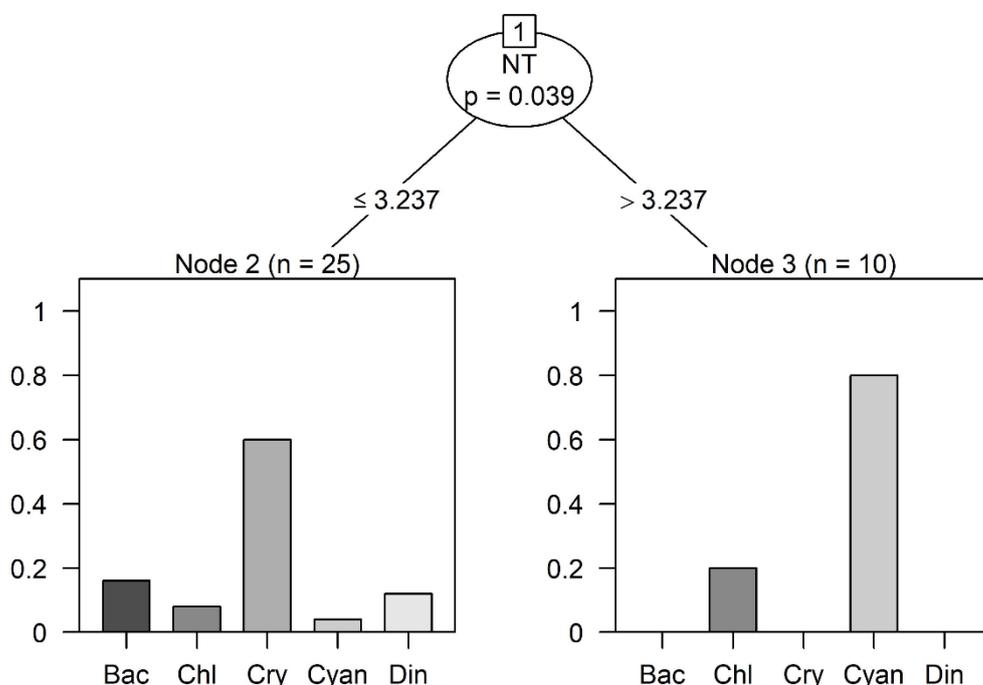


Figura 13. Árbol de clasificación de inferencia condicional en base a la dominancia de los grupos de fitoplancton. Las gráficas de barras en los nodos terminales representan la proporción de grupos de fitoplancton. Referencia; NT: Nitrógeno total en mg/L; Chl: Chlorophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Bac: Bacillariophyta.

### Umbrales de respuesta en la comunidad fitoplanctónica

El Análisis de Taxones Indicadores de Umbral (TITAN) en función del NT y el PT, presentó diferentes respuestas a lo largo del gradiente de concentración (Figura 14). Se evaluaron diecisiete taxa presentes en la comunidad de fitoplancton; cuatro de Cyanobacteria (géneros), dos de Cryptophyta (géneros), ocho de Chlorophyta (géneros) y uno de Euglenophyta (géneros). Se destaca que en Bacillariophyta se realizó una agrupación por clase, incluyendo a las Pennales y Centrales. El NT y PT presentaron un total de seis respuestas positivas (+Z score) para un grado de pureza ( $>0.95$ ) y confiabilidad ( $>0.95$ ). Los géneros *Raphidiopsis* (3.669 mg NT/L, Z score= 8.71), *Aphanocapsa* (7.814 mg NT/L, Z score=7.62), *Planktothrix* (4.306 mg NT/L, Z score= 7.49), *Merismopedia* (2.965  $\mu$ g NT/L, Z score= 6.38), *Chlamydomonas* (3.669 mg NT/L, Z score= 7.69) y *Tetraedron* (6.987 mg NT/L, Z score= 6.29), presentaron respuestas positivas al gradiente de NT. Los géneros *Raphidiopsis*, *Merismopedia*, *Planktothrix*, *Aphanocapsa* y *Chlamydomonas* presentaron un alto grado de pureza ( $p=1$ ) y confiabilidad ( $p>0.999$ ). Por otra parte, las respuestas positivas a umbrales de PT se observaron en *Aphanocapsa* (1.998 mg PT/L, Z score= 6.27), *Merismopedia* (2.288 mg PT/L, Z score= 4.72), *Planktothrix* (1.072 mg PT/L, Z score= 5.18), *Raphidiopsis* (2.651 mg PT/L, Z score= 5.03), *Chlamydomonas* (2.288 mg PT/L, Z score= 6.15), y *Monoraphidium* (2.289 mg PT/L, Z score= 3.34). El género *Aphanocapsa* presentó el mayor grado de pureza ( $p=1$ ) y confiabilidad ( $p >0.999$ ).

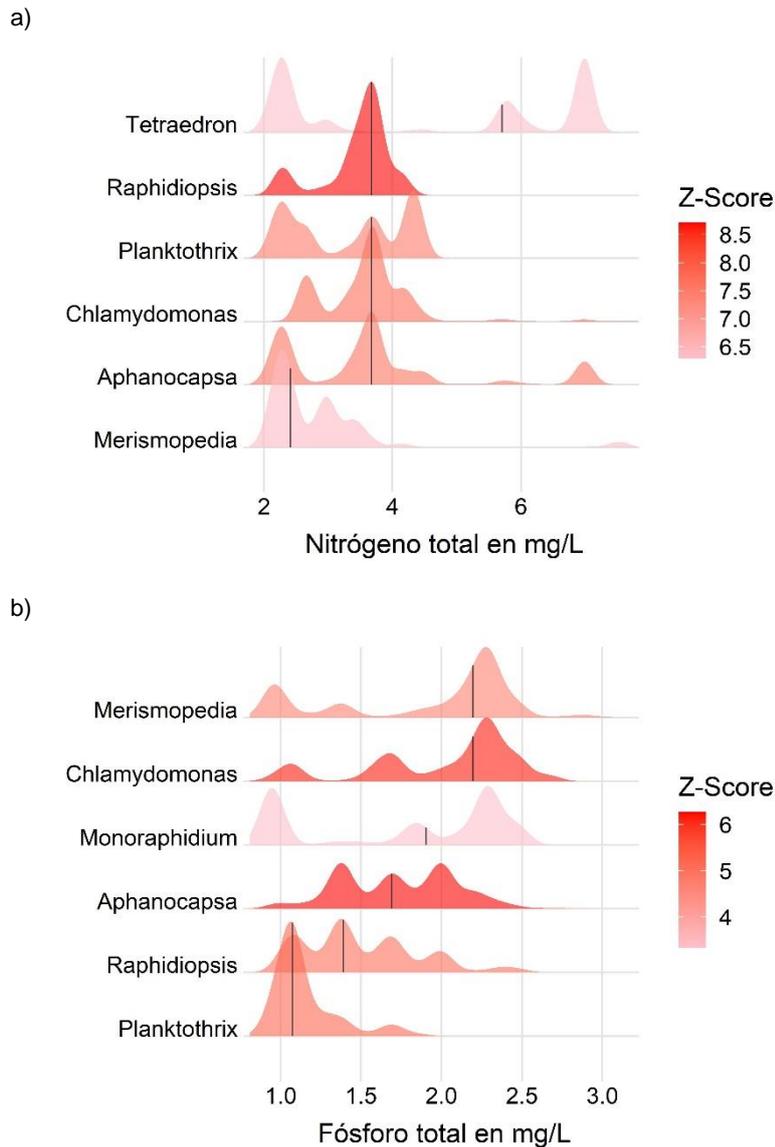


Figura 14. Representación gráfica de la respuesta de cada taxa al gradiente de nitrógeno total mg NT/L (a) y fósforo total mg PT/L (b), en base al biovolumen de los principales géneros de la comunidad de fitoplancton. Se indica el Z-Score (color rojo) para un indicador de pureza >0.95 y confiabilidad >0.95.

## Discusión

En esta tesis se caracterizó por primera vez el estado trófico y la comunidad fitoplanctónica de un número importante de embalses productivos de la cuenca del Río Santa Lucía. Los embalses agropecuarios fueron en su mayoría hipereutróficos y productores de elevadas biomásas de fitoplancton, las cuales pueden ser transportadas hacia el Río Santa Lucía (curso principal) y llegar a zonas de recreación y tomas de agua para potabilizar. Se observaron diversos

organismos generadores de floraciones fitoplanctónicas problemáticas, destacándose la presencia de cianobacterias potencialmente tóxicas. A nivel de cuenca, el nitrógeno total presentó la mayor importancia como variable condicionante de la presencia de cianobacterias en la comunidad de fitoplancton. En este sentido, las concentraciones elevadas de fósforo total, las bajas proporciones de nitrógeno total/fósforo total, y la presencia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno, concuerdan con ambientes limitados por nitrógeno. No obstante, a pesar de las tendencias generales, en la cuenca media el fósforo total presentó una mayor relevancia en las relaciones de nutrientes y de fitoplancton, lo que destaca la necesidad de considerar las condiciones locales en la definición de medidas de gestión. En línea con lo observado en otras investigaciones, las condiciones hipereutróficas definidas por las elevadas concentraciones de fósforo total presentes en todos los embalses, evidencian el grado de contaminación antrópica de la cuenca. Finalmente, se destaca que la información recabada en la presente tesis contribuye a la generación de nuevo conocimiento en embalses ubicados en una cuenca de importancia estratégica para el país.

### Características fisicoquímicas de embalses agropecuarios

Los embalses mantuvieron condiciones similares entre los muestreos realizados, reflejándose principalmente diferencias entre embalses (Kruskal Wallis, significancia  $p$  valor  $< 0.05$ ). La temperatura se encontró en valores esperados para la estacionalidad (primavera), con variaciones relacionadas a la hora de muestreo (Barreiro *et al.* 2019). Este resultado sugiere que estos cuerpos de agua someros y de relativo bajo volumen sufren importantes fluctuaciones diarias de temperatura y podrían estar particularmente expuestos a alcanzar temperaturas extremas ( $>30^{\circ}\text{C}$ ).

Los embalses presentaron un amplio gradiente de biomasa fitoplanctónica con predominancia de condiciones eutróficas e hipereutróficas, según el índice de estado eutrófico (ET) de Cunha *et al.* (2013) para la clorofila *a*. En concordancia a las altas biomásas de fitoplancton observadas, el índice de ET de Cunha *et al.*

(2013) para el PT reflejó condiciones hipereutróficas en todos los embalses ( $\geq 77.7 \mu\text{g PT/L}$ ). Por otro lado, el NT presentó un comportamiento similar, con categorías correspondientes a embalses eutróficos, supereutróficos, e hipereutróficos, aunque con una mayor representación de las categorías oligotrófico y mesotrófico, según las equivalencias del índice de ET propuesto por Lamparelli (2004). Se destaca que las condiciones eutróficas observadas coinciden con las registradas en los principales cuerpos de agua de la cuenca del RSL y de nuestro país, lo que muestra la extensión del fenómeno dentro de la cuenca (Aubriot *et al.* 2017; Goyenola *et al.* 2021). Las fracciones disueltas de nitrógeno y fósforo también presentaron valores elevados de concentración, aunque, con un comportamiento diferencial entre ambos nutrientes. El PRS presentó concentraciones de saturación (Auer *et al.* 1986), correspondientes a condiciones eutróficas – hipereutróficas en todas las observaciones ( $\geq 36.8 \mu\text{g PRS/L}$ ) (Cunha *et al.* 2013; Dodds *et al.* 1998). El nitrógeno disuelto presentó condiciones variables con valores de concentración tendientes a la limitación del crecimiento fitoplanctónico ( $< 20 \mu\text{g/L}$  de  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4$ ) (Bergström *et al.* 2010; Matthews *et al.* 2002). Sin embargo, también fueron observadas concentraciones mayores a  $500 \mu\text{g/L}$  en formas de nitrógeno disuelto ( $\text{NO}_3 + \text{NH}_4$ ), lo que implica una alta biodisponibilidad del nutriente. Según la propuesta de clasificaciones de Lamparelli (2004), todos los embalses presentaron transparencias equivalentes a las categorías eutróficas-hipereutróficas. Las bajas transparencias de DS (4 cm de profundidad) y las altas concentraciones de sólidos totales en suspensión ( $> 600 \text{ mg/L}$  de sólidos totales) se corresponden a ambientes de condiciones extremas de turbidez (Scheffer *et al.* 1993; Silvano *et al.* 2011). Esto establece restricciones a la fotosíntesis y composición de las comunidades acuáticas por limitación de la penetración de la luz en la columna de agua (Allende *et al.* 2009; Bilotta y Brazier 2008; Scheffer *et al.* 1993). El grado de eutrofización observado por medio de los índices de Lamparelli (2004) y Cunha *et al.* 2013, son consistentes con las clasificaciones de otros índices tradicionales, usualmente utilizados en cuerpos de agua de climas templados (Carlson 1977; Dodds *et al.* 1998).

## Comunidad de fitoplancton de embalses agropecuarios

El conjunto de embalses estudiados presenta una gran riqueza de fitoplancton. Las mayores biomásas fitoplanctónicas fueron desarrolladas por el grupo Cyanobacteria, salvo en los embalses F y J, los cuales desarrollaron floraciones ocasionales de Chlorophyta y Dinophyta. Estos grupos, y en particular las cianobacterias, son reconocidos ampliamente por ser formadores de grandes floraciones algales (Paerl *et al.* 2001). La dominancia de los grupos de fitoplancton presentó diferencias en su distribución espacial. El mayor número de taxa de cianobacterias fueron observados en embalses de las subcuencas del RSL (desde nacientes) y RSLC, ubicados en la cuenca media-alta. El grupo Cyanobacteria presentó una dominancia de biovolumen en once observaciones, con varios géneros coloniales y filamentosos: *Planktolyngbya*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Dolichospermum*, *Merismopedia*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*, y *Raphidiopsis*. Se destaca que todos los géneros identificados de cianobacterias tienen el potencial de producir toxinas (Chorus y Bartram 1999; Chorus y Welker 2021). De los catorce embalses estudiados, seis cuerpos de agua superaron los 8.0 mm<sup>3</sup>/L de biovolumen de cianobacterias, correspondiendo al nivel de alerta número 2 para aguas recreativas de la propuesta de la OMS, lo que indica un elevado riesgo sanitario y ambiental de exposición a cianotoxinas (Chorus y Welker 2021). Las cianobacterias filamentosas desarrollaron las mayores biomásas algales, con la dominancia de *Raphidiopsis* y *Planktothrix*. El género *Raphidiopsis* ya ha sido documentado en Uruguay, incluso con la generación de floraciones que interfirieron con el suministro de agua potable en la población (González-Madina *et al.* 2022). Los menores estados tróficos de NT respecto al PT, concuerda con la marcada dominancia observada de cianobacterias filamentosas capaces de fijar nitrógeno (*Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, y *Raphidiopsis*) (Yema *et al.* 2016). En este sentido, otros estudios han destacado las adaptaciones en el uso de nutrientes y de la luz por parte de *Raphidiopsis* y de cianobacterias filamentosas para desarrollar grandes floraciones en ambientes turbios (Aguilera *et al.* 2019; Scheffer *et al.* 1997).

El grupo Cryptophyta, representado principalmente por los géneros *Cryptomonas* y *Plagioselmis*, presentó la mayor dominancia en la comunidad de

fitoplancton (en dieciocho ocasiones). Sin embargo, su dominancia en la composición fitoplanctónica estuvo asociada a embalses pequeños de bajo desarrollo de biomasa, y a menores concentraciones de NT. Cabe destacar, que Cryptophyta tiene ventajas frente a otros grupos microalgales para desarrollarse en este tipo de ambientes turbios, por su capacidad de migrar en la columna de agua, y su nutrición de tipo mixotrófica (Jones 2000). El grupo Bacillariophyta presentó una dominancia en el biovolumen de la comunidad de fitoplancton en cinco ocasiones, con la mayor frecuencia de aparición del género *Nitzschia*, seguido por *Cocconeis* y *Cyclotella*. El grupo Bacillariophyta depende de la mezcla y la turbulencia de la columna de agua para acceder a la luz, por lo que este grupo puede no verse favorecido en embalses sobre cursos de agua intermitentes, con baja circulación de agua (solo en periodos lluviosos), donde la sedimentación puede limitar su crecimiento (Horn y Horn 2000; Reynolds *et al.* 2002). Por otra parte, el grupo Chlorophyta presentó la mayor diversidad de taxa identificados, con organismos asociados a ambientes eutróficos y de alto contenido de materia orgánica, como los géneros *Monoraphidium*, *Schroederia*, y *Didymocystis* (Padisák *et al.* 2009; Reynolds *et al.* 2002). Las elevadas biomásas generadas por Chlorophyta son esperables, dado que este grupo también es conocido por formar floraciones algales problemáticas (Watson *et al.* 2015), y en particular, *Dictyosphaerium* puede crecer en pequeños cuerpos de agua eutróficos (Padisák *et al.* 2009).

El grupo Dinophyta presentó una aparición ocasional, pero con una marcada dominancia en dos embalses (F y N), generando floraciones de organismos del género *Ceratium*. Se destaca dentro de este grupo la presencia de la especie exótica invasora *Ceratium furcoides*, que también ha sido registrada en otras cuencas de nuestro país (Pacheco *et al.* 2021). Por otra parte, Chrysophyta estuvo representado por organismos del género *Mallomonas*, manteniendo una baja biomasa respecto a la comunidad de fitoplancton. Cabe señalar, que a pesar que este género posee una amplia distribución, presenta preferencias invernales y algunas especies son sensibles a las condiciones altas de pH, y de eutrofización, tal como se observan en el conjunto de embalses estudiados (Reynolds *et al.* 2002; Siver y Skogstad 1988; Suykerbuyk *et al.* 1995). El grupo Euglenophyta estuvo representado por los géneros *Euglena* y *Trachelomonas*,

con un bajo desarrollo de biovolumen microalgal. Igualmente, Euglenophyta presentó una amplia distribución (en doce embalses), de forma consistente a las condiciones enriquecidas observadas de materia orgánica y nutrientes (Munawar *et al.* 1972; Padisák *et al.* 2009).

Finalmente, en relación a los estados tróficos de los embalses y a la comunidad fitoplanctónica, la producción de fitoplancton y de cianobacterias estuvo asociada a estados tróficos superiores, y a embalses en estado avanzado de eutrofización (Wurtsbaugh *et al.* 2019). Los índices de ET determinados por la clorofila *a* (Cunha *et al.* 2013) y el NT (Lamparelli 2004) brindaron mayor información en relación a las comunidades de fitoplancton presentes en los embalses. En sentido opuesto, el PT y la profundidad de DS, otorgaron poca información dado que las clasificaciones por ambas variables resultaron en una única categoría.

#### Factores asociados al desarrollo de floraciones de fitoplancton

La biomasa de fitoplancton presente en el conjunto de embalses presenta una fuerte relación con las condiciones eutróficas observadas. En particular, la presencia de cianobacterias estuvo asociada a concentraciones elevadas de nitrógeno y fósforo. El PCA y el análisis de correlaciones, contribuyó a comprender la estructura y las relaciones existentes entre las principales variables y la comunidad de fitoplancton. El pH, la conductividad y los nutrientes (NT y PT) se encontraron asociados al fitoplancton, y en particular a los grupos formadores de grandes biomasas como Cyanobacteria y Chlorophyta. La superficie del embalse y los sólidos inorgánicos en suspensión estructuraron la comunidad en sentidos opuestos. Los patrones (contrarios) de ambas variables son consistentes con la capacidad de retención de sedimentos que se ha destacado en pequeños cuerpos de agua (Schmadel *et al.* 2019). Los embalses presentaron condiciones extremas de turbidez, correspondiente a una fracción inorgánica (sólidos inorgánicos en suspensión), y otra orgánica, asociada principalmente a elevadas biomasas de fitoplancton, en concordancia con lo planteado por Scheffer *et al.* 1993. Esto se refleja al observar las altas

correlaciones entre la biomasa fitoplanctónica, los sólidos totales en suspensión, y la materia orgánica en suspensión (coeficientes de Spearman  $r_s \rho > 0.7$ ). La moderada correlación entre el pH, el OD, y la biomasa de fitoplancton, estaría mayormente relacionada a la actividad fotosintética (Reynolds 2006).

El árbol de clasificación (análisis multivariado) posicionó al NT como la principal variable que dividió al árbol en dos, en un umbral de 3.237 mg/L, indicando que a concentraciones superiores predomina la dominancia de las cianobacterias en una proporción del 80%. En sentido opuesto, las concentraciones menores a 3.237 mg/L de NT se asociaron a una dominancia de Cryptophyta, y por otro lado, Cyanobacteria presentó una significativa menor dominancia. Un gran número de investigaciones han documentado cómo el nitrógeno puede limitar (o promover) el crecimiento de fitoplancton. En un estudio en más de 400 lagos ubicados en el continente americano, el NT por sobre otros factores, presentó un rol significativo en la biomasa de cianobacterias, particularmente en cuerpos de agua poco profundos y con altas concentraciones de PT (Bonilla *et al.* 2023). De forma similar a otros trabajos, en esta tesis se pudo observar cómo en condiciones hipereutróficas de PT ( $>77.7 \mu\text{g/L}$ ) el NT puede limitar el crecimiento fitoplanctónico (Cunha *et al.* 2013; Frederick *et al.* 1993).

En el modelo lineal múltiple, el NT presentó un efecto positivo, y los sólidos inorgánicos en suspensión un efecto negativo, y ambas variables explicaron el 62% del biovolumen, y el 72% de la clorofila. De forma consistente al árbol de clasificación, el NT presentó la mayor significancia en el modelo lineal. El efecto de los sólidos inorgánicos en suspensión es esperable, dado que la turbidez inorgánica del agua es un factor que puede limitar el crecimiento del fitoplancton, y en particular de las cianobacterias (González-Madina *et al.* 2019). Las bajas proporciones ( $< 16$ ) en las relaciones NT/PT, y las tendencias positivas con el aumento de la biomasa de fitoplancton (relación lineal  $R^2 = 0.17$ ), podrían indicar condiciones limitantes de nitrógeno (Maberly *et al.* 2020). Por otra parte, la relación negativa de la biomasa de fitoplancton y los nutrientes disueltos podría asociarse al consumo por el fitoplancton, aunque, las interpretaciones deben tomarse con cautela dada la complejidad de la comprensión de las relaciones de nutrientes disueltos. A diferencia del PT, el gradiente de NT se asoció en mejor medida a las comunidades de fitoplancton presentes. Esto es importante porque

puede indicar que utilizar únicamente el índice de ET de PT en cuencas enriquecidas con el nutriente podría ser insuficiente para conocer la productividad del sistema (Cunha *et al.* 2013).

La mayor respuesta al NT en el análisis TITAN fue observada en *Raphidiopsis*, en el umbral de 3.669 mg/L de NT, de forma consistente con el umbral observado en el árbol de clasificación. El género *Raphidiopsis* presenta una notable capacidad para desarrollarse en condiciones limitantes de luz, por lo que en ambientes turbios y ricos en nutrientes pueden dominar en la comunidad de fitoplancton (Aguilera *et al.* 2019; Bonilla *et al.* 2012). Incluso, se ha observado como también *Raphidiopsis* puede presentar una gran flexibilidad ante condiciones de deficiencia de nutrientes, lo que refleja la resiliencia de este género a los cambios ambientales (Aguilera *et al.* 2019; Aubriot y Bonilla 2018).

En relación al PT, se destaca la respuesta de los diferentes géneros de fitoplancton aún en condiciones extremadamente altas del nutriente. Las concentraciones elevadas de PT (todos los embalses >77.7 µg/L de PT), no permitieron observar respuestas en condiciones de menor disponibilidad del nutriente. Sin embargo, en la cuenca media del RSL (subcuencas del RSL desde nacientes y RSLC) el PT parece explicar la mayor parte de la variabilidad de la clorofila *a* en comparación con el NT (PT  $R^2= 0.77$  versus NT  $R^2= 0.72$ ). Por otro lado, en la subcuenca del ACG los nutrientes se correlacionaron pero no se encontró una relación lineal con la clorofila *a*. Es destacable el comportamiento diferencial observado en las relaciones de nutrientes y de fitoplancton en función de la distribución espacial de los embalses, dado que podría sugerir la necesidad de implementar medidas de gestión específicas, que aborden requerimientos por subcuencas (Tromboni *et al.* 2023). La comprensión de las condiciones ambientales en las que se observan determinadas respuestas biológicas puede contribuir a la generación de herramientas para la gestión (King y Baker 2014). Por ejemplo, la normativa para calidad de agua de Uruguay, establece un valor de referencia de 10 mg/L de nitratos para cursos de agua clase 1 y clase 2 (uso de abastecimiento de agua potable, riego de productos agrícolas consumibles en forma natural, y uso recreativo) (Decreto 253/79, Uruguay 1979). Sin embargo, este valor se encuentra muy por encima del rango de NT observado en el que las cianobacterias fueron favorecidas. El valor de referencia de 10 mg/L

de nitratos es un valor alto, considerando las consecuencias fisiológicas del nitrato como forma de nitrógeno biodisponible (Flores y Herrero 1994; Flores *et al.* 2005).

Los cuerpos de agua ubicados en zonas de producción intensiva del suelo, son propensos a recibir altos insumos de fertilizantes nitrogenados (Glibert *et al.* 2014). Las áreas agrícolas y actividades como la producción intensiva de leche, pueden contribuir en los procesos de eutrofización, con grandes aportes de fósforo (Darré *et al.* 2020; Osmond *et al.* 2019; Rheinheimer *et al.* 2020). Una gran parte del NT y PT que ingresa a los cursos de agua en la cuenca del Río Santa Lucía, proviene de fuentes difusas, principalmente de la actividad agropecuaria (MVOTMA 2018). Los pequeños embalses, tienen condiciones hidrológicas favorables para el fitoplancton por encontrarse sobre cursos de agua intermitentes (baja circulación), que acentúan los efectos de la eutrofización. Las relaciones negativas entre el tamaño de embalses (superficie), y las condiciones eutróficas (turbidez, nutrientes, biomasa fitoplanctónica), son esperables debido a que los pequeños cuerpos de agua de zonas rurales actúan como sumideros de sedimentos y nutrientes producto de la escorrentía y el transporte de las cuencas de drenaje (Schmadel *et al.* 2019). En la presente investigación, se evidencia la vulnerabilidad de estos sistemas acuáticos a sufrir los efectos de la eutrofización y su gran número constituye un riesgo de aportes de organismos nocivos a los cursos fluviales receptores.

Este trabajo muestra otra perspectiva del impacto antrópico que sufren los cursos fluviales, diferente a los considerados clásicamente como “puntuales y difusos” focalizados en los aportes de contaminantes al cauce del río. De esta forma, se avanzó en el conocimiento del estado trófico, en la capacidad de producir biomasa y en los tipos de organismos fitoplanctónicos que se desarrollan en múltiples embalses productivos distribuidos en una cuenca de importancia para el país. La alteración de zonas de drenaje, de cañadas y arroyos de áreas productivas, y su transformación en sistemas lénticos, provoca que estos ambientes funcionen como sumideros de nutrientes y como generadores de grandes biomásas de cianobacterias potencialmente tóxicas. En este sentido, este tipo de cuerpos de agua podrían ser utilizados como centinelas de los impactos agropecuarios, y ser incluidos en monitoreos sistemáticos debido a su

capacidad de integrar en el agua y sedimentos los procesos fisicoquímicos y biológicos de cada subcuenca.

## Capítulo 2: Métodos alternativos de detección de floraciones de fitoplancton en embalses agropecuarios

### Introducción

Entre los métodos más empleados para la detección de cianobacterias y fitoplancton en tiempo real se distingue la fluorimetría *in situ*, a través de la detección de pigmentos como la clorofila *a* y la ficocianina. Las cianobacterias presentan su mayor rango de excitación de longitud de onda entre los 590 nm y los 620 nm (debido a la ficocianina), a diferencia de las algas eucariotas que dicho rango se encuentra entre los 400 nm y 500 nm (por la clorofila) (Millie *et al.* 2002). A pesar del buen desempeño de la medición de clorofila *a* por fluorescencia *in vivo*, pueden existir interferencias ópticas en ambientes turbios por sólidos en suspensión, materia orgánica coloreada disuelta (CDOM), y sustancias húmicas (Ferreira *et al.* 2012; Gilerson *et al.* 2007). Esto ha llevado al desarrollo de algoritmos a fin de estimar la concentración de clorofila *a* y ficocianina con mejor precisión en ambientes turbios, minimizando los efectos de las interferencias en las mediciones de fluorescencia (Cremella *et al.* 2018). Si bien este método permite la medición en tiempo real, los equipos que incorporan dichas correcciones son costosos, por lo que su utilización puede verse limitada al uso de aparatos de bajo costo (sin correcciones), pero mediante la aplicación de calibraciones específicas. Por estas razones, su uso en el monitoreo no experto del tipo ciudadano, por ejemplo, por productores rurales, guardavidas, funcionarios municipales, integrantes de ONGs ambientalistas, se ve fuertemente restringido. Por otro lado, otros métodos de menor sensibilidad pero de mayor accesibilidad, permiten la estimación de la clorofila *a* en base a la medición de reflectancias en las bandas roja, verde y azul (RGB). Las relaciones entre reflectancias permiten la evaluación de la concentración de la clorofila *a*, y la turbidez, entre otras propiedades presentes en el agua (Bowers *et al.* 2000; Goddijn y White 2006; Goddijn-Murphy *et al.* 2009).

HydroColor® es una aplicación que utiliza la cámara digital de un teléfono inteligente como si fuera un radiómetro de tres bandas RGB, permitiendo medir las reflectancias del agua (Leeuw y Boss 2018). Esta aplicación tendría el potencial de generar información en tiempo real a un bajo costo, posibilitando la

realización de grandes campañas de muestreo y la incorporación del monitoreo del tipo no experto. La aplicación utiliza la intensidad de la luz medida en una serie de imágenes para calcular la reflectancia del agua en las bandas RGB en base a la ecuación de Mobley (1999), la cual es utilizada frecuentemente para determinar la reflectancia remota sobre el agua. Su utilización requiere la estandarización de los datos mediante una tarjeta gris de 18% de reflectancia, y un teléfono inteligente equipado con cámara digital, giróscopio y brújula. El sistema de posicionamiento global (GPS) y la conexión permite determinar la posición del sol, y dirigir al usuario los ángulos correctos para la obtención de las imágenes (Leeuw y Boss 2018). Estudios marinos costeros han obtenido resultados alentadores para la medición de la turbidez y la concentración de clorofila *a* utilizando Hydrocolor (Gallagher y Chuan 2018). En nuestro país, Hydrocolor fue utilizada por Deus Álvarez (2015) en el Río Uruguay y en la costa de Montevideo, encontrándose relaciones lineales entre las reflectancias rojo/verde y azul/verde, y la biomasa de fitoplancton. Sin embargo, su desempeño y precisión aún no está determinada en ambientes turbios, como pequeños cuerpos de agua ubicados en zonas de producción agropecuaria, y se desconoce si bajo estas condiciones es posible discriminar entre cianobacterias y organismos del fitoplancton en general.

Si bien las metodologías fluorométricas se encuentran limitadas por su alto costo, y a su uso por personal técnico, las herramientas alternativas como las cámaras de teléfonos celulares permitirían la obtención de datos en tiempo real, un uso descentralizado, y la posibilidad de la categorización de la información en los niveles de alerta propuestos por la OMS. Aplicaciones del tipo de Hydrocolor podrían ser relevantes para contribuir a las tareas de vigilancia ciudadana y aportar información a la gestión. En el presente capítulo se evalúa el desempeño de la fluorescencia *in vivo* de clorofila *a* y de reflectancias medidas con una cámara de un teléfono inteligente para la estimación de biomasa fitoplanctónica en embalses productivos (objetivo específico número 3).

## Metodología

El conjunto de las variables estudiadas fueron obtenidas en la totalidad de embalses (A-N) y en los mismos muestreos detallados (07/11/2019, 03/12/2019 y 17/11/2020) en la “Metodología” del capítulo 1. Se evaluó el desempeño de la clorofila *a* determinada por fluorescencia *in vivo* y por reflectancias (Rrs 1/sr) medidas en la aplicación de HydroColor®. Para esto se analizaron las relaciones y diferencias existentes entre la clorofila *a* estimada por fluorescencia *in vivo* y por las reflectancias, respecto a las variables fitoplanctónicas tradicionales (clorofila *a* por extracción y biovolumen de fitoplancton) (Tabla V). Asimismo, se relacionaron la turbidez (medida con una sonda multi-paramétrica) y la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) (fluorómetro Turner Designs Trilogy), de acuerdo a las relaciones entre reflectancias estimadas por Hydrocolor (Tabla V). Se destaca que, en las mediciones de fluorescencia de clorofila *a* y ficocianina *in vivo* se utilizó un fluorómetro de mano modelo Aquafluor (marca Turner Designs), y se aplicaron correcciones de turbidez (Cremella *et al.* 2018). Para mayor detalle respecto a la determinación de la clorofila *a* por el método de extracción o por el método de fluorescencia (*in vivo*), así como el cálculo del biovolumen fitoplanctónico (mm<sup>3</sup>/L), ver las secciones “Muestreo de variables limnológicas” y “Análisis de laboratorio” del capítulo 1.

La medición de las reflectancias en la superficie del agua a través de HydroColor® se realizó de forma simultánea al resto de las variables medidas *in situ*. A continuación se describe cómo fueron capturadas las imágenes y el funcionamiento de la aplicación HydroColor®.

Tabla V. Se resumen las variables utilizadas para la evaluación del desempeño de los métodos de detección. Se indican las variables de “referencia” y las variables “evaluadas”.

Variabes de referencia	Métodos y equipos	Variabes evaluadas	Métodos y equipos
Clorofila a por extracción (µg/L)	Espectrofotómetro de mesada	Clorofila a <i>in vivo</i> (µg/L)	Fluorómetro de mano (Aquafluor, Turner Designs)
Biovolumen de fitoplancton (mm <sup>3</sup> /L)	Microscopio óptico invertido	Clorofila a (µg/L) por reflectancias Azul/Verde	Hydrocolor-teléfono inteligente.
		Reflectancias Azul/Verde (Rrs 1/sr)	Hydrocolor-teléfono inteligente.
		Reflectancias Rojo/Verde (Rrs 1/sr)	Hydrocolor-teléfono inteligente.
Turbidez (NTU)	Sonda multiparamétrica (Horiba U-52G)	Turbidez por reflectancias Rojo	Hydrocolor-teléfono inteligente.
CDOM UFR	Fluorómetro de mesada (Turner Designs Trilogy)	Reflectancias Rojo/Azul (Rrs 1/sr)	Hydrocolor-teléfono inteligente.

### Aplicación de Hydrocolor

Se tomaron imágenes con una cámara de un teléfono inteligente (Huawei Mate 20 Lite) utilizado como un radiómetro para determinar las reflectancias y finalmente poder estimar la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM), la clorofila a y la turbidez (Leeuw y Boss 2018). Las mediciones de las reflectancias de la superficie del agua con Hydrocolor se realizaron en paralelo al estudio de las otras variables limnológicas. La aplicación utiliza la ecuación de Mobley (1999) para calcular la reflectancia del agua (Rrs):

$$R_{rs} = \frac{L_t - \rho L_s}{\frac{\pi}{R_{ref}} L_c}$$

donde  $L_t$ : es la radiancia de la superficie del agua;  $L_s$ : la radiancia del cielo;  $R_{ref}$ : es la reflectancia de un estándar (0.18 para la tarjeta gris de 18%);  $L_c$ : reflectancia medida del estándar;  $\rho$ : factor de reflectancia de la superficie del agua (0.028 utilizada por Hydrocolor). Las radiancias relativas se calculan para cada canal de color (RGB) con la siguiente ecuación:

$$L_{rel} = \frac{DN}{\alpha S}$$

donde  $DN$ : es el valor digital del píxel en la imagen (0-255);  $\alpha$ : es el tiempo de exposición y  $S$  la velocidad ISO (en la captura fotográfica) (Leeuw y Boss 2018).

El procedimiento requiere la captura de tres imágenes, a una tarjeta gris de 18% de reflectancia, al cielo y por último a la superficie del agua (Figura 15). Las imágenes se tomaron procurando evitar interferencias de elementos (vegetación e infraestructuras) o efectos de sombreado, y desde una zona de la orilla en el cual se minimice la afectación por la visibilidad del fondo del cuerpo de agua. La captura de las imágenes del agua y del cielo se establecieron de acuerdo a las instrucciones de la aplicación (inclinación - orientación) para colocar el teléfono en los ángulos correctos (a  $40^\circ$  o  $130^\circ$  del nadir, para el agua y el cielo, respectivamente). Por lo tanto, debe de tenerse en consideración esta restricción para el posicionamiento en la orilla de un embalse o playa. En el momento de muestreo el estado del cielo se encontró parcialmente nublado.

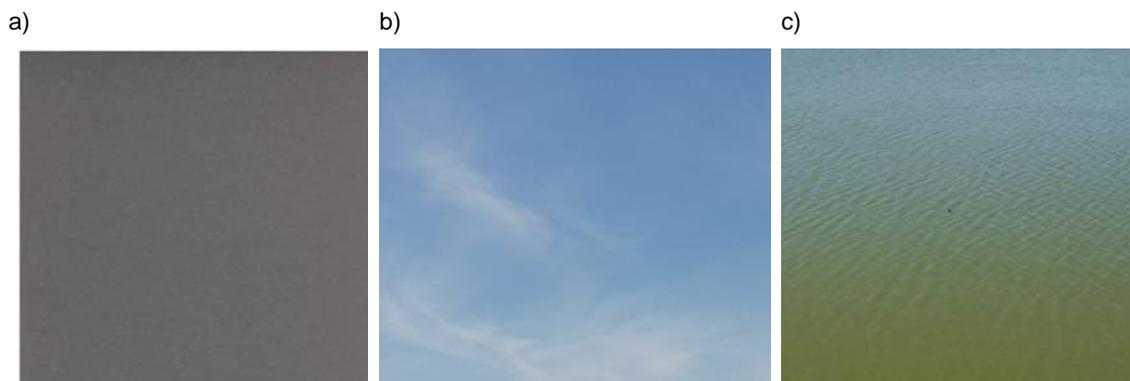


Figura 15. Secuencia de captura de imágenes con la aplicación de Hydrocolor por medio de un teléfono inteligente. Se indica; a): tarjeta gris de 18 % de reflectancia; b): el cielo; c): superficie del agua.

De esta manera, Hydrocolor calcula de forma automática las reflectancias en los canales rojo, azul y verde (RBG) (Leeuw y Boss 2018; Mobley 1999). La

concentración de la clorofila *a* puede ser estimada posteriormente por medio de la relación de las reflectancias en el rango azul/verde (Rrs B/G) y rojo/verde (Rrs R/G). Estas proporciones son escogidas de modo que el nominador este compuesto por la banda donde la absorción de la clorofila sea alta (ejemplo, parte azul del espectro), y el denominador donde la absorción de la clorofila sea baja (parte verde del espectro) (Godijn y White 2006). Estas relaciones disminuyen al aumentar la concentración de clorofila *a*, y pueden ser ajustadas mediante una ecuación potencial (Godijn-Murphy *et al.* 2009) según:

$$\text{Clorofila } a \text{ en } \mu\text{g/L} = 0.8X(\text{Rrs B/G})^{-4.3}$$

Para la estimación de CDOM se utilizaron las relaciones de reflectancias en las bandas rojo/azul (Rrs R/B), dado que se ha observado que dicha razón aumenta de forma lineal con la concentración de CDOM en el agua (Godijn y White 2006).

Finalmente, la turbidez es determinada mediante la reflectancia en el canal rojo (Rrs R) (Leeuw y Boss 2018):

$$\text{Turbidez (NTU)} = (27.7XRrs R)/(0.05 - Rrs R)$$

Cabe destacar que la aplicación Hydrocolor realiza el cálculo de Turbidez de forma automática.

### Análisis de datos

Las variables fueron evaluadas en función del grado de correlación y de acierto en comparaciones por rangos o categorías. Se analizaron las relaciones entre la clorofila *a* estimada por fluorescencia *in vivo* y por las reflectancias de Hydrocolor, respecto a la clorofila *a* por extracción y el biovolumen de fitoplancton. Se utilizaron variables categóricas de acuerdo a los grupos taxonómicos de fitoplancton dominantes mediante las contribuciones específicas de biomasa (al igual que en capítulo 1), y en función de los niveles guías de la OMS (Chorus y Welker 2021). La variable turbidez se categorizó tomando el umbral de 50 NTU, de forma de generar dos categorías (categoría 1: < 50 NTU, y categoría 2: > 50 NTU) para su evaluación por rangos. Se efectuó la prueba de

bondad de ajuste de  $X^2$  para evaluar la similitud de las distribuciones en las comparaciones de los métodos por rangos por medio de tablas de contingencia. El porcentaje de error de las clasificaciones (evaluación de los métodos por rangos) se calculó de la fórmula siguiente: Porcentaje de error = [(Valor observado – Valor esperado) / Valor esperado] × 100. Se utilizaron métodos no paramétricos, como correlaciones de Spearman y comparaciones por rangos mediante la prueba de Kruskal-Wallis en los análisis de varianza. Para la evaluación de las reflectancias (cociente de bandas) por grupo de fitoplancton dominante se realizó la prueba de Wilcoxon (método post hoc).

Se efectuaron modelos de regresión lineal simple y múltiple para evaluar el desempeño de las variables estudiadas y establecer posibles interferencias, utilizando los mismos criterios de selección de acuerdo a lo ya detallado en el capítulo 1 (criterio AIC, p valor y  $R^2$ ). Para atender la falta de normalidad de los datos se realizaron transformaciones a la forma logarítmica (logaritmo natural: Ln). La normalidad se verificó mediante el Test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad de varianza por el Test de Breusch-Pagan. Los análisis estadísticos fueron realizados por medio del software R, versión 4.2.2 y el software Past versión 4.03.

## Resultados

### Estimación de la clorofila *a in vivo* por fluorimetría

La relación lineal entre la variable de respuesta clorofila *a in vivo* (equipo Aquafluor, Turner Designs), y la variable explicativa clorofila *a* por extracción, presentó una fuerte correlación positiva significativa (p valor < 0.05), con un  $R^2$  de 0.98 y una pendiente de 0.82 (Tabla VI y Figura 16). Las variables presentan un muy buen grado de ajuste lineal, aunque la varianza no fue constante a lo largo de todo el gradiente. La mayor correlación entre ambas variables se observa entre los 5.5 y los 4439.0  $\mu\text{g}$  de clorofila *a*/L con un  $R^2 = 0.985$ . El rango de menor concentración de clorofila *a* estuvo compuesto principalmente por el grupo Cryptophyta y presenta un menor grado de ajuste, con concentraciones de clorofila *a in vivo* tendientes a la sobreestimación (relación >1:1). En el

intervalo de <5.0 a 100.0 µg de clorofila *a*/L, de dominancia de los grupos Cryptophyta, Bachillariophyta, Chlorophyta y Dinophyta, la clorofila *a in vivo* presentó una correlación de un  $R^2 = 0.86$ , y una pendiente de 0.63. Al ampliar el intervalo de clorofila de 100.0 a 4439.0 µg de clorofila *a*/L, rango dominado principalmente por el grupo Cyanobacteria, y ocasionalmente por el grupo Chlorophyta, mejora la correlación entre ambas variables, presentando un coeficiente  $R^2 = 0.97$ , y una pendiente de 0.78.

Tabla VI. Comparativo de estadísticos de las modelaciones lineales entre la clorofila *a* por extracción y la clorofila *a in vivo* por fluorescencia, en diferentes intervalos de concentración.

Intervalo de clorofila <i>a</i>	$R^2$	Pendiente	Intercepto	p-valor	Normalidad de residuales	Homogeneidad de varianza
< 5.0 - 4439.0 µg/L	0.981	0.82261	1.00415	< 2.2e-16	0.8435	0.006121
< 5.0 -100.0 µg/L	0.864	0.63862	1.41108	5.003e-11	0.4913	0.6491
< 5.0 - 430.0 µg/L	0.962	0.80880	1.03630	< 2.2e-16	0.7915	0.05991
100.0 - 4439.0 µg/L	0.973	0.78580	1.29983	< 5.003e-11	0.2078	0.7648
5.5 - 4439.0 µg/L	0.985	0.85551	0.81602	< 2.2e-16	0.2996	0.05466

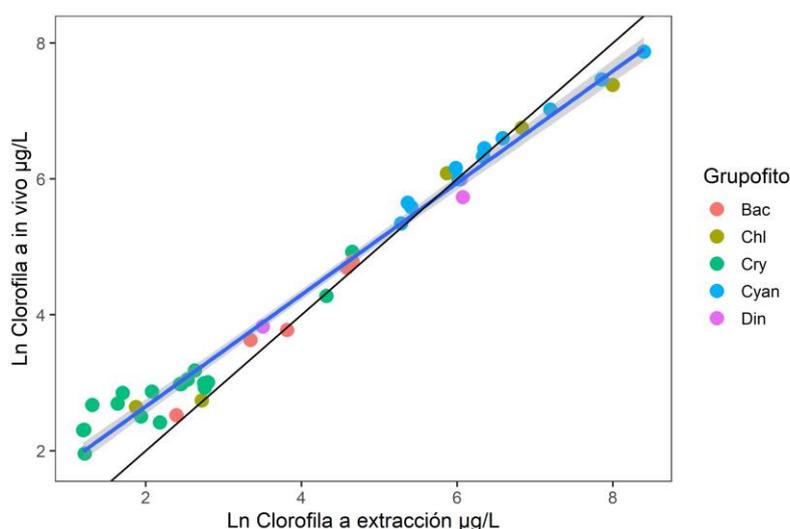


Figura 16. Relación lineal entre concentración de clorofila *a* por extracción y clorofila *a in vivo* (Aquafluor, Turner Designs), con datos transformados a la forma logarítmica. La línea negra corresponde a una relación lineal 1:1. Se indican los grupos taxonómicos de fitoplancton dominantes: Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta.

### Desempeño de la clorofila *a in vivo* en diferentes condiciones de turbidez

La relación lineal entre la clorofila *a in vivo* por fluorescencia, y la clorofila *a* por extracción presentó una fuerte correlación positiva en diferentes condiciones de turbidez (Anexo 7). No obstante, se destaca que en las condiciones de “alta” CDOM y “alta” turbidez, la clorofila *a in vivo* presentó un coeficiente de correlación más bajo con la clorofila *a* por extracción (Tabla VII). En el rango de mayor turbidez se observa el menor grado de ajuste lineal, con la menor pendiente (0.59) y el menor coeficiente de determinación  $R^2$  (0.96) de la relación. En estas condiciones, las concentraciones de clorofila *a in vivo* tienden a la sobreestimación de clorofila *a* por extracción.

En contraparte, en las condiciones de menor turbidez (“baja turbidez”), se observa un mejor desempeño en la relación lineal, con un  $R^2$  de 0.98 y una pendiente de 0.70. En menor medida, en condiciones de “baja” CDOM se observa un comportamiento similar, con un leve aumento en el  $R^2$  (0.98), respecto a las condiciones de “alta” CDOM ( $R^2 = 0.97$ ).

Tabla VII. Comparativo de estadísticos de las relaciones lineales entre la clorofila *a* por extracción y la clorofila *a in vivo* por fluorescencia, en diferentes condiciones ópticas. Se indica: materia orgánica coloreada disuelta (CDOM) alta/baja; Turbidez alta/baja.

<b>Condiciones ópticas</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b>Pendiente</b>	<b>Intercepto</b>	<b>p-valor</b>
CDOM alta	0.973	0.58289	100.09414	2.863e-13
CDOM baja	0.978	0.99387	6.82592	< 2.2e-16
Turbidez alta	0.962	0.59285	101.67001	< 2.2e-16
Turbidez baja	0.980	0.70511	11.65488	1.102e-10

### Desempeño de la clorofila *a in vivo* en las categorías de alerta de la OMS

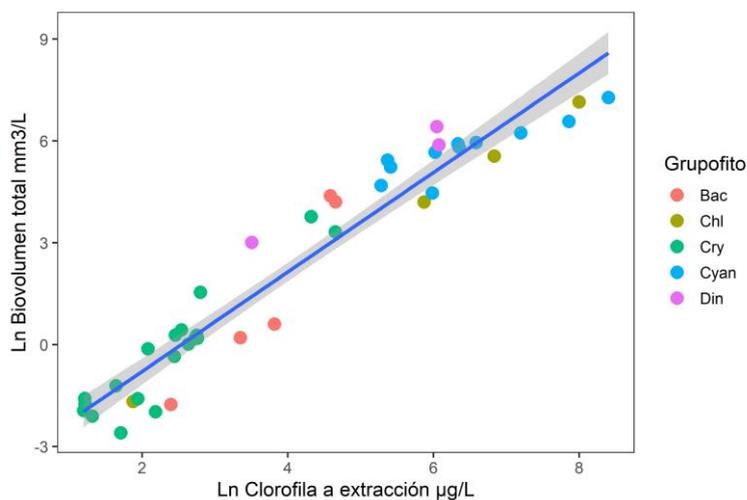
El método de detección de clorofila *a in vivo* por fluorescencia presentó un desempeño adecuado en la clasificación de los niveles guía y de alerta de la OMS, respecto a la clorofila *a* por extracción. Para esta evaluación se tomó el umbral de 24  $\mu\text{g}$  de clorofila *a/L*, correspondiente al nivel de alerta número 2 de uso recreativo. Las categorías de niveles de la OMS determinadas por la clorofila

*a in vivo* y por la clorofila *a* por extracción presentaron un alto grado de similitud, con un porcentaje de error de 2.3%. Asimismo, el test de bondad de ajuste  $\chi^2$  indicó que las proporciones de las clasificaciones por ambos métodos son similares ( $p$  valor = 1) (Anexo 8).

#### Clorofila *a* por extracción y clorofila *a in vivo* versus biovolumen de fitoplancton

La relación lineal entre la variable de respuesta biovolumen total en  $\text{mm}^3/\text{L}$  y la variable predictora clorofila *a* por extracción presentó una fuerte correlación positiva significativa ( $p$  valor < 0.05), con un  $R^2$  de 0.93 y una pendiente de 1.46505 (Figura 17 -a). Por otro lado, el modelo lineal simple entre la variable de respuesta biovolumen total en  $\text{mm}^3/\text{L}$  y la variable predictora clorofila *a in vivo* por fluorescencia presentó una fuerte relación positiva significativa ( $p$  valor < 0.05), con un  $R^2$  de 0.92 y una pendiente de 1.75173 (Figura 17 -b).

a)  $p$  valor=  $< 2.2e-16$ ,  $R^2=0.93$ , intercepto=  $-3.71480$ , pendiente=  $1.46505$



b)  $p$  valor=  $< 2.2e-16$ ,  $R^2=0.92$ , intercepto=  $-5.37515$ , pendiente=  $1.75173$

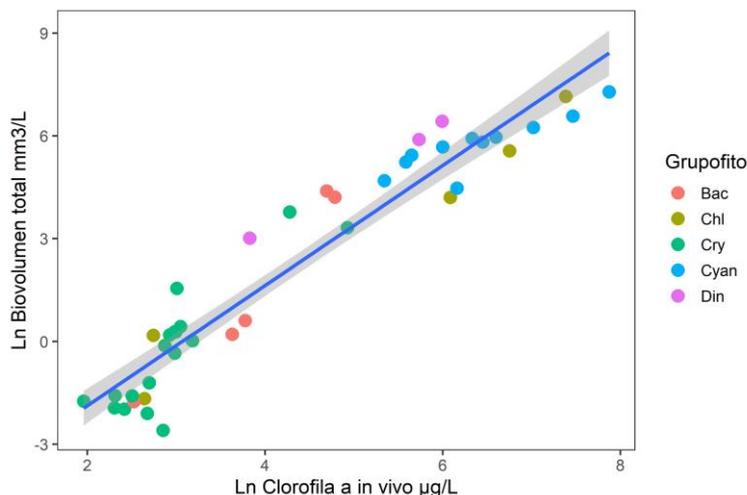


Figura 17. a) Relación lineal entre concentración de clorofila *a* por extracción y biovolumen de fitoplancton, con datos transformados a la forma logarítmica. Los residuales de la relación no presentan evidencia de falta de normalidad ( $p= 0.2849$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianzas ( $p = 0.3663$ ,  $>\alpha= 0.05$ ). b) Relación lineal entre concentración de clorofila *a in vivo* por fluorescencia y biovolumen de fitoplancton, con datos transformados a la forma logarítmica. Los residuales de la relación no presentan evidencia de falta de normalidad ( $p= 0.3365$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianzas ( $p=0.9461$ ,  $>\alpha= 0.05$ ). En ambas figuras se indican los grupos taxonómicos de fitoplancton dominantes: Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta.

### Relación entre clorofila a y biovolumen de grupos de fitoplancton

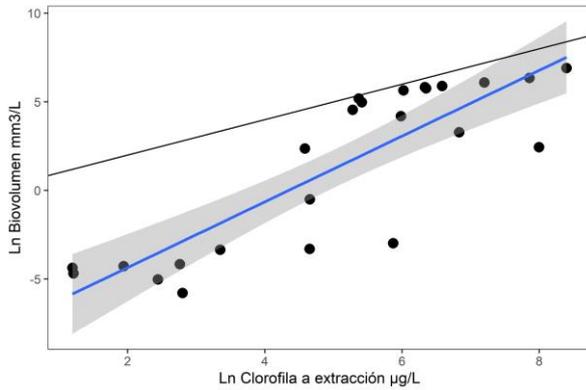
En términos globales en el conjunto de embalses la concentración de la clorofila a por extracción se correlacionó fuertemente con la biomasa de los grupos Chlorophyta y Cyanobacteria, presentando una relación significativa y un coeficiente de correlación de Spearman  $r_s$  ( $\rho$ ) de 0.75 y 0.71, respectivamente. Los grupos restantes de fitoplancton presentaron un bajo coeficiente de correlación y de significancia con este pigmento, indicando una baja asociación entre la clorofila a y el biovolumen de estos grupos (Tabla VIII).

Tabla VIII. Coeficiente de correlación ( $\rho$ ) de Spearman  $r_s$  entre la variable clorofila a por extracción y el biovolumen de los grupos fitoplanctónicos para el conjunto de embalses. Se indica la significancia de la relación con un “\*”, para un p-valor <0.05.

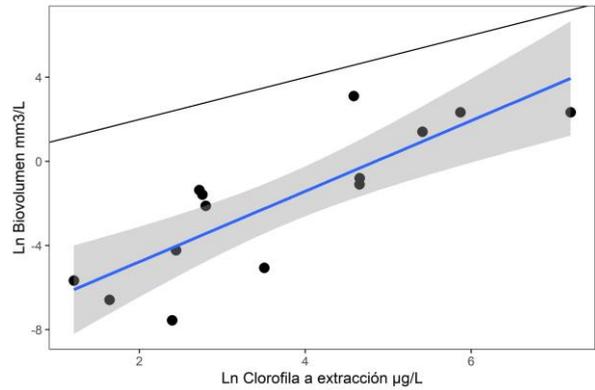
	Coeficiente de correlación Spearman $r_s$ Clorofila $\mu\text{g/l}$	Significancia p-valor
Biovolumen Chlorophyta	0.75	5.8496E-09*
Biovolumen Bacillariophyta	0.22	0.14881
Biovolumen Cryptophyta	-0.18	0.23671
Biovolumen Cyanobacteria	0.71	1.1281E-07*
Biovolumen Dinophyta	0.16	0.28852
Biovolumen Euglenophyta	-0.006	0.96562

En la Figura 18 se muestran las relaciones lineales entre el biovolumen de fitoplancton y la clorofila a por extracción, evaluado en aquellos embalses con la presencia de los grupos de fitoplancton respectivos. De esta forma, como era esperable la clorofila a presentó una correlación diferencial con cada grupo fitoplanctónico. Los grupos Chlorophyta y Cyanobacteria presentaron la mayor correlación de biomasa con la clorofila a, con una relación significativa, y un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.78, y 0.72, respectivamente. Los grupos Euglenophyta, Bacillariophyta, y Cryptophyta, si bien presentaron una relación significativa con la clorofila a, mostraron una menor correlación con este pigmento. La biomasa del grupo Dinophyta no presentó una relación significativa con la clorofila a. En las relaciones que resultaron significativas (p valor <0.05), los grupos Chlorophyta, Cyanobacteria y Euglenophyta presentaron la mayor pendiente. Por último, se destaca que la relación lineal entre la biomasa del grupo Cryptophyta y la clorofila a presentó la menor pendiente (0.77) de los modelos lineales.

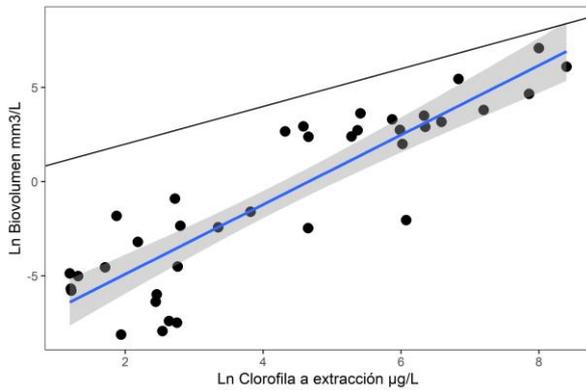
a) Cyanobacteria p valor= 1.767e-07, R<sup>2</sup>=0.72  
intercepto= -8.062, pendiente= 1.855



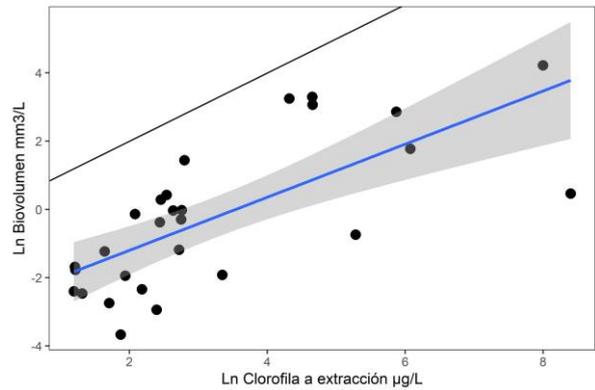
b) Euglenophyta p valor= 0.0002174, R<sup>2</sup>=0.69  
intercepto= -8.1232, pendiente= 1.6768



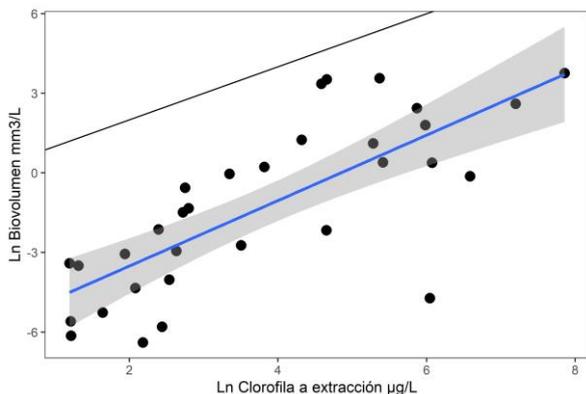
c) Chlorophyta p valor= 3.804e-13, R<sup>2</sup>= 0.78  
intercepto= -8.6074, pendiente= 1.8478



d) Cryptophyta p valor= 2.238e-05, R<sup>2</sup>= 0.50  
intercepto= -2.7545, pendiente= 0.7781



e) Bacillariophyta p valor= 6.205e-07, R<sup>2</sup>= 0.57  
intercepto= -5.9776, pendiente= 1.2335



f) Dinophyta p valor= 0.1734, R<sup>2</sup>= 0.68  
intercepto= -6.1840, pendiente= 2.0104

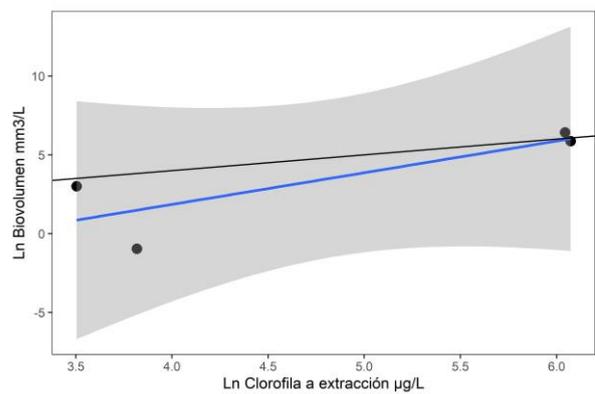
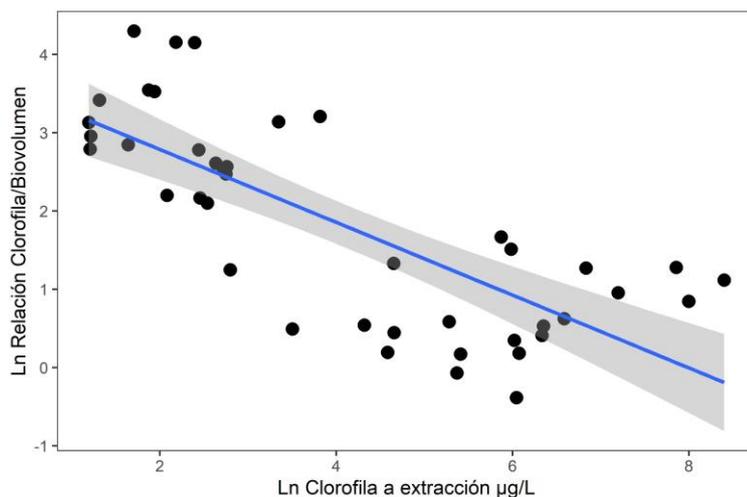


Figura 18. Relación lineal entre clorofila a por extracción y el biovolumen específico de los principales grupos fitoplanctónicos, con datos transformados a la forma logarítmica. La línea negra corresponde a una relación lineal con una pendiente = 1. Los residuales de las relaciones no presentan evidencia de falta de normalidad ( $p > \alpha = 0.05$ ).

La relación del cociente clorofila *a*/biovolumen ( $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) presentó diferencias significativas entre los diferentes grupos de fitoplancton (Kruskal Wallis  $p$  valor  $< 0.05$ ). Respecto a este indicador, se observó una tendencia decreciente entre el cociente clorofila *a*/biovolumen y la variable clorofila *a* (Figura 19). El modelo lineal simple de la relación clorofila *a*/biovolumen y la variable explicativa clorofila *a* por extracción, presentó una correlación negativa significativa ( $p$  valor  $< 0.05$ ), con un  $R^2$  de 0.57 y una pendiente de -0.46505. Los grupos Cyanobacteria y Dinophyta presentaron valores medios más bajos de este cociente, con  $2.19 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ , y  $1.17 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ , respectivamente. Bacillariophyta presentó la media del cociente clorofila *a*/biovolumen más alta, de  $22.78 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ , seguido por Cryptophyta ( $20.37 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) y Chlorophyta ( $11.69 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ ). Se destaca que Cyanobacteria presentó el valor medio más “cercano” al cociente clorofila *a*/biovolumen =  $3 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ , el cual fue establecido para los niveles guía y de alerta de la propuesta de la OMS de 2021.

a)  $p$  valor= 8.218e-09,  $R^2=0.57$ , intercepto= 3.71480, pendiente= -0.46505



b) Test de Kruskal Wallis  $p$  valor= 0.0003994,  $p < 0.05$

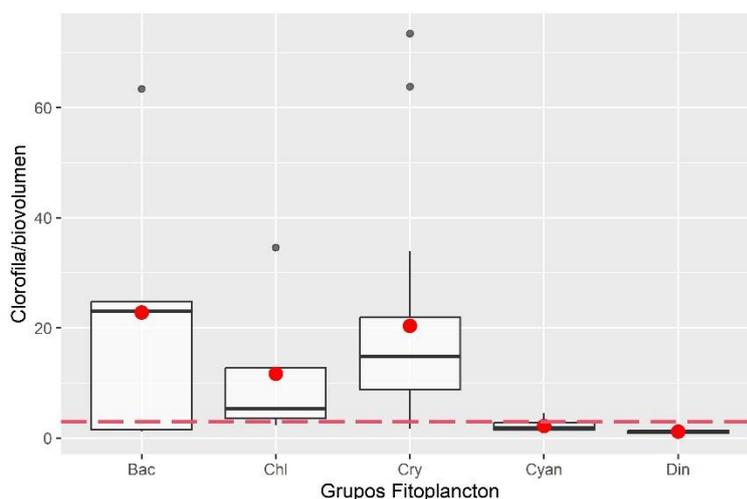


Figura 19. a): Relación lineal entre clorofila  $a$  por extracción y el cociente clorofila  $a$ /biovolumen en  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ , con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales de la relación lineal no presentan evidencia de falta de normalidad ( $p= 0.2849$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianzas ( $p= 0.3663$ ,  $>\alpha= 0.05$ ). b): Boxplot del cociente clorofila  $a$ /biovolumen en  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$  por grupo de fitoplancton dominante. Se representan la mediana (línea negra), la media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Referencia; Chl: Chlorophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Bac: Bacillariophyta. Se incluye línea roja punteada de referencia de cociente =  $3 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  utilizado en los niveles guía y de alerta de la OMS 2021.

### Reflectancias de Hydrocolor: medición de turbidez y CDOM en embalses

Se evaluó la turbidez mediante la ecuación utilizada por Hydrocolor, con reflectancias  $\leq 0.05$  (1/sr), y en el rango de  $0.0 - 80 \pm 36$  NTU. La variable de

respuesta turbidez calculada por reflectancias mediante Hydrocolor, y la variable explicativa turbidez medida con una sonda multi-paramétrica, presentó una relación significativa y positiva ( $p$  valor  $< 0.05$ ), con un  $R^2 = 0.25$  y una pendiente de 0.8605 (Figura 20). A pesar de la baja correlación observada, el método de medición de turbidez por Hydrocolor presentó un desempeño moderado en la clasificación en niveles de turbidez, respecto a las mediciones de la sonda multiparamétrica (categoría 1:  $< 50$  NTU, y categoría 2:  $> 50$  NTU). Según el test de bondad de ajuste  $X^2$  las proporciones de las clases de turbidez generadas por ambos métodos fueron similares ( $p$  valor = 0.7621). En el Anexo 9 se observan las proporciones de las clasificaciones por ambos métodos en la clase 1 y en la clase 2, presentándose un porcentaje de error de clasificación del 27.7% y una tendencia aparente hacia la sobreestimación de la turbidez por parte de la turbidez calculada a partir de Hydrocolor.

a)  $p$  valor= 0.01866,  $R^2= 0.25$ , intercepto= 0.5462, pendiente= 0.8605

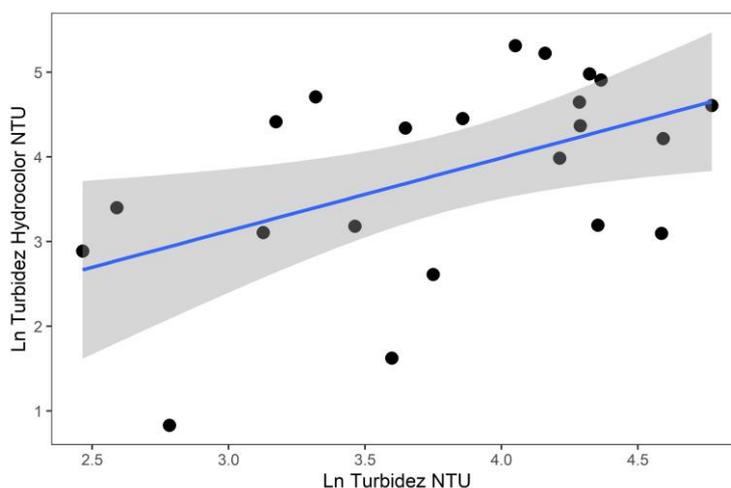
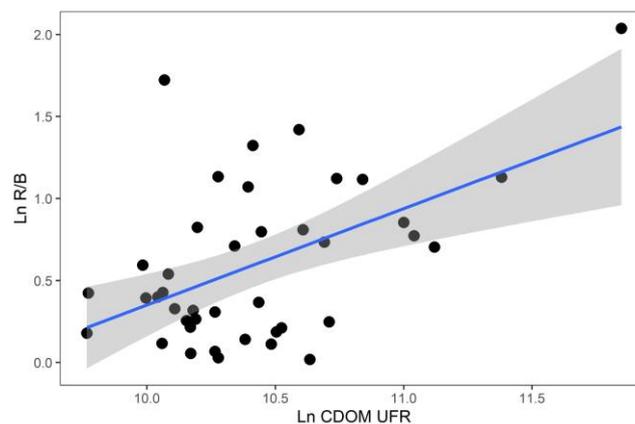


Figura 20. Relación lineal entre la turbidez medida con una sonda multi-paramétrica y la turbidez calculada a partir de Hydrocolor, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de normalidad según el test de Shapiro Wilk – W ( $p= 0.08266$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianza ( $p=0.2656$ ,  $>\alpha= 0.05$ ).

Se evaluó mediante el ajuste de un modelo lineal la relación entre las sustancias orgánicas disueltas y el cociente de las reflectancias rojo/azul (R/B) y rojo/verde (R/G), medidas con Hydrocolor. La materia orgánica disuelta coloreada (CDOM),

y el cociente de reflectancias R/B, presentaron una moderada correlación positiva y significativa ( $p$  valor  $< 0.05$ ), con un  $R^2 = 0.26$  (Figura 21 -a). Por otro lado, la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM) y el cociente de reflectancias R/G, presentaron una correlación negativa de baja significancia ( $p$  valor = 0.04279), con un  $R^2 = 0.09$ , no observando en este caso un ajuste lineal (Figura 21 -b).

a)  $p$  valor= 0.0006486,  $R^2= 0.26$ , intercepto= -5.5287, pendiente= 0.5879



b)  $p$  valor= 0.04279,  $R^2= 0.09$ , intercepto= 1.68323, pendiente=-0.14839

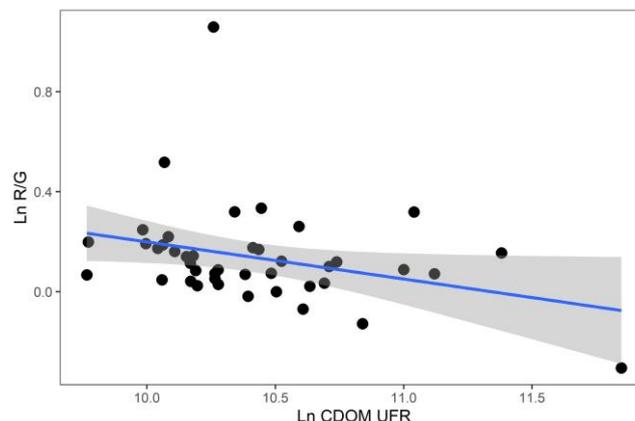


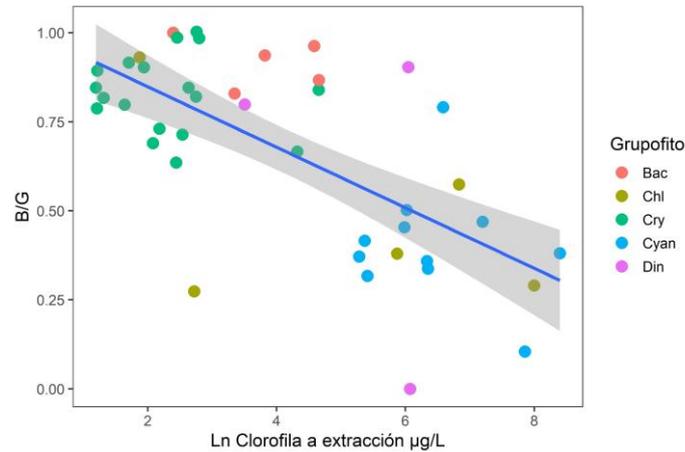
Figura 21. a): Relación lineal entre CDOM y el cociente de reflectancias R/B (rojo/azul) medidas con Hydrocolor, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de normalidad según el test de Shapiro Wilk –  $W$  ( $p= 0.0617$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianza ( $p=0.9542$ ,  $>\alpha= 0.05$ ). b): Relación lineal entre CDOM y el cociente de reflectancias R/G (rojo/verde) medidas con Hydrocolor, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de homocedasticidad de varianza ( $p= 0.9265$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), pero sí de normalidad según el test de Shapiro Wilk –  $W$  ( $p= 3.895e-07$ ,  $< \alpha= 0.05$ ).

## Reflectancias de Hydrocolor: estimación de clorofila *a* y biovolumen de fitoplancton en embalses

Se exploraron los cocientes de reflectancias en las bandas rojo y verde (R/G) y azul y verde (B/G) para la estimación de fitoplancton. De esta forma, se realizó el ajuste de un modelo lineal entre la clorofila *a* por extracción y el biovolumen de fitoplancton, y los cocientes de las reflectancias (R/G) y (B/G). El cociente de las reflectancias R/G no presentó una relación lineal ( $p$  valor  $> 0.05$ ) con la clorofila *a* por extracción y ni con el biovolumen de fitoplancton (Anexo 10). En cambio, el cociente de las reflectancias B/G y las variables clorofila *a* por extracción y biovolumen de fitoplancton, presentaron una relación lineal significativa ( $p$  valor  $< 0.05$ ) con una pendiente negativa, y un  $R^2$  de 0.45 y 0.41, respectivamente (Figura 22).

En la Figura 23, se puede observar que existe un patrón diferencial de los diferentes grupos fitoplanctónicos dominantes de acuerdo al cociente de reflectancias B/G. Mediante el test de Kruskal-Wallis se pudo comprobar que existen diferencias significativas entre los grupos algales en relación a dicha variable (Kruskal-Wallis  $p$  valor= 0.0002063). El grupo Cyanobacteria presentó diferencias significativas en el cociente de reflectancias B/G respecto al grupo Cryptophyta y Bacillariophyta, no observándose diferencias entre otros grupos microalgales (Figura 23 -a). En las comparaciones por nivel guía de la OMS, el cociente de reflectancias B/G también presentó diferencias significativas entre los niveles de alerta (Nivel 1 y Nivel 2) (Figura 23 -b).

a) p valor= 9.47e-07,  $R^2= 0.45$ , intercepto= 1.01853, pendiente= -0.08499



b) p valor= 3.985e-06,  $R^2= 0.41$ , intercepto= 0.79254, pendiente= -0.05344

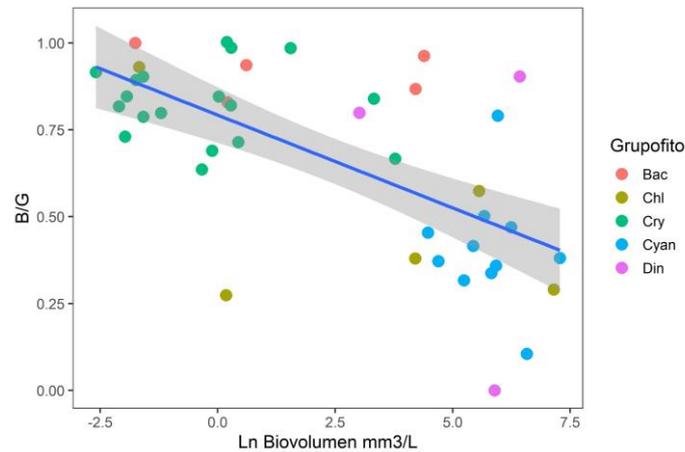
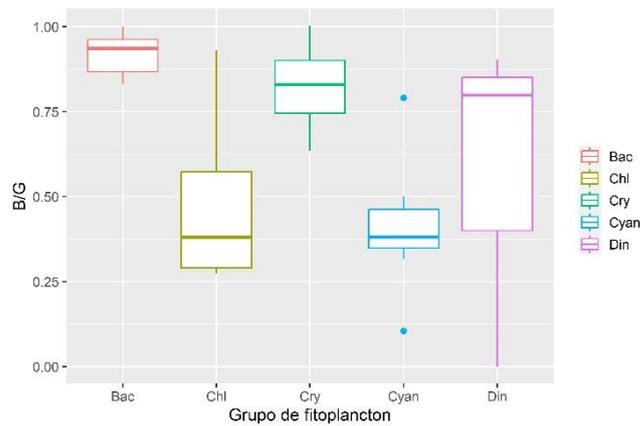


Figura 22. a): Relación lineal entre la clorofila *a* por extracción y el cociente de reflectancias B/G medidas con Hydrocolor, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de normalidad según el test de Shapiro Wilk – W ( $p= 0.3355$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianza ( $p= 0.2668$   $>\alpha= 0.05$ ). b): Relación lineal entre el biovolumen de fitoplancton y el cociente de reflectancias B/G medidas con Hydrocolor, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de normalidad según el test de Shapiro Wilk – W ( $p= 0.4733$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), ni falta de homocedasticidad de varianza ( $p= 0.0716$ ,  $>\alpha= 0.05$ ). Se indica el grupo taxonómico de fitoplancton dominante: Chl: Chlorophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Bac: Bacillariophyta.

a) Kruskal-Wallis p valor= 0.0002063



Wilcoxon test

	Bac	Chl	Cry	Cyan
Bac	-	-	-	-
Chl	0.0794	-	-	-
Cry	0.1887	0.0794	-	-
Cyan	<b>0.0023</b>	1.0000	<b>1.7e-05</b>	-
Din	0.2381	1.0000	0.7500	0.6515

b) Kruskal-Wallis p valor= 0.01381

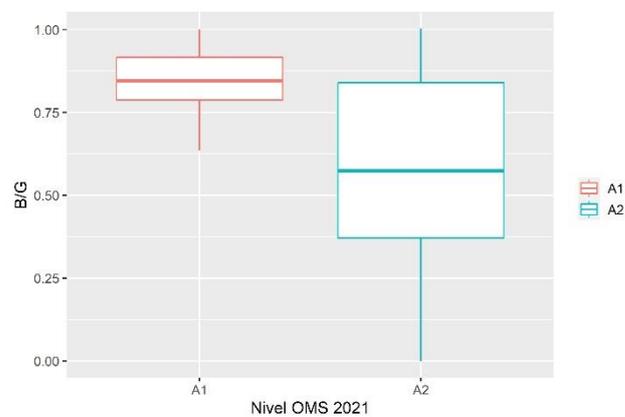


Figura 23. a): Boxplot del cociente de reflectancias B/G, de acuerdo a los grupos fitoplanctónicos. Se indican los p valores de Wilcoxon Rank como test poshoc ( $p < 0.05$ ). b): Boxplot del cociente de reflectancias B/G, de acuerdo a los niveles guía de la OMS, para un umbral de  $24 \mu\text{g}$  de clorofila  $a/L$  correspondiente al nivel de alerta 2 para uso recreativo ( $A1 < 24 \mu\text{g}$  de clorofila  $a/L$  /  $A2 \geq 24 \mu\text{g}$  de clorofila  $a/L$ ). Se indica el grupo dominante de fitoplancton: Chl: Chlorophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Bac: Bacillariophyta.

## Desempeño de la clorofila *a* estimada con Hydrocolor en niveles de alerta de la OMS

Se evaluó el desempeño de la clorofila *a* estimada a partir de las reflectancias en las bandas azul y verde (B/G) según Goddijn-Murphy *et al.* 2009. Se realizó un modelo lineal con la variable de respuesta clorofila *a* calculada con reflectancias de Hydrocolor, y la variable clorofila *a* determinada por extracción, observándose una moderada correlación positiva y significativa ( $p$  valor  $< 0.05$ ), con un  $R^2$  de 0.44 y una pendiente de 0.6487 (Figura 24). De este modo, se evaluó la clorofila *a* calculada con las reflectancias en base a la clasificación en niveles de alerta de la OMS, de acuerdo al umbral de 24  $\mu\text{g}$  de clorofila *a*/L (Anexo 11). La evaluación por rangos de la clorofila *a* estimada por las reflectancias presentó un porcentaje de error de 26.8% en las clasificaciones. El test de bondad de ajuste  $X^2$  indicó que las proporciones en la distribución de clases no fueron similares, respecto a las clasificaciones en base a la clorofila *a* por extracción ( $p$  valor = 0.01277). Se destaca la tendencia a la subestimación del nivel 2 de alerta por parte del método de determinación de clorofila *a* por medio de las reflectancias.

p valor= 2.219e-06, R<sup>2</sup>= 0.44, intercepto= -0.8349, pendiente= 0.6487

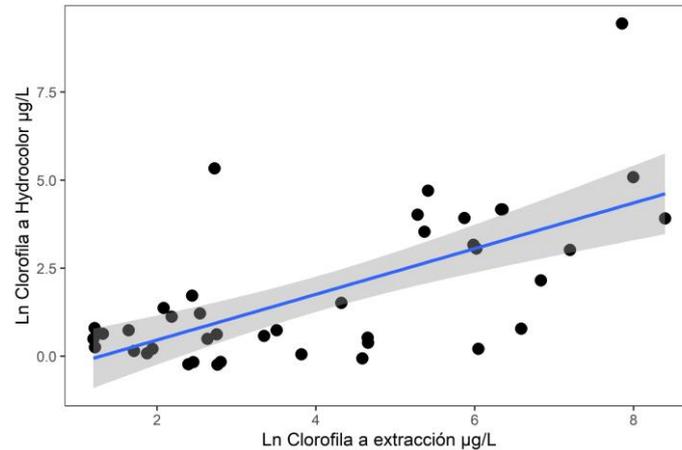


Figura 24. Relación lineal entre la concentración de clorofila *a* por extracción y clorofila *a* calculada por reflectancias, con valores transformados a la forma logarítmica. Los residuales del modelo lineal no presentan evidencia de falta de homocedasticidad de varianza ( $p=0.06765$ ,  $>\alpha= 0.05$ ), pero sí de normalidad según el test de Shapiro Wilk – W ( $p=0.003646$ ,  $<\alpha= 0.05$ ).

### Corrección de clorofila *a* de Hydrocolor y de reflectancias B/G por sólidos totales en suspensión y CDOM

Se realizaron dos modelos lineales múltiples, en donde de forma complementaria a la clorofila *a* calculada a partir de Hydrocolor y a las reflectancias B/G, se adicionaron los sólidos totales en suspensión (STS), y la materia orgánica disuelta coloreada (CDOM). De esta forma, se evaluó el efecto de las variables mediante el *Modelo 1 (M1): Clorofila a= clorofila a de Hydrocolor + STS + CDOM* y el *Modelo 2 (M2): Clorofila a= Reflectancias B/G + STS + CDOM*.

Los modelos resultantes 1 y 2 presentaron un desempeño muy similar, con un R<sup>2</sup> igual, de 0.65, y un p valor significativo  $< 0.05$  (Tabla IX). La CDOM no fue una variable relevante (p valor no significativo), por lo que fue retirada de los modelos. En ambos casos, no se presenta evidencia de falta de normalidad (M1, p valor= 0.1951; M2, p valor= 0.2101), ni de homocedasticidad de varianzas (M1, p valor= 0.5336; M2, p valor= 0.5153), ni de independencia (M1, p valor 0.7487; M2, p valor = 0.7487), o autocorrelación de variables (M1, p valor 0.804; M2, p valor= 0.748).

Tabla IX. Estadísticos de los modelos resultantes con la variable de respuesta clorofila *a* por extracción, y las variables predictoras; clorofila *a* de Hydrocolor, reflectancias B/G (Rrs B/G), y sólidos totales en suspensión (STS). El conjunto de datos de las variables fueron transformados a la forma logarítmica. Se indica el p valor del modelo y de cada variable predictor, el AIC y el R<sup>2</sup>.

Modelos	Pvalor clorofila hydrocolor	Pvalor Rrs B/G	Pvalor STS	AIC	R <sup>2</sup>
Modelo 1: $\ln(\text{clorofila}) = 0.4284\ln(\text{clorofila hydrocolor}) + 1.1720\ln(\text{STS}) - 1.7553$ . P valor= 1.337e-09.	0.000367	-	1.66e-05	141.8	0.65
Modelo 2: $\ln(\text{clorofila}) = -1.8266\ln(\text{B/G}) + 1.1735\ln(\text{STS})$ . P valor= 1.434e-09	-	0.000396	1.68e-05	141.9	0.65

## Discusión

En esta tesis se pudo evaluar el desempeño de metodologías de detección de fitoplancton en tiempo real e *in situ* en catorce embalses agropecuarios, ubicados en diferentes zonas de la cuenca del Río Santa Lucía. Los métodos fueron utilizados en un amplio gradiente ambiental, abarcando condiciones extremas de turbidez y un importante gradiente de biomasa de organismos fitoplanctónicos. La fluorescencia *in vivo* presentó un alto desempeño para medir clorofila *a*. El elevado grado de correlación entre la clorofila *a* por fluorescencia *in vivo*, la clorofila *a* por extracción y el biovolumen de fitoplancton, indica que el uso de fluorómetros *in situ* de bajo costo puede ser altamente apropiado para estimar biomasa fitoplanctónica, aún en condiciones eutróficas y de elevada turbidez inorgánica. El método basado en reflectancias, por otra parte, presentó un peor desempeño para estimar clorofila *a*. Los mejores resultados fueron obtenidos con el uso directo de las reflectancias B/G, destacándose la capacidad de este cociente para discriminar clorofila *a* de acuerdo a los niveles guía y de alerta de la OMS. Sin embargo, debe señalarse que, a pesar del gran potencial de aplicaciones como Hydrocolor, las limitaciones de operación de la aplicación podrían dificultar la utilización de la herramienta por personas no expertas, debido a las dificultades encontradas en embalses agropecuarios, los que en general presentan alta turbidez y márgenes someros. Asimismo, los resultados inciertos de algunas investigaciones remarcan la necesidad de ampliar el

conocimiento de herramientas como Hydrocolor para obtener una mayor precisión y confiabilidad en su utilización.

#### Clorofila *a* por fluorescencia *in vivo* en ambientes turbios: relación con clorofila *a* por extracción y biovolumen

La clorofila *a in vivo* por fluorescencia presentó un alto grado de correlación con la clorofila *a* por extracción ( $R^2= 0.98$ ) para el gradiente completo de concentración, aun en condiciones extremas de turbidez orgánica e inorgánica y ante una diversa presencia de organismos fitoplanctónicos. La respuesta lineal de la clorofila *a in vivo* es consistente con otras correlaciones generadas en rangos de menor concentración, con fluorómetros similares (Cremella *et al.* 2018), y con equipos de mayor complejidad que incorporan correcciones ópticas de fábrica (Catherine *et al.* 2012; Gregor *et al.* 2005; Izydorczyk *et al.* 2009; Schagerl y Künzl 2007). Las desviaciones en la pendiente respecto a una relación perfecta (1:1) pueden considerarse esperadas para aguas naturales, y posiblemente se deben a incertidumbres inherentes de las metodologías de análisis empleadas (Catherine *et al.* 2012; Gregor *et al.* 2005; Izydorczyk *et al.* 2009). En el rango de menor concentración de la clorofila *a*, en el cual se observó una dominancia marcada del grupo Cryptophyta, la clorofila *a in vivo* presentó el menor ajuste en la relación, con concentraciones tendientes a la sobreestimación. Esto es esperable dado que las interferencias ópticas pueden incrementar o reducir la magnitud de las mediciones de fluorescencia, y a menores concentraciones este efecto puede potenciarse. La disminución de la pendiente y del  $R^2$  de la relación en condiciones de alta turbidez y alta materia orgánica disuelta coloreada indican una reducción del desempeño de la relación entre la clorofila *a* por extracción y la clorofila *a in vivo*. Estos patrones observados remarcan la importancia de incorporar correcciones a fin de minimizar las interferencias ópticas, a la vez de contemplar de forma representativa la diversidad local de los organismos fitoplanctónicos (Chegoonian *et al.* 2022; Cremella *et al.* 2018; Ferreira *et al.* 2012). La clasificación en los niveles guía y de alerta de la OMS a través de la clorofila *a in vivo*, presentó un alto desempeño respecto a las clasificaciones generadas por

la clorofila *a* por extracción (97.7% de acierto en umbral de alerta 2 para aguas recreativas, Chorus y Welker 2021). El buen desempeño de la clorofila *a in vivo* para clasificar de forma adecuada en el umbral de 24 µg de clorofila *a*/L de la OMS, destaca su uso como un indicador confiable, aun en condiciones de extrema turbidez orgánica e inorgánica.

El biovolumen (mm<sup>3</sup>/L) de fitoplancton presentó una fuerte correlación positiva con la clorofila *a* por extracción ( $R^2= 0.93$ ), así como con la clorofila *a in vivo* ( $R^2= 0.92$ ), en contraste con las relaciones usualmente observadas, motivo por el cual se han centrado algunas investigaciones (Canfield *et al.* 1985; Canfield *et al.* 2019; Felip y Catalan, 2000; Kasprzak *et al.* 2008). El buen grado de ajuste lineal del biovolumen con la concentración de la clorofila *a in vivo* y por extracción, refleja la consistencia de los resultados obtenidos a pesar del amplio rango de concentración. A nivel general, en el conjunto de embalses la clorofila *a* se encontró principalmente asociada al biovolumen de los grupos Chlorophyta y Cyanobacteria (Spearman  $r_s = 0.75$ , y Spearman  $r_s = 0.71$ , respectivamente), lo cual puede explicarse por las altas biomásas desarrolladas por estos grupos frente al resto de la comunidad de fitoplancton.

En las comparaciones específicas de biovolumen por grupos (para biovolumen >0 mm<sup>3</sup>/L) respecto a la clorofila *a*, Chlorophyta y Cyanobacteria presentaron la mayor correlación con el pigmento ( $R^2= 0.78$ , y  $R^2 = 0.72$ , respectivamente). Sin embargo, los grupos Euglenophyta, Bacillariophyta, y Cryptophyta, también presentaron una relación significativa con la clorofila *a*, aunque, mostrando un menor grado de asociación con este pigmento. Se destaca que el biovolumen de Dinophyta no presentó una relación lineal con la clorofila, posiblemente debido a su condición mixotrófica, aunque su baja presencia (número *n* en la regresión) no permite realizar aseveraciones concluyentes. Las diferencias observadas en las relaciones entre el biovolumen y la clorofila, son esperables, debido a que la cantidad de clorofila celular varía en las especies, y depende de respuestas fisiológicas por cambios ambientales (Fietz y Nicklisch 2002; Kasprzak *et al.* 2008). En este sentido, el cociente clorofila *a*/biovolumen más bajo en Cyanobacteria y Dinophyta podría estar asociado al tamaño de los organismos (volumen) y a la magnitud de las biomásas de fitoplancton desarrolladas. Cabe destacar, que el cociente observado en Cyanobacteria presentó un valor medio

cercano al cociente clorofila *a*/biovolumen utilizado en los niveles guía y de alerta de la propuesta de la OMS ( $2.19 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  versus  $3 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) (Chorus y Welker 2021). La disminución del cociente clorofila *a*/biovolumen en función del incremento de la biomasa de fitoplancton ( $R^2=0.57$ ), es una tendencia que ya ha sido observada en otros estudios (Canfield *et al.* 2019; Felip y Catalan 2000; Kasprzak *et al.* 2008). Es decir, a menor biomasa de fitoplancton se observó mayor clorofila por biovolumen, y de forma contraria, a grandes biomásas, menor clorofila por biovolumen. Este cambio en las proporciones clorofila *a*/biovolumen podría deberse a sesgos metodológicos, por ejemplo, debido a la complejidad de cuantificar en el microscopio al picofitoplancton, que igualmente aporta clorofila a la comunidad (Padisák *et al.* 1997), y/o a respuestas fisiológicas por cambios ambientales que impliquen variaciones en la cantidad de clorofila celular (Kasprzak *et al.* 2008). Estos patrones observados pueden ser relevantes en la definición de relaciones entre indicadores de fitoplancton, por lo que merecen mayor investigación.

#### Medición de reflectancias por Hydrocolor en embalses turbios

El modelo de regresión lineal entre la turbidez medida por sonda multiparamétrica y la turbidez calculada por reflectancias de la aplicación Hydrocolor presentó un bajo  $R^2 = 0.25$  (rango:  $0.0 - 80 \pm 36$  NTU). A pesar de que en esta investigación se encontró una relación lineal positiva para esta variable, los resultados no fueron tan concordantes como relaciones encontradas en otros estudios donde han observado correlaciones más altas, en particular en ambientes costeros (Gallagher y Chuan 2018; Leeuw y Boss 2018). Sin embargo, cabe destacar que en ambientes acuáticos continentales (en lagos y ríos) se observó un desempeño por parte de Hydrocolor similar al presente estudio ( $R^2= 0.41$ ), producto de una mayor dispersión en las mediciones de reflectancias en el canal rojo (Rrs R), lo que afecta directamente a las mediciones de turbidez (Malthus *et al.* 2020). En las comparaciones por rangos de turbidez, Hydrocolor presentó un desempeño moderado, con un porcentaje de error de clasificación del 27.7%. A pesar de las tendencias a la sobreestimación de turbidez, estos resultados evidencian su capacidad potencial para diferenciar

condiciones de alta/baja turbidez en este tipo de ambientes (umbral = 50 NTU). Por otro lado, la materia orgánica disuelta coloreada presentó una mejor relación lineal con el cociente de reflectancias R/B, que en las reflectancias R/G ( $R^2 = 0.26$  versus  $R^2 = 0.09$ , respectivamente), como previamente ha sido observado (Goddijn y White 2006; Hogue et al. 2012).

El biovolumen de fitoplancton y la clorofila *a* por extracción presentaron una relación lineal significativa con el cociente de las reflectancias B/G ( $R^2 = 0.41$ ,  $R^2 = 0.45$ , respectivamente). A pesar de que estas relaciones concuerdan con las encontradas por Deus Álvarez (2015), en este caso, no se observó una relación significativa entre el fitoplancton (clorofila y biovolumen) y el cociente de reflectancias R/G. La relación significativa de las reflectancias en las bandas B/G, es esperable dado que estas relaciones son comúnmente utilizadas para las mediciones de clorofila *a* en el agua (Goddijn y White 2006; Goddijn-Murphy et al. 2009). Las reflectancias en las bandas B/G lograron discriminar entre niveles guías y de alerta de la OMS (umbral de 24  $\mu\text{g}$  de clorofila *a*/L, nivel 2 de alerta para uso recreativo), aunque, no se pudo diferenciar entre grupos de fitoplancton. Es decir, Cyanobacteria presentó diferencias significativas en sus valores medios de reflectancias B/G con grupos productores de menores biomásas (Cryptophyta, Bacillariophyta), pero no así con Chlorophyta o Dinophyta que también generaron elevadas biomásas.

La clorofila *a* calculada a partir de las reflectancias en las bandas B/G presentó una baja correlación positiva con la clorofila *a* por extracción ( $R^2$  de 0.44) y falta de normalidad en los residuales de la relación (Goddijn-Murphy et al. 2009). Respecto a la clasificación por rangos en niveles guías de la OMS (Chorus y Welker 2021), la clorofila *a* estimada por las reflectancias presentó diferencias significativas respecto a las clasificaciones realizadas con la clorofila *a* por extracción. Las tendencias observadas a la subestimación de la clorofila *a* mediante el cálculo basado en las reflectancias (Goddijn-Murphy et al. 2009), indicarían un desempeño inadecuado por parte de este método para la atenuación de las consecuencias de las floraciones de fitoplancton, en particular de las cianobacterias (Chorus 2012). De acuerdo a los modelos lineales realizados, la clorofila *a* calculada con las reflectancias B/G no adicionó una mejora predictiva al uso directo del cociente de las reflectancias B/G. Por lo tanto,

por el principio de parsimonia y por haber obtenido mejores resultados en la clasificación en niveles de alerta de la OMS, en este caso resultó más adecuado el uso directo de las reflectancias B/G sin el cálculo de la clorofila (Goddijn-Murphy *et al.* 2009).

El aumento de la capacidad explicativa de la variabilidad de la clorofila *a* por extracción al incorporar a los sólidos totales en suspensión en el modelo múltiple (Tabla IX), sugiere que esta variable compensó parte de la biomasa de fitoplancton no estimada por las reflectancias. En contraste, la materia orgánica disuelta coloreada finalmente no fue incorporada en ningún modelo dado que presentó una baja significancia. Estos resultados indican que en este caso, los sólidos totales en suspensión y la materia orgánica disuelta coloreada no interfirieron en las estimaciones de clorofila *a*.

Algunos de los factores determinantes que puedan explicar las bajas relaciones encontradas en esta tesis, posiblemente se relacionen a las condiciones de mayor complejidad óptica que caracterizan a los embalses agropecuarios, en contraste a los ambientes costeros marinos de mayor transparencia de agua donde Leeuw y Boss (2018) y Gallagher y Chuan (2018) probaron Hydrocolor. Por ejemplo, en un estudio en lagos y ríos de Australia, en los que se incluyeron cuerpos de agua turbios, también se encontró un bajo desempeño en las mediciones de turbidez por Hydrocolor, y no lograron establecer relaciones para la estimación de clorofila *a* y materia orgánica disuelta coloreada (Malthus *et al.* 2020). En la presente investigación, Hydrocolor se utilizó en condiciones ambientales con elevadas biomásas de fitoplancton y alta concentración de sustancias orgánicas e inorgánicas en suspensión. En este sentido, las condiciones de muestreo pueden no haber sido las ideales (ejemplo cielo nublado), y las dificultades de operación para la captura limpia de imágenes son complejas de implementar en embalses poco profundos ubicados en zonas remotas, con conexión de internet limitada. El uso de la aplicación desde la orilla, y el efecto de los cambios de nubosidad, con la consecuente variación de luminosidad en la secuencia de imágenes, pueden haber afectado las mediciones de las reflectancias, como se ha observado en otros trabajos (Malthus *et al.* 2020; Yang *et al.* 2018). Un estudio participativo en aguas marinas costeras de Canadá con un número elevado de muestras ( $n= 1270$ ), determinó

que las condiciones ambientales durante el uso de la aplicación (hora del día, nubosidad, espuma en superficie del agua) pueden tener efectos significativos en las mediciones de reflectancias (Yang *et al.* 2018). Además de estos aspectos mencionados, debe destacarse que en otras investigaciones se han detectado errores (no determinados) en las mediciones de Hydrocolor en las reflectancias en la banda azul (Rrs B) (Malthus *et al.* 2020; Yang *et al.* 2018), por lo que también es un aspecto a considerar que merece mayor investigación.

## Discusión general

La presente investigación contribuye a la comprensión de la dinámica del fitoplancton en la cuenca del Río Santa Lucía, en particular en embalses pequeños y medianos de los que se desconocía su estado trófico, biomasa fitoplanctónica y presencia de organismos nocivos. Se observó una diversa presencia de organismos generadores de floraciones fitoplanctónicas, destacándose cianobacterias potencialmente tóxicas (*Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Dolichospermum*, *Merismopedia*, *Planktothrix*, *Pseudanabaena*, y *Raphidiopsis*) (Chorus y Bartram 1999; Bernard *et al.* 2017), clorofitas coloniales, y dinoflagelados exóticos invasores (*Ceratium furcoides*) (Pacheco *et al.* 2021). Los embalses agropecuarios fueron productores de elevadas biomásas de fitoplancton, el cual puede ser transportado hacia el Río Santa Lucía (curso principal) y llegar a la planta potabilizadora de OSE en Aguas Corrientes. Este impacto potencial de múltiples embalses eutróficos con floraciones de cianobacterias sobre el Río Santa Lucía fue propuesto por Somma *et al.* (2022) al identificar el aumento del biovolumen de cianobacterias en la planta potabilizadora de Aguas Corrientes, posterior a eventos de precipitaciones. Por lo tanto, este trabajo permitió profundizar en el conocimiento del origen de las biomásas de cianobacterias en el Río Santa Lucía para orientar los esfuerzos de mitigación de la eutrofización y del aporte de organismos nocivos.

Las cianobacterias estuvieron asociadas a condiciones enriquecidas de nutrientes, encontrándose al nitrógeno total como la principal variable limnológica que explicó la ocurrencia de floraciones de cianobacterias en un escenario de concentraciones elevadas de fósforo total. La presencia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno, las concentraciones de fósforo total y las bajas proporciones de nitrógeno total/fósforo total observadas en el conjunto de embalses, concuerdan con ambientes acuáticos limitados por la disponibilidad de nitrógeno. Las condiciones hipereutróficas de fósforo total presentes en todos los embalses, impiden su evaluación en condiciones limitantes del nutriente y evidencian el grado de contaminación antrópica de la cuenca (Aubriot *et al.* 2017; Chalar *et al.* 2017). Si bien los umbrales de nutrientes encontrados fueron fundamentales para la comprensión de las floraciones de fitoplancton, deben considerarse con cautela, especialmente debido a las altas concentraciones de

nutrientes observadas. Los resultados de esta tesis respecto a la relación diferencial de nutrientes y de fitoplancton en función de la ubicación geográfica de los embalses, podría sugerir la necesidad de implementar medidas de gestión específicas por subcuencas, que aborden la disponibilidad espacial de los nutrientes como se han enfocado otros estudios (Tromboni *et al.* 2023).

En la presente investigación, se lograron evaluar metodologías alternativas para el monitoreo de fitoplancton, obteniendo resultados diversos. La fluorescencia *in vivo* demostró ser un método adecuado bajo los estándares de los niveles guía y de alerta de la OMS, aun en condiciones de elevada turbidez (Chorus y Welker 2021; Cremella *et al.* 2018). Por otra parte, el mejor desempeño de las reflectancias de Hydrocolor para la estimación de fitoplancton se observó con el uso directo de las reflectancias en las bandas B/G, logrando discriminar niveles de alerta de la OMS (nivel 1 y nivel 2, para uso recreativo). Sin embargo, el cociente de reflectancias B/G no permitió distinguir entre los grupos Cyanobacteria, Dinophyta y Chlorophyta, posiblemente debido a que las diferencias observadas de los valores de reflectancias B/G y los grupos de fitoplancton están mayormente relacionadas a diferencias de biomasa. El aumento de la capacidad explicativa de la variabilidad de la clorofila *a* al incorporar a los sólidos totales en suspensión de forma conjunta a las reflectancias B/G en un modelo lineal múltiple, indica que una gran proporción de la biomasa de fitoplancton no fue estimada por Hydrocolor. En este sentido, los sólidos totales en suspensión y la materia orgánica disuelta coloreada no interfirieron significativamente en las estimaciones de clorofila *a*. Las dificultades de operación para la captura limpia de imágenes en cuerpos de agua turbios y poco profundos, así como los requerimientos ambientales para el uso de Hydrocolor, podrían haber limitado el desempeño de las mediciones de las reflectancias. Si bien las aplicaciones del tipo de Hydrocolor presentan un gran potencial, serán fundamentales las investigaciones que prueben el desempeño de este tipo de herramientas ante floraciones de fitoplancton de diferentes especies y en condiciones ópticas variadas (Malthus *et al.* 2020; Yang *et al.* 2018). Finalmente, de acuerdo a los resultados de esta tesis, se requerirá avanzar en técnicas de monitoreo de cianobacterias y de fitoplancton en general en embalses agropecuarios, de modo que permitan la implementación de alertas

tempranas y faciliten la toma de medidas de gestión frente a la generación de floraciones algales nocivas.

### Conclusiones y perspectivas

En esta tesis se pudo caracterizar el estado trófico y la comunidad de fitoplancton de un gran número de embalses productivos de los que se carecía de información. Además, se lograron evaluar metodologías alternativas para el monitoreo de fitoplancton, obteniendo resultados diversos. A continuación se detallan los principales resultados y consideraciones finales de la presente tesis;

- Los embalses presentaron condiciones hipereutróficas de nutrientes y fueron productores de elevadas biomásas de fitoplancton, en particular de cianobacterias potencialmente tóxicas. Los embalses agropecuarios son ambientes propensos a sufrir los síntomas de la eutrofización. Por lo tanto, estos sistemas acuáticos pueden ser considerados como centinelas del impacto ambiental que tienen las actividades agropecuarias en el territorio y ser seleccionados e incluidos en planes de monitoreo de calidad de agua.

- Se destaca la importancia del nitrógeno total, como una variable explicativa fundamental de la ocurrencia de las floraciones de cianobacterias en embalses agropecuarios de la cuenca del Río Santa Lucía. Asimismo, se manifiesta la relevancia de considerar la heterogeneidad espacial de la disponibilidad de nutrientes, aspecto relevante a considerar en las medidas de gestión.

- La fluorescencia *in vivo* como método para estimar clorofila en embalses turbios presentó un muy buen desempeño para su utilización en los niveles de alerta de la OMS. Este buen desempeño contrasta con su alto costo (para un empleo extendido) y la necesidad de su uso por técnicos capacitados, lo que puede limitar su aplicación en el monitoreo ciudadano.

- El uso de reflectancias de Hydrocolor presentó resultados prometedores, en particular en el cociente de las bandas B/G, y es un método de gran potencial dado el uso extendido de teléfonos celulares. Sin embargo, el mismo cuenta con

limitaciones operativas que pueden dificultar su utilización en embalses productivos.

- Finalmente, en el contexto actual de un aumento del número de embalses agropecuarios, es fundamental la implementación de sistemas de monitoreo de calidad de agua y fitoplancton, que permitan la identificación de zonas de alto riesgo y la toma de acciones tempranas. Mejorar el conocimiento de los factores que inciden en la ocurrencia de las floraciones algales y comprender su vínculo con los usos productivos de la cuenca, será clave para implementar medidas que busquen reducir los riesgos de eutrofización en embalses de zonas rurales.

## Bibliografía

Abell, J. M., Özkundakci, D., Hamilton, D. P., & Miller, S. D. (2011). Relationships between land use and nitrogen and phosphorus in New Zealand lakes. *Marine and Freshwater Research*, 62(2), 162-175.

Alcántara, I., Somma, A., Chalar, G., Fabre, A., Segura, A., Achkar, M., ... & García-Rodríguez, F. (2022). A reply to "Relevant factors in the eutrophication of the Uruguay River and the Río Negro". *Science of the Total Environment*, 818, 151854.

Allende, L., Tell, G., Zagarese, H., Torremorell, A., Pérez, G., Bustingorry, J., ... & Izaguirre, I. (2009). Phytoplankton and primary production in clear-vegetated, inorganic-turbid, and algal-turbid shallow lakes from the pampa plain (Argentina). *Hydrobiologia*, 624, 45-60.

Aguilera, A., Gómez, E. B., Kaštovský, J., Echenique, R. O., & Salerno, G. L. (2018). The polyphasic analysis of two native *Raphidiopsis* isolates supports the unification of the genera *Raphidiopsis* and *Cylindrospermopsis* (Nostocales, Cyanobacteria). *Phycologia*, 57(2), 130-146.

Aguilera, A., Aubriot, L., Echenique, R. O., Donadelli, J. L., & Salerno, G. L. (2019). *Raphidiopsis mediterranea* (Nostocales) exhibits a flexible growth strategy under light and nutrient fluctuations in contrast to *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales). *Hydrobiologia*, 839, 145-157.

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

Arocena, R., Chalar, G., Fabián, D., de León, L., Brugnoli, E., Silva, M., et al. (2008). Evaluación ecológica de cursos de agua y biomonitoreo. ((Informe Final) ed.). Montevideo: MVOTMA -DINAMA, Universidad de la República-Facultad de Ciencias.

Aubriot, L., Delbene, L., Haakonsson, S., Somma, A., Hirsch, F., & Bonilla, S. (2017). Evolución de la eutrofización en el Río Santa Lucía: influencia de la intensificación productiva y perspectivas. *INNOTEC*, 07-16, doi:10.26461/14.04.

Aubriot, L., & Bonilla, S. (2018). Regulation of phosphate uptake reveals cyanobacterial bloom resilience to shifting N: P ratios. *Freshwater biology*, 63(3), 318-329.

Auer, M. T., Kieser, M. S., & Canale, R. P. (1986). Identification of critical nutrient levels through field verification of models for phosphorus and phytoplankton growth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43(2), 379-388.

Baker, M. E., & King, R. S. (2010). A new method for detecting and interpreting biodiversity and ecological community thresholds. *Methods in Ecology and Evolution*, 1(1), 25-37.

- Baker, M. E., & King, R. S. (2013). Of TITAN and straw men: an appeal for greater understanding of community data. *Freshwater Science*, 32(2), 489-506.
- Barreiro, M., Arizmendi, F., & Trinchin, R. (2019). Variabilidad observada del clima en Uruguay. *Producto realizado en el marco del Plan Nacional de Adaptación Costera y el Plan Nacional de Adaptación en Ciudades, Convenio MVOTMA–Facultad de Ciencias*, 52.
- Bergström, A. K. (2010). The use of TN: TP and DIN: TP ratios as indicators for phytoplankton nutrient limitation in oligotrophic lakes affected by N deposition. *Aquatic Sciences*, 72, 277-281.
- Bernard, C., Ballot, A., Thomazeau, S., Maloufi, S., Furey, A., Mankiewicz-Boczek, J., et al. (2017). Appendix 2: Cyanobacteria associated with the production of cyanotoxins. In J. Meriluoto, L. Spoof, & G. A. Codd (Eds.), *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*: John Wiley & Sons, Ltd.
- Bilotta, G. S., & Brazier, R. E. (2008). Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. *Water research*, 42(12), 2849-2861.
- Bonilla, S., Aubriot, L., Soares, M. C. S., Gonzalez-Piana, M., Fabre, A., Huszar, V. L., ... & Kruk, C. (2012). What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *P. lanktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*?. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(3), 594-607.
- Bonilla, S., Haakonsson, S., Somma, A., Gravier, A., Britos, A., Vidal, L., et al. (2015). Cianobacterias y cianotoxinas en ecosistemas límnicos de Uruguay. *INNOTECH*, 10, 9 - 22.
- Bonilla, S., Aguilera, A., Aubriot, L., Huszar, V., Almanza, V., Haakonsson, S., ... & Antoniades, D. (2023). Nutrients and not temperature are the key drivers for cyanobacterial biomass in the Americas. *Harmful Algae*, 121, 102367.
- Bowers, D.G., Harker, G.E.L., Smith, P.S.D., Tett, P. (2000). Optical properties of a region of freshwater influence (the Clyde Sea). *Est. Coast. Shelf Sci.* 50, 717-726. 13.
- Canfield Jr, D. E., Linda, S. B., & Hodgson, L. M. (1985). CHLOROPHYLL-BIOMASS-NUTRIENT RELATIONSHIPS FOR NATURAL ASSEMBLAGES OF FLORIDA PHYTOPLANKTON 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 21(3), 381-391.
- Canfield Jr, D. E., Bachmann, R. W., Hoyer, M. V., Johansson, L. S., Søndergaard, M., & Jeppesen, E. (2019). To measure chlorophyll or phytoplankton biovolume: an aquatic conundrum with implications for the management of lakes. *Lake and Reservoir Management*, 35(2), 181-192.

Carlson, R. E. (1977). A trophic state index for lakes 1. *Limnology and oceanography*, 22(2), 361-369.

CARU. (2014). Guía operativa para muestreo. Programas de vigilancia y estado trófico.

Catherine, A., Escoffier, N., Belhocine, A., Nasri, A. B., Hamlaoui, S., Yéprémian, C., ... & Troussellier, M. (2012). On the use of the FluoroProbe®, a phytoplankton quantification method based on fluorescence excitation spectra for large-scale surveys of lakes and reservoirs. *water research*, 46(6), 1771-1784.

Chalar, G., Garcia-Pesenti, P., Silva-Pablo, M., Perdomo, C., Olivero, V., & Arocena, R. (2017). Weighting the impacts to stream water quality in small basins devoted to forage crops, dairy and beef cow production. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 65, 76-84, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.limno.2017.06.002>.

Chegoonian, A. M., Zolfaghari, K., Leavitt, P. R., Baulch, H. M., & Duguay, C. R. (2022). Improvement of field fluorometry estimates of chlorophyll a concentration in a cyanobacteria-rich eutrophic lake. *Limnology and Oceanography: Methods*, 20(4), 193-209.

Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: World Health Organization.

Chorus, I. (2012). Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries, 63-2012. *Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt), Germany, Dessau*.

Chorus, I., & Welker, M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management* (p. 858). Taylor & Francis.

Cremella, B., Huot, Y., & Bonilla, S. (2018). Interpretation of total phytoplankton and cyanobacteria fluorescence from cross-calibrated fluorometers, including sensitivity to turbidity and colored dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography: Methods*, 16(12), 881-894.

Crisci, C., Terra, R., Pacheco, J. P., Ghattas, B., Bidegain, M., Goyenola, G., ... & Mazzeo, N. (2017). Multi-model approach to predict phytoplankton biomass and composition dynamics in a eutrophic shallow lake governed by extreme meteorological events. *Ecological Modelling*, 360, 80-93.

Cunha, D. G. F., do Carmo Calijuri, M., & Lamparelli, M. C. (2013). A trophic state index for tropical/subtropical reservoirs (TSIts). *Ecological Engineering*, 60, 126-134.

- Darré, E., Llanos, E., Astigarraga, L., Cadenazzi, M., & Picasso, V. (2020). Do pasture-based mixed dairy systems with higher milk production have lower environmental impacts? A Uruguayan case study. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 1-19.
- Dávalos, L., Lind, O. T., & Doyle, R. D. (1989). Evaluation of Phytoplankton–Limiting Factors in Lake Chapala, México: Turbidity and the Spatial and Temporal Variation in Algal Assay Response. *Lake and Reservoir Management*, 5(2), 99-104.
- Deus Álvarez, S. (2015). Caracterización morfológica, genética y óptica de floraciones tóxicas y no tóxicas del Complejo *Microcystis aeruginosa*. Tesis de Doctorado, Pedeciba. Uruguay.
- DINAMA-JICA. (2011). Proyecto sobre control de contaminación y calidad de agua en la cuenca del Río Santa Lucía. Informe final del proyecto. Montevideo: DINAMA.
- Dodds, W. K., Jones, J. R., & Welch, E. B. (1998). Suggested classification of stream trophic state: distributions of temperate stream types by chlorophyll, total nitrogen, and phosphorus. *Water research*, 32(5), 1455-1462.
- Dodds, W. K. (2007). Trophic state, eutrophication and nutrient criteria in streams. *Trends in ecology & evolution*, 22(12), 669-676.
- Dreher, T. W., Collart, L. P., Mueller, R. S., Halsey, K. H., Bildfell, R. J., Schreder, P., et al. (2018). *Anabaena/Dolichospermum* as the source of lethal microcystin levels responsible for a large cattle toxicosis event. *Toxicon: X*, 100003, doi:<https://doi.org/10.1016/j.toxcx.2018.100003>.
- Dzialowski, A. R., Smith, V. H., Wang, S. H., Martin, M. C., & Jr, F. D. (2011). Effects of non-algal turbidity on cyanobacterial biomass in seven turbid Kansas reservoirs. *Lake and Reservoir Management*, 27(1), 6-14.
- Felip, M., & Catalan, J. (2000). The relationship between phytoplankton biovolume and chlorophyll in a deep oligotrophic lake: decoupling in their spatial and temporal maxima. *Journal of Plankton Research*, 22(1), 91-106.
- Ferreira, R. D., Barbosa, C. C. F., & Novo, E. M. L. D. M. (2012). Assessment of in vivo fluorescence method for chlorophyll-a estimation in optically complex waters (Curuai floodplain, Pará-Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, 24, 373-386.
- Fietz, S., & Nicklisch, A. (2002). Acclimation of the diatom *Stephanodiscus neoastraea* and the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* to simulated natural light fluctuations. *Photosynthesis Research*, 72, 95-106.

- Flores, E., & Herrero, A. (1994). Assimilatory nitrogen metabolism and its regulation. In *The molecular biology of cyanobacteria* (pp. 487-517). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Flores, E., Frías, J. E., Rubio, L. M., & Herrero, A. (2005). Photosynthetic nitrate assimilation in cyanobacteria. *Photosynthesis Research*, 83, 117-133.
- Frederick J.A., Schelske C.L., Carrick H.J. (1993). Nutrient limitation in a hypereutrophic Florida lake. *Arch. Hydrobiol.*127, 21–37.
- Gallagher, J. B., & Chuan, C. H. (2018). Chlorophyll a and Turbidity Distributions: Applicability of Using a Smartphone “App” Across Two Contrasting Bays. *Journal of Coastal Research*, 34(5), 1236-1243.
- Gilerson, A., Zhou, J., Hlaing, S., Ioannou, I., Schalles, J., Gross, B.,... & Ahmed, S. (2007). Fluorescence component in the reflectance spectra from coastal waters. Dependence on water composition. *Optics Express*, 15(24), 15702-15721.
- Glibert, P. M., Maranger, R., Sobota, D. J., & Bouwman, L. (2014). The Haber Bosch–harmful algal bloom (HB–HAB) link. *Environmental Research Letters*, 9(10), 105001.
- Goddijn, L. M., & White, M. (2006). Using a digital camera for water quality measurements in Galway Bay. *Estuarine, coastal and shelf science*, 66(3-4), 429-436.
- Goddijn-Murphy, L., Dailloux, D., White, M., & Bowers, D. (2009). Fundamentals of in situ digital camera methodology for water quality monitoring of coast and ocean. *Sensors*, 9(7), 5825-5843.
- González-Madina, L., Pacheco, J. P., Yema, L., de Tezanos, P., Levrini, P., Clemente, J., ... & Mazzeo, N. (2019). Drivers of cyanobacteria dominance, composition and nitrogen fixing behavior in a shallow lake with alternative regimes in time and space, Laguna del Sauce (Maldonado, Uruguay). *Hydrobiologia*, 829, 61-76.
- González-Madina, L., Levrini, P., de Tezanos Pinto, P., Burwood, M., Crisci, C., Cardozo, A., ... & Mazzeo, N. (2022). Blooms of toxic *Raphidiopsis raciborskii* in Laguna del Sauce (Uruguay): environmental drivers and impacts. *Hydrobiologia*, 1-18.
- Gotham, I. J., & Rhee, G. Y. (1981). Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous culture 1. *Journal of Phycology*, 17(3), 257-265.
- Goyenola, G., Kruk, C., Mazzeo, N., Nario, A., Perdomo, C., Piccini, C., & Meerhoff, M. (2021). Producción, nutrientes, eutrofización y cianobacterias en Uruguay armando el rompecabezas. *Innotec*, 22(2021).

- Gregor, J., Geriš, R., Maršálek, B., Heteša, J., & Marvan, P. (2005). In situ quantification of phytoplankton in reservoirs using a submersible spectrofluorometer. *Hydrobiologia*, 548, 141-151.
- Han, Y., Aziz, T. N., Del Giudice, D., Hall, N. S., & Obenour, D. R. (2020). Exploring nutrient and light limitation of algal production in a shallow turbid reservoir. *Environmental Pollution*, 116210.
- Havens, K. E., James, R. T., East, T. L., & Smith, V. H. (2003). N: P ratios, light limitation, and cyanobacterial dominance in a subtropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. *Environmental Pollution*, 122(3), 379-390.
- Hillebrand, H., Dürselen, C., Kirschtel, D., Zohary, T., & Pollinger, U. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35, 403–424.
- Hoguane, A. M., Green, C. L., Bowers, D. G., & Nordez, S. (2012). A note on using a digital camera to measure suspended sediment load in Maputo Bay, Mozambique. *Remote sensing letters*, 3(3), 259-266.
- Horn, H., & Horn, W. (2000). Sedimentation—the main loss factor in waters dominated by diatoms. Results of long-term investigations. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, 85(2-3), 191-208.
- Hötzel, G., & Croome, R. (1999). A phytoplankton methods manual for Australian freshwaters.
- Huisman, J., & Hulot, F. (2005). Population Dynamics of Harmful Cyanobacteria. In J. Huisman, H. Matthijs, & P. Visser (Eds.), *Harmful Cyanobacteria* (Vol. 3, pp. 143-176, Aquatic Ecology Series): Springer Netherlands.
- Izydorczyk, K., Carpentier, C., Mrówczyński, J., Wagenvoort, A., Jurczak, T., & Tarczyńska, M. (2009). Establishment of an Alert Level Framework for cyanobacteria in drinking water resources by using the Algae Online Analyser for monitoring cyanobacterial chlorophyll a. *Water Research*, 43(4), 989-996.
- Javornický, P. (2003). Taxonomic notes on some freshwater planktonic Cryptophyceae based on light microscopy. In *Phytoplankton and Equilibrium Concept: The Ecology of Steady-State Assemblages: Proceedings of the 13th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP), held in Castelbuono, Italy, 1–8 September 2002* (pp. 271-283). Springer Netherlands.
- Jeje, Y. (2006). Export coefficients for total phosphorus, total nitrogen and total suspended solids in the southern Alberta region. *A Review of Literature. Her Majesty the Queen in right of the Province of Alberta*.

- Jones, R. I. (2000). Mixotrophy in planktonic protists: an overview. *Freshwater biology*, 45(2), 219-226.
- Karl, D., Michaels, A., Bergman, B., Capone, D., Carpenter, E., Letelier, R., ... & Stal, L. (2002). Dinitrogen fixation in the world's oceans. In *The nitrogen cycle at regional to global scales* (pp. 47-98). Springer, Dordrecht.
- Kasprzak, P., Padisák, J., Koschel, R., Krienitz, L., & Gervais, F. (2008). Chlorophyll a concentration across a trophic gradient of lakes: An estimator of phytoplankton biomass?. *Limnologica*, 38(3-4), 327-338.
- King, R. S., & Baker, M. E. (2014). Use, misuse, and limitations of Threshold Indicator Taxa Analysis (TITAN) for natural resource management. *Application of threshold concepts in natural resource decision making*, 231-254.
- Komárek, J. (1983). Contribution to the chlorococcal algae of Cuba. *Nova Hedwigia: Zeitschrift fur Kryptogamenkunde*.
- Komárek, J., Kaštovský, J., Mareš, J., & Johansen, J. R. (2014). Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia*, 86(4), 295-335.
- Lamparelli, M. C. (2004). *Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Leeuw, T., & Boss, E. (2018). The HydroColor app: Above water measurements of remote sensing reflectance and turbidity using a smartphone camera. *Sensors*, 18(1), 256.
- Lewis Jr, W. M., & Wurtsbaugh, W. A. (2008). Control of lacustrine phytoplankton by nutrients: erosion of the phosphorus paradigm. *International Review of Hydrobiology*, 93(4-5), 446-465.
- Logan, M. (2010). *Biostatistical design and analysis using R: a practical guide*. John Wiley & Sons.
- Maberly, S. C., Pitt, J. A., Davies, P. S., & Carvalho, L. (2020). Nitrogen and phosphorus limitation and the management of small productive lakes. *Inland Waters*, 10(2), 159-172.
- Malthus, T. J., Ohmsen, R., & Woerd, H. J. V. D. (2020). An evaluation of citizen science smartphone apps for inland water quality assessment. *Remote Sensing*, 12(10), 1578.
- Matthews, R., Hilles, M., & Pelletier, G. (2002). Determining trophic state in Lake Whatcom, Washington (USA), a soft water lake exhibiting seasonal nitrogen limitation. *Hydrobiologia*, 468, 107-121.

- McFarland, A. M., & Hauck, L. M. (2001). Determining nutrient export coefficients and source loading uncertainty using in-stream monitoring data 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 37(1), 223-236.
- Michalak, A. M., Anderson, E. J., Beletsky, D., Boland, S., Bosch, N. S., Bridgeman, T. B., ... & DePinto, J. V. (2013). Record-setting algal bloom in Lake Erie caused by agricultural and meteorological trends consistent with expected future conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(16), 6448-6452.
- Millie, D., Schofield, O., Kirkpatrick, G., Johnsen, G., & Evens, T. (2002). Using absorbance and fluorescence spectra to discriminate microalgae. *European Journal of Phycology*, 37(3), 313-322.
- Mobley, C. D. (1999). Estimation of the remote-sensing reflectance from above-surface measurements. *Applied optics*, 38(36), 7442-7455.
- Munawar, M. (1972). Ecological studies of Euglenineae in certain polluted and unpolluted environments. *Hydrobiologia*, 39, 307-320.
- MVOTMA. (2013). Plan de acción para la protección del agua en la cuenca del Santa Lucía. MVOTMA (Ed.). Montevideo: Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.
- MVOTMA. (2016). Atlas de la Cuenca del Río Santa Lucía. Ministerio de vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Montevideo.
- MVOTMA. (2017). Plan Nacional de Aguas. MVOTMA (Ed.). Montevideo: Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente.
- MVOTMA. 2018. Plan de acción para la protección ambiental de la calidad ambiental de la cuenca del Río Santa Lucía. Medidas de Segunda Generación. Gabinete Nacional Ambiental – Sistema Nacional Ambiental.
- Nusch, E. (1980). Comparisons of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archiv für Hydrobiologie Ergebnisse der Limnologie*, 14, 14–36.
- Olano, H., Martigani, F., Somma, A., & Aubriot, L. (2019). Wastewater discharge with phytoplankton may favor cyanobacterial development in the main drinking water supply river in Uruguay. *Environmental monitoring and assessment*, 191(3), 146.
- Osmond, D. L., Shoher, A. L., Sharpley, A. N., Duncan, E. W., & Hoag, D. L. K. (2019). Increasing the effectiveness and adoption of agricultural phosphorus management strategies to minimize water quality impairment. *Journal of environmental quality*, 48(5), 1204-1217.
- Ouma, Y. O., Waga, J., Okech, M., Lavisa, O., & Mbuthia, D. (2018). Estimation of reservoir bio-optical water quality parameters using smartphone sensor apps

and Landsat ETM+: review and comparative experimental results. *Journal of Sensors*, 2018.

Pacheco, J. P., Iglesias Frizzera, C., Goyenola, G., Teixeira de-Mello, F., Fosalba, C., Baattrup-Pedersen, A., ... & Jeppesen, E. (2021). Invasion of *Ceratium furcoides* in subtropical lakes in Uruguay: Environmental drivers and fish kill record during its bloom. *Biological Invasions*, 23(11), 3597-3612.

Padisák, J., Krienitz, L., Koschel, R., & Nedoma, J. (1997). Deep-layer autotrophic picoplankton maximum in the oligotrophic Lake Stechlin, Germany: origin, activity, development and erosion. *European Journal of Phycology*, 32(4), 403-416.

Padisák, J., Crossetti, L. O., & Naselli-Flores, L. (2009). Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621, 1-19.

Paerl, H. W., Fulton, R. S., Moisander, P. H., & Dyble, J. (2001). Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *The Scientific World Journal*, 1, 76-113.

Paerl, H. W., & Huisman, J. (2008). Blooms like it hot. *Science*, 320(5872), 57-58.

Paerl, H. W., Havens, K. E., Xu, H., Zhu, G., McCarthy, M. J., Newell, S. E., ... & Qin, B. (2019). Mitigating eutrophication and toxic cyanobacterial blooms in large lakes: The evolution of a dual nutrient (N and P) reduction paradigm. *Hydrobiologia*, 1-17.

Reid, K., Schneider, K., & Joosse, P. (2019). Addressing imbalances in phosphorus accumulation in Canadian agricultural soils. *Journal of Environmental Quality*, 48(5), 1156-1166.

Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., & Melo, S. (2002). Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of plankton research*, 24(5), 417-428.

Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.

Rheinheimer, D.S., R., Schaefer, G. L., Pellegrini, A., Alvarez, J. W. R., Caner, L., & Bortoluzzi, E. C. (2020). Weirs control phosphorus transfer in agricultural watersheds. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231, 1-16.

Risso, J., Sienra, D., D'Alessandro, B., & Echezarreta, M.E. (2018). Programa de monitoreo de agua de playas y costa del departamento de Montevideo. 2018. En: Informe Anual Abril Marzo (Ed.). Intendencia de Montevideo. Servicio de Evaluación de Calidad y Control Ambiental Departamento de Desarrollo Ambiental, Montevideo, p.

68. <https://montevideo.gub.uy/sites/default/files/biblioteca/informeannualcalidaddeaguadelacosta-2017-2018.pdf>

Schagerl, M., & Künzl, G. (2007). Chlorophyll a extraction from freshwater algae—a reevaluation. *Biologia*, 62, 270-275.

Scheffer, M., Hosper, S. H., Meijer, M. L., Moss, B., & Jeppesen, E. (1993). Alternative equilibria in shallow lakes. *Trends in ecology & evolution*, 8(8), 275-279.

Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L. R., & van Nes, E. H. (1997). On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology*, 78(1), 272-282.

Schindler, D. W. (1977). Evolution of Phosphorus Limitation in Lakes. *Science*, 195(4275), 260-262.

Schindler, D. W., Hecky, R. E., Findlay, D. L., Stainton, M. P., Parker, B. R., Paterson, M. J., Beaty, K. G., Lyng, M., & Kasian, S. E. M. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(32), 11254–11258. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805108105>.

Schmadel, N. M., Harvey, J. W., Schwarz, G. E., Alexander, R. B., Gomez-Velez, J. D., Scott, D., & Ator, S. W. (2019). Small ponds in headwater catchments are a dominant influence on regional nutrient and sediment budgets. *Geophysical Research Letters*, 46(16), 9669-9677.

Silvoso, J., Izaguirre, I., & Allende, L. (2011). Picoplankton structure in clear and turbid eutrophic shallow lakes: a seasonal study. *Limnologica*, 41(3), 181-190.

Siver, P. A., & Skogstad, A. (1988). Morphological variation and ecology of *Mallomonas crassisquama* (Chrysophyceae). *Nordic journal of botany*, 8(1), 99-107.

Somma, A., Bonilla, S., & Aubriot, L. (2022). Nuisance phytoplankton transport is enhanced by high flow in the main river for drinking water in Uruguay. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4), 5634-5647.

Sournia, A. (1978). *Phytoplankton Manual (Monographs on Oceanographic Methodology. N° 6)*. Paris: UNESCO.

Sterner, R. W. (2008). On the phosphorus limitation paradigm for lakes. *International Review of Hydrobiology*, 93(4-5), 433-445.

Suykerbuyk, R. E. M., Roijackers, R. M. M., & Houtman, S. S. J. (1995). Ecological characteristics of scale-bearing chrysophytes in a small eutrophic pond in The Netherlands. *Nordic Journal of Botany*, 15(6), 665-676.

- Tromboni, F., Dodds, W. K., Cunha, D. G., Monteiro, J. A., Avocat, H., Caldas, M., & Gücker, B. (2023). Defining nutrient ecoregions for reference nitrogen and phosphorus concentrations in rivers from the major South American biomes. *Science of The Total Environment*, 168563.
- UdelaR. (2013). Informe sobre la calidad del agua en la cuenca del Río Santa Lucía: estado de situación y recomendaciones. (pp. 29). Montevideo: Universidad de la República.
- Uruguay. (1979). Decreto N° 253/979. Vol. 01 de mayo 1979. Montevideo: Diario Oficial.
- Uruguay. (2005). Decreto N° 349/005. Vol. 03 de octubre de 2005. Montevideo: Diario Oficial.
- Uruguay. (2017). Ley N° 19.553. Modificación de la Ley 16.858, Relativo al riego con destino agrario. Vol. 16 de noviembre de 2017. Montevideo: Diario Oficial. <https://www.impo.com.uy/bases/leyes/19553-2017>.
- Valderrama, J. C. (1981). The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry*, 10, 109–122.
- Viak. (1990). Study of water quality problems caused by algae growth in the dam at Paso Severino. Montevideo - Stockholm.
- Vidal, F., Sedan, D., D'Agostino, D., Cavalieri, M., Mullen, E., Parot Varela, M., et al. (2017). Recreational exposure during algal bloom in Carrasco Beach, Uruguay: a liver failure case report. *Toxins*, 9(9), 267.
- Watson, S. B., Whitton, B. A., Higgins, S. N., Paerl, H. W., Brooks, B. W., & Wehr, J. D. (2015). Harmful algal blooms. In *Freshwater Algae of North America* (pp. 873-920). Academic Press.
- Withers, P. J., Neal, C., Jarvie, H. P., & Doody, D. G. (2014). Agriculture and eutrophication: where do we go from here?. *Sustainability*, 6(9), 5853-5875.
- Wurtsbaugh, W. A., Paerl, H. W., & Dodds, W. K. (2019). Nutrients, eutrophication and harmful algal blooms along the freshwater to marine continuum. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 6(5), e1373.
- Yang, Y., Cowen, L. L., & Costa, M. (2018). Is ocean reflectance acquired by citizen scientists robust for science applications?. *Remote Sensing*, 10(6), 835.
- Yema, L., Litchman, E., & de Tezanos Pinto, P. (2016). The role of heterocytes in the physiology and ecology of bloom-forming harmful cyanobacteria. *Harmful Algae*, 60, 131-138.
- Zabaleta, B., Aubriot, L., Olano, H., & Achkar, M. (2023). Satellite assessment of eutrophication hot spots and algal blooms in small and medium-sized productive

reservoirs in Uruguay's main drinking water basin. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(15), 43604-43618.

## Anexos

### Anexo 1. Microfotografías de organismos de fitoplancton

a)

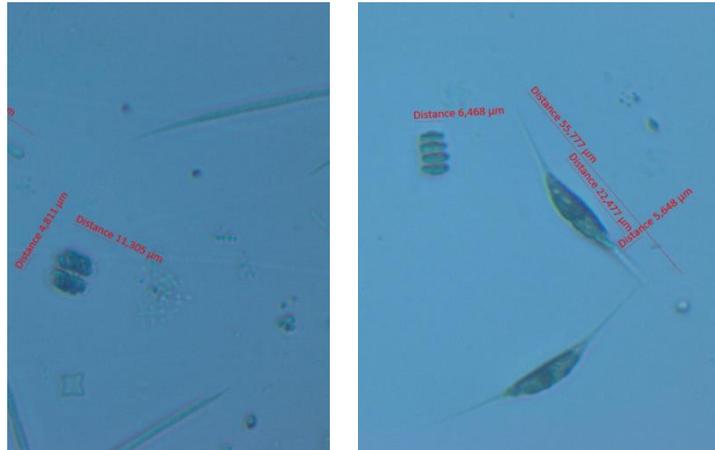


b)

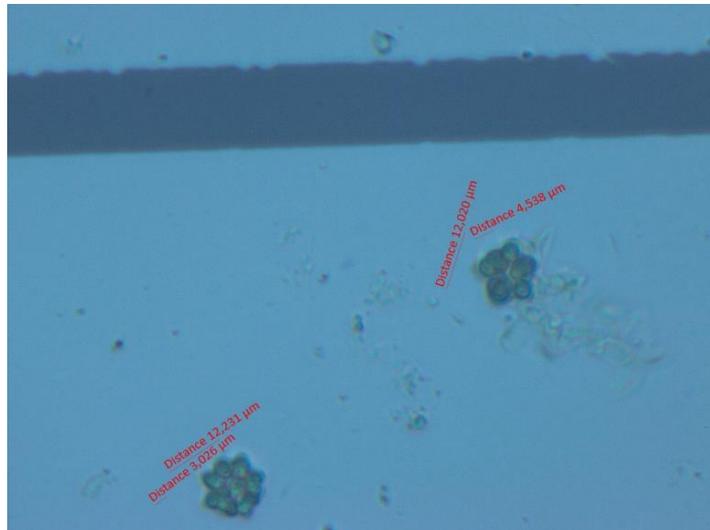


Figura 1. Cianobacterias filamentosas. a): Género *Aphanizomenon* y género *Raphidiopsis*. b): Género *Planktothrix*. Vista en microscopio invertido a 40 aumentos. En color rojo se indican las dimensiones en micras (diámetro y largo).

a)



b)



c)

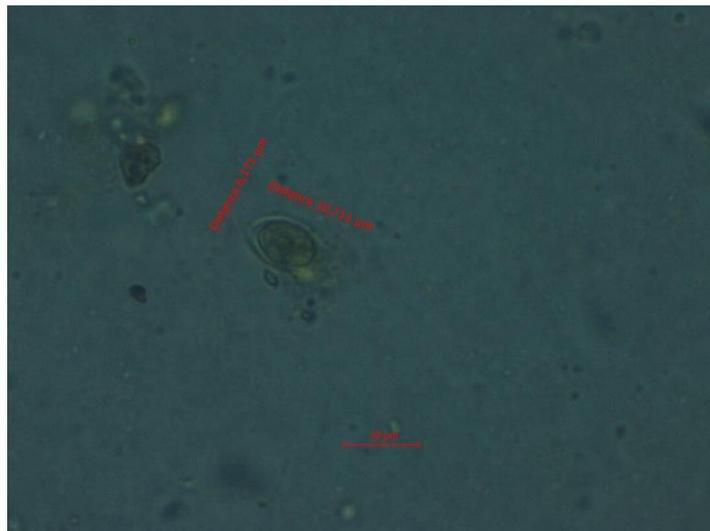


Figura 2. a): Género *Cosmarium*, género *Schroederia* y género *Desmodesmus*. b): Género *Coelastrum*. Vista en microscopio invertido a 40 aumentos. c): Género *Pteromonas*. Vista en microscopio invertido a 60 aumentos. En color rojo se indican las dimensiones en micras (diámetro y largo).

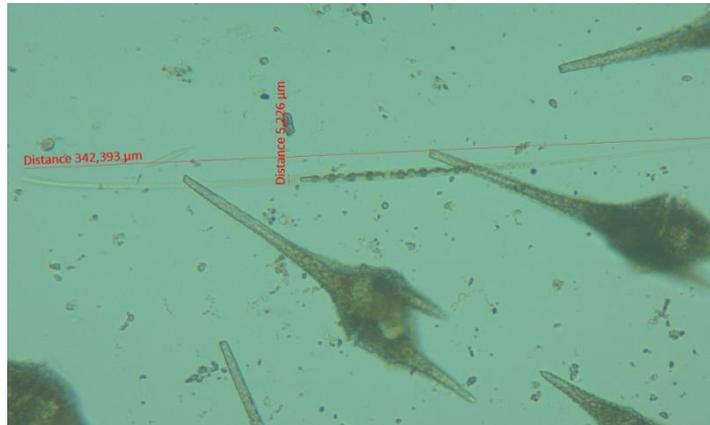


Figura 3. Género *Ceratium* y género *Closterium*. Vista en microscopio invertido a 20 aumentos. En color rojo se indican las dimensiones en micras (diámetro y largo).



Figura 4. Género *Aulacoseira*. Vista en microscopio invertido a 20 aumentos. En color rojo se indican las dimensiones en micras (diámetro y largo).



Figura 5. Género *Cryptomonas*. Vista en microscopio invertido a 40 aumentos. En color rojo se indican las dimensiones en micras (diámetro y largo).

## Anexo 2. Biovolumen total de fitoplancton en mm<sup>3</sup>/L por embalse

Tabla I. Biovolumen total de fitoplancton en mm<sup>3</sup>/L por embalse (A-N). Se indican los valores para todos los muestreos (noviembre de 2019, diciembre de 2019 y noviembre de 2020).

	Biovolumen en mm <sup>3</sup> L <sup>-1</sup>		
	Noviembre-19	Diciembre-19	Noviembre-20
<b>A</b>	0.889	1.320	0.188
<b>B</b>	0.713	0.075	1.213
<b>C</b>	0.139	0.144	0.173
<b>D</b>	373.552	337.150	290.588
<b>E</b>	0.206	0.299	0.205
<b>F</b>	618.424	20.353	0.176
<b>G</b>	1.550	0.122	1.334
<b>H</b>	188.349	229.912	109.325
<b>I</b>	514.208	1453.847	718.769
<b>J</b>	66.842	1276.404	260.419
<b>K</b>	27.716	1.023	4.707
<b>L</b>	87.575	387.783	67.309
<b>M</b>	1.231	80.618	43.679
<b>N</b>	1.196	1.841	361.872

### Anexo 3. Boxplot y violinplot de biovolumen por grupo taxonómico de fitoplancton

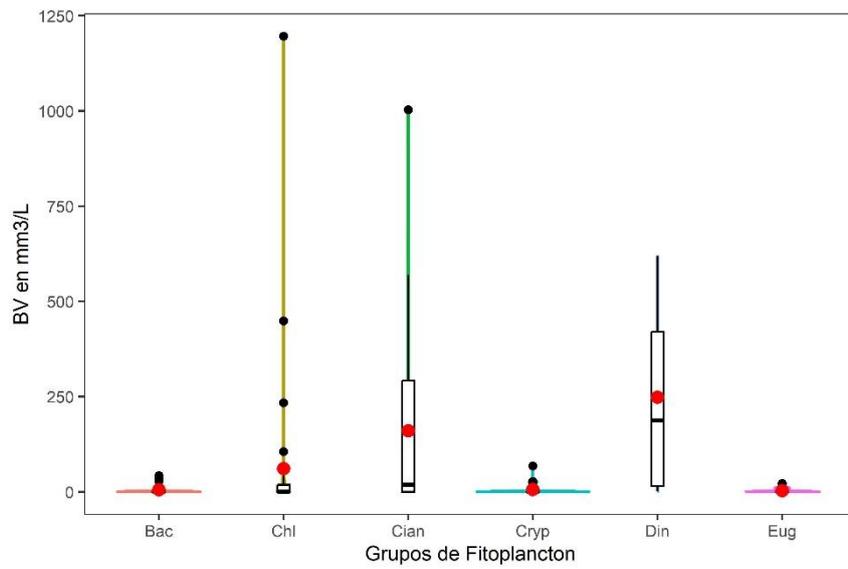
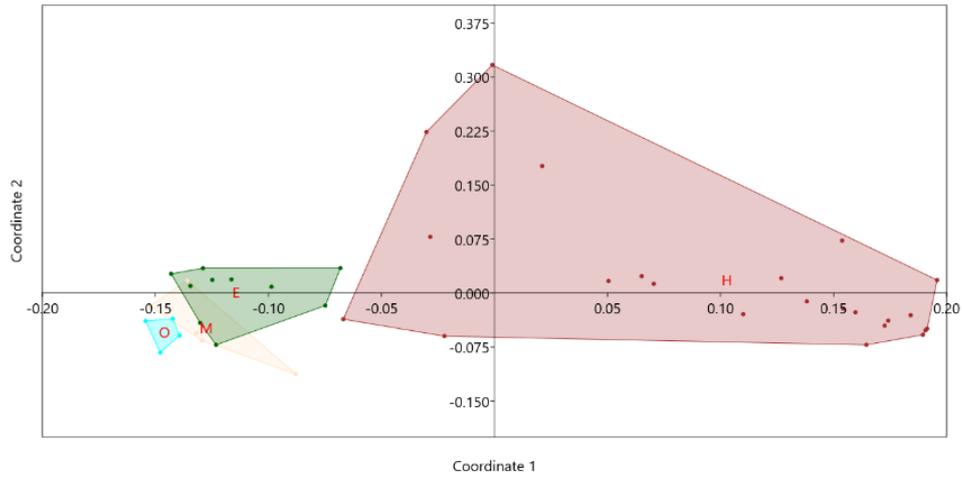


Figura 6. Boxplot y violinplot (en colores) de biovolumen (BV en mm<sup>3</sup>/L) por grupo fitoplanctónico para valores de BV > 0 mm<sup>3</sup>/L. Se representan la mediana (línea negra), media (punto rojo), los cuartiles, y los límites superior e inferior. Referencia: Chl: Chlorophyta; Bac: Bacillariophyta; Cryp: Cryptophyta; Cian: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Eug: Euglenophyta.

## Anexo 4. NMDS de comunidad de fitoplancton de acuerdo al estado trófico

a)



b)

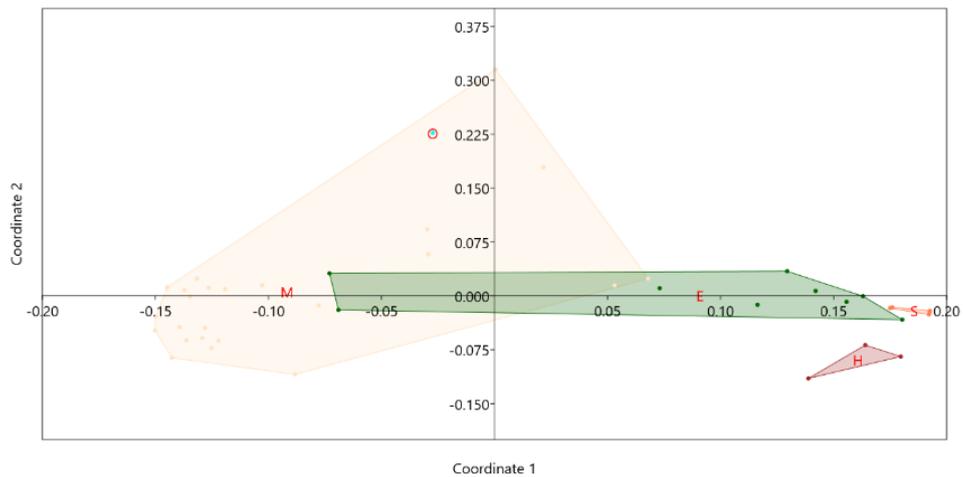


Figura 7. a): NMDS de comunidad de fitoplancton de acuerdo al estado trófico determinado por la variable clorofila a. Índice de Bray Curtis, stress= 0.1286. b): NMDS de comunidad de fitoplancton de acuerdo al estado trófico determinado por la variable nitrógeno total. Índice de Bray Curtis, stress= 0.1283. Referencia: O: Oligotrófico; M: Mesotrófico; E: Eutrófico; S: Supereutrófico; H: Hipereutrófico.

## Anexo 5. Coeficientes de correlación de Spearman rs ( $\rho$ ) de las principales variables estudiadas

Tabla II. Coeficientes de correlación de Spearman rs ( $\rho$ ) de las principales variables. Las cuadrículas “blancas” se corresponden a las correlaciones que no fueron significativas, para un p valor < 0.05. Referencias: Cond: conductividad; OD: oxígeno disuelto; STS: sólidos totales en suspensión; MO: materia orgánica; NT: nitrógeno total; PRS: fósforo reactivo soluble; PT: fósforo total; NT/PT: nitrógeno total/ fósforo total; ND/PRS: nitrógeno disuelto/fósforo reactivo soluble; CDOM: materia orgánica coloreada disuelta; Cloa *in vivo*: clorofila *a in vivo*; Cloa: clorofila *a*; BV total: biovolumen total de fitoplancton; BV ciano: biovolumen de cianobacterias; SSinor: sólidos inorgánicos en suspensión; DS: disco de Secchi; Sup: superficie de embalses.

	pH	Cond	Turbidez	OD	STS	MO	NO2	NH4	NO3	NT	PRS	PT	NT/PT	ND/PRS	CDOM	Cloa <i>in vivo</i>	Cloa	BV total	BV ciano	SSinor	DS	Sup	
pH	1																						
Cond	0,55	1																					
Turbidez	0,30	0,36	1																				
OD	0,11	0,55	0,46	1																			
STS	0,29	0,41	0,92	0,42	1																		
MO	0,54	0,58	0,79	0,56	0,83	1																	
NO2	-0,53	-0,35	-0,22	-0,21	-0,26	-0,45	1																
NH4	-0,19	-0,08	0,31	0,32	0,24	0,15	0,49	1															
NO3	-0,58	-0,46	-0,26	-0,45	-0,25	-0,66	0,67	0,18	1														
NT	0,42	0,70	0,73	0,60	0,74	0,79	-0,31	0,20	-0,38	1													
PRS	-0,14	-0,07	-0,08	-0,07	-0,03	-0,16	0,05	-0,24	0,31	0,00	1												
PT	0,15	0,64	0,55	0,58	0,57	0,54	-0,18	-0,02	-0,22	0,74	0,31	1											
NT/PT	0,33	0,09	0,36	0,16	0,33	0,43	-0,30	0,34	-0,46	0,34	-0,53	-0,22	1										
ND/PRS	-0,46	-0,38	-0,09	-0,30	-0,10	-0,47	0,64	0,49	0,72	-0,22	-0,31	-0,34	-0,01	1									
CDOM	0,39	0,78	0,50	0,55	0,49	0,54	-0,19	0,16	-0,28	0,69	0,06	0,77	-0,09	-0,27	1								
Cloa <i>in vivo</i>	0,65	0,61	0,69	0,50	0,71	0,94	-0,47	0,08	-0,75	0,73	-0,17	0,48	0,46	-0,57	0,55	1							
Cloa	0,67	0,68	0,61	0,48	0,66	0,91	-0,51	0,00	-0,72	0,74	-0,15	0,51	0,42	-0,56	0,55	0,97	1						
BV total	0,64	0,60	0,60	0,42	0,63	0,87	-0,48	0,01	-0,71	0,66	-0,13	0,39	0,45	-0,54	0,46	0,95	0,96	1					
BV ciano	0,46	0,59	0,70	0,52	0,64	0,72	-0,40	-0,04	-0,49	0,77	0,07	0,67	0,28	-0,47	0,61	0,72	0,71	0,69	1				
SSinor	-0,19	-0,04	0,52	0,05	0,61	0,17	0,13	0,44	0,24	0,20	-0,01	0,29	-0,03	0,38	0,22	0,04	-0,00	-0,04	0,11	1			
DS	-0,15	-0,25	-0,87	-0,35	-0,83	-0,63	-0,07	-0,54	0,00	-0,60	0,10	-0,48	-0,33	-0,20	-0,44	-0,53	-0,44	-0,40	-0,56	-0,63	1		
Sup	-0,39	-0,32	-0,50	-0,42	-0,48	-0,52	0,15	-0,40	0,29	-0,51	0,08	-0,48	-0,15	0,11	-0,70	-0,50	-0,43	-0,36	-0,50	-0,36	0,51	1	

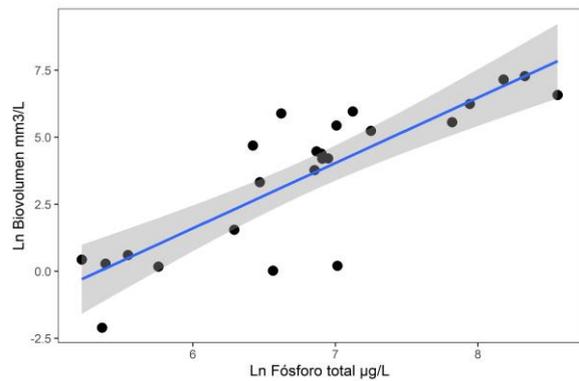
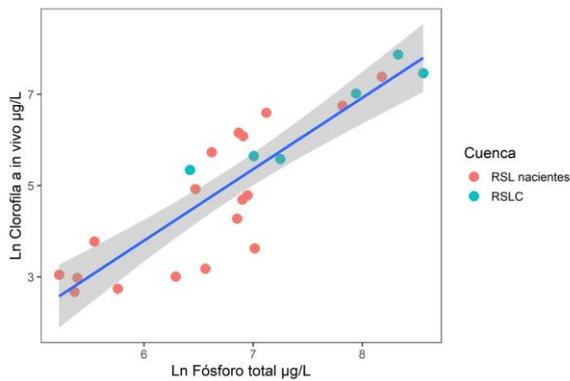
## Anexo 6. Relación de nutrientes y fitoplancton por subcuencas

De acuerdo a las diferencias en las relaciones de nutrientes en función de la distribución espacial de los embalses, en particular en la subcuenca ACG, se realizaron modelos lineales para evaluar las relaciones de nutrientes, considerando una cuenca media (subcuencas RSL desde nacientes y RSLC) y una cuenca baja (subcuenca de ACG). En la cuenca media del Río Santa Lucía, el modelo lineal simple entre las variables de respuesta clorofila *a* por fluorescencia y biovolumen, y la variable explicativa NT, presentaron un R<sup>2</sup> de 0.72 y 0.60, de forma respectiva (Figura 8 -c, -d). Por otra parte, la clorofila *a* por fluorescencia y el biovolumen, y la variable explicativa PT, presentaron un R<sup>2</sup> de

0.77 y 0.70, respectivamente (Figura 8 -a, -b). En este caso, los modelos de PT y NT con la clorofila *a in vivo* cumplen con los supuestos de homocedasticidad de varianza (en PT  $p= 0.6499, >0.05$ ; en NT  $p= 0.3164, >0.05$ ) y normalidad de los residuales (en PT  $p= 0.1868, >0.05$ ; en NT  $p= 0.9952, >0.05$ ).

a) p valor=  $1.739e-08$ ,  $R^2= 0.77$ , intercepto=  $-5.5843$ , pendiente=  $1.5636$

b) p valor=  $3.33e-07$ ,  $R^2= 0.70$ , intercepto=  $-13.0107$ , pendiente=  $2.4359$



c) p valor=  $1.115e-07$ ,  $R^2= 0.72$ , intercepto=  $-6.9874$ , pendiente=  $1.5198$

d) p valor=  $8.124e-06$ ,  $R^2= 0.60$ , intercepto=  $-14.3223$ , pendiente=  $2.2574$

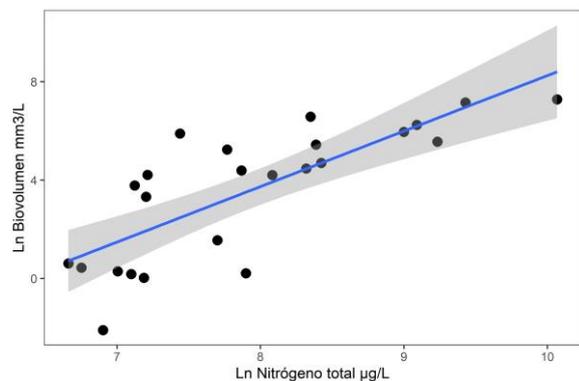
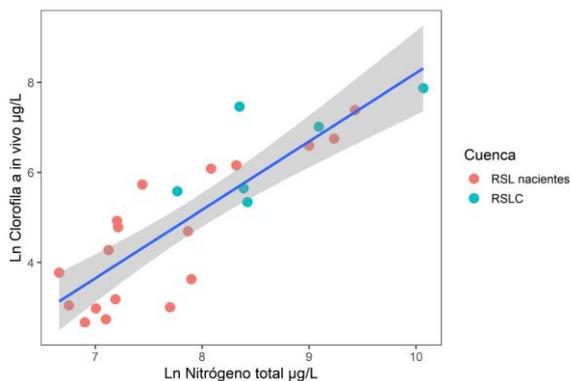
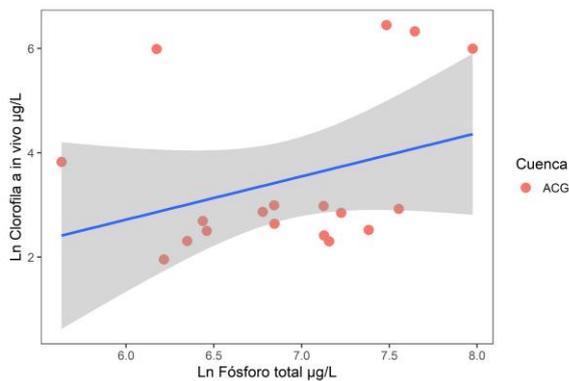


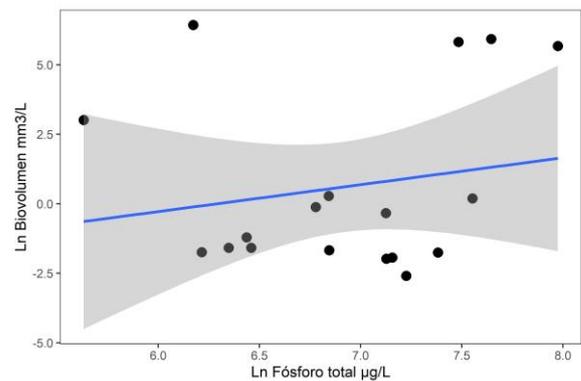
Figura 8. Relación lineal de clorofila *a* por fluorescencia *in vivo* y biovolumen de fitoplancton en función del nitrógeno total (NT), y fósforo total (PT), para los embalses de la subcuenca del Río Santa Lucía Chico y Río Santa Lucía (entre nacientes y Río Santa Lucía Chico). Los datos utilizados fueron transformados a la forma logarítmica.

En cambio, en la subcuenca del ACG los embalses presentaron diferencias destacables en las relaciones de nutrientes. Las variables de respuesta clorofila *a* por fluorescencia y biovolumen, en función de la variable explicativa NT, presentaron un  $R^2$  de 0.58 y 0.41, respectivamente (Figura 9 -c) y -d). El modelo entre el NT y la clorofila *a* por fluorescencia presentó homocedasticidad de varianza ( $p= 0.4742, >0.05$ ) pero no cumplió con el supuesto de normalidad en los residuales ( $p=0.004164, <0.05$ ). La variable explicativa PT no presentó una relación lineal aparente con la clorofila *a in vivo*, ni con el biovolumen de fitoplancton ( $p$  valor  $>0.05$ ) (Figura 9 -a) y -b).

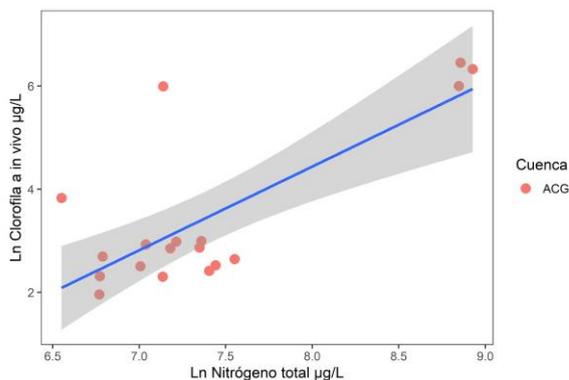
a)  $p$  valor= 0.185,  $R^2= 0.10$ , intercepto= -2.2604, pendiente= 0.8300



b)  $p$  valor= 0.4647,  $R^2= 0.03$ , intercepto= -6.0925, pendiente= 0.9686



c)  $p$  valor= 0.0002374,  $R^2= 0.58$ , intercepto= -8.5443, pendiente= 1.6228



d)  $p$  valor= 0.003753,  $R^2= 0.41$ , intercepto= -20.5491, pendiente= 2.8553

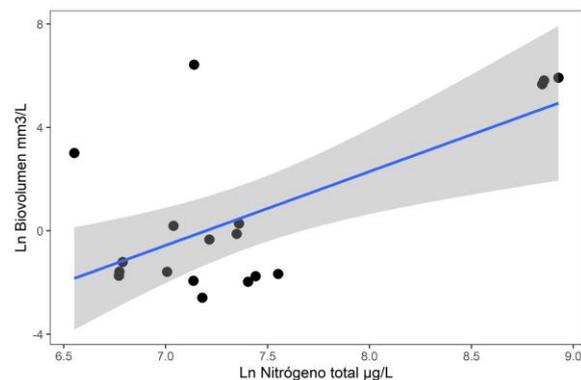


Figura 9. Relación lineal de clorofila *a* por fluorescencia *in vivo* y biovolumen de fitoplancton en función del nitrógeno total (NT), y fósforo total (PT), para los embalses de la subcuenca del Arroyo Canelón Grande. Los datos utilizados fueron transformados a la forma logarítmica.

Anexo 7. Relación lineal entre clorofila *a* por extracción y clorofila *a in vivo*, en condiciones contrastantes (alta/baja) de turbidez y materia orgánica disuelta coloreada (CDOM)

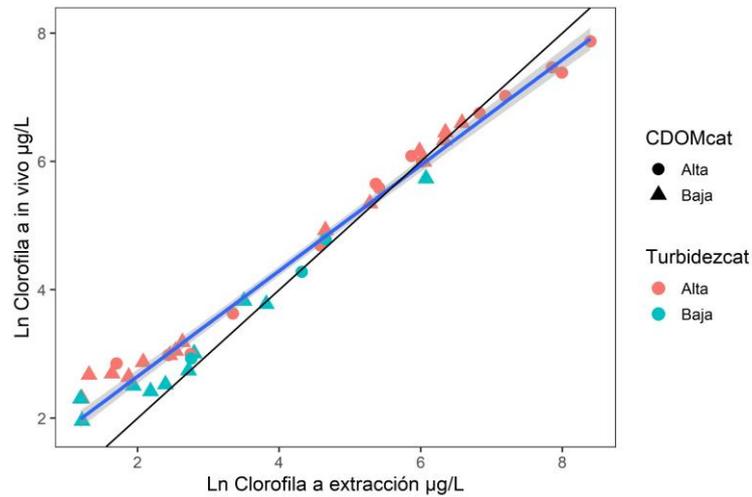


Figura 10. Relación lineal entre concentración de clorofila *a* por extracción y clorofila *a in vivo*, en condiciones contrastantes (alta/baja) de turbidez (Turbidez cat), y materia orgánica disuelta coloreada (CDOM cat). Los datos de ambas variables fueron transformados a la forma logarítmica. Los residuales de los modelos lineales no presentan evidencia de falta de normalidad según el test de Shapiro Wilk – W ( $p > \alpha = 0.05$ ). La línea negra corresponde a una relación lineal 1:1.

Anexo 8. Comparación de clases en niveles guía y de alerta de la propuesta de 2021 de la OMS, de acuerdo a la clorofila *a in vivo* y a la clorofila *a* por extracción.

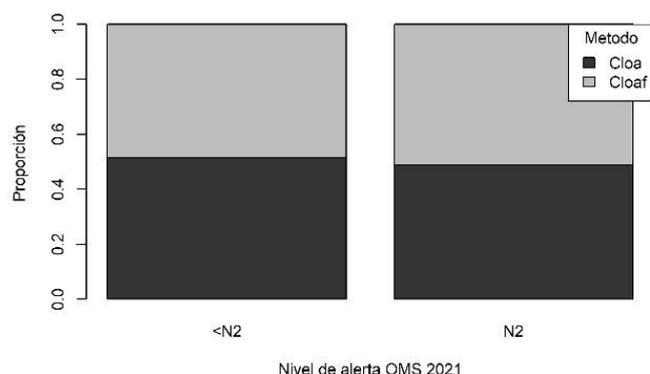


Figura 11. Proporción de clases en los niveles guía y de alerta de la propuesta de 2021 de la OMS, de acuerdo a la clorofila *a in vivo* (gris) y a la clorofila *a* por extracción (negro). Se indica la clase “N2” al nivel de alerta número 2, para un umbral de 24  $\mu\text{g}$  de clorofila *a*/L y a la clase “<N2” a las concentraciones de clorofila *a* menores al referido nivel.

Anexo 9. Comparación de clases de turbidez medida por sonda multi-paramétrica y turbidez calculada a través de Hydrocolor

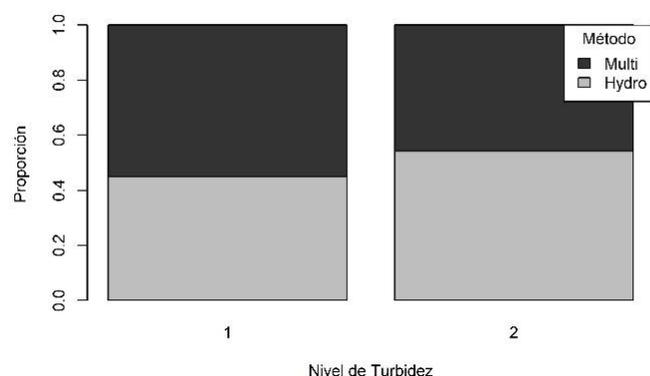
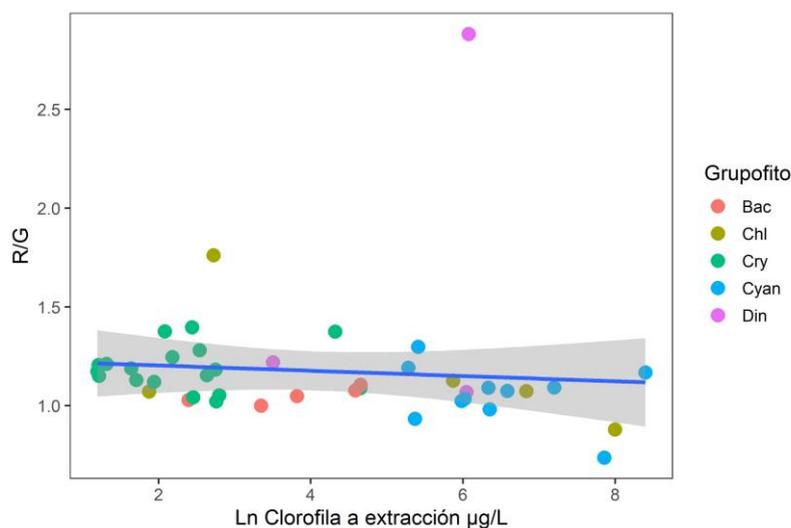


Figura 12. Proporción de clases de nivel de turbidez medida por sonda multi-paramétrica (negro) y turbidez calculada a través de Hydrocolor (gris). El nivel “1” corresponde a valores menores de 50 NTU, y el nivel “2” a valores mayores a 50 NTU.

Anexo 10. Relación lineal entre la clorofila a por extracción, el biovolumen de fitoplancton, y el cociente de las reflectancias (R/G).

a) p valor= 0.5658,  $R^2= 0.008311$



b) p valor= 0.8423,  $R^2= 0.001002$

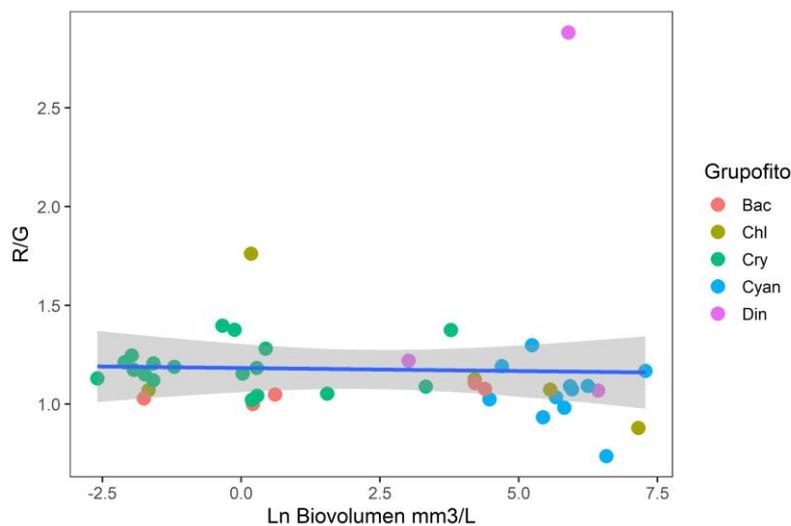


Figura 13. Relación lineal entre la clorofila a por extracción (a), biovolumen de fitoplancton (b) y el cociente de reflectancias R/G de Hydrocolor. Las variables clorofila a y biovolumen fueron transformadas a la forma logarítmica. Se indica el grupo taxonómico de fitoplancton dominante: Chl: Chlorophyta; Cry: Cryptophyta; Cyan: Cyanobacteria; Din: Dinophyta; Bac: Bacillariophyta.

Anexo 11. Comparación de clases en niveles guía y de alerta de la propuesta de 2021 de la OMS, de acuerdo a la clorofila a calculada por reflectancias y a la clorofila a por extracción

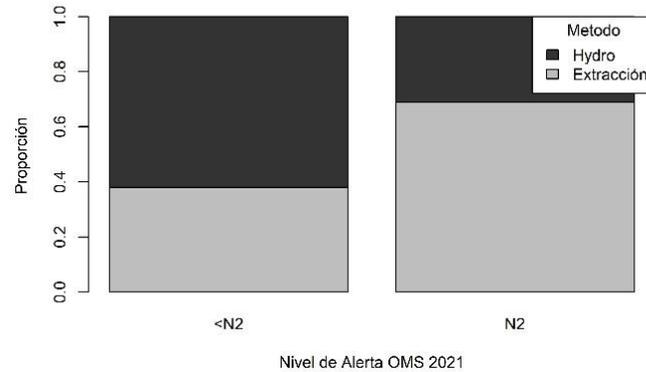


Figura 14. Proporción de clases en los niveles de alerta de la OMS de 2021, de acuerdo a la clorofila a por extracción (gris) y a la clorofila a calculada por reflectancias (negro). Se indica la clase “N2” al nivel de alerta número 2, para un umbral de 24  $\mu\text{g}$  de clorofila a/L, y a la clase “<N2” a concentraciones de clorofila a menores al referido nivel.

Anexo 12. Artículo publicado en coautoría

Zabaleta, B., Aubriot, L., Olano, H., & Achkar, M. (2023). Satellite assessment of eutrophication hot spots and algal blooms in small and medium-sized productive reservoirs in Uruguay’s main drinking water basin. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(15), 43604-43618.