



El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay

AMELIA FABRE¹, CARMELA CARBALLO¹, ESNEDY HERNÁNDEZ², PABLO PIRIZ¹, LEANDRO BERGAMINO³, LUCIANA MELLO⁴, SILVANA GONZÁLEZ¹, GERMÁN PÉREZ⁵, JOSÉ G. LEÓN⁶, LUIS AUBRIOT¹, SYLVIA BONILLA¹ & CARLA KRUK¹

¹ Sección Limnología, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, UdelaR, Iguá 10 4225 CP 11400, Montevideo, Uruguay. ameliafabre@gmail.com

² Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental (GAIA), Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, AA1226, Medellín, Colombia.

³ UNDECIMAR, Facultad de Ciencias, Iguá 4225, CP 11400, Montevideo, Uruguay.

⁴ Laboratorio de Ecología y Rehabilitación de Sistemas Acuáticos, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay.

⁵ Departamento de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable" Avda. Italia 3318, CP 11600, Montevideo, Uruguay.

⁶ Departamento General de Irrigación, Mendoza, Argentina

Resumen. Las floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas son un problema global causado por el incremento de la eutrofización. Las causas del desarrollo de cianobacterias han sido ampliamente estudiadas en sistemas templados. Estos estudios son escasos en latitudes intermedias, sin embargo, son importantes para evaluar los efectos potenciales del cambio climático. Nuestro objetivo fue explicar las diferencias en la comunidad fitoplanctónica y la presencia de cianobacterias de siete lagos artificiales y eutróficos del sudeste uruguayo, en función de sus variables ambientales. Estudiamos la disponibilidad de recursos, mezcla, depredación y morfometría. Evaluamos experimentalmente la importancia relativa de nitrógeno y fósforo en el crecimiento de las comunidades naturales con cianobacterias. La composición específica del fitoplancton fue diferente en cada lago. Los factores determinantes de la estructura comunitaria fueron la disponibilidad de nitrógeno disuelto y la relación zona eufótica/mezcla. Algunos lagos estuvieron dominados por cianobacterias (*Microcystis aeruginosa* y *Cylindrospermopsis raciborskii*) a pesar de las bajas temperaturas (11-12°C). Encontramos aumento del crecimiento de especies de gran tamaño (>10µm), incluyendo cianobacterias fijadoras de nitrógeno, frente al enriquecimiento con nitrato. Sin embargo, los organismos más pequeños (<10µm) aumentaron con adición de fosfato. Finalmente, observamos que los sistemas con crecimiento masivo de cianobacterias no presentaron menor diversidad.

Palabras clave: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*, fitoplancton, nutrientes, eutrofización.

Abstract. Nitrogen and euphotic/mixing zone ratio explain cyanobacterial occurrence in small subtropical man-made lakes (Uruguay). Toxic cyanobacterial blooms are a global problem that is mainly exacerbated by cultural eutrophication. Although the factors driving the occurrence of blooms have been extensively studied in temperate systems, the evaluation of these processes at intermediate latitudes is limited. Given predicted increases in global average temperature, the study of subtropical lakes may also provide insights into the future dynamics of temperate lakes. Our aim was to explain the environmental factors influencing community structure and occurrence of cyanobacteria, including resources, mixing conditions, system morphology and zooplankton. We studied the phytoplankton and environmental characteristics of seven subtropical lakes in the southeast of Uruguay. We evaluated the relative importance of nitrogen and phosphorus on phytoplankton with cyanobacteria in laboratory microcosms. Our analyses indicated that the main environmental factors determining community

structure were dissolved nitrogen and the euphotic/mixing zone ratio. Despite low temperatures (11-12 °C) some systems were dominated by cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*, *Cylindrospermopsis raciborskii*). Our experiments showed that larger species (>10 µm), including nitrogen fixing cyanobacteria, increased their growth rates with increasing nitrate concentration. In contrast, smaller species (<10 µm) responded to increased phosphate concentration. We observed that there was no correspondence between massive growth of cyanobacteria and lower diversity systems.

Keywords: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*, phytoplankton, nutrients, eutrophication.

Introducción

Las floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas son un problema en ecosistemas límnicos de todo el mundo. Estas generan cambios drásticos en la estructura de la comunidad fitoplanctónica y modifican las interacciones biológicas disminuyendo la biodiversidad y la calidad del agua para el consumo humano (Scheffer *et al.* 1997, Huisman & Hulot 2005). Su principal causa es el aumento de la eutrofización, a lo que se suma el efecto del calentamiento global (Reynolds 1984, Paerl & Huisman 2008). La eutrofización se debe a un aumento en la concentración de nutrientes, principalmente de nitrógeno y fósforo, favoreciendo el desarrollo de floraciones de cianobacterias (revisado en Pearl & Huisman 2009, ej. Scasso *et al.* 2001). El aumento de la temperatura tiene un efecto directo sobre el crecimiento del fitoplancton y produce cambios en las condiciones hidrodinámicas de los sistemas, como el aumento del período de estratificación, que favorecen la ocurrencia de floraciones de cianobacterias (Oliver & Ganf 2000, Pearl & Huisman 2009). Además, las características morfométricas de los sistemas lénticos, como son el área y la profundidad máxima, también influyen en los períodos de estratificación y mezcla (Viner 1984). Tanto la estratificación como la mezcla, afectan directamente el desempeño ecológico de los distintos grupos fitoplanctónicos (Reynolds 1984).

Los procesos que dirigen el desarrollo de floraciones han sido extensamente estudiados en sistemas templados, mientras que su evaluación en latitudes intermedias es limitada. Un aspecto relevante del estudio de los sistemas subtropicales se basa en que éstos emularían potenciales escenarios climáticos en los actuales sistemas templados. Sin embargo, los lagos subtropicales presentan una mayor complejidad y diversidad de los componentes de las tramas tróficas en comparación con los templados, lo que resulta en un mayor número de interacciones biológicas (Meerhoff 2006). Estas características les confieren un alto valor ecológico y ambiental, a la vez que dificultan la extrapolación de resultados de zonas templadas (Jeppesen *et al.*

2005). Por estas razones es necesario incrementar los estudios en sistemas subtropicales, particularmente en aquellas zonas donde la presión generada por el aumento poblacional es mayor.

Durante los últimos años la población de la costa sureste de Uruguay (34°53'S) ha crecido ocasionando un mayor impacto en los ecosistemas acuáticos, lo que se ha visto reflejado en un aumento de la eutrofización. Como consecuencia principal, la frecuencia de proliferaciones algales masivas ha aumentado, incluyendo cianobacterias potencialmente tóxicas como *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing y *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya & Subba Raju (Vidal & Kruk 2008, Kruk & De León 2002).

Nuestro objetivo fue explicar las diferencias en la comunidad fitoplanctónica y la presencia de cianobacterias de siete lagos artificiales y eutróficos, en función de las variables ambientales. Todos los lagos se encuentran en el sureste de Uruguay, (Departamento de Canelones). Debido a que la mayoría de los sistemas seleccionados no han sido estudiados anteriormente, este trabajo aporta información básica para la región. Para cumplir el objetivo se combinaron dos estrategias de estudio: muestreos simultáneos en los ambientes y experimentos de incorporación de nutrientes de corto plazo en el laboratorio. Los experimentos fueron realizados con comunidades naturales de dos sistemas con dominancia de cianobacterias.

Materiales y Metodos

Área de estudio. Los siete sistemas estudiados (Botavara, Jardín, Javier, Pomacea, Prohibido, Leandro y Ton-Ton) están ubicados en el Departamento de Canelones (UTM zona 21H), cercanos a la costa atlántica (Fig. 1) y en una zona urbana de reciente aumento poblacional. Todos estos lagos son artificiales, originados por la remoción de arena para la construcción edilicia. Es una zona formada por depósitos arenosos y arenos arcillosos del holoceno (Spoturno *et al.* 2004). De los siete lagos sólo Prohibido presenta macrófitas sumergidas que se ubican únicamente en la zona litoral.

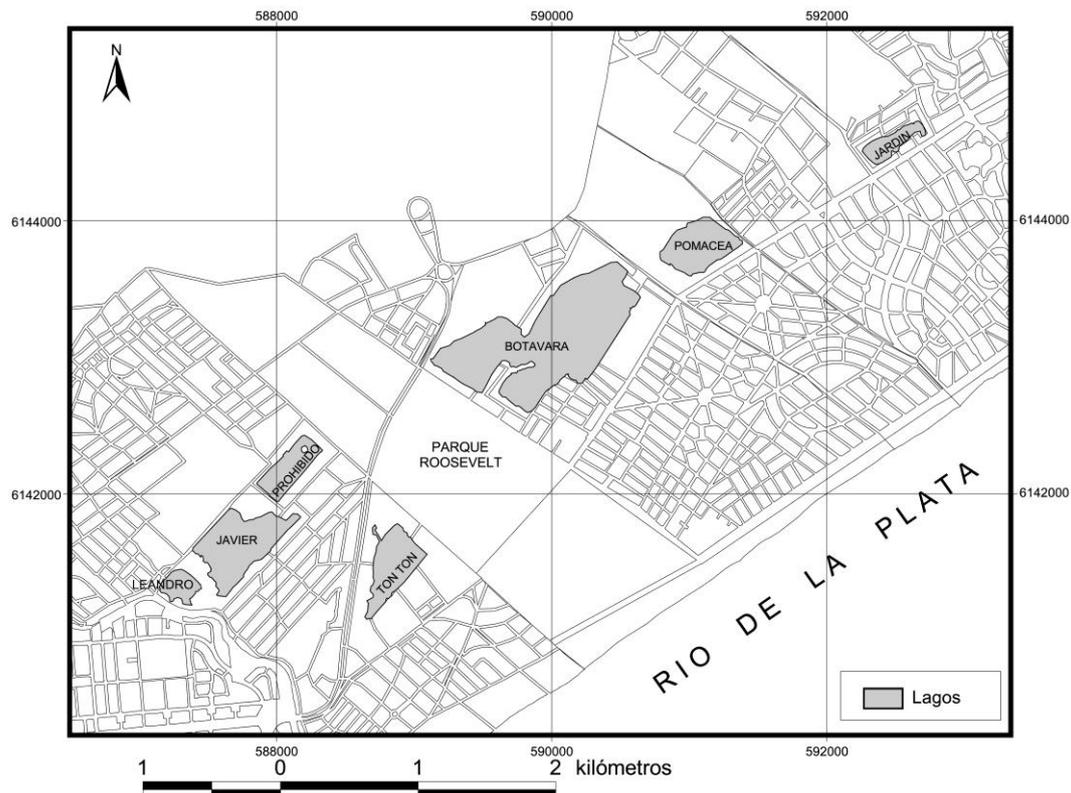


Figura 1. Ubicación de los lagos estudiados en el Departamento de Canelones, Uruguay. De izquierda a derecha: Leandro, Javier, Prohibido, Ton-Ton, Botavara, Pomacea y Jardín.

Cada sistema fue georeferenciado y se estimaron el área (A), perímetro (Per) y la longitud máxima efectiva para los vientos predominantes (Le) utilizando imágenes satelitales Google Earth empleando la grilla UTM-WGS84 y se digitalizó con ArcView 3.2 (ESRI). A partir del perímetro y el área se calculó el desarrollo de la línea de costa (DLC). La dirección predominante del viento se determinó a partir de datos meteorológicos diarios (El País digital, http://www.elpais.com.uy/10/03/02/Tiempo/ciudad_UY_Mon.asp) teniendo en cuenta la frecuencia de cada dirección y las velocidades en los 30 días previos al muestreo. Se comparó la vulnerabilidad de mezcla de los lagos según Reynolds (1992) corregido en Padisák & Reynolds (2006).

Los siete lagos fueron muestreados en su zona central el 22 de Junio de 2008. Se tomaron medidas *in situ* y muestras de agua para su posterior análisis químico y de comunidades biológicas. Las muestras fueron tomadas de forma integrada con botella tipo Ruttner en superficie y fondo en los lagos con menos de 2 m de profundidad y en lagos más profundos cada 2 m hasta la profundidad máxima. *In situ* se midió la transparencia del agua (profundidad del disco de Secchi, DS), la profundidad máxima en el sitio de muestreo (Zm), se realizaron perfiles cada 20 cm de temperatura (T) y

oxígeno disuelto (OD, sensor Horiba). A partir de los perfiles se determinó la profundidad de la zona de mezcla (Zme). También se obtuvo un perfil de penetración de la luz fotosintéticamente activa (PAR) para determinar su coeficiente de extinción (Kd) y la profundidad de la zona eufótica como el 1 % de la luz subsuperficial (Zeu). En el laboratorio, a partir de las muestras integradas, se determinó el pH (sensor Horiba), la alcalinidad (Alc) (APHA 1995) y los nutrientes fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT) según Valderrama (1981) y fósforo reactivo soluble (PRS), nitritos (NO₂), nitrato (NO₃) y amonio (NH₄) de acuerdo a Strickland & Parsons (1972). Se calculó la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) como la suma de las formas disueltas (NH₄, NO₃ y NO₂) y los cocientes atómicos NID/PRS y NT/PT. Se estimó la concentración de clorofila *a* por extracción mediante el método de etanol caliente según ISO 10260 (1992). A partir de Salas & Martino se clasificó a los lagos según su estado trófico (Salas & Martino 1990).

En los siete lagos se tomaron muestras cualitativas integradas de las comunidades de fitoplancton y zooplancton mediante arrastres oblicuos (tamaño de malla de 25 y 50 μ m, respectivamente) y fueron guardadas frescas y fijadas con formol neutralizado para su posterior

identificación. Para el análisis cuantitativo, ambas comunidades fueron fijadas con lugol (fitoplancton) y con formol (zooplancton). El conteo de las muestras de fitoplancton fue de acuerdo al método de Utermöhl (1958), con microscopio invertido utilizando campos al azar y contando hasta 100 organismos del taxón más abundante. Se estimó el biovolumen (V), la dimensión lineal máxima (DLM), la superficie (S) y la relación S/V individuales, utilizando las aproximaciones geométricas propuestas en Hillebrand *et al.* (1999). Finalmente se expresó la biomasa fitoplanctónica en biovolumen por volumen de agua. El conteo de zooplancton, se efectuó por alícuotas siguiendo el método Paggi & de Paggi (1974) en cámaras Sedgwick-Rafter. En cada muestra se midieron hasta 30 individuos de Cladóceros y Copépodos (microcrustáceos) para evaluar su potencial control sobre el fitoplancton de mayor tamaño (Hülsmann *et al.* 2005). La biomasa de microcrustáceos (B_{MC}) se calculó mediante ecuaciones de regresión largo-peso (Bottrell *et al.* 1976, McCauley 1984).

Experimentos de enriquecimiento con nutrientes. Luego de las observaciones cualitativas se seleccionaron dos lagos (Javier y Leandro) similares en la comunidad de fitoplancton en cuanto a la dominancia de cianobacterias. Ambos sistemas presentaron diferencias en la concentración de NID, aunque *a priori* en ninguno de ellos el N fue potencialmente limitante del crecimiento algal, según la relación de Redfield. Para evaluar el efecto de enriquecimiento con fósforo (P) y nitrógeno (N) se realizaron tratamientos para cada nutriente y para cada lago, con controles (sin la adición de nutrientes) para cada lago. Se utilizaron 80 mL de las muestras frescas previamente filtradas por 200 μm para remover el mesozooplancton, de cada lago, en frascos de cultivo de 100 mL con burbujeo y luz continua ($80 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a $26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, por triplicado. La temperatura experimental fue mayor a la de los lagos en el momento de muestreo buscando obtener una respuesta en el crecimiento que fuera apreciable a corto plazo. De esta forma, además, se minimizaron los posibles efectos de la incubación prolongada (ej. contaminación microbiológica, disminución aguda de la concentración de nutrientes). La temperatura seleccionada está dentro del rango de valores óptimos para el crecimiento de la mayoría de las especies de microalgas (Reynolds 2006). Además, dicha temperatura es comparable con la que podrían alcanzar los sistemas en período estival (Vidal & Kruk 2008). El enriquecimiento consistió en el agregado de 10 μM de PO_4 y de 200 μM de NO_3 . Al final de los experimentos (72 h) se midió el pH y se estimó el crecimiento mediante

absorbancia a 750 y 665 nm (turbidez y clorofila *a in vivo* respectivamente) en la muestra total y fracciones $< 10 \mu\text{m}$ y $> 10 \mu\text{m}$, y se estimó la abundancia específica de fitoplancton con los métodos antes mencionados.

Análisis de datos. Para cada lago se estimó el índice de diversidad de fitoplancton, de Shannon-Wiener en biovolumen (programa: BioDiversity PRO). Se realizaron correlaciones no paramétricas (Spearman) para analizar las asociaciones entre las variables ambientales, tomando los coeficientes con $p \leq 0,05$ como significativos (programa: SPSS 12.0). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para caracterizar los lagos estudiados en función de las variables ambientales: DS, T, OD, Zme, Kd, Zeu, pH, Alc, PRS, PT, NH_4 , NO_3 , NO_2 , NID, NT, NID/PRS, NT/PT, variables morfométricas: A, Per, Le y la biomasa de microcrustáceos. Para analizar la relación entre las variables ambientales y el biovolumen de las diferentes especies de fitoplancton se utilizaron análisis de correspondencia canónica (ACC) (ter Braak & Smilauer 1998). El lago Pomacea presentó características diferentes a los demás sistemas, estaba completamente dominado por *M. aeruginosa*, por lo que se realizaron dos ACC con y sin este sistema. Las variables ambientales fueron estandarizadas y los datos de fitoplancton transformados usando $\log_{10}(x + 1)$. El estudio y selección de las variables que influyeron sobre el biovolumen del fitoplancton se realizó mediante el método de selección manual hacia adelante. Al mismo tiempo se eliminaron los valores con factores de inflación de varianza (VIFs) mayores a 20 para evitar multicolinealidad entre variables (Peeters 2001). Para evaluar la significancia del análisis se utilizó el test de Monte Carlo seleccionando las variables con $p \leq 0,1$. Todos los análisis de ordenación fueron realizados con el programa CANOCO 4.5 (Lepš & Šmilauer 2003).

Los resultados de los experimentos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía (con el programa BioDiversity PRO). Se hicieron análisis post-hoc de tipo LSD. No fue necesario transformar los datos ya que cumplieron con los supuestos necesarios para estos análisis.

Resultados

Variables ambientales. El área de los lagos varió en un orden de magnitud, comprendió valores entre $48,3 \times 10^3 \text{ m}^2$ (Leandro) y $739,0 \times 10^3 \text{ m}^2$ (Botavara) (Tabla I) y estuvo positivamente correlacionada con el perímetro (Tabla II). La profundidad del sitio de muestreo fue menor a 10 m en la mayoría de los lagos, siendo Leandro el de

menor profundidad. El DLC fue mayor a 1 en todos los casos, indicando que la forma de los lagos se aleja de la circular. Además, la forma de los lagos es aproximadamente rectangular, no dendrítica (Fig. 1). El Le calculado para el viento predominante, SSW:NNE, fue similar en todos los sistemas, excepto Botavara que fue un orden de magnitud mayor. De acuerdo al cálculo de vulnerabilidad se estima que la mayoría de los lagos estudiados

estarían frecuentemente mezclados. Según los perfiles de temperatura, todos los sistemas se encontraban totalmente mezclados el día del muestreo. Debido a que Zm fue igual a Zme en todos los sistemas, los análisis se basaron en la relación Zeu/Zm (relación entre la zona eufótica y la profundidad máxima de muestreo). La mayor relación Zeu/Zm fue encontrada en el lago Leandro.

Tabla I. Variables abióticas y bióticas de los lagos estudiados: área (A), profundidad de muestro (Zm), desarrollo de línea de costa (DLC), longitud máxima efectiva (Le), coeficiente de extinción de la luz (Kd), relación entre zona eufótica y profundidad de muestreo (Zeu/Zm), alcalinidad (Alc), fósforo total (PT), nitrógeno total (NT), fósforo reactivo soluble (PRS), nitrógeno inorgánico disuelto (NID), clorofila *a* (Clo *a*), estado trófico basado en clorofila *a* (E: eutrófico, HE: hipereutrófico y ME: mesoeutrófico), abundancia de Cladóceros, Copépodos y Rotíferos (A_{CLA} , A_{ROT} y A_{COP} respectivamente) y biomasa de microcrustáceos (B_{MC}).

	Botavara	Jardín	Javier	Leandro	Pomacea	Prohibido	Ton-Ton
A ($\times 10^3 \text{ m}^2$)	739,0	56,6	235,0	48,3	153,0	94,7	146,0
Zm (m)	10,0	5,0	3,5	1,5	9,0	5,0	6,0
DLC	1,73	1,75	1,49	1,31	1,21	1,30	1,65
Le (Km)	1,30	0,33	0,71	0,22	0,43	0,50	0,64
Kd (m^{-1})	1,28	2,36	1,89	1,64	2,67	1,79	0,15
Zeu/Zm	0,41	0,85	0,87	2,60	0,50	0,75	0,72
Alc ($\text{mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	270	136	98	174	197	193	180
PT (μM)	2,3	13,6	1,5	2,0	27,9	2,9	2,4
NT (μM)	35,4	191,9	119,4	112,5	194,4	43,1	54,6
NID (μM)	5,5	48,4	17,4	<5,0	59,7	5,1	15,0
PRS (μM)	1,1	11,0	<0,3	<0,3	27,4	<0,3	0,4
NID/PRS atómico	4,8	4,4	327,0	28,0	2,2	87,0	38,0
Clo <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$)	12,1	39,7	55,0	85,5	65,9	75,4	14,9
Estado Trófico	ME	E	HE	HE	HE	HE	E
A_{CLA} (ind L^{-1})	24,4	8,9	2,2	16,7	17,3	38,7	13,3
A_{COP} (ind L^{-1})	40,4	48,4	8,9	0,0	12,7	12,0	12,4
A_{ROT} (ind L^{-1})	369,3	17,8	77,8	1540,0	131,3	476,0	33,8
B_{MC} (peso seco $\mu\text{g L}^{-1}$)	53,4	41,2	8,2	10,8	61,0	43,5	72,6

Considerando todos los lagos, la temperatura varió entre 11,6 y 12,4 °C. Con relación a la transparencia, la profundidad del DS varió entre 0,15 y 2,67 m^{-1} . El sistema más turbio en términos de Kd fue Pomacea y el más claro Ton-Ton. La alcalinidad resultó menor en Javier y mayor en Botavara. Respecto a la concentración de nutrientes, los totales presentaron valores altos en todos los sistemas mientras que los disueltos difirieron hasta en dos órdenes de magnitud (Tabla I). Leandro y Prohibido fueron los lagos con menores concentraciones de DIN

(< 5 μM). En todos los sistemas la concentración de NH_4 fue superior a las demás formas de NID excepto en Jardín (datos no mostrados). Todas las formas disueltas de nitrógeno estuvieron correlacionadas entre sí y con el nitrógeno total (Tabla II). El PRS de los lagos Leandro, Prohibido y Javier presentó concentraciones menores al nivel de detección ($\leq 0,3 \mu\text{M}$, Tabla I). En los sistemas Botavara, Jardín y Pomacea la relación atómica NID/PRS fue menor a 16, indicando una potencial limitación por nitrógeno.

Tabla II. Matriz de coeficientes de correlación de Spearman de los valores significativos, con $p < 0,05$ y $p < 0,01$ (*), para: perímetro (Per), área (A), coeficiente de extinción de la luz (Kd), profundidad de muestreo (Zm), amonio (NH_4), biovolumen de fitoplancton (BV), concentración de nitrógeno como nitrato (NO_3), longitud máxima efectiva (Le), nitrógeno inorgánico disuelto (NID), nitrógeno total (NT), fósforo reactivo soluble (PRS), relación atómica entre nitrógeno inorgánico disuelto y fósforo reactivo soluble (NID/PRS).

	Per (m)	A ($\times 10^3 \text{ m}^2$)	Kd (m^{-1})	Zm (m)	NH_4 (μM)	BV ($\text{mm}^3 \text{ L}^{-1}$)	NO_3 (μM)
Le (Km)	0,956	0,985*					
NO_3 (μM)					0,889		
NID (μM)					0,964*		0,889*
NT (μM)			0,821		0,786		0,778
PRS (μM)				0,893*			
Kd (m^{-1})				-0,786			
NID/PRS atómico						0,890	

La mayoría de los lagos fueron clasificados como hipereutróficos según los niveles de clorofila *a*, excepto Botavara que fue mesoeutrófico, y Jardín y Ton-Ton que fueron eutróficos (Tabla I). En cuanto al zooplancton, los Rotíferos dominaron la comunidad en todos los lagos excepto en Jardín, donde los Copépodos fueron los de mayor abundancia. El grupo de los Cladóceros estuvo presente en mayor abundancia en Botavara y en menor abundancia en Javier (Tabla I).

La organización de los lagos en función de las variables ambientales y del zooplancton en el ACP mostró una varianza explicada de 68,0 % con los dos primeros ejes (Fig. 2). En este diagrama, los lagos se organizaron en tres grupos. El primer grupo estuvo formado por Botavara, Prohibido y Ton-Ton y se caracterizó por presentar valores altos de área, transparencia, alcalinidad y biomasa de zooplancton. Además presentaron baja concentración de nutrientes y potencial limitación por nitrógeno dada su baja relación NID/PRS. Un segundo grupo incluyó a los lagos pequeños y someros (Leandro y Javier), poco transparentes y con pocos depredadores de gran tamaño. Dicho grupo se asoció principalmente a mayores cocientes NID/PRS y Zeu/Zm. Por último, un tercer grupo formado por Pomacea y Jardín se asoció a una mayor concentración de nutrientes totales y disueltos, así como valores medios de área y transparencia de agua.

Estructura de las comunidades fitoplanctónicas. El biovolumen total de fitoplancton presentó valores máximos en Jardín y

mínimos en Botavara (Tabla III) y estuvo significativamente correlacionado con Kd (Tabla II). La concentración de clorofila *a* no estuvo correlacionada con el biovolumen de fitoplancton total. En Pomacea y Leandro las cianobacterias fueron el grupo dominante en términos de biovolumen (Fig. 3). En el caso de Pomacea dominó el grupo de cianobacterias coloniales (*Microcystis aeruginosa*) mientras que en Leandro hubo codominancia de coloniales (*Coelomonon tropicalis* Senna, Peres & Komárek y *Aphanocapsa delicatissima* W. West & G.S. West) y filamentosas del orden Nostocales (*Cylindrospermopsis raciborskii*) (Fig. 3, Tabla III). El biovolumen total de cianobacterias en Javier y Ton-Ton fue menor a los de los demás lagos que presentaron este grupo algal. A su vez, en Javier hubo codominancia de *C. raciborskii* y cianobacterias coloniales al igual que Leandro. Prohibido estuvo dominado por dinoflagelados de la especie *Ceratium hirundinella* (O.F. Müller) Dujardin, también presentes en Botavara y Javier aunque en menores proporciones. En Botavara el grupo dominante fue el de las clorofitas (*Staurastrum* sp. y *Closterium* sp), mientras que las diatomeas céntricas dominaron en Ton-Ton (*Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen) y los flagelados de diversos grupos taxonómicos en Jardín. En términos de riqueza, Pomacea presentó una única especie mientras que Javier presentó 20 especies. Sin embargo el lago más diverso de acuerdo al índice de Shannon fue Botavara y el menos diverso fue Pomacea seguido de Prohibido (Tabla III).

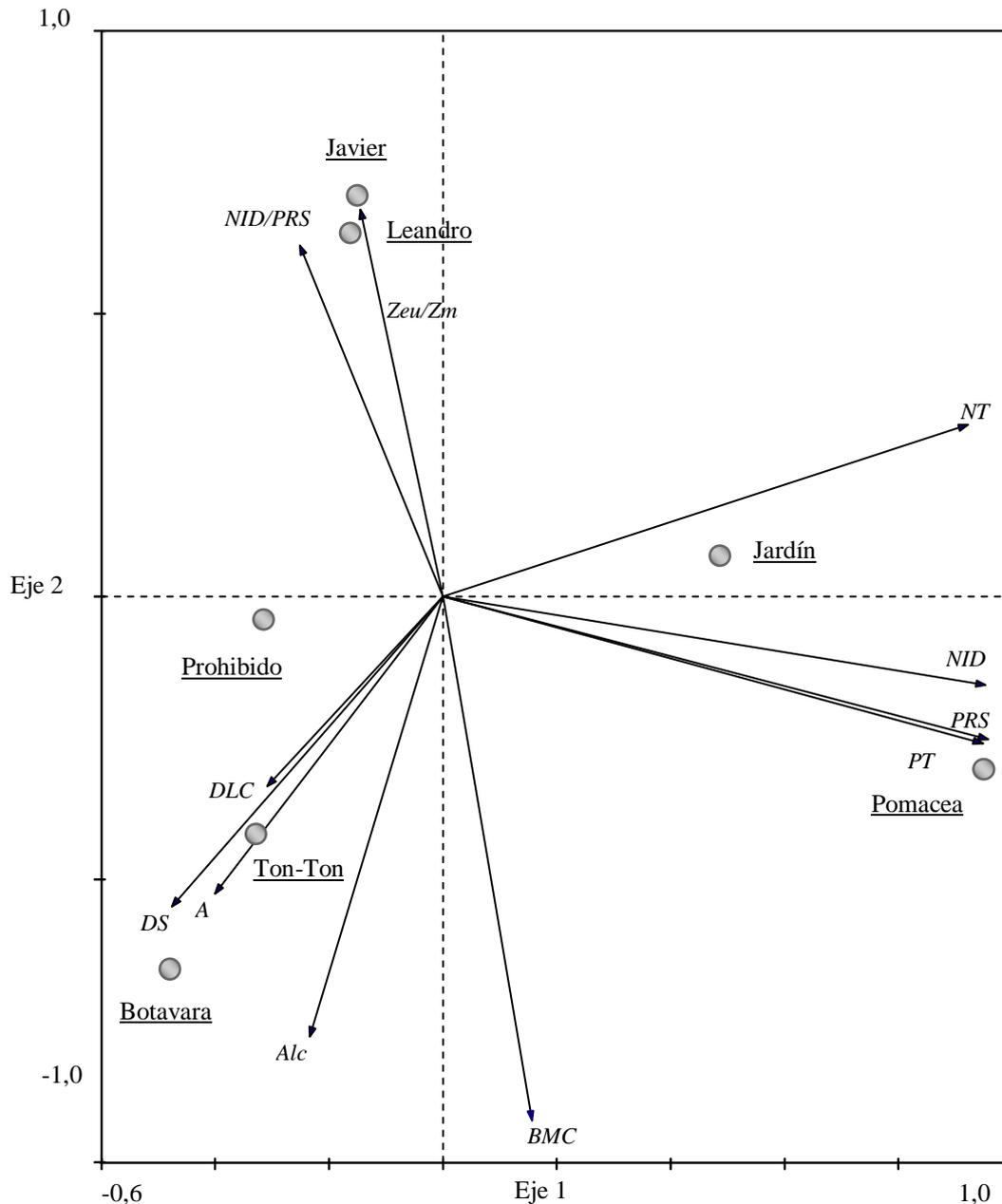


Figura 2. Diagrama del análisis de componentes principales (ACP). Los lagos están representados por círculos grises y las variables ambientales seleccionadas por flechas. Los códigos de las variables se corresponden con la Tabla I y DS es la profundidad del disco de Secchi.

Análisis de la relación entre el fitoplancton y el ambiente. Las variables que mejor explicaron la estructura de la comunidad fitoplanctónica de acuerdo con los resultados del ACC, fueron la concentración de NH_4 (23 %, $F = 1,52$; $p = 0,01$) y la abundancia de los rotíferos (21 %; $F = 1,57$; $p = 0,02$). El total de varianza explicada por los cuatro primeros ejes fue de 78,4 %. En el diagrama de ACC, Pomacea se ubicó a un extremo y

provocó la agrupación del resto de los lagos, impidiendo interpretar las relaciones entre éstos. Por esta razón se realizó un segundo ACC excluyendo dicho lago. A diferencia del primer análisis, la varianza total explicada de los primeros cuatro ejes fue de 86,4 %. Las principales variables fueron el cociente Zeu/Zm (28 %; $F = 1,590$; $p = 0,02$) y la concentración de NO_3 (25 %; $F = 1,57$; $p = 0,09$).

Tabla III. Biovolumen total de fitoplancton de cada lago (BV); las especies dominantes (>10 % BV) en orden decreciente indicando su afiliación taxonómica: zignematoficeas (zigne), dinoflagelados (dino), diatomeas (diato), euglenofitas (eugle), criptofitas (cripto) y cianobacterias (ciano) y el índice de diversidad de Shannon (H').

Lago	BV (mm ³ L ⁻¹)	Especies Codominantes (>10 % BV)	H'
Botavara	3,0	<i>Staurastrum</i> sp. (zigne)	3,5
		<i>Closterium</i> sp. (zigne)	
		<i>Ceratium hirundinella</i> (dino)	
Jardín	154,0	<i>Rhodomonas lacustris</i> (cripto)	1,6
		<i>Aulacoseira granulata</i> (diato)	
		<i>Euglena</i> sp. (eugle)	
Javier	33,6	<i>Microcystis aeruginosa</i> (ciano)	2,1
		<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (ciano)	
		<i>Ceratium hirundinella</i> (dino)	
Leandro	29,5	<i>Coelomonon tropicalis</i> (ciano)	1,4
		<i>Aphanocapsa delicatissima</i> (ciano)	
		<i>Synedra acus</i> (diato)	
		<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (ciano)	
Pomacea	68,2	<i>Microcystis aeruginosa</i> (ciano)	-
Prohibido	25,2	<i>Ceratium hirundinella</i> (dino)	0,1
		<i>Aulacoseira granulata</i> (diato)	
Ton-Ton	7,4	<i>Aulacoseira granulata</i> (diato)	1,8
		<i>Trachelomona volvocinopsis</i> (eugle)	

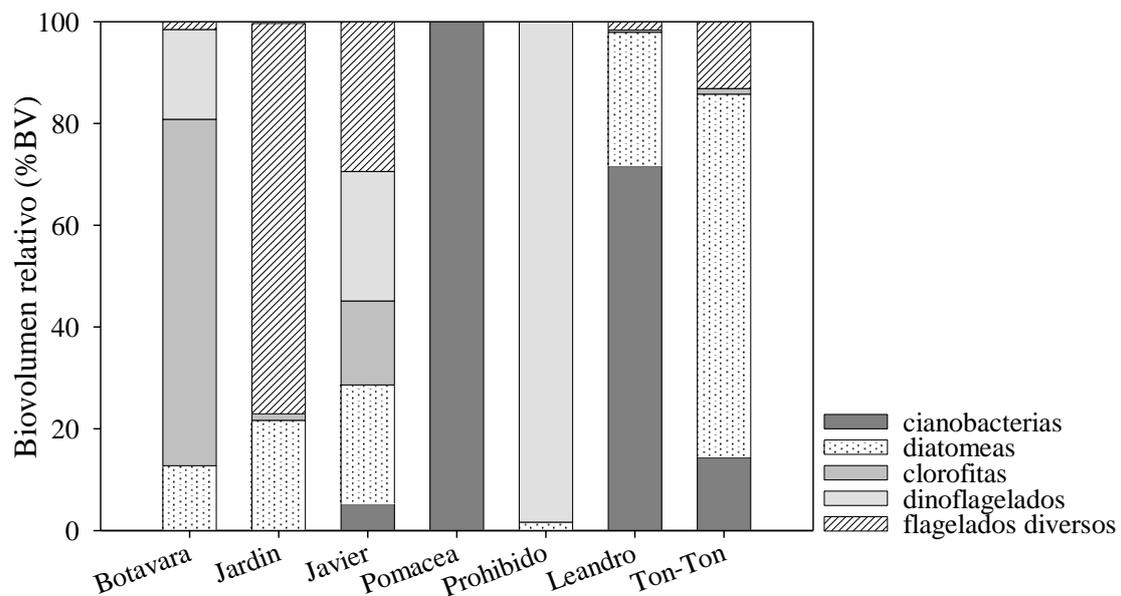


Figura 3. Biovolumen relativo de los grupos taxonómicos de fitoplancton presentes en cada lago. Flagelados diversos incluye a criptofitas, crisofitas y euglenofitas.

Experimentos de enriquecimiento con nutrientes. En todos los tratamientos se observó un aumento de la abundancia del fitoplancton respecto a la del ambiente. La absorbancia a 750 nm se correlacionó con las medidas de clorofila *a in vivo* ($r = 0,800$; $p < 0,001$). Dado que se obtuvo mayor número de observaciones para turbidez (750 nm) que para clorofila *a*, el análisis de los resultados se realizó utilizando el primero.

La concentración inicial de NID y PRS de los lagos Javier y Leandro fue diferente, así como también la respuesta de las comunidades frente a los enriquecimientos. El Lago Javier, inicialmente presentó una mayor concentración de NID y menor concentración de PRS que Leandro (Tabla I). La

respuesta de la comunidad del lago Javier no tuvo diferencias significativas, respecto al control, en la turbidez total ni en las fracciones menor y mayor a 10 μm frente a los tratamientos al final de los experimentos. Para el Lago Leandro, las diferencias fueron significativas en ambos tratamientos (Tabla IV). La turbidez total al final de la incubación fue significativamente mayor en el tratamiento con N respecto al control y al tratamiento con P. El mismo resultado se obtuvo para la fracción de mayor tamaño y se constató mediante microscopía que contenía cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Sin embargo, en la fracción de menor tamaño la turbidez aumentó significativamente sólo en el tratamiento con P.

Tabla IV. Resultados de ANOVA de una vía para los experimentos con el lago Leandro para cada tratamiento: enriquecimiento con nitrógeno (N), enriquecimiento con fósforo (P) y control (C). Valores F y p del post-hoc para turbidez: total (T total), menor a 10 μm (T <10 μm) y mayor a 10 μm (T >10 μm). NS: no significativo (significancia $p < 0,05$).

T total		C	N	P
F=20,21; p=0,002				
C		-	0,015	NS
N		0,015	-	0,003
P		NS	0,003	-
T <10 μm		C	N	P
F=13,07; p=0,010				
C		-	NS	0,015
N		NS	-	0,040
P		0,015	0,041	-
T >10 μm		C	N	P
F=16,86; p=0,006				
C		-	0,007	NS
N		0,007	-	0,040
P		NS	0,040	-

Discusión

En este trabajo se encontraron diferencias importantes en la composición y la contribución relativa de diferentes grupos de la comunidad de fitoplancton de siete lagos subtropicales de similar origen, cuenca y estado trófico. Tales sistemas se clasificaron según su estado trófico entre mesoeutróficos e hipereutróficos. Algunos lagos presentaron dominancia de cianobacterias el día del muestreo (invierno), lo que refleja la tolerancia de estos organismos a temperaturas bajas en esta latitud. También se registraron casos de predominancia de clorofitas, dinoflagelados y diatomeas. Dentro de las cianobacterias, se

destacaron las especies *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Microcystis aeruginosa*, asociadas tradicionalmente a altas temperaturas (Paerl & Huisman 2008). Sin embargo, se encontraron, y en el caso de *M. aeruginosa* en alta abundancia, a temperaturas comprendidas entre 11,0 y 12,4 °C. Los resultados, en base al ACC sin Pomacea, reflejaron que la disponibilidad de nitrógeno y el ambiente lumínico fueron las variables más importantes en determinar la composición y biomasa fitoplanctónica de los lagos. Los experimentos de enriquecimiento mostraron que la fracción de la comunidad > 10 μm del lago Leandro respondió favorablemente ante un incremento de nitrógeno. La respuesta fue, en parte,

debida al crecimiento de cianobacterias incluyendo aquellas fijadoras de nitrógeno. Es de destacar que si bien Leandro no se encontraba limitado por N, la relación NID/PRS fue cercana a valores de limitación por este nutriente. Por otro lado, en el ACC sin Pomacea, las variables ambientales que explicaron las diferencias en la estructura de la comunidad fitoplanctónica fueron la concentración de NO_3 y el índice Zeu/Zm. Este último parámetro es indicador de la luz que reciben los organismos, a la vez que está condicionado por la morfometría del sistema. Los nutrientes y la luz han sido descritos por otros autores como factores condicionantes para el desarrollo de floraciones de cianobacterias (Huisman *et al.* 1999, Chen *et al.* 2003).

Todos los lagos estudiados son polimícticos y la mayoría tuvieron Zeu/Zm < 1. Por lo tanto los organismos estarían sometidos a largos períodos de sombra a la vez que tendrían acceso a nutrientes que provienen del sedimento. Estas condiciones favorecerían la predominancia de organismos con rasgos morfológicos que maximicen la eficiencia de captación de energía lumínica y permitan utilizar fuentes de energía alternativas a la luz (Reynolds 2006). En Botavara, lago profundo, polimíctico y de menor relación Zeu/Zm, los grupos dominantes fueron clorofitas unicelulares y dinoflagelados. Las clorofitas unicelulares encontradas (*Staurastrum* sp.) presentan prolongaciones que aumentan su relación superficie volumen y por lo tanto la captación de luz. Otros organismos predominantes fueron dinoflagelados, con capacidad fagotrófica (Reynolds 2006). En Pomacea, con similar relación Zeu/Zm, mayor concentración de nutrientes y mayor turbidez que Botavara, predominó *M. aeruginosa*. Esta es una cianobacteria colonial de gran tamaño, con mucílago y aerotopos, capaz de regular su posición en la columna de agua y ubicarse cercana a la superficie (Oliver & Ganf 2000). La amplia dominancia de *M. aeruginosa* pudo estar relacionada además, con la mayor vulnerabilidad a la estratificación de este sistema. Pomacea presenta un Le bajo en comparación con los demás lagos y además existe una cortina arbórea importante que lo repara del viento en esa dirección. Un eventual período de estratificación más largo podría haber facilitado la supervivencia de gran parte de la población estival de *M. aeruginosa*, permitiéndole dominar aun en condiciones adversas (invierno y mezcla completa de la columna de agua). De esta manera, la presencia de *M. aeruginosa* estaría fuertemente condicionada por la estabilidad de la columna de agua, en concordancia con trabajos previos (Reynolds *et al.* 2002, Ehrenhaus & Vigna 2006). Al mismo tiempo, *M. aeruginosa* es capaz de mantener colonias de

resistencia y desarrollarse cuando las condiciones son favorables (Bloomberg & Blomqvist, 2002).

En cuanto a los lagos con menor profundidad y similar ambiente lumínico, Jardín, Prohibido y Ton-Ton presentaron dinoflagelados, criptofitas y diatomeas coloniales. En contraste, las comunidades de los lagos someros, con la zona eufótica cercana o igual a la profundidad del lago (profundidad de mezcla), estuvieron codominadas por dinoflagelados o diatomeas junto con cianobacterias filamentosas o coloniales. Esta fue la situación en Javier y en Leandro, donde *C. raciborskii* estuvo junto a *Microcystis aeruginosa* y *Coelomorion tropicalis* respectivamente.

Las cianobacterias fueron más abundantes en sistemas con mayor disponibilidad de nitrógeno con respecto al fósforo (Fig. 2). Sin embargo, Kosten y colaboradores (2009) no encontraron una relación directa entre la presencia de cianobacterias y el cociente NID/PRS, en un gradiente latitudinal en Sudamérica. A su vez, nuestros resultados se contradicen con los reportes previos para cianobacterias en general y particularmente para aquellas fijadoras de nitrógeno atmosférico (Schindler *et al.* 2008). Tradicionalmente se asocia a *Cylindrospermopsis* con valores bajos de NID/PRS y Zeu/Zme (Padisák 1997, Reynolds 2006). La fijación de N atmosférico tiene importantes limitaciones energéticas. Se estima que el aporte de N por fijación es cercano al 10 % de la demanda total en ambientes con floraciones (Présing *et al.* 1999; Ferber *et al.* 2004). Por lo tanto, la fijación de N_2 será posible en sistemas deficientes en NID epilimnético y bentónico y ricos en PRS disponible, dado que todas las cianobacterias acceden a fuentes profundas de NH_4 regulando su flotación (Oliver & Ganf 2000, Ferber *et al.* 2004).

En condiciones de exceso de nutrientes, los factores más importantes en determinar la estructura de la comunidad serían la profundidad máxima y el ambiente lumínico (Chen *et al.* 2003). Esto podría explicar lo observado en los lagos Pomacea y Jardín, que se asemejan en su alta concentración de nutrientes y se diferencian en su morfometría y su ambiente lumínico.

Según los antecedentes se espera que el fósforo sea el nutriente limitante en los lagos templados (Lewis 2000). Según los datos de campo de este trabajo sobre lagos subtropicales, el nitrógeno es el potencial limitante. Los bioensayos fueron efectuados a una temperatura sensiblemente mayor a la medida en los lagos. La temperatura podría tener un efecto mayor que la adición de N sobre el crecimiento de la fracción de mayor tamaño. Sin embargo, ni en la adición de P ni en los

controles, el aumento de temperatura provocó la misma respuesta. Además, se esperaría que los organismos de menor tamaño tuvieran un crecimiento más rápido, sin embargo, éste fue significativamente menor en el tratamiento con N. Por lo tanto, se considera válido asumir que el nitrógeno sería el nutriente limitante. Este resultado además coincide con trabajos que proponen a este nutriente como condicionante de la producción primaria en latitudes intermedias (Unrein 2002, Aubriot *et al.* 2005, Huszar *et al.* 2006, Kosten *et al.* 2009). Si bien en los experimentos la totalidad de la comunidad presentó crecimiento, hubo respuestas dispares en las diferentes fracciones, con la adición de nitrógeno. Estudios previos han demostrado que la disponibilidad de nitrógeno y fósforo, la elevada temperatura y la baja accesibilidad a la luz son críticos para el desarrollo de floraciones de cianobacterias (Havens *et al.* 2003, Paerl & Huisman 2008). Estas observaciones coinciden con las realizadas en nuestro estudio, a lo que se agrega que grupos morfológicamente distintos pueden responder de forma diferencial a un nutriente determinado. Cabe resaltar que sólo se extrajo el zooplancton mayor a 200 µm, pudiendo haber un efecto de depredación selectiva del zooplancton pequeño que favorezca el crecimiento del fitoplancton de mayor tamaño. Sinistro y colaboradores (2007) no encontraron efecto de herbivoría sino a las 72 horas de ensayo, sin embargo, realizaron sus experimentos a una temperatura menor, entre 17 y 24°C.

Nuestros resultados ambientales y experimentales mostraron que las cianobacterias fueron el grupo más favorecido ante un incremento en la disponibilidad de nitrógeno. Incluso se observó un crecimiento importante de las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (*C. raciborskii*). Estudios previos indican que la fijación de nitrógeno por parte de cianobacterias puede estar ausente incluso en presencia de heterocitos (Tucci & Sant'Anna 2003, Ferber *et al.* 2004). Además *Cylindrospermopsis* no fija nitrógeno en presencia de NH₄ dado que éste bloquea la actividad de la nitrogenasa (Ventila & El-Shehawy 2007) y la gran afinidad del organismo por este sustrato (Tucci & Sant'Anna 2003). En nuestros lagos la concentración de NH₄ fue alta, por lo que es altamente probable que *Cylindrospermopsis* no estuviese fijando nitrógeno atmosférico y por tanto un aumento en el recurso estimularía su crecimiento.

Algunos autores plantean que la temperatura es el segundo factor en importancia después de la concentración de nutrientes en determinar la aparición de floraciones de cianobacterias como *Microcystis* (Pearl & Huisman 2008, Imai *et al.*

2009). Las temperaturas de crecimiento para *C. raciborskii* y *M. aeruginosa* en la naturaleza son, en general, superiores a 15 y 18 °C respectivamente (Padisák 1997, Chen *et al.* 2003, Maia-Barbosa *et al.* 2003, Wiedner *et al.* 2007, Crossetti *et al.* 2008). Sin embargo, en nuestro estudio la temperatura máxima fue de 12,4 °C. En el caso del lago Pomacea, la presencia masiva de *M. aeruginosa* a pesar de la baja temperatura, pudo estar favorecida por la ausencia de grandes herbívoros (Matveev *et al.* 1994, Jacoby *et al.* 2000) además de la alta relación Zeu/Zm, la alta carga de nutrientes, la historia del sistema y las adaptaciones de esta especie, como se menciona anteriormente. Nuestros resultados coinciden con los realizados por Ehrenhaus & Vigna (2006), quienes reportaron floraciones de *M. aeruginosa* en un lago hipereutrófico urbano a temperaturas de hasta 9,2 °C.

En algunos de los sistemas (Javier y Leandro) la predominancia de cianobacterias no estuvo asociada a una disminución de la diversidad como sería de esperar. Otros autores relacionan el impacto en la diversidad con la estrategia de vida de la especie predominante. Los filamentos finos de *C. raciborskii* producen menos sombreado que las colonias de *Microcystis*, permitiendo una mayor diversidad (Tucci & Sant'Anna 2003). Además, la morfometría de estos lagos los hace muy vulnerables a la mezcla, favoreciendo a especies nanoplanctónicas con altas tasas de crecimiento (Reynolds 2006). Otro de los factores que podría estar favoreciendo la diversidad es la baja temperatura, permitiendo la coexistencia de especies mejor adaptadas a estas condiciones (Tilman *et al.* 1986).

Nuestro estudio abarca un número limitado de sistemas y sólo fue realizado en invierno. Sin embargo, combina el muestreo de los sistemas y la experimentación con comunidades naturales. La experimentación permite trabajar en condiciones controladas, evaluar respuestas potenciales y brindar aproximaciones más acertadas en la evaluación de posibles riesgos ambientales. Los resultados muestran que el incremento en el aporte de nitrógeno favorecería el desarrollo de cianobacterias. Sería importante la realización de monitoreos anuales de nuevos sistemas en conjunto con experimentos que evalúen el efecto combinado del aumento de temperatura y nutrientes. Así podrían revelarse aspectos clave para la predicción de los efectos concomitantes de eutrofización y cambio climático sobre el desarrollo de floraciones de cianobacterias potencialmente tóxicas. Asimismo aportaría al conocimiento de la expansión de especies tropicales como *Cylindrospermopsis*

raciborskii.

Agradecimientos

Los autores agradecen a A. Britos, C. Callejas, D. Ramírez, G. Pérez, I. Alvial, J. Gil, M. Laux, S. Martínez, V. Endo por su participación durante el muestreo y el análisis de las muestras y a D. Antoniades por las correcciones de inglés. Este trabajo fue financiado por Facultad de Ciencias-Universidad de la República, PEDECIBA, SNI y ANII. Agradecemos al editor D. Calliari y a los tres revisores anónimos por sus aportes.

Bibliografía

- Aubriot, L., Conde, D., Bonilla, S., Hein, V. & Britos, A. 2005. Vulnerabilidad de una laguna costera en una Reserva de Biosfera: indicios recientes de eutrofización. En: Vila, I. & Pizarro, J. (Eds.). **Taller Internacional de Eutrofización de Lagos y Embalses**. CYTED XVIIIB. Patagonia Impresores Chile, 65-85 p.
- APHA (American Public Health Association) 1995. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. APHA/AWWA/WPCF, Washington, D.C. 1268 p.
- Bottrel, H. H., Duncan, A., Gliwicz, Z. M., Grygierek, E., Herzig, A., Hillbright-Ilkowska, A., Kurasawa, H., Larsson, P. & Weglenska, T. 1976. A review of some problems in zooplankton production studies. **Norwegian Journal of Zoology**, 24: 419-456.
- Bloomberg, A.-K. & P. Blomqvist, 2002. Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions. **Journal of Plankton Research**, 24(11): 1247-1252.
- Chen, Y., Qin, B., Teubner, K. & Dokulil, M. T. 2003. Long-term dynamics of phytoplankton assemblages: *Microcystis*-domination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. **Journal of Plankton Research**, 25: 445-453.
- Crossetti, L. O. & Bicudo, C. de M., 2008. Adaptations in phytoplankton life strategies to imposed change in a shallow urban tropical eutrophic reservoir, Garças Reservoir, over 8 years. **Hydrobiologia**, 600:267-282.
- El País digital** (Mayo 22 a Junio 22) - Publicación Word Wide Web, accesible en http://www.elpais.com.uy/10/03/02/Tiempo/ciudad_UY_Mon.asp (último acceso 05/10/2009).
- Ehrenhaus, C. & Vigna, M. S. 2006. Changes in the phytoplankton of Lake Planetario after restoration process. **Darwibiana**, 44: 319-328.
- Ferber, L. R., Levine, S. N., Lini, A. & Livingston, G. P. 2004. Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen? **Freshwater Biology**, 49: 690-708.
- Havens, K., James, T. R., East, T. L. & Smith, V. H. 2003. N:P ratios, light limitation and cyanobacterial dominance in a sub-tropical lake impacted by non-point source nutrient pollution. **Environmental Pollution**, 122: 379-390.
- Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U. & Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of Phycology**, 35: 403-424.
- Huisman, J., van Oostveen, P. & Weissing, F. J. 1999. Species dynamics in phytoplankton blooms: incomplete mixing and competition for light. **The American Naturalist**, 154: 46-48.
- Huisman, J. & Hulot F. D. 2005. Population dynamics of harmful cyanobacteria. Pp. 143-176. En: J. Huisman, H. C. Matthijs, P. M. Visser (Ed.). **Harmful Cyanobacteria**, Springer Netherlands, 534 p.
- Hülsmann, S., Rinke, K. & Mooij, W. M. 2005. A quantitative test of the size efficiency hypothesis by means of a physiologically structured model. **Oikos**, 110: 43-54.
- Huszar, V. L., Caraco, N. F., Roland, F. & Cole, J. 2006. Nutrient-chlorophyll relationships in tropical-subtropical lakes: Do temperate models fit? **Biogeochemistry**, 79: 239-250.
- Imágenes satelitales Google Earth - Word Wide Web, accesible en <http://www.googleearth.com> (último acceso 11/11/2008).
- Imai, H., Chang, K.-H., Kusaba, M., & Nakano, S.-i. 2009. Temperature-dependent dominance of *Microcystis* (Cyanophyceae) species: *M. aeruginosa* and *M. wesenbergii*. **Journal of Plankton Research**, 31: 171-178.
- ISO 10260, 1992. **Water Quality Mmeasurement of Biochemical Parameters Spectrophotometric Determination of Chlorophyll-a Concentration**. Geneva, Switzerland, ISO (E), 6 p.
- Jacoby, J., Collier, D., Welch, E. B, Hardy, F. J. & Crayton, M. 2000. Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 57: 231-240.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Mazzeo, N., Meerhoff, M., Branco, C.C., Huszar, V. & Scasso, F. 2005. Lake restoration and biomanipulation in temperate lakes: relevance for subtropical and tropical lakes. Pp. 331-349. En: Reddy, V. (Ed.). **Restoration and Management of Tropical Eutrophic Lakes**. Science Publishers, Inc., New Hampshire, 534 p.
- Kosten, S., Huszar, V., Mazzeo, N., Scheffer, M., Sternberg, L. & Jeppesen, E. 2009. Running

- head: Nutrient limitation across latitudes. Lake and watershed characteristics rather than climate influence nutrient limitation in shallow lakes. **Ecological Society of America**, 19: 1791-1804.
- Kruk, C. & De León, L. 2002. Asociaciones de fitoplancton en lagos y embalses del Uruguay: validación y aplicación a la gestión de sistemas acuáticos. Pp. 143-155. En: Fernández-Cirelli, A. & Chalar, G. (Eds.). **El agua en Iberoamérica: de la limnología a la gestión en Sudamérica**. CYTED XVII y CETA, Buenos Aires, Argentina, 174 p.
- Lepš, J. & Šmilauer, P. 2003. **Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO**. Cambridge University Press, United Kingdom, 269 p.
- Lewis, W.M. Jr. 2000. Basis for the protection and management of tropical lakes. **Lakes and Reservoirs: Research and Management**, 5: 35-45.
- McCauley, E. 1984. The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples. Pp. 228-265. En: Downing, J. A. & Riegler, F. H. (Eds.). **A manual on Methods for the Assessment of Secondary Productivity in Freshwaters**, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, 358 p.
- Maia-Barbosa, P.M., Eskinazi-Sant'anna, E.M. & Barbosa, F.A.R., 2003. Zooplankton composition and vertical distribution in a tropical, monomitic lake (Lake Dom Helvécio, Southeast Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensia**, 15: 65-74.
- Matveev, V., Matveeva, L. & Jones, G. 1994. Study of the ability of *Daphnia carinata* to control phytoplankton and resist cyanobacterial toxicity: Implications for biomanipulation in Australia. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, 45: 889-904.
- Meerhoff, M. 2006. The structuring role of macrophytes on trophic dynamics of shallow lakes under a climate warming scenario. **PhD Thesis**. University of Aarhus and Dept. of Freshwater Ecology, NERI. National Environmental Research Institute, Aarhus, Denmark, 156 p.
- Oliver, R. & Ganf, G. 2000. **Freshwater Blooms. The Ecology of Cyanobacteria**. B. Whitton and M. Potts. Dordrecht, Kluwer Academic Press, 668 p.
- Padisák, J. 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynka) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. **Archiv für Hydrobiologie**, 107: 563-593.
- Padisák, J. & Reynolds, C. 2006. Shallow lakes: the absolute, the relative, the functional and the pragmatic. **Hydrobiologia**, 506-509: 1-11.
- Paerl, H. W. & Huisman, J. 2008. Blooms like it hot. **Science**, 320: 57-58.
- Paerl, H. W. & Huisman, J. 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. **Environmental Microbiology Reports**, 1: 27-37.
- Paggi, J. C & J. De Paggi, S. 1974. Primeros estudios sobre el zooplancton de agua lólicas del Paraná medio. **Physis**, 33: 91-114.
- Peeters, E. T. 2001. Benthic macroinvertebrates and multiple stressors: Quantification of the effects of multiple stressors in field, laboratory and model settings. **PhD Thesis**. Wageningen University, The Netherlands, 168 p.
- Présing, M., Herodek, S., Vörös, L., Preston, T. & Abrusan, G. 1999. Nitrogen uptake by summer phytoplankton in Lake Balaton. **Archiv für Hydrobiologie**, 145: 93-110.
- Reynolds, C. S. 1984. **The Ecology of Freshwater Phytoplankton**. Cambridge University, London, 384 p.
- Reynolds, C. S. 1992. Dynamics, selection and composition of phytoplankton in relation to vertical structure in lakes. **Archiv für Hydrobiologie Ergebnisse der Limnologie**. 35: 13-31.
- Reynolds, C. S., Huzar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, N., & Melo, S. 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Phytoplankton Research**. 24: 417-428.
- Reynolds, C. S. 2006. **Ecology of Phytoplankton**. Cambridge University Press, London, 552 p.
- Salas, H. & Martino, P. 1990. **Metodologías simplificadas para la evaluación de eutrofización en lagos cálidos tropicales**. Programa Regional CEPIS/HPE/OPS, 51 p.
- Scasso, F., Mazzeo, N., Gorga, J., Kruk, C., Lacerot, G., Clemente, J., Fabian, D. & Bonilla, S. 2001. Limnological changes in a sub-tropical shallow hypertrophic lake during its restoration: two years of a whole-lake experiment. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, 11: 31-44.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gagnani, A., Mur, L. R. & van Nes, E. H. 1997. On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. **Ecology**, 78: 272-282.
- Schindler, D., Hecky, R., Findlay, D., Stainton, M., Parker, B., Paterson, M., Beaty, K., Lyng, K. & Kasian, S. 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: 11254-11258. Accesible en <http://www.pnas.org/content/>

105/32/11254 (último acceso 05/10/2009).

Sinistro, R., Sánchez M. L., Marinone, M. C., Izaguirre, I. 2007. Experimental study of the zooplankton impact on the trophic structure of phytoplankton and the microbial assemblages in a temperate wetland (Argentina). **Limnologica**, 37: 88-99.

Spoturno, J., Oyhantçabal, P., Goso, C., Aubet, N., Casaux, S., Huelmo, S. & Morales, E. 2004. Memoria Explicativa, Carta Geológica y de Recursos Minerales del Departamento de Canelones a escala 1:100.00. PROYECTO CONYCIT 6019 - Fondo Clemente Estable.

Spoturno, J., Oyhantçabal, P., Goso, C., Aubet, N., Casaux, S., Huelmo, S. & Morales, E. 2004. Memoria Explicativa, Carta Geológica y de Recursos Minerales del Departamento de Montevideo a escala 1:50.00. PROYECTO CONYCIT 6019 - Fondo Clemente Estable.

Strickland, J. D. & Parsons, T. R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. **Bulletin Fisheries Research Board of Canada**, 167: 207-211.

ter Braak, C. J. & Smilauer, P. 1998. CANOCO Reference Manual and User's Guide to Canoco for Windows: Software for canonical Community Ordination (version 4). **Microcomputer Power, Ithaca, New York, USA**, 352 p.

Tilman, D., Kiesling, R., Sterner, R., Kilham, S. S. & Johnson, F. A., 1986. Green, blue-green and diatom algae: taxonomic differences in competitive ability for phosphorus, silicon, and nitrogen. **Archiv für Hydrobiologie**, 106: 473-485.

Tucci, A. & Sant'Anna, C. 2003.

Cylindrospermopsis raciborskii (Wolosynska) Seenayya & Suba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, 26: 97-112.

Unrein, F. 2002. Changes in phytoplankton community along a transversal section of the Lower Paraná floodplain, Argentina. **Hydrobiologia**, 468: 123-134

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitteilungen. Internationale Vereinigung fuer theoretische und angewandte Limnologie**, 9: 1-38.

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

Vintila, S. & El-Shehawy, R. 2007. Ammonium ions inhibit nitrogen fixation but do not affect heterocyst frequency in the bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena* strain AV1. **Microbiology**, 153: 3704-3712.

Vidal, L. & Kruk, C. 2008. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in uruguayan eutrophic lakes. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, 3: 142-151.

Viner A. B., 1984 Resistance to mixing in New Zealand lakes. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, 18: 73-82.

Wiedner, C., Rücker, J., Brüggemann, R. & Nixdorf, B. 2007. Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. **Oecologia**, 152: 473-484.

Received September 2009

Accepted February 2010

Published online July 2010