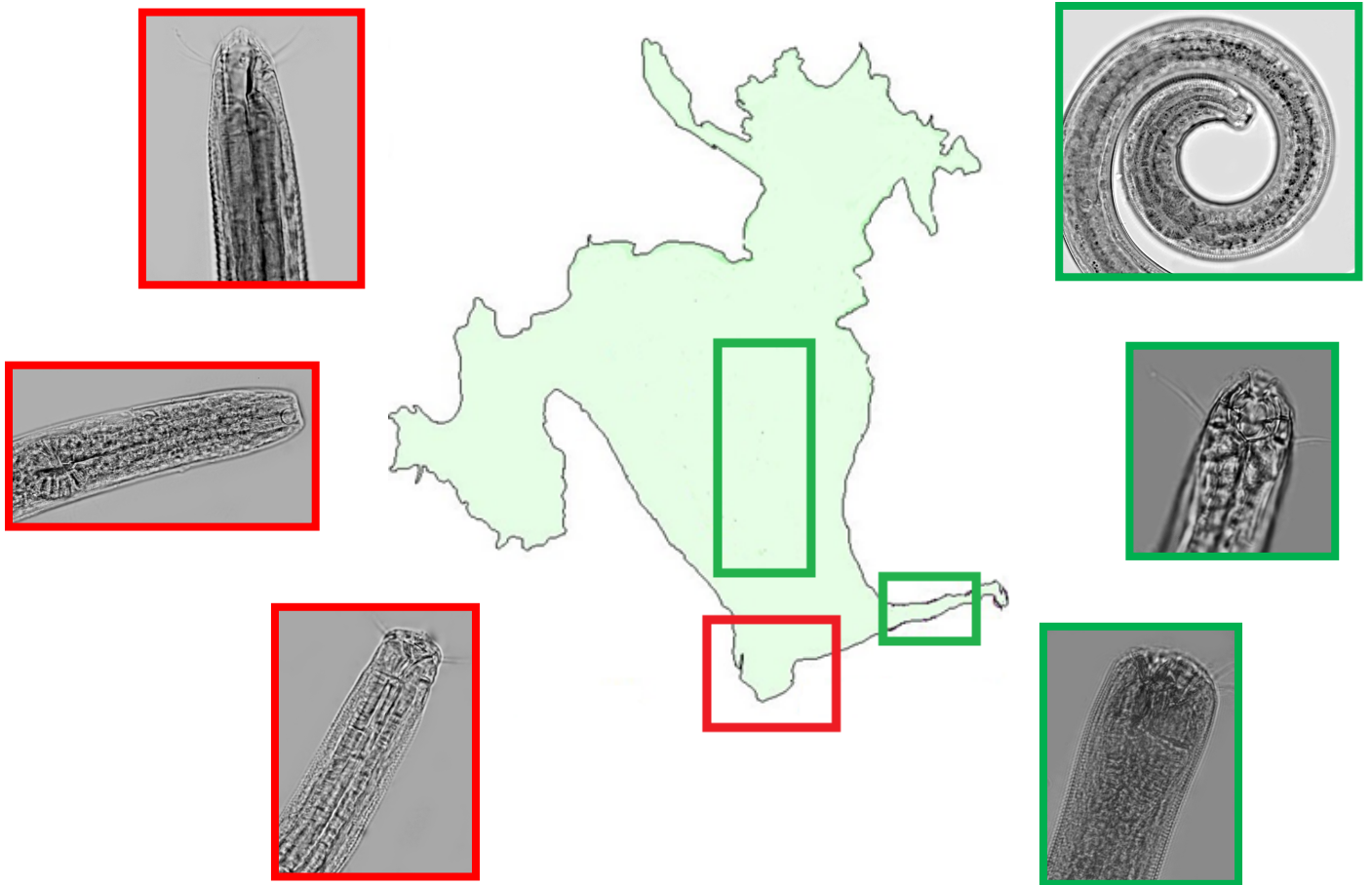


Universidad de la República

Facultad de Ciencias

Tesis de Doctorado

Ecología de nematodos de vida libre de la Laguna de Rocha y su potencialidad como indicadores de enriquecimiento orgánico



Noelia Kandratavicius

Montevideo, 2020



# Ecología de nematodos de vida libre de la Laguna de Rocha y su potencialidad como indicadores de enriquecimiento orgánico

Doctorado PEDECIBA Biología

Sub área Ecología

Noelia Kandratavicius (nkandra@fcien.edu.uy)

Orientador: Dr. Pablo Muniz (pmmaci@fcien.edu.uy)

Co-orientador: Dra. Catalina Pastor de Ward (catalinapastor@gmail.com)

## “No te rindas”

*No te rindas, aún estás a tiempo  
De alcanzar y comenzar de nuevo,  
Aceptar tus sombras,  
Enterrar tus miedos,  
Liberar el lastre,  
Retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,  
Continuar el viaje,  
Perseguir tus sueños,  
Destrabar el tiempo,  
Correr los escombros,  
Y destapar el cielo.*

*No te rindas, por favor no cedas,  
Aunque el frío queme,  
Aunque el miedo muerda,  
Aunque el sol se esconda,  
Y se calle el viento,  
Aún hay fuego en tu alma  
Aún hay vida en tus sueños.*

*Porque la vida es tuya y tuyo también el deseo  
Porque lo has querido y porque te quiero  
Porque existe el vino y el amor, es cierto.  
Porque no hay heridas que no cure el tiempo.*

*Abrir las puertas,  
Quitar los cerrojos,  
Abandonar las murallas que te protegieron,  
Vivir la vida y aceptar el reto,  
Recuperar la risa,  
Ensayar un canto,  
Bajar la guardia y extender las manos  
Desplegar las alas  
E intentar de nuevo,  
Celebrar la vida y retomar los cielos.*

*No te rindas, por favor no cedas,  
Aunque el frío queme,  
Aunque el miedo muerda,  
Aunque el sol se ponga y se calle el viento,  
Aún hay fuego en tu alma,  
Aún hay vida en tus sueños*

*Porque cada día es un comienzo nuevo,  
Porque esta es la hora y el mejor momento.  
Porque no estás solo, porque yo te quiero.*

*Mike Nere*



## AGRADECIMIENTOS

Cada etapa de la vida nos sorprende y deja mil enseñanzas, esta etapa fue un desafío lleno de altibajos con alegrías, obstáculos, crecimiento personal, energía, cansancio, un sinfín de momentos y sentimientos opuestos y a su vez complementarios.

Lo constante en esta etapa ha sido mi mayor riqueza y fortaleza que es el amor y apoyo recibido, por eso una vez más tengo muchos GRACIAS para decir...

A mis viejos, cada vez más viejitos y más presentes, siempre firmes sosteniéndome con su amor que es más fuerte que todos sus achaques juntos, que decirles, no existen palabras para agradecerles, este logro es suyo como lo es mío, es NUESTRO, mi amor infinito para ustedes.

A Robert “*mi negrito bello*”, sos un gran compañero no hay palabras para decirte lo afortunada que soy de tenerte en mi vida, contigo descubrí un nuevo sentido para la palabra amor.

En este camino he tenido la suerte de recibir el apoyo incondicional de mis amig@s, cual Roberto Carlo “*tengo un millón de amigos*”, mi mayor tesoro, mi mejor reflejo, mi familia elegida:

Mis adoradas *biólogas*: Cece, Maca, Pao, Any, Karen, Eli, Anita, Naty, el cierre de esta etapa coincide con nuestros 20 años de amistad, de hermandad, el obsequio más grande que esta carrera me pudo dar, juntas hemos crecido llorado, reído, ganado y perdido, pero sobre todo construido una hermosa familia en expansión. ¡Las adoro hasta el infinito!

Mis queridos *Borrachines del BPS*: Adri, Mai, Seba, Fer y mis queridas *Locas*: Naty, Mica, Camy y Leito, quien diría que el deporte podía dejar en tan buena forma el corazón, ustedes sin dudas hacen que el mío este cada día mejor, gracias por estar siempre, por ser cómplices de la locura!

Adorada Gra! Gracias por tu generosidad, amor, energía, paz, por siempre tener una palabra sincera, sabes que ocupas un lugar muy especial en mi corazón y que agradezco haber encontrado primero una excelente docente y después a una inmensa persona y amiga.

Gaby gracias por tantos años de apoyo y cariño, por estar dándole luz y paz a los momentos oscuros, afortunada de tenerte cerca, te admiro por tu fortaleza y generosidad.

Marcel, Adri y Caro: muchas veces lo profesional y la magia se unen y te encontras esas personas únicas con las que surge una conexión especial. En ustedes tengo los mejores colegas que se puede

elegir y unos grandes amigos, es un placer compartir lo profesional y lo personal. Gracias por ser un apoyo constante y soportarme, les ha tocado un trabajo muy duro en este último tiempo!!

Dicen que *si te dedicas a lo que te gusta, no trabajarás ni un solo día*. En parte esto se debe a que tengo la suerte de compartir con un gran equipo de personas, a las que les estoy agradecida por todo su apoyo y ayuda. El equipo de Oceanografía somos todos, los nuevos, los viejos y los más viejos, los que formaron parte del equipo y los que lo forman ahora: Alicia (mi querida *Doctora. AAA*), Otolito, Come, Naty, Pablo, Felo, Matías, Adri, Caro, Marcel, Maru, Jenny, Sofí, María Elena, Matilde, Leandro, Carolina F., Analía, Anita, Karen, Laurita, María Elena B, Marisa, Andrea, Marito, Camila, Loreley, Irene, Ángel, Viviana. En especial quiero agradecer a Marcel, Laurita, Adriana, Matías, Analía, Pablo y Karen por su ayuda en el trabajo de campo y de laboratorio.

A mis tutores Catalina y Pablo, mi agradecimiento y admiración por su generosidad y apoyo constante, por aceptar el desafío de compartir su conocimiento de forma desinteresada y estimular mi crecimiento profesional. Este vínculo profesional trascendió a lo personal y quiero valorar y agradecer la confianza depositada, ambos no solo abrieron las puertas de sus laboratorios, sino que además abrieron las puertas de sus casas, lo que valoro enormemente. Pablo son muchos años compartidos (no conviene decir cuántos), gracias por estimular y apoyar la locura académica y no dejar de lado la locura personal, ha sido un gusto trabajar contigo!

Pelo gracias por haber sido uno de los promotores de mi vínculo con la meiofauna y los nematodos y por tu ayuda a lo largo de este camino. Invaluables tus aportes, correcciones y por tu buena disposición a pesar de la diferencia horaria y la distancia.

A la Comisión Académica de Posgrado (CAP) y a PEDECIBA Biología por la financiación de las beca de Doctorado, de finalización de doctorado y las alcúotas, sin este apoyo económico la realización de este trabajo no hubiera sido posible.

Al Tribunal Dr. Diego Lercari, Dr. Felipe García-Rodríguez y Dr. Alejandro Brazeiro por sus valiosos aportes y correcciones que contribuyeron a la mejora sustancial de este trabajo.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS .....	10
LISTA DE FIGURAS .....	11
LISTA DE TABLAS.....	13
RESUMEN.....	14
ABSTRACT .....	16
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>18</b>
1.1 Introducción general y objetivos .....	18
1.1.1 Generalidades.....	18
1.1.2 Investigaciones sobre nematodos y sus principales observaciones .....	20
1.1.3 Ecología experimental con ensamble de nematodos .....	23
1.1.4 Importancia de las lagunas costeras: Laguna de Rocha.....	23
1.2 OBJETIVO GENERAL y ESPECÍFICOS.....	26
1.3 ESTRUCTURA DE LA TESIS.....	27
<b>CAPÍTULO 2. ECOLOGÍA Y RASGOS FUNCIONALES DE LOS NEMATODOS DE VIDA LIBRE DE LA LAGUNA DE ROCHA: UN ANALISIS DE LOS PATRONES VERTICALES Y HORIZONTALES .....</b>	<b>28</b>
RESUMEN .....	28
ABSTRACT .....	29
INTRODUCCIÓN.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
Área de estudio .....	32
Diseño de muestreo y colecta de muestras .....	33
Procesamiento de muestras.....	35
Análisis de datos .....	39
RESULTADOS .....	41
<i>Matriz abiótica</i> .....	41
<i>Matriz biótica</i> .....	55
DISCUSIÓN.....	72
1. Condiciones ambientales .....	72

2. Estructura del ensamble de nematodos.....	76
CONCLUSIONES .....	83
<b>CAPÍTULO 3. RESPUESTA TRÓFICA DEL ENSAMBLE DE NEMATODOS ESTUARINOS DE VIDA LIBRE AL ENRIQUECIMIENTO ORGÁNICO: UNA APROXIMACION EXPERIMENTAL .....</b>	<b>84</b>
RESUMEN EXTENDIDO .....	84
ARTICULO COMPLETO.....	95
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>107</b>
SÍNTESIS.....	107
CONCLUSIONES GENERALES.....	111
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO I. Tablas suplementarias del Capítulo 2.....</b>	<b>132</b>
<b>ANEXO II. Lista taxonómica de especies de nematodos del Capítulo 2.....</b>	<b>137</b>
<b>ANEXO III. Tablas suplementarias del Capítulo 3.....</b>	<b>143</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
AIC	Criterio de Información de Akaike
ANOVA	Análisis de la varianza
Arena F	Arena Fina
Arena G	Arena Gruesa
Arena M	Arena M
CB	Carbono Biopolimérico
CHO	Carbohidratos
Clo a	Clorofila a
<i>c-p</i>	valor numérico asignado a los nematodos relacionado a su habilidad de colonizar o persistir en un determinado hábitat, <i>colonizadores</i> : alta tolerancia a las perturbaciones, <i>persistentes</i> : tienen una baja tolerancia
E	Externo
EA	Externo Abril
EN	Externo Noviembre
Ext	Externo
Feopig	Feopigmentos
glmm	generalized linear mixed models
Hetero	Heterogéneo
Hetero-sector	Heterogéneo en el sector
Homo	Homogéneo
I	Interno
IA	Interno Abril
IN	Interno Noviembre
Int	Interno
ITD	Índice de Diversidad Trófica
LIP	Lípidos
LR	Likelihood ratio o razón de verosimilitud
MI	Índice de Madurez
MOT	Materia orgánica total
n-MDS	Análisis de ordenación, Non metric multidimensional scaling
PRT	Proteínas
SIMPER	Análisis del porcentaje de similaridad
1A	Depositívoros selectivos
1B	Depositívoros no selectivos
2A	Comedores de superficie
2B	Predadores

## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO 2</b> .....	28
<b>Figura 1.</b> Área de estudio .....	34
<b>Figura 2.</b> Contenido de materia orgánica total (% , media $\pm$ desvío estándar).....	44
<b>Figura 3.</b> Contenido de clorofila a ( $\mu\text{g/gss}$ , media $\pm$ desvío estándar).....	45
<b>Figura 4.</b> Contenido de feopigmentos ( $\mu\text{g/gss}$ , media $\pm$ desvío estándar).....	45
<b>Figura 5.</b> Biopolímeros (Proteínas, Carbohidratos y Lípidos, media $\pm$ desvío estándar), en los sitios del sector externo e interno de Laguna de Rocha.....	46
<b>Figura 6.</b> Fracciones granulométricas (%), en los sitios del sector externo e interno de laguna de Rocha.....	49
<b>Figura 7.</b> Perfiles de oxígeno en sedimento.....	51
<b>Figura 8.</b> Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento para la campaña de noviembre.....	53
<b>Figura 9.</b> Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento para la campaña de abril.....	54
<b>Figura 10.</b> Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento superficial de ambas campañas.....	55
<b>Figura 11.</b> Proporción de los géneros más abundantes (%) discriminado por campaña y sector.....	56
<b>Figura 12.</b> Abundancia total de nematodos (media $\pm$ desvío estándar).....	58
<b>Figura 13.</b> Abundancia de los géneros <i>Anonchus</i> , <i>Anoplostoma</i> y <i>Leptolaimus</i> (media $\pm$ desvío estándar).....	60
<b>Figura 14.</b> Abundancia de los géneros <i>Terschellingia</i> , <i>Neochromadora</i> y <i>Oxystomina</i> (media $\pm$ desvío estándar).....	62
<b>Figura 15.</b> Abundancia de los géneros <i>Paralinhomoeus</i> , <i>Pseudochromadora</i> y <i>Theristus</i> (media $\pm$ desvío estándar).....	63
<b>Figura 16.</b> Abundancia de los géneros <i>Daptonema</i> , <i>Sabatieria</i> y <i>Viscosia</i> (media $\pm$ desvío estándar).....	64
<b>Figura 17.</b> Grupos tróficos (media $\pm$ desvío estándar), en los sitios del sector externo e interno de Laguna de Rocha.....	66

<b>Figura 18.</b> Valores medio $\pm$ desvío estándar de Índice de Diversidad Trófica (ITD) y de Índice de Madurez (MI).....	68
<b>Figura 19.</b> Diagrama nMDS. Análisis realizado sobre la matriz de géneros de nematodos encontrados en ambos sectores y en los tres estratos para ambas campañas.....	69
<b>Figura 20.</b> Diagrama nMDS. Análisis realizado sobre la matriz de grupos tróficos de nematodos encontrados en ambos sectores y en los tres estratos para ambas campañas.....	70
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>107</b>
<b>Figura 1.</b> Resumen de los principales hallazgos a través de los diferentes enfoques utilizados.....	110

## LISTA DE TABLAS

<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>28</b>
<b>Tabla 1.</b> Factores abióticos medidos <i>in situ</i> .....	42
<b>Tabla 2.</b> Resultados de los glmm de los parámetros fisicoquímicos de la campaña de noviembre de 2014.....	43
<b>Tabla 3.</b> Resultados de los glmm de los parámetros fisicoquímicos de la campaña de abril de 2015.....	43
<b>Tabla 4.</b> Razón proteínas/carbohidratos (PRT: CHO) y carbohidratos/lípidos (CHO: LIP), fracción de carbono biopolimérico (CB) para la campaña de noviembre.....	47
<b>Tabla 5.</b> Razón proteínas/carbohidratos (PRT: CHO) y carbohidratos/lípidos (CHO: LIP), fracción de carbono biopolimérico (CB) para la campaña de abril de 2015.....	48
<b>Tabla 6.</b> Resultado del análisis de componentes principales de las variables abióticas: A) campaña de abril (sectores y estratos), B) campaña de noviembre (sectores y estratos) y C) datos superficiales de ambas campañas (sectores). ....	52
<b>Tabla 7.</b> Lista de géneros identificados en las dos campañas, se presentan datos de abundancia total y % por sector y campaña, tipo de boca y valor de cp.....	57
<b>Tabla 8.</b> Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para la campaña de abril de 2015 de los Índice de Diversidad Trófica (ITD) y del Índice de Madurez (MI).....	67
<b>Tabla 9.</b> Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) de los géneros y grupos tróficos.....	71
<b>ANEXO I</b> .....	<b>132</b>
<b>Tabla S1.</b> Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de géneros de nematodos para la campaña de noviembre. ....	133-134
<b>Tabla S2.</b> Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de géneros de nematodos para la campaña de abril.....	135-136

## RESUMEN

Los nematodos de vida libre son usualmente el componente dominante del bentos marino y estuarino, su diversidad y abundancia son clave para el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos. La relevancia y la versatilidad del análisis de la comunidad de nematodos en el biomonitoreo del medio ambiente ya se ha demostrado en varias investigaciones oceánicas y costeras. Existen antecedentes en Uruguay de estudios sobre meiofauna y nematodos en estuarios que permitieron establecer que el grupo es dominante numéricamente y que la estructura de la comunidad es afectada por la morfología e hidrodinámica del hábitat y por las variables ambientales.

La costa uruguaya posee una importante serie de hábitats estuariales, entre los cuales se destacan las lagunas costeras. Las lagunas costeras presentan cambios muy dinámicos a nivel espacio-temporal en sus características físicas y químicas, particularmente en la salinidad y en la concentración de nutrientes. Existe un frágil equilibrio entre la dinámica física y la biota que está seriamente amenazada por procesos de eutrofización antrópica, contaminación en general y urbanización en su zona adyacente, entre otros impactos humanos causados por el uso del suelo en sus márgenes. Son sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad, sustentan importantes pesquerías que conforman un importante recurso ecológico y económico para la región. En este sentido es fundamental establecer herramientas que permitan determinar la calidad ambiental de estos ambientes estuarinos y que estos sean aplicables en el monitoreo de cambios a corto y largo plazo.

Frente a la necesidad de comprender y monitorear la calidad del ambiente estuarino, la presente tesis propone un abordaje centrado en la ecología y características funcionales de los ensambles de nematodos estuarino/marinos de vida libre de la Laguna de Rocha. Se realizaron dos abordajes: 1) descripción de patrones de biodiversidad en campo y 2) experimento de enriquecimiento orgánico y sus efectos en los ensambles de nematodos.

Se aplicaron diferentes enfoques: taxonómico (nivel de géneros) y funcionales (índice de diversidad trófica: ITD e índice de madurez: MI) para describir la estructura del ensamble en relación con el entorno abiótico. Para esto nos basamos en un esquema de muestreo en dos dimensiones espaciales: horizontal con 2 sectores (interno y externo) y vertical compuesta por 3 estratos (superficie, medio y fondo), en 12 sitios o estaciones submareales (seis externas y seis internas) y en dos épocas del año (noviembre y abril). En total, en ambas campañas, se identificaron 7720 nematodos pertenecientes a 26 géneros, 27 especies y 2 morfotipos. El ensamble de nematodos de la Laguna de Rocha estuvo

compuesto por entre 3 a 4 géneros dominantes (*Theristus*, *Nechromadora* y *Viscosia*: externo y *Nechromadora*, *Viscosia*, *Pseudochromadora* y *Theristus*: interno) y por entre 6 a 11 géneros con baja abundancia. En general hubo mayor abundancia en el sector interno, explicada por la alta disponibilidad de materia orgánica total y biopolímeros. En la dimensión vertical se observó que la abundancia total de nematodos disminuye con la profundidad. Se observaron tres respuestas a nivel de géneros: 1) ningún patrón a nivel de estrato: *Oxystomina*, *Viscosia* y *Paralinhomoeus* (segregación vertical de los nichos -coexistencia de organismos con requerimientos nutricionales similares); 2) disminución de abundancia con la profundidad: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora*, *Daptonema* y *Pseudochromadora* (la cantidad de materia orgánica y concentración de oxígeno rigen su distribución); 3) aumento de la abundancia con la profundidad: *Terschellingia*, *Sabatieria* y *Theristus* (resistentes a baja concentración de oxígeno). Los patrones comunitarios observados a nivel de géneros, grupos tróficos, e índice de diversidad trófica tanto en su dimensión horizontal (sectores) como vertical (estratos) fueron explicados principalmente por la calidad de la materia orgánica, específicamente por la frescura de la misma, así como por la concentración de oxígeno. El enfoque de rasgos biológicos o funcionales agregó información relevante a la taxonómica (nivel de géneros) con respecto a las relaciones entre los patrones de diversidad de los nematodos y los factores abióticos.

Para investigar el efecto del enriquecimiento orgánico sobre los ensamblajes de nematodos se realizó un experimento basado en microcosmos (duración = 30 días), que cuantificó los efectos del enriquecimiento orgánico en la diversidad taxonómica a nivel de géneros y funcional. El enriquecimiento condujo a reducciones en la abundancia, riqueza y diversidad trófica. Se registraron reducciones rápidas en la abundancia total (después de 4 días), mientras que la riqueza disminuyó solo hacia el final del experimento (~ 30 días). Los cambios tróficos se caracterizaron por la pérdida de depredadores/omnívoros y el predominio de los depositívoros selectivos y los comedores de superficie (*epigrowth feeders*).

El ITD mostró ser útil para evaluar patrones en los ensamblajes de nematodos en el campo y para establecer relaciones con las variables abióticas. El presente estudio apoyaría el uso del mismo para evaluar otros aspectos de las comunidades además del grado de perturbación para lo que fue propuesto originalmente.

En general, estos hallazgos pueden tener implicancia importante para la conservación y el monitoreo de las lagunas costeras, dado que, el monitoreo de los ensamblajes de nematodos a nivel de género se mostró suficiente para detectar efectos de enriquecimiento, y que el índice de diversidad trófica

constituye un buen indicador de los efectos del enriquecimiento orgánico en las comunidades naturales.

## ABSTRACT

Free-living nematodes are usually the dominant component of marine and estuarine benthos, because their diversity and abundance are key to the functioning of aquatic ecosystems and they can be used as indicators. The relevance and versatility of the analysis of the nematode community for the biomonitoring of the environment has already been detected in several oceanic and coastal investigations. Meiofaunal studies in Uruguayan estuaries established that nematodes are dominant and the structure of the community is affected by the morphology and hydrodynamics of the habitat and by environmental variables.

The Uruguayan coast contains important estuarine habitats, such as the coastal lagoons. Coastal lagoons present very dynamic spatio-temporal changes in their physical and chemical characteristics, especially in salinity and in the concentration of organic nutrients. There is a fragile balance between physical dynamics and biota that is seriously threatened by anthropogenic eutrophication processes, general pollution and urbanization in its adjacent area, among other human damages caused by land use on its margins. They are priority sites for the conservation of biodiversity, they support important fisheries that make up an important ecological and economic resource for the region. In this sense, it is essential to establish tools for assessing environmental quality of estuaries applicable to both short and long term monitoring changes.

Given the need to understand and monitor the quality of the estuarine environment, this work proposes an approach focusing on the ecology and functional of the free-living estuarine/ marine nematodes assemblages of the Rocha lagoon. Were performed two approaches: 1) description of biodiversity patterns in the field and 2) organic enrichment experiment and its effects on nematode assemblage. Taxonomical (genera identification) and functional (trophic diversity index: ITD and maturity index: MI) approaches were applied to describe the structure of the assemblage in relation to the abiotic environment based on a sampling scheme of two horizontal spatial dimensions (sectors) and vertical (strata), in 12 subtidal stations: six outer and six inner, three vertical strata (surface, middle and bottom) for two seasons: November and April. In total, in both campaigns, a total of 7720 nematodes corresponding to 26 genera, 27 species and 2 morphotypes were identified. The nematode assemblage

of the Rocha lagoon consisted of 3 at 4 dominant genera (*Theristus*, *Nechromadora* and *Viscosia*: outer and *Nechromadora*, *Viscosia*, *Pseudochromadora* and *Theristus*: inner) and of 6-11 genera with low abundance. In general, there was more abundance in the inner sector, explained by the high availability of total organic matter and biopolymers. At the vertical scale, the total abundance of nematodes decreased with depth. Three responses were observed at the genus level: 1) no pattern at the stratum level: *Oxystomina*, *Viscosia* and *Paralinhomoeus* (vertical segregation of niches - coexistence of organisms with similar nutritional requirements); 2) decrease in abundance with sediment depth: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora*, *Daptonema* and *Pseudochromadora* (the amount of organic matter and the presence of oxygen governs its distribution); 3) increase in abundance with sediment depth: *Terschellingia*, *Sabatieria* and *Theristus* (resistant to low oxygen concentration). The observed community patterns at the genus level, trophic groups, and trophic diversity index in both horizontal (sectors) and vertically dimension (strata) were explained by the quality of organic matter, specifically by its freshness, as well as by the oxygen concentration. The functional approach provides relevant additional information on nematode diversity patterns and abiotic factors relationships.

To investigate the organic enrichment effect on nematode assemblage, a microcosm experiment was performed (duration = 30 days), the effects of organic enrichment on taxonomic and functional diversity of nematodes was quantified. Enrichment led to reductions in abundance, richness and trophic diversity of the nematode assemblage. Rapid reductions in total abundance (after 4 days) was registered, while richness decreased only towards the end of the experiment (~30 days). Trophic changes were characterized by loss of predators/omnivores and dominance of selective deposit-feeders and epigrowth feeders. In contrast, we did not find any selective effect of enrichment associated with life history traits (e.g. maturity index).

The ITD is a useful tool to evaluate patterns in field nematodes assemblages (in both spatial scales) and establish relationships with the abiotic variables. The present study supports the use of this index to evaluate other aspects of the communities in addition to evaluate the degree of environmental disturbance for which it was originally proposed.

In general, these findings would have important implications for the conservation and monitoring of the health of coastal lagoons: first, monitoring of nematode assemblages at the genus level was sufficient to detect enrichment effects; second, the trophic diversity index is a good indicator of the effects of enrichment on natural communities.



# CAPÍTULO 1

## 1.1 Introducción general y objetivos

### 1.1.1 Generalidades

La meiofauna comprende a la categoría de metazoarios entre 500 y 63  $\mu\text{m}$  (Corbisier, 1993), ocupan el espacio existente entre partículas o viven en una única partícula de sedimento (Higgins & Thiel, 1988). Son miembros permanentes del bentos (no tienen fase planctónica) por lo que están en contacto directo con el sedimento durante toda su vida (Platt & Warwick, 1980; Heip et al., 1985). Debido a su pequeño tamaño y su íntimo contacto con el sedimento estos organismos son rápidamente afectados por los cambios bióticos y abióticos. La meiofauna constituye un diverso y abundante grupo que ocupa un papel clave en las redes tróficas y el ciclo de nutrientes (Moens et al., 2005; Baguley et al., 2008), ejerciendo control sobre las microalgas bentónicas, además de responder rápidamente a la proliferación de algas (García & Johnstone, 2006). La meiofauna ha sido reconocida recientemente como un útil indicador biológico de eutrofización (Zeppilli et al., 2015; Schratzberger & Ingels, 2018).

Los nematodos son usualmente el componente numéricamente dominante de la meiofauna estuarina/marina (Giere, 1993; Soetaert et al., 2002; Gheskiere et al., 2004). Presentan tiempos generacionales que varían desde pocos días a varios años. Los tiempos de generación más cortos permiten determinar cambios en la estructura de la comunidad, incluso en estudios a corto plazo y por esta razón además reaccionan rápidamente a las perturbaciones (Platt & Warwick, 1980; Tietjen & Lee 1984; Lambshead, 1986). Se encuentran en condiciones ambientales desde prístinas hasta altamente contaminadas, algunas especies son más resistentes a los contaminantes que los organismos de la macrofauna (Lorenzen et al., 1987; Hendelberg & Jensen, 1993), soportando algunos vivir incluso en condiciones anaeróbicas (Traunspurger, 2009). Ejercen en los sedimentos una variedad de roles ecológicos, tales como afectar procesos de remineralización de la materia orgánica y control ascendente en la transferencia de energía a los niveles tróficos superiores por ser un componente importante de la dieta de la macrofauna bentónica y larvas de peces. También se alimentan de organismos más pequeños (bacterias, diatomeas) y un considerable número son depredadores de otros nematodos, oligoquetos e incluso de poliquetos y además generan bioturbación de sedimentos (Giere, 2009). Los ensambles de nematodos son generalmente diversos debido a que logran realizar una buena partición de los recursos alimentarios (Platt & Warwick, 1980). Además, la colecta de muestras pequeñas es suficiente para lograr análisis estadísticamente significativos, lo que minimiza el disturbio físico en el ambiente (Platt & Warwick, 1980).

Los nematodos de vida libre presentan gran importancia práctica y científica porque su diversidad y abundancia son clave para el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos y pueden ser utilizados como indicadores de los cambios que afectan a otros organismos (Yodnarasri et al., 2008; Zeppilli et al., 2015). La relevancia y la versatilidad del análisis de la comunidad de nematodos en el biomonitoreo del medio ambiente se ha demostrado en varias investigaciones oceánicas y costeras incluyendo por ejemplo el análisis de la calidad del sedimento (Moreno et al., 2011), el impacto de metales pesados (Austen & Somerfield, 1997; Gyedu-Ababio et al., 1999; Hong et al., 2020), la extracción y derrames de petróleo (Danovaro, 2000), la piscicultura (Montagna & Harper, 1996), el turismo (Gheskiere et al., 2005a) y la proliferación de algas costeras (García & Johnstone, 2006; Baldrighi et al., 2019), entre otros. El phylum Nematoda actualmente no es utilizado oficialmente en ningún programa de monitoreo, pero parecen ser un importante componente bentónico para evaluar la salud de los ecosistemas debido a su importante papel en la dinámica trófica y las funciones de los ecosistemas (Schratzberger & Ingels, 2018; Hong et al., 2020).

A nivel mundial la escasez de profesionales expertos que trabajan con nematodos estuarino/marinos es grande, y como resultado el conocimiento suele quedar limitado a las regiones geográficas con expertos residentes. La mayoría de los estudios se han centrado en el norte del Océano Atlántico, especialmente el Báltico y Mar del Norte. También se han realizado estudios en el Mediterráneo, Golfo de México, Pacífico (centro y oeste), Océano Índico (Austen & Somerfield, 1997; García & Johnstone, 2006; Gheskiere et al., 2005a, b; Gyedu-Ababio et al., 1999; Ingole et al., 2005; Lamshead et al., 2001; Lamshead et al., 2002; Lampadariou et al., 2005; Montagna & Harper, 1996), Mar Caribe (Perez-García et al., 2009; Armenteros et al., 2010), Brasil (Vieira & Fonseca, 2013) y Chile (Neira et al., 2001). La identificación de nematodos a nivel de especies se realiza a partir de machos, por lo que está limitada por la proporción sexual de especímenes colectados ya que muchas veces son mayoritariamente juveniles y/o hembras (Platt & Warwick, 1983, 1988). Incluso cuando se encuentran machos, puede ser necesario examinar un elevado número de muestras antes de lograr la identificación de la especie. Debido a estas limitaciones, los estudios de nematodos marinos han sido reemplazados frecuentemente por estudios ecológicos donde la identificación se limita principalmente a nivel de género (o más raramente morfotipos) (Vieira & Fonseca, 2013). Sin embargo, investigaciones recientes sugieren que la identificación de géneros de nematodos constituye un adecuado e informativo nivel de resolución taxonómica que permite discriminar cambios en la estructura de las comunidades (Schratzberger et al., 2004, 2008; Moreno et al., 2011; Alves et al., 2013).

En Uruguay existen estudios sobre meiofauna y nematodos en estuarios, que corroboran que los nematodos son dominantes en la meiofauna y permitieron establecer que la estructura de la comunidad es afectada por la morfología e hidrodinámica del hábitat y por las variables ambientales (granulometría, salinidad y temperatura) (Kandratavicius, 2011; Kandratavicius et al., 2015). En una exploración cualitativa de seis estuarios se encontraron un total de 4 órdenes, 12 familias, 21 géneros, 22 especies de nematodos marinos de vida libre (Kandratavicius, 2011).

### **1.1.2 Investigaciones sobre nematodos y sus principales observaciones**

Existen distintos enfoques en las investigaciones sobre nematodos. El taxonómico constituye el abordaje más clásico que consiste en la identificación taxonómica de los organismos (generalmente al nivel de especies o géneros) (Bhadury et al., 2008; Fonseca et al., 2008). El enfoque ecológico clásico consiste en determinar los factores abióticos y bióticos que estructuran las comunidades (Steyaert et al., 2003; Hua et al., 2009; Pusceddu et al., 2009; Vieira & Fonseca, 2013). En la aproximación funcional se establecen grupos de especies o géneros que cumplen una misma función dentro del ecosistema (Schratzberger et al., 2007; Gray & Elliot, 2009). En este sentido los rasgos biológicos como los tipos de bocas que reflejan los tipos de alimentación de los nematodos permite agruparlos en grupos tróficos (Wieser, 1953). Al igual que el grado de tolerancia a la perturbación permite clasificar a los nematodos en categorías de colonización-persistencia (colonizadores: alta tolerancia a las perturbaciones, persistentes: baja tolerancia; Bongers et al., 1991).

También se trabaja experimentalmente principalmente con microcosmos de laboratorio (Coull & Chandler, 1992; Geyedu & Baird 2006; Armenteros et al., 2010), y con un enfoque filogenético para abordar las relaciones filogenéticas dentro del phylum (Meldal et al., 2007). Finalmente, las investigaciones sobre nematodos se pueden enfocar en aspectos genéticos o genética de poblaciones (Derycke et al., 2005; 2008). Investigaciones recientes también han destacado la importancia de vincular la diversidad de nematodos con el funcionamiento de los ecosistemas (Danovaro et al., 2008, Heip et al., 2009; Reiss et al., 2009), trabajando en cierta forma con el enfoque ecológico y funcional juntos.

Los enfoques taxonómico y ecológico, han permitido determinar en distintos tipos de ambientes, entre otros aspectos, la distribución espacial (horizontal y vertical) de los nematodos y establecer la relación de esta distribución con las variables ambientales tales como granulometría, salinidad, oxígeno y disponibilidad de alimento (Coull, 1999; Steyaert et al., 2003).

En este sentido, el sedimento es considerado como fuerte estructurador de las comunidades infaunales ya que la composición granulométrica puede determinar la proporción de especies presentes, incluso la profundidad a la que pueden acceder y se relaciona con la disponibilidad de alimento (Teske & Wooldridge, 2001; Ysebaert & Herman, 2003; Gray & Elliott, 2009).

Por otro lado, la salinidad también constituye un factor importante en la regulación de las comunidades, por ser por ejemplo tolerantes a la variabilidad de la salinidad en los estuarios pueden aprovechar el abundante alimento, lo que se ve reflejado en sus altas abundancias (Hourston et al., 2011).

El oxígeno es reconocido como el mayor factor estructurador de las comunidades de metazoarios de sedimentos marinos tanto en la dimensión vertical como horizontal (Fenchel, 1978; Glud, 2008). La disponibilidad de oxígeno en el compartimiento bentónico y por tanto la profundidad de la capa oxigenada, depende de la demanda del mismo en la degradación de la materia orgánica y del suministro, lo que se relaciona con la hidrodinámica del ambiente, características del sedimento y con el régimen de bioturbación (Glud, 2008). Así, los sedimentos superficiales son más oxigenados que los que están a mayor profundidad (Diaz & Rosenberg, 1995; Vieira & Fonseca, 2013).

Investigaciones sobre la distribución vertical de los nematodos y otros organismos de la meiofauna en estuarios y ambientes marinos indican que, éstos, generalmente, ocupan los primeros 2-4 cm superficiales del sedimento (Tietjen, 1969; Fleeger et al., 1995; Olafsson & Elmgren, 1997). La distribución vertical es típicamente controlada por la disminución vertical en el interior del sedimento del oxígeno, el contenido de materia orgánica, el agua intersticial y por cambios en el pH (McLachlan, 1978; Steyaert et al., 2003). Los cambios verticales en la comunidad de nematodos son abruptos, observándose en escala de pocos cm, donde generalmente disminuye la densidad y la riqueza con la profundidad dentro del sedimento (Steyaert et al., 2003).

La materia orgánica al igual que el oxígeno, juega un importante rol en ambas dimensiones espaciales (vertical y horizontal) (Olafsson & Elmgren, 1997; Schratzberger et al., 2006). El ingreso de materia orgánica al sedimento es producto del depósito de una fracción de la materia orgánica formada en la columna de agua, la cual está compuesta básicamente por una fracción lábil y una refractaria. La fracción lábil es fácilmente digerible y asimilable por los heterótrofos, es la fracción biodisponible, compuesta principalmente por los biopolímeros (carbohidratos, lípidos y proteínas) (Danovaro et al., 1993). La materia orgánica constituye la principal fuente de energía para los organismos bentónicos (Gooday, 2002; Ruhl et al., 2008). Tanto la cantidad, la composición y la calidad de la materia orgánica biodisponible influyen la productividad del sistema bentónico (Henrichs, 1992), así como la biomasa,

distribución y estructura trófica (Marsh & Tenore, 1990). En ese sentido puede ser muy informativo el uso de razones calculadas a partir de las proporciones de los biopolímeros. La razón proteínas/carbohidratos (PRT/CHO) es utilizada como indicadora del estado de degradación de la materia orgánica y la razón carbohidratos/lípidos (CHO/LIP) como indicadora de su valor energético (Galois et al., 2000).

Se ha observado que las altas concentraciones de materia orgánica en sedimentos finos promueven la dominancia de nematodos oportunistas depositívoros y de comedores de superficie (“epigrowth feeders”) ya que aprovechan el exceso de materia orgánica y la producción primaria de las diatomeas (Tietjen, 1969; Schratzberger & Warwick, 1999; Armenteros et al., 2010). Pusceddu et al. (2009) encontraron que las diferencias en la composición bioquímica de los sedimentos estuvieron reflejadas en cambios en la estructura trófica del ensamble de nematodos. Los sedimentos con baja calidad de alimento (bajo contenido de proteínas) presentaron dominancia de comedores de superficie, y en contraste, sedimentos ricos en proteínas presentaron dominancia de nematodos predadores y omnívoros.

El enriquecimiento orgánico es un importante proceso ecológico en los sedimentos marinos (Kelly & Nixon, 1984) y en los ecosistemas costeros está relacionado con la presencia de sedimentos finos, baja energía hidrodinámica y un bajo nivel de oxígeno disuelto (Snelgrove & Butman, 1994). El ingreso de la materia orgánica al sedimento puede interpretarse como un fuerte estresor, si su ingreso al sistema se da en exceso (Pearson & Rosenberg, 1978; Diaz & Rosenberg, 2008), y particularmente en sistemas semicerrados (como las lagunas) se vuelve un importante disturbio debido a la limitación en la capacidad de renovación del agua en estos sistemas (Urban et al., 2009).

Por lo anteriormente mencionado los estudios taxonómicos clásicos y de distribución de especies siguen siendo un valioso insumo para conocer el funcionamiento de los ecosistemas, que se vio enriquecido con el surgimiento del enfoque funcional (Schratzberger et al., 2008). En este sentido, herramientas como el Índice de Diversidad Trófica (Index of Trophic Diversity, Heip et al., 1985) y el Índice de Madurez (Maturity Index, Bongers et al., 1991), basados respectivamente en la proporción de grupos tróficos y de organismos colonizadores (alta tolerancia a las perturbaciones) y persistentes (baja tolerancia), son recomendables para determinar la calidad ambiental de los ecosistemas (Marques et al., 2009; Hong et al., 2020).

### **1.1.3 Ecología experimental con ensamble de nematodos**

Desde la revisión sobre el trabajo experimental realizado en la meiofauna de Coull & Palmer (1984) se ha avanzado mucho en la investigación experimental. En ese sentido, el uso de microcosmos es un paso natural y lógico para realizar pruebas en condiciones controladas sobre hipótesis que se originan a partir de patrones de campo (Daehler & Strong, 1996; Oksanen, 2001).

En el caso de estudios ecológicos, esto es necesario porque los patrones correlativos de la distribución de las especies no identifican los procesos causales de la distribución (Underwood et al., 2000; Clarke et al., 2006). El uso de experimentos de laboratorio (microcosmos) tiene varias ventajas frente a experimentos y estudios de campo. La principal, sin duda, es la fuerte relación causal impacto-respuesta de los organismos testeados (Nilsson et al., 1991). Otra ventaja es garantizar la utilidad de los organismos como indicadores de perturbaciones al excluir la variabilidad espacial y temporal que estos organismos suelen mostrar en la naturaleza (Heip et al., 1985; Coull, 1988). Especialmente, el enfoque experimental en laboratorio con organismos bentónicos surge como una adecuada aproximación para estudiar el efecto del enriquecimiento orgánico en comunidades marinas y estuarinas (Coull & Chandler, 1992; Webb, 1996; Schratzberger & Warwick, 1998b; Mahmoudi et al., 2005; Gyedu-Ababio & Baird, 2006). Las comunidades meiofaunales en general, y de nematodos en particular, son ideales para experimentos de laboratorio, debido a su pequeño tamaño, a sus cortos ciclos de vida, a su respuesta rápida a cambios ambientales y a su resistencia a la manipulación del sedimento (Warwick et al., 1988). Las comunidades de nematodos han sido útiles para la prueba de efectos de una variedad de factores estresantes, como los compuestos xenobióticos (Austen et al., 1994; Austen & McEvoy, 1997; Schratzberger et al., 2002; Hedfi et al., 2007) y sedimentación (Schratzberger et al., 2000a; b). Varias investigaciones han evaluado a través de experimentos el efecto del enriquecimiento orgánico en la meiofauna y/o nematodos (Sandulli & Nicola-Giudici, 1989; Sündback et al., 1990; Webb, 1996; Schratzberger & Warwick, 1998a, Armenteros et al., 2010). Estos estudios permitieron establecer que los nematodos de sedimentos naturalmente eutrofizados sufren cambios deletéreos (nematofauna empobrecida) cuando se los expone a diferentes cargas de fitodetritos en microcosmos, posiblemente en respuesta a la acumulación de bioproductos del metabolismo de las bacterias.

### **1.1.4 Importancia de las lagunas costeras: Laguna de Rocha**

La costa uruguaya posee una importante serie de hábitats estuariales, entre los cuales se destacan las lagunas costeras. Las lagunas costeras son cuerpos de agua transicionales someros y salobres, que

permanecen temporalmente separados del océano por una barra arenosa (Mitsch & Gosselink, 1993). En ellas confluye el agua proveniente del continente y del océano. Debido a este fenómeno físico, presentan cambios muy dinámicos a nivel espacio-temporal de sus características físicas y químicas, particularmente la salinidad y en la concentración de nutrientes orgánicos. A este escenario complejo se le suma el condicionante climático y geomorfológico como precipitaciones, viento, baja profundidad (Kjerfve, 1994), entre otros. Dentro de las lagunas se distinguen sectores diferentes en cuanto a morfología e hidrodinámica. El sector externo está generalmente caracterizado por sedimentos arenosos y una alta hidrodinámica, mientras que en el sector interno dominan sedimentos areno-fangosos característicos de sitios más protegidos (Giménez et al., 2006; 2014; Kandratvicius et al., 2015). Las lagunas costeras se encuentran entre los ecosistemas más productivos del mundo (Knoppers, 1994; Conde & Rodríguez-Gallego, 2002; Conde et al., 2003), generalmente presentan una elevada biodiversidad y productividad primaria (fitoplancton, microalgas y bacterias quimioautótrofas) (Knoppers, 1994; Perissinotto et al., 2010). Actividades como producción agrícola, descargas de efluentes industriales y domésticos entre otras, modifican las condiciones fisicoquímicas y biológicas de estos sistemas acuáticos (Day et al., 1989; Perissinotto et al., 2010; Ferreira et al., 2011). Estas acciones de origen antrópico intensifican los procesos de eutrofización, mediante la introducción de nutrientes inorgánicos y el consecuente aumento de la biomasa algal en la columna de agua y de la productividad primaria (Cloern, 2001; Aubriot et al., 2005). En áreas impactadas por actividades humanas, generalmente ocurren aportes externos de carbono orgánico hacia el bentos que son diferentes en composición bioquímica de aquellos derivados exclusivamente de la producción primaria (Pusceddu et al., 2009).

La Laguna de Rocha es un área natural protegida en Uruguay, fue declarada Parque Nacional Lacustre y Área de Uso Múltiple (Decreto 260/77). Además, integra la Reserva de Biosfera del programa MaB UNESCO (Programa Internacional Sobre el Hombre y la Biosfera) aprobado para Uruguay en 1976 (Decreto 706/86 modificado por decreto 417/92). Es utilizada como lugar de desove y reproducción por peces de importancia comercial como la corvina negra (*Pogonias chromis*), corvina blanca (*Micropogonias furnieri*), pejerrey (*Odontheistes argentinensis*) y lacha (*Brevoortia aurea*) (Vizziano et al., 1998). Dichas especies son explotadas artesanalmente junto con la anchoa (*Lycengraulis grossidens*), lisa (*Mugil lisa*), lenguado grande (*Paralichthys orbignyanus*) y bagre negro (*Rhamdia sapo*) (Santana & Fabiano, 1999; Fabiano & Santana 2006). Magnone et al. (2015) realizó la estimación de la dieta del lenguado grande a través de un análisis cuantitativo de la firma de ácidos grasos, esta

aproximación permitió detectar ítems que en la identificación de contenido estomacal no son detectados como gasterópodos y misidaceos.

Ha sido la laguna costera de Uruguay más estudiada desde el punto de vista limnológico con estudios publicados desde los 80', que entre tesis y publicaciones en revistas arbitradas superan los 120 trabajos en la actualidad. Los trabajos más recientes incluyen enfoques sobre su funcionamiento hidrológico básico, aspectos físico-químicos, las principales comunidades de productores primarios (microalgas y plantas) (Rodríguez-Gallego et al., 2008), redes tróficas a través de isótopos estables (Rodríguez-Graña et al., 2008; Milessi et al., 2010) y las implicancias del protocolo de apertura artificial de la barra de arena (Conde et al., 2019). También se han abordado aspectos sobre el componente bentónico como la estructura de la macrofauna (Giménez et al., 2006, 2014; Meerhoff et al., 2013; Pereira et al., 2019), índices bióticos (Muniz et al., 2012), estatus trófico (Pita et al., 2017). Sin embargo, hasta el momento existen tan solo dos antecedentes de estudios sobre la meiofauna bentónica (Kandratavicius, 2011, Kandratavicius et al., 2015).

El paisaje natural de la laguna en general estuvo poco alterado hasta que comenzó el desarrollo forestal y la intensificación de usos agrícolas (hasta fines de los 80' del siglo pasado), la actividad industrial es muy escasa y predomina la ganadería extensiva. La ciudad de Rocha vierte sus aguas luego de ser parcialmente tratadas en la planta de tratamiento de OSE hacia el Arroyo de Rocha. Aproximadamente el 50-60% de la ciudad tiene conexión al saneamiento, el resto de las viviendas utilizan pozos que en gran parte son permeables, drenando los efluentes hacia las napas freáticas que drenan hacia el Arroyo de Rocha y la Cañada del Ejido, ambos afluentes de la Laguna de Rocha. A esto se suma la falta saneamiento en el Puerto de los Botes, La Riviera y el pueblo de pescadores de la barra de la laguna (que poseen pozos negros). Por otro lado, la ausencia de tratamiento de efluentes industriales del Matadero Municipal también incide significativamente sobre esta fuente de presión (MVOTMA, 2016). A su vez, el Arroyo La Paloma recibió durante años los desechos de una planta procesadora de pescado (Gremar) (Arocena et al., 2000). Entre las principales problemáticas ecológicas de la Laguna de Rocha se destaca el proceso de eutrofización reciente, producido probablemente por el uso del suelo y el aporte de las aguas de desecho de las ciudades (Aubriot et al., 2005; Rodríguez-Gallego et al., 2008; Muniz et al., 2012; Pita et al., 2017).

La Laguna de Rocha no escapa a la realidad global de las lagunas costeras, en las que existe un frágil equilibrio entre la dinámica física y la biota que está seriamente amenazado por procesos de eutrofización antrópica, contaminación en general y urbanización en su zona adyacente, entre otros



impactos humanos causados por el uso de la tierra en sus márgenes, tales como ganadería extensiva y agricultura (Esteves et al., 2008; Magnone et al., 2016; MVOTMA, 2016).

Las lagunas costeras uruguayas son sitios prioritarios para la conservación de la biodiversidad, ya que sustentan importantes pesquerías continentales que conforman un importante recurso ecológico (Brazeiro et al., 2008; Sotullo et al., 2010) y económico (Fabiano & Santana, 2006) para la región. En este sentido es fundamental establecer herramientas que permitan determinar la calidad ambiental de estos ambientes y que estas sean aplicables en el monitoreo de cambios a corto y largo plazo. Frente la necesidad de comprender y monitorear la calidad ambiental referida a los eventos de eutrofización de los estuarios y conocer el estado trófico del mismo, la presente tesis propone un abordaje que integra la información de enfoques tradicionales (ecológico) y actuales (funcional y experimental).

La tesis entonces busca responder las siguientes preguntas:

- 1) ¿Cuáles son los principales patrones en la estructura y distribución (horizontal y vertical) del ensamble de nematodos estuarino/marinos de vida libre de la Laguna de Rocha y cuáles son los principales factores ambientales que los determinan?
- 2) ¿Cuáles son los efectos del enriquecimiento orgánico en dichos ensambles de nematodos?
- 3) ¿Los nematodos estuarino/marinos de vida libre pueden ser utilizados como indicadores de eutrofización?

## **1.2 OBJETIVO GENERAL y ESPECÍFICOS**

El objetivo general fue analizar la nematofauna de vida libre del sistema estuarino Laguna de Rocha, a través de un enfoque ecológico, funcional y experimental para evaluar la potencialidad de la misma como indicadora de eutrofización de la laguna y establecer su idoneidad como herramienta de monitoreo para ambientes estuarinos.

El trabajo tiene los siguientes objetivos específicos e hipótesis:

**OBJETIVO 1.** Describir los patrones de biodiversidad del ensamble de nematodos estuarino/marinos de vida libre en espacio (*dimensión horizontal y vertical*) y tiempo (*primavera y otoño*) y establecer los posibles factores ambientales que los determinan.

**HIPÓTESIS 1:** La cantidad y calidad de la materia orgánica y la disponibilidad de oxígeno serán los factores ambientales determinantes de la estructura espacial del ensamble de nematodos (diversidad de géneros, diversidad funcional). A su vez, estos factores ambientales presentarán variaciones temporales.

**PREDICCIÓN:** Se observará una menor abundancia en las capas más profundas de sedimento asociadas a bajos niveles de oxígeno y bajos niveles de alimento de buena calidad. También habrá bajas abundancias en el sector externo asociado a una baja disponibilidad de alimento y este patrón será más evidente en la campaña de otoño. Funcionalmente se observará una dominancia de géneros depositívoros selectivos y no selectivos y colonizadores en el sector interno, evidenciando condiciones estresantes o eutróficas.

**OBJETIVO 2:** Evaluar los efectos del enriquecimiento orgánico en los ensambles de nematodos mediante un enfoque experimental.

**HIPÓTESIS 2:** Habrá cambios en la estructura (diversidad de géneros y funcional) de la comunidad de nematodos en respuesta al enriquecimiento orgánico.

**PREDICCIÓN:** Se observará una disminución en la diversidad de géneros y un aumento en la abundancia de nematodos oportunistas y depositívoros a medida que aumenta el contenido de materia orgánica.

### 1.3 ESTRUCTURA DE LA TESIS

La tesis consta de dos partes principales; la primera es el estudio en campo de la estructura ecológica y funcional del ensamble de nematodos de la Laguna de Rocha (Capítulo 2). Este estudio se realizó tanto en una dimensión horizontal como vertical, durante dos estaciones del año (primavera y otoño). La segunda parte consta de un estudio experimental mediante microcosmos sobre los efectos del enriquecimiento orgánico en la estructura ecológica y funcional del ensamble de nematodos (Capítulo 3).

El formato de ambos capítulos es de artículo científico y en el caso del capítulo 3, este ya fue publicado (Marine Ecology Progress Series. 602: 117–133, 2018) por lo que se presenta el artículo original y se agrega un resumen extendido del mismo en español.

Además, se presenta un capítulo final (Capítulo 4) que sintetiza los principales resultados para cada objetivo específico y el estatus de sus respectivas hipótesis.

## CAPÍTULO 2

### ECOLOGÍA Y RASGOS FUNCIONALES DE LOS NEMATODOS DE VIDA LIBRE DE LA LAGUNA DE ROCHA: UN ANÁLISIS DE LOS PATRONES VERTICALES Y HORIZONTALES

#### RESUMEN

Los patrones de distribución de los nematodos de vida libre y las causas de los mismos constituyen una información clave para entender la ecología de las comunidades y su papel en la dinámica de los ecosistemas. Se investigaron los patrones de diversidad de los nematodos estuarino/marinos de vida libre en la Laguna de Rocha. Se aplicaron enfoques taxonómicos (nivel de géneros) y funcionales (índice de diversidad trófica: ITD e índice de madurez: MI) para describir la estructura del ensamble y su relación con el entorno abiótico basado en un esquema de muestreo en dos dimensiones espaciales horizontal (sectores) y vertical (estratos), en 12 estaciones submareales: seis externas y seis internas, tres estratos verticales (superficie medio y fondo) y dos estaciones del año: noviembre y abril. Se identificaron en total 26 géneros, 27 especies y dos morfotipos. El ensamble de nematodos de la Laguna de Rocha estuvo dominado por pocos géneros (*Theristus*, *Nechromadora* y *Viscosia*: externo y *Nechromadora*, *Viscosia*, *Pseudochromadora* y *Theristus*: interno) y por 6-11 géneros con baja abundancia. La mayoría de los géneros presentaron una mayor abundancia en el sector interno explicada por la alta disponibilidad de materia orgánica total y biopolímeros. En ambos sectores de la campaña de primavera el sedimento presentó materia orgánica nueva y fresca ( $PRT/CHO > 1$ ) y dominio de depositívoros y valores altos de ITD. En la campaña de otoño el sector interno presentó una mayor presencia de organismos depositívoros y comedores de superficie y presencia de materia orgánica nueva y fresca. Sin embargo, en el sector externo la materia orgánica fue más vieja y degradada ( $PRT/CHO < 1$ ) y con una mayor presencia de organismos predadores, donde los valores más bajos de ITD indicaron una alta diversidad trófica. Por otra parte, el MI no detectó diferencias entre sectores, en ambas campañas los valores indicaron un ambiente perturbado, sugiriendo que este índice no sería apropiado para monitorear a la Laguna de Rocha. En la escala vertical se observó que la abundancia total de nematodos disminuye a medida que aumenta la profundidad. Se observaron tres respuestas a nivel de géneros: 1) ningún patrón a nivel de estrato: *Oxystomina*, *Viscosia* y *Paralinhomoeus* (segregación vertical de los nichos -coexistencia de organismos con requerimientos nutricionales). 2) disminución de

abundancia con la profundidad: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora*, *Daptonema* y *Pseudochromadora* (la cantidad de materia orgánica y presencia de oxígeno rige su distribución). 3) aumento de la abundancia con la profundidad: *Terschellingia*, *Sabatieria* y *Theristus* (resistentes a baja concentración de oxígeno). En la campaña de primavera en ambos sectores con la profundidad aumenta la presencia de los depositívoros y comedores de superficie y la proporción de organismos predadores en los sitios internos. La materia orgánica fresca que es rápidamente aprovechada por los depositívoros y comedores de superficie estuvo presente en todos los estratos. Además, en los estratos profundos existe una mayor estabilidad y resguardo, un menor nivel de perturbación que fue evidenciado por los valores más altos de MI. Se observó una disminución de los valores de ITD (aumento de la diversidad trófica) a medida que aumenta la profundidad relacionada con el aumento de los predadores y un balance de los otros grupos tróficos.

El ITD generalmente ha sido utilizado para relacionar la diversidad trófica con niveles de contaminación, el presente estudio apoyaría el uso del mismo para evaluar además otros aspectos de las comunidades. El enfoque funcional aportó información relevante con respecto a las relaciones entre los patrones de diversidad y el ambiente abiótico. En ese sentido, si bien una mayor cantidad de materia orgánica es la responsable de sostener una comunidad más abundante, la estructura funcional (trófica) de la misma sería determinada por la calidad de dicha materia, específicamente por su frescura.

## ABSTRACT

The distribution patterns of free-living nematodes and their causes constitute a key information to understand community ecology and ecosystems dynamics. Diversity patterns of free-living marine/estuarine nematodes in the Rocha Lagoon were investigated. Taxonomic (genus level) and functional (trophic diversity index: ITD and maturity index: MI) approaches were performed to describe the structure of the assemblages and their relationship with the abiotic environment based on a sampling scheme of two horizontal spatial dimensions (sectors) and vertical (strata), from 12 subtidal stations: six outer and six inner, three vertical strata (surface, middle and bottom) and two contrasting seasons: November and April. A total of 26 genera, 27 species and two morphotypes were identified. The nematodes assemblage of the Rocha Lagoon was consisted of few dominant genus (*Theristus*, *Nechromadora* and *Viscosia*: outer sector and *Nechromadora*, *Viscosia*, *Pseudochromadora* and *Theristus*: inner sector) and 6-11 genres with low sources. Most genus display higher abundance in the inner sector explained by the high availability of total organic matter and biopolymers. In both sectors of the spring survey, the sediment presented new and fresh organic matter (PRT / CHO > 1), the

dominance of deposit feeder nematodes and high ITD values. In the autumn survey, the inner sector presented a higher presence of deposit feeder organisms and epigrowth feeders and new and fresh organic matter. However, in the outer sector, organic matter was older and degraded (PRT / CHO <1) and with a high presence of predatory organisms, where lower ITD values indicate high trophic diversity. On the other hand, the MI did not show differences between sectors, in both campaigns the values indicated a disturbed environment, suggesting that this index would not be sensitive to monitor the Rocha Lagoon. On the vertical scale a decrease in total nematodes abundance at sediment depth was recorded. Three responses were observed at the genus level: 1) no pattern at the stratum level: *Oxystomina*, *Viscosia* and *Paralinhomoeus* (vertical segregation of niches - coexistence of organisms with similar nutritional requirements); 2) decrease in abundance with sediment depth: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora*, *Daptonema* and *Pseudochromadora* (the amount of organic matter and the presence of oxygen governs its distribution); 3) increase in abundance with depth: *Terschellingia*, *Sabatieria* and *Theristus* (resistant to low oxygen concentration). In spring, in both sectors, increases with depth the presence of deposit feeder organisms and epigrowth feeders and in the internal sector the proportion of predatory organisms. Fresh organic matter present in all strata is quickly used by deposit feeders and epigrowth feeders. Furthermore, in the deep strata there is greater stability and protection, a lower level of disturbance that was evidenced by the higher MI values. A decrease in ITD values (increase in trophic diversity) was observed at the depth strata related to the increase in predators and at balance of the other trophic groups.

The ITD has generally been used to relate trophic diversity to pollution levels, the present study does support its use to evaluate other further aspects of communities. The functional approach provided relevant information regarding the relationships between diversity patterns and the abiotic environment. In this sense, although a higher organic matter content is responsible for sustaining a more abundant community, the functional (trophic) structure of the same would be determined by the quality of organic matter, specifically by its freshness.

## INTRODUCCIÓN

Los patrones de distribución siguen siendo uno de los temas centrales en la ecología de las comunidades biológicas, especialmente de invertebrados (Underwood et al., 2000; Morin, 2011).

La investigación actual sobre meiofauna se basa en gran medida en la descripción de las comunidades

mediante un enfoque taxonómico (especies o géneros) y la relación de estas comunidades con su entorno abiótico (enfoque ecológico). Más recientemente ha surgido un enfoque en ecología de comunidades que se basa en rasgos biológicos de los organismos. Estos rasgos biológicos consisten en propiedades medibles a nivel individual que se pueden utilizar comparativamente entre especies/géneros (McGill et al., 2006). Este análisis de rasgos biológicos y la subsecuente creación de grupos funcionales, es decir grupos de especies o géneros que cumplen una misma función dentro del ecosistema ha permitido obtener información valiosa sobre el funcionamiento de los ecosistemas (Norling et al., 2007), revelando relaciones adicionales sobre el ensamble de los organismos (Schratzberger et al., 2007). El acoplamiento de la diversidad taxonómica y funcional puede ser una herramienta eficaz en la investigación ecológica (Gray & Elliot, 2009), aunque las relaciones entre estas con el funcionamiento del ecosistema aún se encuentran en un campo exploratorio (Stachowicz et al., 2007; Heip et al., 2009; Reiss et al., 2009; Salgado-Negret, 2015).

Los nematodos de vida libre son de interés en cualquier estudio sobre sedimento marino/ estuarino, debido a ser el grupo dominante en abundancia, presentar una gran diversidad de especies/géneros que reflejan una gran diversificación de requerimientos nutricionales, contribuir con el flujo de energía en el ecosistema y completar todo su ciclo de vida en el sedimento (Heip et al., 1985; Danovaro et al., 2004). Los patrones de distribución de los nematodos de vida libre y las causas de los mismos constituyen una información clave para entender la ecología de las comunidades y su papel en la dinámica de los ecosistemas. En ese sentido estos organismos parecen responder a un complejo interaccionar de factores abióticos como disponibilidad de alimento (Danovaro & Gambi, 2002), grado de degradación y valor energético de la materia orgánica (Galois et al., 2000), salinidad (Forster, 1998; Moens & Vinq, 2000) y tamaño de grano (Ward, 1975; Schratzberger et al., 2004).

Además de existir una respuesta a diferentes factores abióticos en escala espacial horizontal, la zonación vertical de nematodos dentro del sedimento es un componente importante en el análisis de la distribución espacial de sus ensambles. De hecho, la meiofauna aparece en los primeros centímetros de sedimento y la densidad tiende a decaer con la profundidad (Fleeger et al., 1995; Soltwedel, 1997). Se ha visto que la distribución vertical de la diversidad y densidad de los nematodos está relacionada con la disponibilidad de oxígeno disuelto (Coull, 1999), que a su vez depende estrechamente de las propiedades físicas de las partículas de sedimento (porosidad, tamaño de grano). Sin embargo, hay quienes consideran que la penetración de oxígeno tiene un efecto directo limitado en la distribución vertical de los nematodos, concediendo mayor importancia a la disponibilidad de recursos tróficos

(Moodley et al., 2000; Tita et al., 2001). Dentro de los enfoques funcionales en el estudio de nematodos el Índice de Diversidad Trófica (ITD: Index of Trophic Diversity, Heip et al., 1985) surgió como una herramienta útil en el monitoreo ambiental. En ese sentido, la ocurrencia de un disturbio ambiental en un área puede cambiar la disponibilidad de alimento, y verse reflejado en un incremento en el valor del ITD (asociada a la dominancia de un grupo trófico), indicando un aumento en el estrés del ambiente (Heip et al., 1985). Otra aproximación funcional la constituye el Índice de Madurez (MI: Maturity Index, Bongers et al., 1991) que se basa en clasificar a los nematodos de acuerdo a su grado de resistencia (colonizadores) o sensibilidad (persistentes) a las perturbaciones.

Pese a la importancia del grupo, en el Uruguay no existen estudios sobre los nematodos de vida libre salvo algunos trabajos preliminares que permitieron establecer que son el grupo dominante dentro de la meiofauna de las lagunas costeras (Kandratavicius, 2011; Kandratavicius et al., 2015).

Los objetivos del presente capítulo fueron estimar la diversidad taxonómica a nivel de género de nematodos y la diversidad funcional en términos de tipos de alimentación y estrategias de vida, tanto en una dimensión espacial horizontal como vertical. Además, se examinó la relación entre la diversidad funcional y taxonómica con las características abióticas de la Laguna de Rocha (enfoque ecológico) en las dos dimensiones espaciales y en el tiempo. En este sentido se buscó establecer cuáles son las variables ambientales que mejor explican la distribución horizontal y vertical de los géneros de nematodos y de los atributos funcionales elegidos (grupo tróficos, estrategias de vida) y si estos varían en el tiempo. Así como evaluar la calidad ambiental en ambas escalas.

La combinación de diversidad taxonómica y funcional aporta una mejor comprensión de los componentes estructurales y del funcionamiento de la comunidad de nematodos de una importante laguna costera del país, como es la Laguna de Rocha.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Área de estudio**

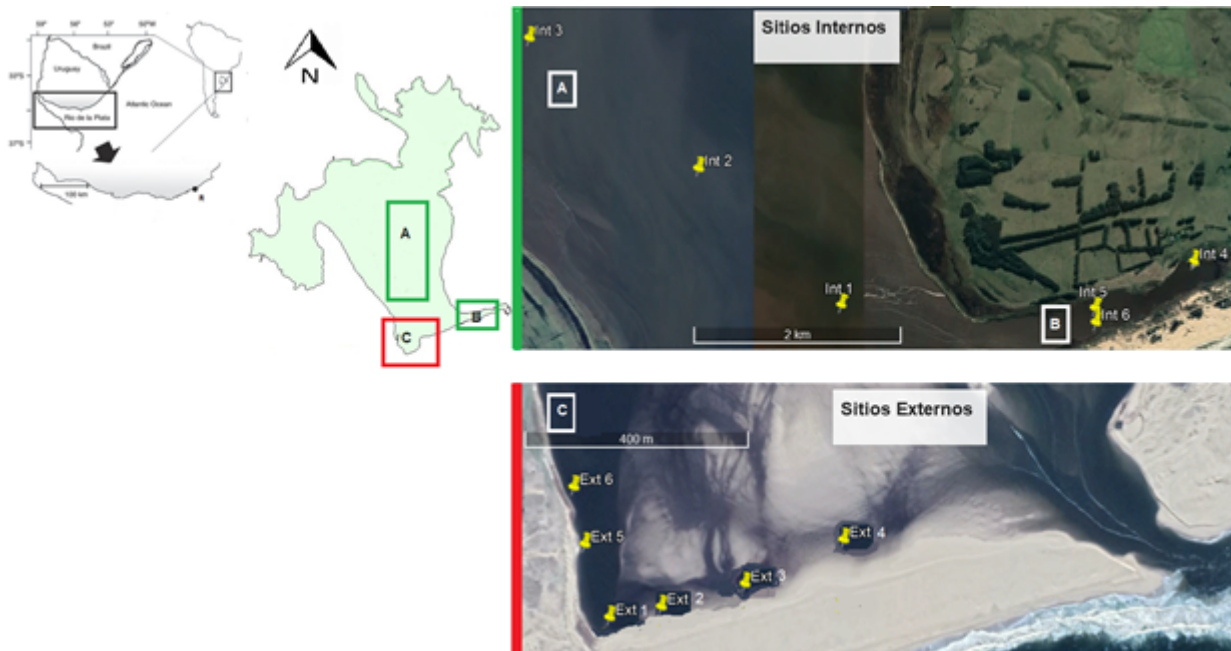
La Laguna de Rocha, Uruguay (34° 39'47.42'S, 54° 13'47.36'W) es una laguna de tipo estrangulada (Kjerfve & Magill, 1989; Conde et al., 2000), de 72 km<sup>2</sup> de área, poco profunda que presenta una comunicación intermitente con el océano Atlántico, producto de la alternancia de aperturas naturales y artificiales de su barra (Conde & Rodríguez-Gallego, 2002; Conde et al., 2019). La comunicación con el océano ocurre varias veces al año, por el incremento de agua dulce en el sistema o cuando el

banco de arena es transgredido por la acción de las olas (Conde & Rodríguez-Gallego, 2002; Conde et al., 2003). Su barra de arena, constituye el componente más frágil de la laguna e influye en la provisión de la mayoría de los servicios ecosistémicos, y por lo tanto desempeña un papel clave en la preservación del balance del sistema socio-ecológico (Lozoya et al., 2015). El sistema soporta uno de las pesquerías continentales más importantes de la costa de Uruguay (Fabiano & Santana, 2006), y se ha dado un rápido desarrollo del turismo así como una intensificación del uso del suelo en sus márgenes (Aubriot et al., 2005; Rodríguez-Gallego et al., 2009).

### **Diseño de muestreo y colecta de muestras**

La estructura de las comunidades bentónicas, en particular las que se encuentran en los ambientes costeros, varían en diferentes escalas de tiempo y espacio (Levin, 1992; Giménez et al., 2005; 2006). Los estuarios son sistemas complejos, caracterizados por una gran heterogeneidad ambiental, implicando una complicada asociación entre las variables ambientales y la biota que lleva a la necesidad de muestreos a múltiples escalas espaciales (Giménez et al., 2006). Debido a que los procesos ecológicos varían con la escala de observación se realizaron muestreos a varias escalas espaciales, que incluyeron (a) dos sectores claramente diferenciados (desembocadura o sector externo y sector interno, escala kilométrica), (b) sitios dentro de cada sector (escala hectométrica) y (c) réplicas en cada sitio (escala métrica). El Sector Externo se ubica desde la zona de desembocadura al mar (barra) hasta la proyección en el agua de la línea posterior del cordón de dunas; mientras que el Sector Interno se extiende desde la proyección en el agua de la línea de dunas hacia el interior de la laguna. La elección de los sectores se basó en la información preexistente sobre las características hidrodinámicas y morfodinámicas diferenciales de los mismos, el sector externo es caracterizado por sedimentos arenosos y una alta hidrodinámica, mientras que en el sector interno dominan sedimentos areno-fangosos (limo+arcilla) característicos de sitios más protegidos (Giménez et al., 2006; 2014) y a la conocida respuesta diferencial de la comunidad de meiofauna a estas características (Kandratavicus et al., 2015). Dentro de cada sector se eligieron 6 sitios (Figura 1), los sitios en el sector externo se colectaron en una transecta paralela a la línea de costa que presentaba un metro, metro y medio de profundidad con el fin de establecer un gradiente de proximidad a la desembocadura (Ext 1 a Ext 6), mientras que los sitios del sector interno se eligieron al azar en zonas de baja energía conocida (Giménez et al., 2014), 3 dentro de la barra vieja y 3 en el cuerpo central de la laguna (Int 1 a Int 6).





**Figura 1.** Área de estudio: Laguna de Rocha, donde en la imagen del medio se señala con los cuadrantes verdes el sector interno (A, B) y con el rojo el sector externo (C). En las imágenes de la derecha se muestran los sitios de muestreo en cada sector.

En cada sitio de muestreo se tomaron tres “*mini corers*” (2,7 cm de diámetro interno, 6 cm profundidad) de sedimento con los cuales se estableció el gradiente vertical de concentración de oxígeno disuelto y se realizó el análisis de la comunidad de nematodos. Además, se colectaron en cada sitio 3 *corers* (10 cm de diámetro interno, 6 cm profundidad); uno para análisis granulométrico, otro para contenido de materia orgánica total, concentración de clorofila a, feopigmentos y el último para determinación de biopolímeros. Las muestras de sedimento y de meiofauna se tomaron mediante buceo autónomo, debido a la baja profundidad de la laguna (< 3m). *In situ* se registraron la temperatura y la salinidad del agua de fondo con un termosalinómetro de campo. Con el fin de considerar posibles variaciones temporales en la estructura de la comunidad de nematodos y de las variables ambientales, se realizaron muestreos en dos estaciones del año: primavera (noviembre de 2014) y otoño (abril 2015).

En el laboratorio se midió la concentración de oxígeno disuelto con un microsensor de oxígeno Unisense (OX<sub>50</sub>) con un microelectrodo, el cual permitió medir la concentración a lo largo de la columna de sedimento sin perturbar su estructura, obteniéndose perfiles desde la superficie hacia el interior de la columna de sedimento. El microsensor de oxígeno mide la presión parcial de oxígeno, su principio de funcionamiento se basa en la difusión de oxígeno a través de una membrana de silicona a

un cátodo reductor de oxígeno. El cátodo reductor está polarizado contra un ánodo interno de Ag / AgCl. El microsensar de oxígeno tiene un cátodo protector que elimina el oxígeno del electrolito, minimizando así la corriente cero y el tiempo de prepolarización. La señal del sensor resultante está en el rango de pA y se mide con un picoamperímetro de alta calidad.

Luego de medir la concentración de oxígeno los “mini corer” se dividieron verticalmente en intervalos de 2 cm (estratos: superficie 0-2 cm, medio 2-4 cm, fondo 4-6 cm) y se fijaron con formol al 4% para el posterior análisis de la nematofauna en el laboratorio. El mismo fraccionamiento se realizó para los análisis de la matriz abiótica, y estas muestras se acondicionaron en recipientes apropiados según el destino de las muestras: materia orgánica, clorofila a y feopigmentos se envasaron en recipientes oscuros, las muestras para análisis de biopolímeros se acondicionaron en bandejas de aluminio premufladas (congeladas hasta su análisis en el laboratorio) y las muestras para análisis de granulometría se colocaron en bolsas plásticas y se mantuvieron a temperatura ambiente.

### **Procesamiento de muestras**

#### ***Matriz abiótica***

Para la determinación de las características granulométricas del sedimento se empleó el método tradicional de tamizado mecánico descrito en Suguio (1973). Cada muestra fue tamizada en seco utilizando un rot-up (Analysette 3) con una columna de tamices variando en 1 Ø (phi) de tamaño de malla (de -2 a 4 phi). Cada fracción granulométrica fue pesada mediante uso de balanza de 0,01g de precisión y se expresó sus valores como porcentaje.

El contenido de materia orgánica total (MOT) del sedimento fue calculado mediante pérdida de peso por calcinación, como la diferencia de peso entre la muestra seca (60°C/48h) y la muestra muflada (500°C/3h), según Byers et al. (1978). Los resultados se expresaron como el porcentaje de materia orgánica total para cada muestra.

Los pigmentos fotosintéticos (Clorofila a y Feopigmentos) se analizaron espectrofotométricamente de acuerdo al método de Lorenzen (1967) modificado por Sündback (1983) para sedimentos. Los pigmentos fueron extraídos con acetona al 90% (24hs en la oscuridad a 4°C). Luego se centrifugaron (3000 rpm, 5 min.) y se utilizó el sobrenadante para estimar la concentración de clorofila a (Clo a) a 665-750 nm y los feopigmentos (Feopig) luego de la acidificación con HCl 1 N a las mismas longitudes de onda. Los resultados fueron expresados en microgramos de pigmentos (Clo a y Feopig) por gramo de sedimento seco ( $\mu\text{g g}^{-1}$  ss).

Se determinó también la composición bioquímica de la materia orgánica del sedimento (biopolímeros: carbohidratos, lípidos y proteínas). Esta determinación se realizó para los tres estratos (superficie, medio y fondo) de las muestras colectadas en noviembre y para los estratos superficiales de las muestras de abril. En abril no se pudo realizar la determinación en los demás estratos debido a la pérdida de dichas muestras. La concentración de carbohidratos totales (CHO) se estimó según la metodología descrita en Gerchacov & Hatcher (1972). El método se basa en la capacidad de los azúcares simples, oligosacáridos, polisacáridos y sus derivados de resultar en un producto de color amarillo - anaranjado ante la presencia de fenol y ácido sulfúrico concentrado, el cual puede leerse espectrofotométricamente a 485nm. Los lípidos totales (LIP) se extrajeron con una solución de cloroformo y metanol (2:1 v/v) siguiendo el método de Folch et al. (1957), y se determinaron según el método de calcinación descrito por Marsh & Weinstein (1966). Este consiste en la adición de 2 ml ácido sulfúrico concentrado (98%) a la muestra, colocándola en un bloque de calentamiento a 200°C cada intervalo de 15 seg. durante 15 min. La concentración de lípidos totales se determinó a 375nm. Para la determinación de proteínas totales (PRT) se utilizó el método de Lowry et al. (1951) modificado por Hartree (1972), basado en la habilidad de los aminoácidos tirosina, triptófano y algunos complejos proteína-ión  $\text{Cu}^{+2}$  de reducir el reactivo Folin Ciocalteau, dando un producto azul que se lee colorimétricamente a 750nm. Se utilizó 1g de muestra para su extracción con 10 ml de NaOH 1 N (4hs en un baño de agua a 50°C). Se centrifugó (5 min., 3000 rpm), y luego se almacenó el sobrenadante a -20°C. Las concentraciones de CHO, LIP y PRT se expresaron como equivalentes de Glucosa, tripalmitina y sero albúmina bovina (BSA), respectivamente. Todas las muestras utilizadas para el análisis de los biopolímeros orgánicos fueron previamente liofilizadas. Las concentraciones de los biopolímeros se estandarizaron por gramo de sedimento seco. Para cada uno de estos métodos una fracción de sedimento fue incinerada en mufla (500°C, 4 hs), con el fin de eliminar la materia orgánica y se utilizó como blanco. Los blancos fueron tratados y analizados de la misma forma que las muestras.

Las razones proteínas/carbohidratos (PRT/CHO) y carbohidratos/lípidos (CHO/LIP) fueron calculadas y utilizadas como indicadores del estado de degradación de la materia orgánica y de su valor energético, respectivamente (Galois et al., 2000). Las concentraciones de PRT, CHO y LIP se convirtieron a equivalentes de carbono utilizando los factores de conversión 0.49, 0.40 y 0.75 mg de C  $\text{mg}^{-1}$  respectivamente (Fabiano & Danovaro, 1994). La suma de los equivalentes de carbono representada por los tres biopolímeros se consideró como la fracción de carbono biopolimérico (CB), que es un estimador de la fracción lábil de la materia orgánica particulada (Fabiano et al., 1995).

## ***Matriz biótica***

En el laboratorio la meiofauna fue extraída del sedimento mediante el uso de sílice coloidal (Ludox HS 40 Coloidal Silica) de densidad  $1.18 \text{ gcm}^{-3}$  (Heip et al., 1985; Vincx, 1996). Este método consiste básicamente en colocar cada muestra en una columna de tamices formada por el tamiz de  $500 \mu\text{m}$  (arriba) y  $63 \mu\text{m}$  (abajo). Lo que quedó retenido en el tamiz de  $63 \mu\text{m}$  fue lavado con abundante agua para eliminar el excedente de formol y luego se realizó la extracción con Ludox en centrífuga. Posteriormente se volvió a fijar con formol al 4% y se le adicionó el colorante Rosa de Bengala al 1%. Cada muestra (cada estrato) se colocó en una placa para su observación en lupa binocular para determinar la abundancia total de nematodos y además se tomaron los primeros 100 nematodos observados para su posterior identificación en microscopio. Previo al montaje en láminas para observación en microscopio, los organismos fueron colocados en una solución de glicerol-etanol y se dejaron evaporar en desecador, de manera tal que los nematodos quedasen inmersos en glicerina, facilitando la observación de sus estructuras. Para la identificación de los géneros y especies se emplearon las claves pictóricas de Platt & Warwick, (1983, 1988) y Warwick et al. (1998) y el sistema *online* NeMys (Steyaert et al., 2005). La identificación a nivel de especies se realizó sin realizar las mediciones morfométricas requeridas para probar que están dentro del rango de variabilidad esperado para la especie, por lo que figuran como *affinis* (aff.)

## ***Índices***

Se calculó para cada muestra el Índice de Diversidad Trófica y el Índice de Madurez. A continuación, se presenta de forma breve la base teórica y forma de cálculo de cada índice.

### Índice de Diversidad Trófica (ITD: Index of Trophic Diversity, Heip et al., 1985)

Wieser (1953) definió 4 grupos tróficos en los nematodos a partir de caracteres morfológicos como tamaño de la boca, presencia o ausencia de dientes y de mandíbulas. Esta división morfológica representa los diferentes mecanismos de alimentación:

- Grupo 1A: **depositívoros selectivos**, ausente o muy reducida cavidad bucal. La alimentación se realiza por medio de succión, utilizando el esófago. Se alimentan exclusivamente de bacterias y partículas blandas.
- Grupo 1B: **depositívoros no selectivos**, cavidad bucal en forma de copa desprovista de dientes. La alimentación es llevada a cabo por succión con la utilización del esófago y la parte anterior

de la cavidad bucal. El alimento consiste en detritus, sin embargo, pueden digerir elementos mayores (diatomeas).

- Grupo 2A: **comedores de superficie (“Epigrowth feeders”)**, la cavidad bucal presenta pequeños dientes. Tienen la capacidad de “ramonear” la superficie o romper células y succionar el interior de estas.
- Grupo 2B: **Predadores Omnívoros**, con una gran cavidad bucal armada con fuertes dientes en forma de gancho y mandíbulas poderosas. La mayoría de los organismos ubicados en este grupo son depredadores y capaces de succionar, romper y en algunos casos engullir la presa entera.

El ITD se basa en la proporción de cada grupo trófico y se calcula como:  $ITD = \sum \theta^2$ , donde  $\theta$  es el porcentaje de contribución de cada grupo trófico de acuerdo a Wieser (1953). Los valores de ITD varían en un rango de entre 0,25 (Diversidad Trófica alta: los cuatro grupos tienen una representación del 25%) y de 1,0 (Diversidad Trófica baja: un solo grupo trófico domina, 100%)

#### Índice de Madurez (MI: Maturity Index, Bongers et al., 1991)

El MI es usado para analizar las estrategias de vida de los nematodos, fue desarrollado originalmente para nematodos dulceacuícolas (Bongers, 1990) y luego extendido a organismos marinos y estuarinos de vida libre (Bongers et al., 1991).

A los distintos géneros de nematodos se les asigna un valor de  $c-p$ , de acuerdo a su habilidad de colonizar o persistir en un determinado hábitat, los organismos “colonizadores” presentan una alta tolerancia a las perturbaciones, mientras que los organismos “persistentes” tienen una baja tolerancia (Neher & Darby, 2009). Los valores de  $c-p$  van desde 1 a 5, los géneros  $c-p$  1 corresponden a los colonizadores extremos, estrategias  $r$ , cuyos tiempos de generación son cortos, presentan grandes fluctuaciones poblacionales y alta fecundidad (e.g.: *Monhysteridae*, *Rhabditidae*), los géneros  $c-p$  5 corresponden a los persistentes extremos, estrategias  $K$ , con baja fecundidad y aparecen tarde en los eventos sucesionales (ej: *Enoplidae*, *Leptosomatidae*). Los nematodos con  $c-p$  2 incrementan en abundancia en condiciones estresantes o eutróficas, pero no llegan a ser colonizadores extremos,  $c-p$  3 son intermedios y los  $c-p$  4 son los sensibles al estrés (Bongers & Bongers, 1998; Bongers & Ferris, 1999).

$$MI = \sum_{i=1}^n v(i)f(i)$$

Donde  $v(i)$  es el valor de  $c-p$  del género  $i$  (tablas en Bongers et al., 1991) y  $f(i)$  es la frecuencia del género en la muestra. Los valores del índice varían entre 1, indicando extrema perturbación a 3 o 4, indicando ambientes no perturbados.

### Análisis de datos

Las variables abióticas registradas *in situ* (temperatura, salinidad, pH y profundidad) se evaluaron mediante análisis de varianza de dos vías (ANOVA) usando el software STATISTICA 7, para establecer o descartar la existencia de diferencias estadísticas entre sectores (dimensión horizontal) y en el tiempo.

Como existe falta de independencia en las observaciones en la dimensión vertical, debido a que en un mismo *corer*, los ensambles de nematodos así como las variables abióticas de cada estrato probablemente se relacionan entre sí, con el fin de minimizar los efectos de la dependencia de las muestras, se aplicaron glmm (*generalized linear mixed models*, Bolker et al., 2009; Bolker, 2015). Estos se usan cuando las observaciones están correlacionadas en formas que requieren efectos aleatorios. Se analizaron los patrones de distribución por separado de cada género de nematodos y de cada una de las variables ambientales en cada campaña en respuesta a la profundidad del estrato (superficie, medio y fondo, exceptuando los biopolímeros de la campaña de abril) y sector de la laguna (externo, interno), donde los sitios fueron considerados como réplicas dentro de los sectores y fueron tratados como un factor aleatorio. Los objetivos fueron abordados a través glmm utilizando R (R Core Team 2013) y el paquete TMB (Kristensen et al., 2016). La característica única de glmm TMB entre los paquetes es que permite ver si los datos bióticos presentan una distribución que se ajusta a modelos mixtos inflados a cero (*zero-inflated*: conteniendo más ceros que los esperados para la distribución del error típica, ej: Zero binomial negativa) o se ajustan a otro modelo (ej: Poisson, Gaussiana, Binomial negativa). En el caso de los datos abióticos y de los índices (ITD, MI) se utilizó para determinar si estos son homogéneos, heterogéneos o heterogéneos en los sectores (heterogéneo sector). Los análisis contaron de dos pasos: 1) la primer parte del análisis (Familia y Ceros en el caso de los datos bióticos y Varianza en el caso de los abióticos e índices) consiste en la selección del modelo de distribución que se ajusta mejor a los datos (bióticos como abióticos), se realizó a través del Criterio de Información de Akaike (AIC). Se eligió el modelo con el valor AIC más bajo. 2) Como segundo paso se estableció

cuál de los modelos (Términos fijos: factorial, aditivo, sector, profundidad del estrato y nulo) explica mejor los datos. Para esto se partió de la estructura fijada en base al mejor modelo encontrado en el primer paso. Una vez más los modelos fueron clasificados de acuerdo con AIC; el modelo con el AIC más bajo se comparó con los otros modelos que utilizan las diferencias entre los puntajes de AIC ( $\Delta AIC$ ). Cuando  $\Delta AIC > 3$ , se seleccionó el modelo con menor AIC. Cuando  $\Delta AIC < 3$ , los modelos se compararon con las pruebas LR (*Likelihood ratio* o razón de verosimilitud, si los modelos estuvieran anidados entre sí); cuando los modelos difirieron significativamente ( $p < 0.05$ ) se seleccionó el de menor puntaje AIC, en la situación opuesta, se aplicó el principio de parsimonia y el modelo con menor número de parámetros fue seleccionado. En todos los análisis se controló la heterogeneidad de varianza entre réplicas (función constructora VarIdent).

Los datos de biopolímeros superficiales de la campaña de abril fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para establecer diferencias entre los sectores, usando el software STATISTICA 7. También se realizaron Análisis de Componentes Principales (PCA) para identificar algún patrón significativo de ordenación de las muestras en función de sus características abióticas. Dichos análisis se realizaron para cada campaña por separado, considerando los sectores y estratos y a su vez se realizó un análisis de los sedimentos superficiales con los datos de ambas campañas.

Se realizaron análisis de ordenación n-MDS (*Non metric multidimensional scaling*) con el fin de ordenar los sitios de colecta en función de los distintos atributos medidos de la nematofauna en los dos períodos estudiados. Para esto se trabajó con dos matrices, una correspondiente al valor medio para cada sitio de la proporción de los grupos tróficos y otra con el valor medio de las abundancias de los géneros para cada sitio, en ambas matrices se incluyeron los datos de ambas campañas (noviembre y abril). Ambas matrices se transformaron a raíz cuadrada y se les aplicó el reensamble de similaridad de Bray Curtis. Además, se realizó un análisis del porcentaje de similaridad (SIMPER) para establecer que géneros y que grupos tróficos contribuyen a las diferencias o similitudes de los grupos arrojados por el n-MDS. Finalmente en un intento de establecer cuáles de las variables abióticas consideradas explicaron mejor el patrón biológico observado se aplicó un análisis BIOENV utilizando el Coeficiente de Correlación de Spearman ponderado ( $\rho_w$ ). La matriz biológica fue tratada con el índice de Bray Curtis y la abiótica con la Distancia Euclidiana.

## RESULTADOS

### *Matriz abiótica*

Los parámetros abióticos medidos *in situ* durante las dos campañas (primavera del 2014 y otoño del 2015) se presentan en la Tabla 1. Ninguno de los sitios muestreados superó los 2 metros de profundidad, sin embargo, en la campaña de noviembre se registraron profundidades mayores en todos los sitios, no siendo estas diferencias significativas. La temperatura en ambas campañas no superó los 25 °C, registrándose temperaturas significativamente mayores en la campaña de noviembre respecto a la de abril ( $F_{(1,20)}=4.96$ ,  $p<0.05$ ). El pH del agua presentó valores alcalinos en ambas campañas, registrándose mayores valores en los sectores externos respecto a los internos ( $F_{(1,20)}=6.11$ ,  $p<0.05$ ). Además se registraron valores de salinidad homogéneos en todos los sitios muestreados de la laguna en noviembre de 2014 mientras que en abril de 2015 se observaron valores significativamente mayores en los sectores externos respecto a los internos ( $F_{(1,20)}=21.04$ ,  $p<0.01$ ). La barra permaneció abierta en ocasión de ambos muestreos, en el caso del muestreo de noviembre la barra fue abierta días previos a la realización del mismo (apertura artificial), mientras que en el abril la barra llevaba aproximadamente un mes abierta (apertura natural- viento). Las precipitaciones acumuladas registradas en la estación Rocha los 10 días previos a la realización del muestreo de noviembre fueron de 56mm mientras que para abril fue de 12mm (INUMET, Estación n°86565).



**Tabla 1.** Variables ambientales medidas *in situ* en los sitios de muestreo durante las dos campañas de muestreo: noviembre y abril respectivamente. Se realizó un registro de cada variable por sitio.

Sitio		Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad	pH
EXT 1	Noviembre	1	22.1	7.8	8.23
	Abril	0.3	20.4	24.3	8.84
EXT 2	Noviembre	1	21.7	7.9	8.35
	Abril	0.6	20.6	25.1	8.67
EXT 3	Noviembre	1	23.3	8.4	8.59
	Abril	0.3	22	26	8.42
EXT 4	Noviembre	1.2	23.1	8.2	8.59
	Abril	1.6	20.9	26	8.01
EXT 5	Noviembre	1	22.5	7.7	8.39
	Abril	0.2	20.1	19.7	8.58
EXT 6	Noviembre	0.7	23.3	8	8.50
	Abril	0.3	20.8	19.4	8.56
Int 1	Noviembre	1.8	21.4	7.4	8.08
	Abril	1.7	18.8	17.2	8.20
Int 2	Noviembre	1.8	21.6	7.2	8.06
	Abril	1.6	18.5	17.1	8.26
Int 3	Noviembre	1.6	21	6.4	8.00
	Abril	1.6	18.5	17.1	8.25
Int 4	Noviembre	1.2	21.3	7.6	8.37
	Abril	0.3	22.9	16.5	8.30
Int 5	Noviembre	1	22.3	8.2	8.49
	Abril	0.5	23	16.9	8.54
Int 6	Noviembre	0.7	22.6	8.2	8.43
	Abril	0.3	24.1	17.2	8.32

La distribución de las variables MOT, Clo a, Feopig, PRT, CHO, LIP y grava en noviembre del 2014 fue heterogénea; mientras que las fracciones de arena gruesa, arena media y fango presentaron una distribución heterogénea- sector y la arena fina una distribución homogénea (Tabla 2).

Para la campaña de abril de 2015 la distribución de MOT, Clo a, Feopig y fango fue heterogénea; mientras que las variables grava, arena gruesa y arena media presentaron una distribución heterogénea- sector y la arena fina una distribución homogénea (Tabla 3).

La MOT presentó en noviembre una respuesta aditiva (efecto sector + efecto estrato), mientras que en abril la respuesta fue a nivel de sectores (Tabla 2 y 3). Los valores de MOT en los sectores internos fueron superiores a los de los sectores externos en ambas campañas. A su vez, en noviembre se observaron mayores valores en los estratos superficiales de la mayoría de los sitios, tanto internos como externos, así como se observó una tendencia a disminución de los valores con la profundidad del estrato

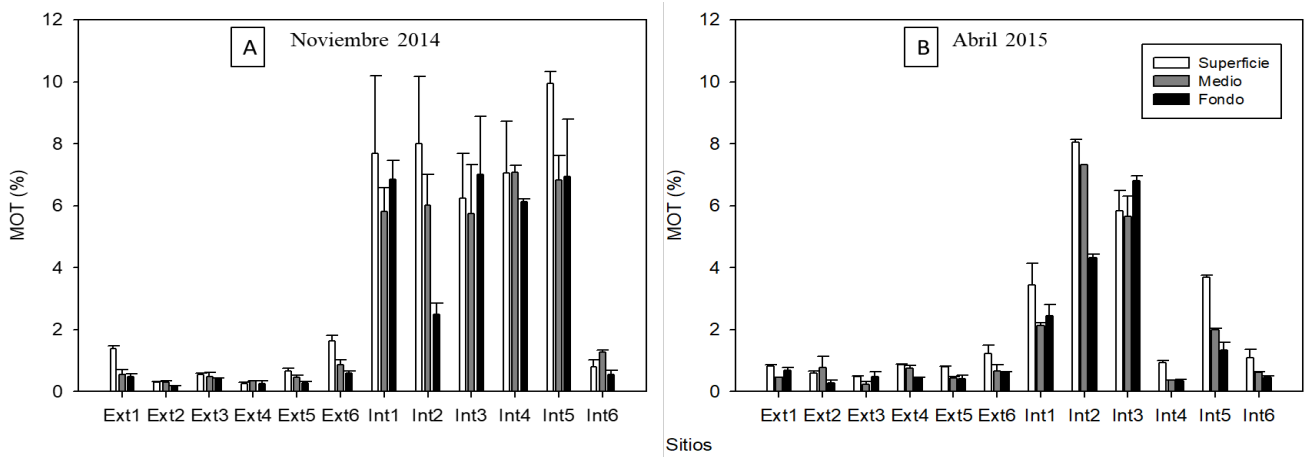
(Figura 2).

**Tabla 2.** Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de los parámetros físico-químicos de la campaña de noviembre de 2014. Los modelos seleccionados se identifican por el valor AIC en negrita.

Modelo	MOT	Clo a	Feopig	PRT	CHO	LIP	Grava	Arena G	Arena M	Arena F	Fango
<b>Varianza</b>											
Hetero	<b>70</b>	<b>326</b>	<b>336</b>	<b>70</b>	<b>108</b>	<b>871</b>	<b>108</b>	277	249	223	256
Hetero-sector							113	<b>272</b>	<b>245</b>	219	<b>254</b>
Homo	97	470	432	97	162	967	209	299	256	<b>217</b>	258
<b>Términos Fijos</b>											
Factorial	58	<b>335</b>	<b>348</b>	58	<b>98</b>	<b>930</b>	105	303	271	<b>238</b>	282
Aditivo	<b>56</b>	348	368	<b>56</b>	101	932	107	301	272	246	280
Sector	74	360	367	74	106	949	<b>107</b>	<b>298</b>	269	243	<b>278</b>
Estrato	71	351	376	71	112	945	115	305	270	245	291
Nulo	89	363	375	87	116	960	115	303	<b>268</b>	242	289

**Tabla 3.** Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de los parámetros físico-químicos de la campaña de abril de 2015. Los modelos seleccionados se identifican por el valor AIC en negrita.

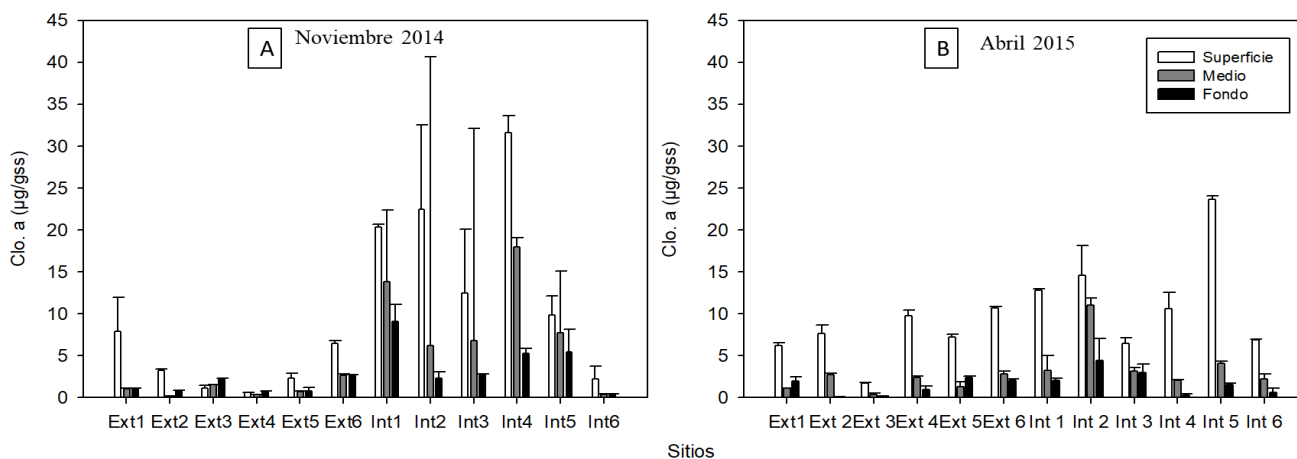
Modelo	Clo a	Feopig	Grava	Arena G	Arena M	Arena F	Fango	
<b>Varianza</b>								
Hetero	<b>148</b>	<b>248</b>	<b>306</b>	-134	-6	-45	-34	<b>-53</b>
Hetero-sector				<b>-137</b>	<b>-12</b>	<b>-49</b>	-40	-50
Homo	208	283	380	-82	-10	-39	<b>-42</b>	-34
<b>Términos Fijos</b>								
Factorial	143	249	<b>315</b>	-187	-38	<b>-82</b>	-73	-83
Aditivo	140	246	320	-190	-36	-81	-71	<b>-85</b>
Sector	<b>139</b>	267	319	<b>-191</b>	<b>-39</b>	-77	<b>-75</b>	-84
Estrato	142	<b>245</b>	322	-184	-29	-80	-69	-81
Nulo	141	269	321	-185	-32	-76	-73	-81



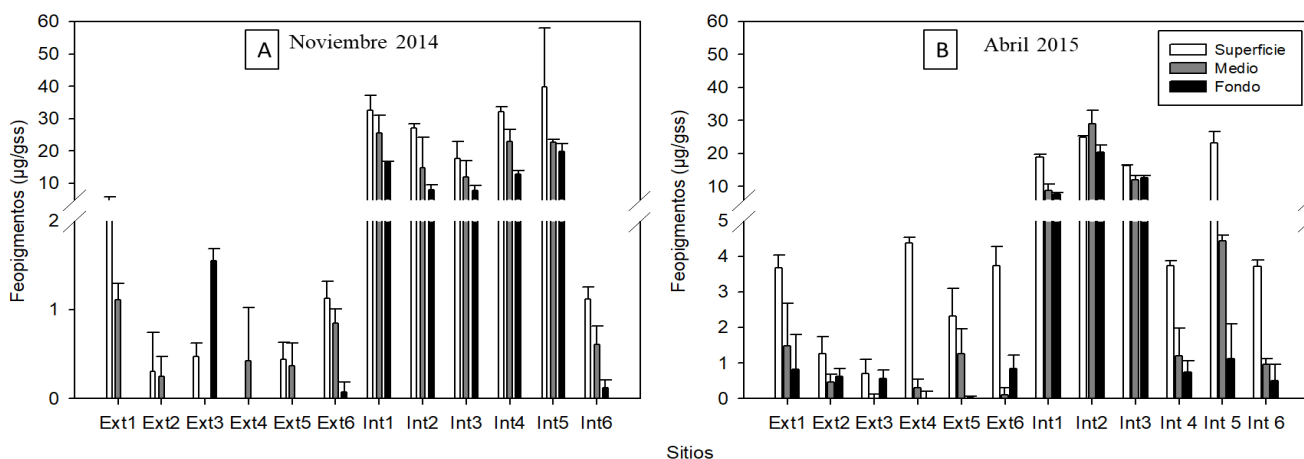
**Figura 2.** Contenido de materia orgánica total (% , media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio en las campañas de noviembre (A) y abril (B).

La Clo a presentó en noviembre una respuesta factorial (efecto sector + efecto estrato+ interacción), mientras que en abril la misma fue a nivel de estratos (Tabla 2 y 3). Los valores de Clo a en la campaña de noviembre fueron mayores en el sector interno y a su vez en este sector se observó una disminución de los valores con la profundidad (Figura 3). Por otro lado, en la campaña de abril no se observaron diferencias entre los sectores, pero si se mantuvo la tendencia de disminución con la profundidad.

Los Feopig presentaron en ambas campañas una respuesta factorial (efecto sector + efecto estrato+ interacción) (Tabla 2 y 3). Los valores de Feopig en ambas campañas fueron superiores en el sector interno, observándose una tendencia a la disminución de los valores con la profundidad, aún más marcada en el sector interno (Figura 4).



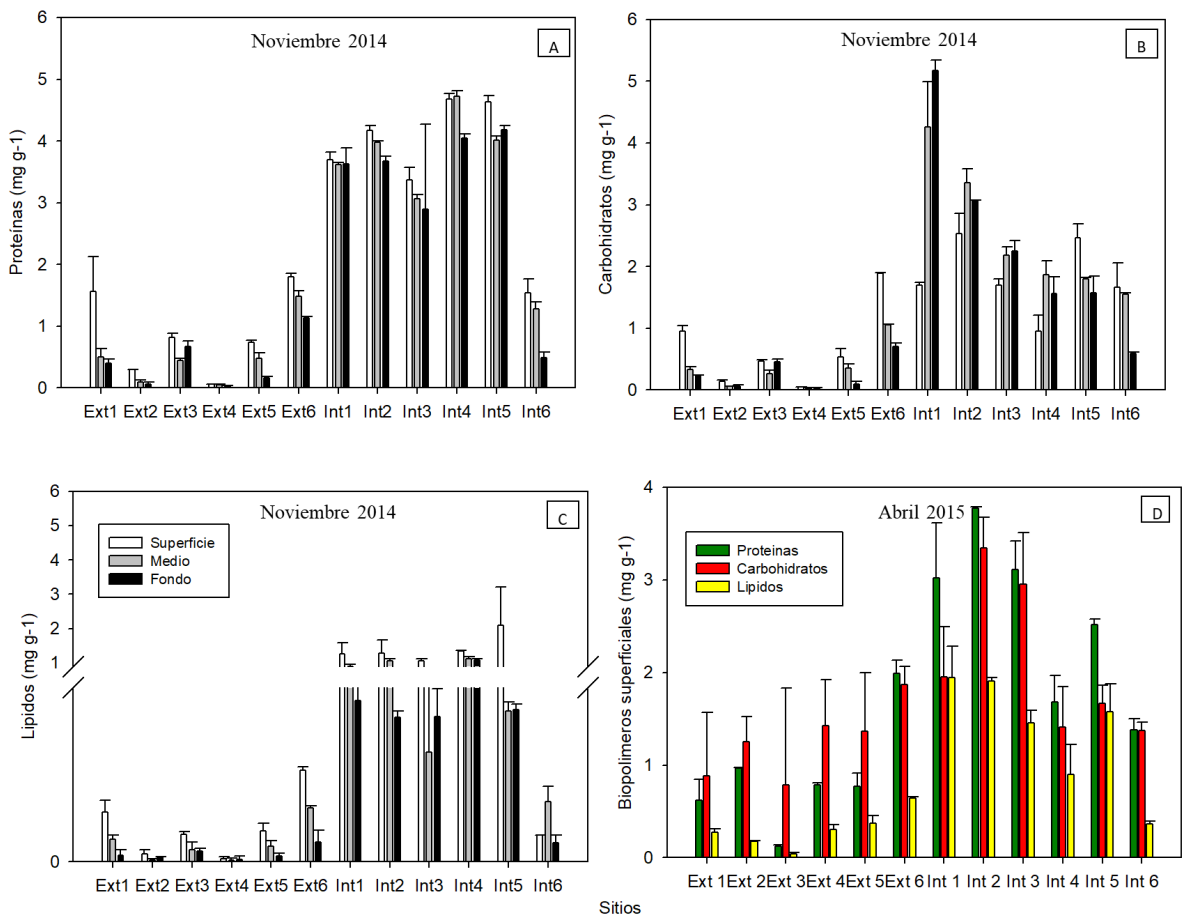
**Figura 3.** Contenido de clorofila a ( $\mu\text{g/gss}$ , media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios correspondientes al sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio en las campañas de noviembre (A) y abril (B).



**Figura 4.** Contenido de feopigmentos ( $\mu\text{g/gss}$ , media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios correspondientes al sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio en las campañas de noviembre (A) y abril (B).

Los CHO y LIP presentaron en noviembre una respuesta factorial (efecto sector + efecto estrato + interacción) mientras que las PRT presentaron una respuesta aditiva (efecto sector + efecto estrato) (Tabla 2). De forma general, en noviembre los valores de PRT, LIP y CHO resultaron ser mayores en el sector interno y el sector Ext 6, respecto a los demás sitios externos. A su vez se observó una disminución de los biopolímeros con la profundidad en los sectores externos (Figura 5 A, B y C). Mientras que en abril el análisis superficial de los biopolímeros mostró que

existen diferencias significativas entre los sectores registrándose mayores contenidos de PRT ( $F_{(1,22)}=37.01$ ,  $p<0.01$ ), LIP ( $F_{(1,22)}=8.96$ ,  $p<0.01$ ) y CHO ( $F_{(1,22)}=29.97$ ,  $p<0.01$ ) en el sector interno respecto al externo (Figura 5D).



**Figura 5.** Biopolímeros (Proteínas, Carbohidratos y Lípidos, media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de la Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para la campaña de noviembre de 2014 (graficas A, B, C) y de superficie para la campaña de abril de 2015 (grafica D).

En noviembre en ambos sectores, y en casi todos los estratos, la razón PRT/CHO  $>1$  (excepto Int 1 medio y fondo e Int 6 superficie, medio y fondo), mientras que CHO/LIP  $\gg 1$  (excepto Int 4 superficie). En la campaña de abril, el sedimento superficial en el sector externo presentó valores de PRT/CHO  $<1$  (excepto Ext 6) y para CHO/LIP  $\gg 1$ , mientras que en el sector interno los valores de PRT/CHO  $>1$  (excepto Int 2) y para CHO/LIP  $\gg 1$ . Los valores de carbono biopolimérico (CB) fueron mayores en los sitios internos respecto a los externos en ambas campañas, y a su vez, se observó una tendencia en la campaña de noviembre de mayores valores

en los estratos superficiales (Tabla 4 y 5).

**Tabla 4.** Razón proteínas/carbohidratos (PRT/CHO), carbohidratos/lípidos (CHO/LIP) y fracción de carbono biopolimérico (CB) para la campaña de noviembre. Se presentan los valores medios con desvío estándar para los estratos superficie, medio y fondo de cada sitio.

SITIO	Estrato	CB (mg C g <sup>-1</sup> )	PRT/CHO	CHO/LIP
<b>Ext 1</b>	<i>superficie</i>	1.32 ± 0.20	1.67 ± 0.73	4.31 ± 0.69
	<i>medio</i>	0.46 ± 0.10	1.49 ± 0.20	3.22 ± 0.17
	<i>fondo</i>	0.31 ± 0.01	1.68 ± 0.30	10.98 ± 8.49
<b>Ext 2</b>	<i>superficie</i>	0.23 ± 0.01	2.09 ± 0.20	4.39 ± 2.49
	<i>medio</i>	0.07 ± 0.02	1.57 ± 0.71	13.06 ± 12.13
	<i>fondo</i>	0.07 ± 0.02	0.96 ± 0.27	3.01 ± 1.46
<b>Ext 3</b>	<i>superficie</i>	0.68 ± 0.03	1.74 ± 0.21	3.83 ± 0.63
	<i>medio</i>	0.36 ± 0.02	1.71 ± 0.46	6.72 ± 5.53
	<i>fondo</i>	0.55 ± 0.02	1.50 ± 0.36	9.36 ± 1.35
<b>Ext 4</b>	<i>superficie</i>	0.06 ± 0.01	1.31 ± 0.05	4.88 ± 3.67
	<i>medio</i>	0.04 ± 0.00	1.56 ± 0.49	2.42 ± 0.00
	<i>fondo</i>	0.04 ± 0.01	0.96 ± 0.06	1.41 ± 0.00
<b>Ext 5</b>	<i>superficie</i>	0.68 ± 0.01	1.44 ± 0.42	4.05 ± 1.98
	<i>medio</i>	0.43 ± 0.00	1.39 ± 0.51	5.26 ± 1.18
	<i>fondo</i>	0.14 ± 0.04	1.63 ± 0.32	3.68 ± 0.06
<b>Ext 6</b>	<i>superficie</i>	1.96 ± 0.01	0.95 ± 0.03	4.52 ± 0.15
	<i>medio</i>	1.33 ± 0.05	1.41 ± 0.11	4.30 ± 0.26
	<i>fondo</i>	0.90 ± 0.07	1.61 ± 0.10	9.32 ± 4.99
<b>Int 1</b>	<i>superficie</i>	3.43 ± 0.19	2.18 ± 0.14	1.38 ± 0.31
	<i>medio</i>	4.15 ± 0.23	0.86 ± 0.16	4.76 ± 1.12
	<i>fondo</i>	4.40 ± 0.24	0.70 ± 0.03	7.03 ± 0.36
<b>Int 2</b>	<i>superficie</i>	4.02 ± 0.12	1.66 ± 0.18	2.10 ± 0.89
	<i>medio</i>	4.09 ± 0.06	1.19 ± 0.07	3.15 ± 0.36
	<i>fondo</i>	3.53 ± 0.02	1.19 ± 0.03	4.64 ± 0.20
<b>Int 3</b>	<i>superficie</i>	3.13 ± 0.01	1.99 ± 0.24	1.59 ± 0.01
	<i>medio</i>	2.75 ± 0.14	1.41 ± 0.06	5.44 ± 3.59
	<i>fondo</i>	2.82 ± 0.65	1.27 ± 0.52	3.47 ± 0.92
<b>Int 4</b>	<i>superficie</i>	3.67 ± 0.12	5.10 ± 1.29	0.72 ± 0.21
	<i>medio</i>	3.91 ± 0.09	2.55 ± 0.26	1.66 ± 0.27
	<i>fondo</i>	3.41 ± 0.11	2.63 ± 0.41	1.46 ± 0.31
<b>Int 5</b>	<i>superficie</i>	4.82 ± 0.87	1.88 ± 0.20	1.35 ± 0.62
	<i>medio</i>	3.20 ± 0.05	2.24 ± 0.07	2.61 ± 0.21
	<i>fondo</i>	3.20 ± 0.16	2.69 ± 0.41	2.25 ± 0.30
<b>Int 6</b>	<i>superficie</i>	1.51 ± 0.27	0.93 ± 0.08	13.76 ± 3.18
	<i>medio</i>	1.45 ± 0.11	0.82 ± 0.06	5.82 ± 1.43
	<i>fondo</i>	0.54 ± 0.03	0.81 ± 0.14	7.19 ± 2.82

**Tabla 5.** Razón proteínas/carbohidratos (PRT/CHO), carbohidratos/lípidos (CHO/LIP) y fracción de carbono biopolimérico (CB) para la campaña de abril. Se presentan los valores medios con desvío estándar para los estratos superficiales de cada sitio.

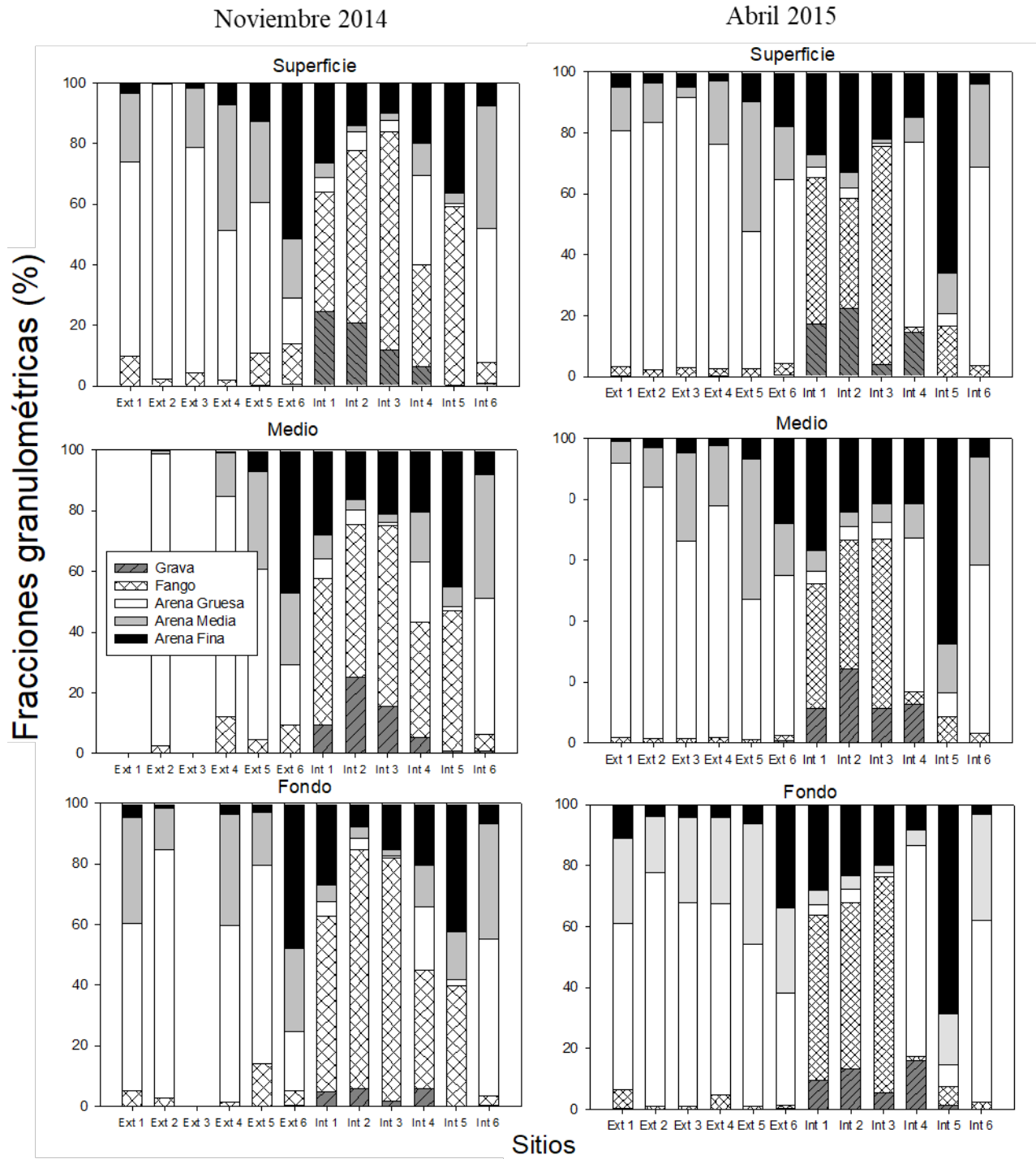
SITIO	CB	PRT/CHO	CHO/LIP
Ext 1	1.04 ± 0.02	0.88 ± 0.04	6.28 ± 0.14
Ext 2	1.00 ± 0.28	0.51 ± 0.02	4.56 ± 2.30
Ext 3	0.17 ± 0.00	0.70 ± 0.03	4.36 ± 1.87
Ext 4	1.25 ± 0.27	0.52 ± 0.17	5.15 ± 0.98
Ext 5	1.05 ± 0.19	0.77 ± 0.05	2.75 ± 0.30
Ext 6	2.22 ± 0.18	1.05 ± 0.06	2.96 ± 0.33
Int 1	3.97 ± 0.13	2.31 ± 0.47	0.89 ± 0.33
Int 2	3.59 ± 0.24	0.50 ± 0.03	1.76 ± 0.21
Int 3	3.68 ± 0.18	1.19 ± 0.19	1.82 ± 0.29
Int 4	2.62 ± 0.48	2.66 ± 0.86	1.42 ± 0.69
Int 5	3.13 ± 0.25	1.41 ± 0.03	1.15 ± 0.21
Int 6	1.52 ± 0.09	0.97 ± 0.07	3.90 ± 0.24

La grava y la arena gruesa presentaron en ambas campañas una respuesta a nivel de sector (Tabla 2 y 3). Se observaron, en ambas campañas, mayores valores de grava en el sector interno respecto al externo. En el caso de la arena gruesa, se observó el patrón contrario a excepción del sitio Int 4 que presentó elevados valores de arena gruesa a diferencia de los demás sitios internos (Figura 6).

La arena media presentó en noviembre una respuesta nula, mientras que en abril tuvo una respuesta factorial (Tabla 2 y 3). En la campaña de noviembre no presentó ningún patrón, registrándose valores similares tanto en los distintos sectores como en los distintos estratos. Por otro lado, en la campaña de abril se observaron mayores valores en el sector externo respecto al interno y a su vez en el sector interno se registró una tendencia a la disminución de la fracción a medida que aumenta la profundidad (Figura 6).

La arena fina presentó una respuesta factorial en noviembre y a nivel de sector en abril (Tabla 2 y 3). En noviembre se observaron menores porcentajes de arena fina en el sector externo respecto al interno y a su vez el estrato del medio presentó los menores valores en ambos sectores. En abril se observaron mayores valores en el sector interno respecto al externo. (Figura 6). El fango presentó una respuesta a nivel de sector en noviembre y aditiva en abril (Tabla 2 y 3),

observándose mayores valores de fango en el sector interno respecto al externo en ambas campañas y una tendencia al aumento de la fracción a medida que aumenta la profundidad en abril (Figura 6).

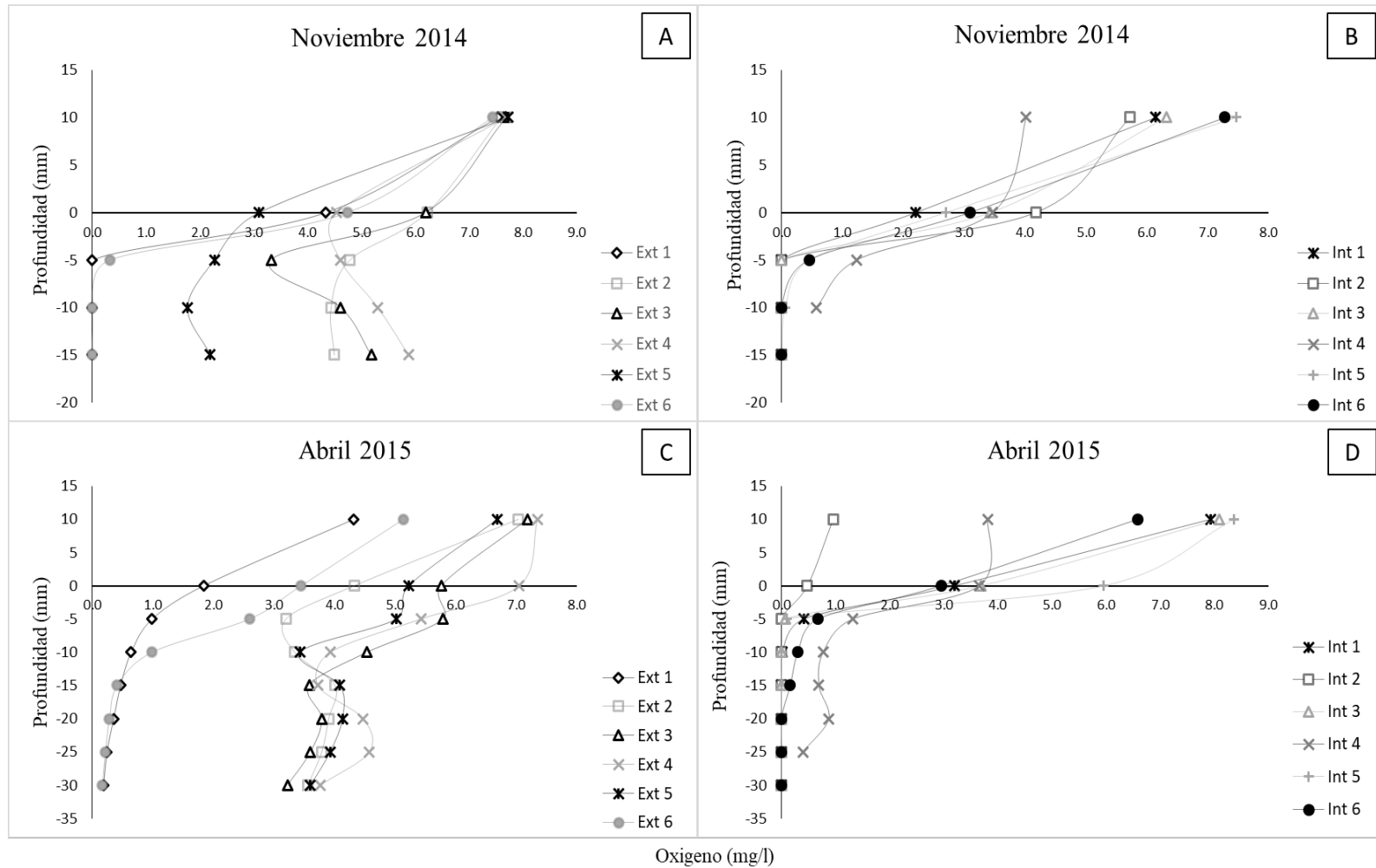


**Figura 6.** Fracciones granulométricas (%) en los sitios correspondientes al sector externo (Ext 1-Ext 6 e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio



y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre (izquierda) y abril (derecha).

Los valores de oxígeno disuelto medidos en el sedimento de los sitios internos de ambas campañas disminuyen abruptamente con la profundidad alcanzando valores de 0-1 mg/l en los 5 mm superiores. En los sitios externos si bien se observó la tendencia a la disminución con la profundidad no se registraron valores de 0 mg/l en la mayoría de los sitios. En la campaña de noviembre a los 15 mm (profundidad máxima) se registraron valores en un rango de 2-6 mg/l, etc y en la campaña de abril a los 30 mm (profundidad máxima) valores en un rango de 3-4, 5 mg/l (Figura 7).



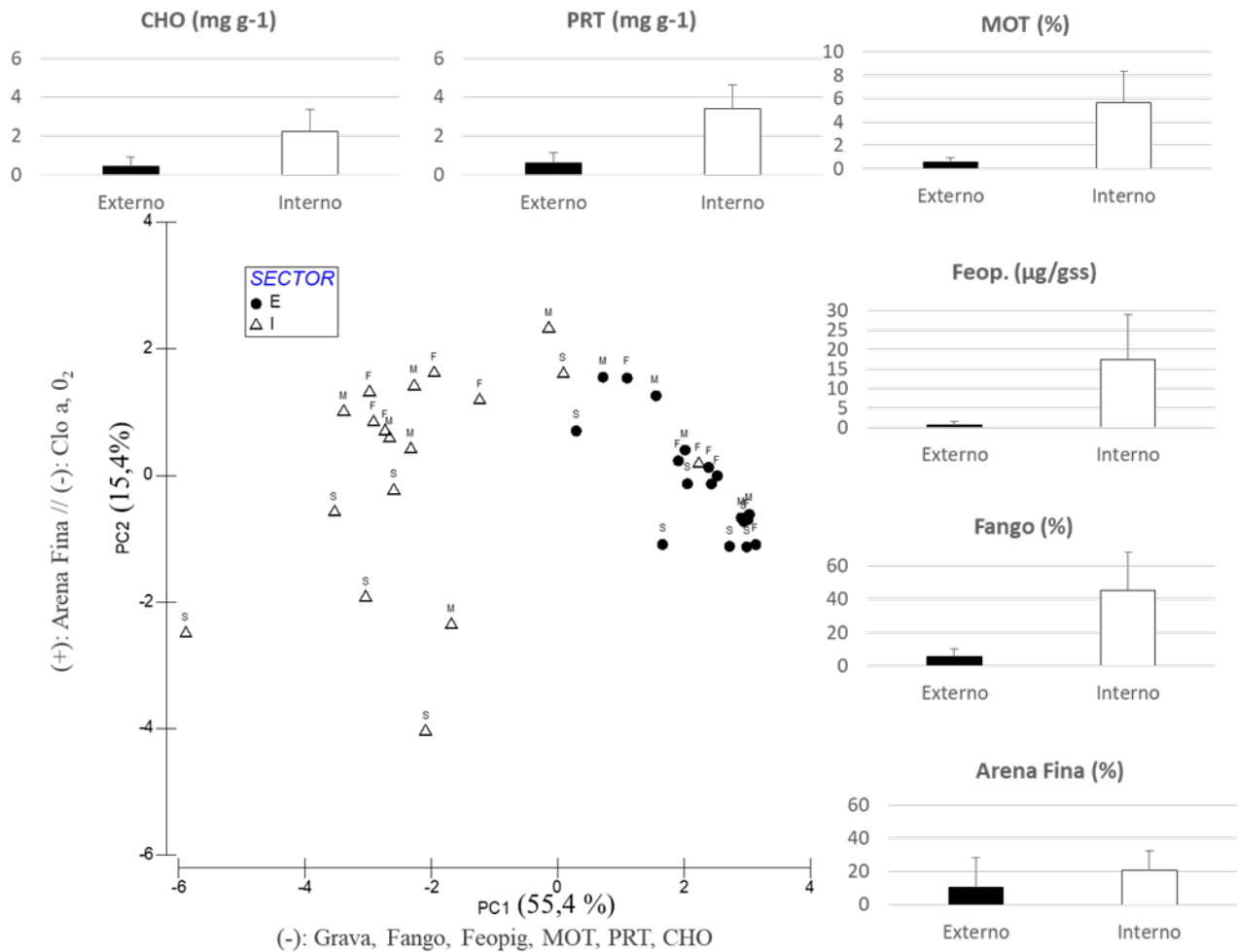
**Figura 7.** Perfiles de oxígeno disuelto en los primeros cm en el agua de fondo y el interior del sedimento. Se presentan los valores medios (tres réplicas) para cada sitio y para las dos campañas (A, B: noviembre y C, D: abril). Los valores positivos de profundidad corresponden a la columna de agua, los negativos corresponden al sedimento y 0 corresponde a la superficie del sedimento.

Los resultados de los análisis de componentes principales para la campaña de noviembre mostraron que los dos primeros ejes del análisis explican el 70.8% de la variación de los datos, donde PC1 explica el 55.4% y PC2 el 15.4% (Tabla 6, Figura 8).

El eje 1 presentó la mayor correlación negativa con la grava, fango, feopigmentos, MOT, PRT y CHO. Mientras que PC2 presentó la mayor correlación negativa con Clo a y oxígeno y además una correlación positiva con la arena fina (Tabla 6, Figura 8).

**Tabla 6.** Resultado del análisis de componentes principales de las variables abióticas: A) campaña de abril (sectores y estratos), B) campaña de noviembre (sectores y estratos) y C) datos superficiales de ambas campañas (sectores). Coeficientes de correlación de las variables para los ejes PC1 y PC2 en negrita.

Autovalores	A) ABRIL		B) NOVIEMBRE		C) SUPERFICIE	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Autovalores	4.26	2	6.65	1.85	6.12	1.96
%Variación	47.3	22.2	55.4	15.4	51	16.4
%Variación acumulada	47.3	69.5	55.4	70.8	51	67.4
Autovectores						
Grava	<b>-0.441</b>	-0.121	<b>-0.247</b>	0.037	-0.251	-0.218
Fango	<b>-0.35</b>	0.255	<b>-0.3</b>	0.253	<b>-0.336</b>	<b>-0.236</b>
Arena gruesa	0.361	-0.351	0.268	-0.369	0.171	<b>-0.476</b>
Arena media	<b>0.33</b>	-0.092	0.131	-0.269	0.075	<b>-0.554</b>
Arena Fina	-0.228	<b>0.388</b>	-0.186	<b>0.341</b>	-0.125	-0.396
Clo a	0.2	<b>-0.474</b>	-0.283	<b>-0.449</b>	<b>-0.34</b>	-0.084
Feopig	<b>-0.392</b>	<b>-0.38</b>	<b>-0.345</b>	-0.296	<b>-0.377</b>	-0.069
MOT	<b>-0.377</b>	<b>-0.343</b>	<b>-0.368</b>	-0.156	<b>-0.385</b>	-0.081
O2	0.236	<b>-0.388</b>	0.182	<b>-0.43</b>	<b>0.219</b>	-0.101
CHO	-	-	<b>-0.31</b>	0.183	-0.313	0.305
PRT	-	-	<b>-0.368</b>	-0.108	<b>-0.385</b>	-0.066
LIP	-	-	-0.355	-0.253	<b>-0.362</b>	0.151

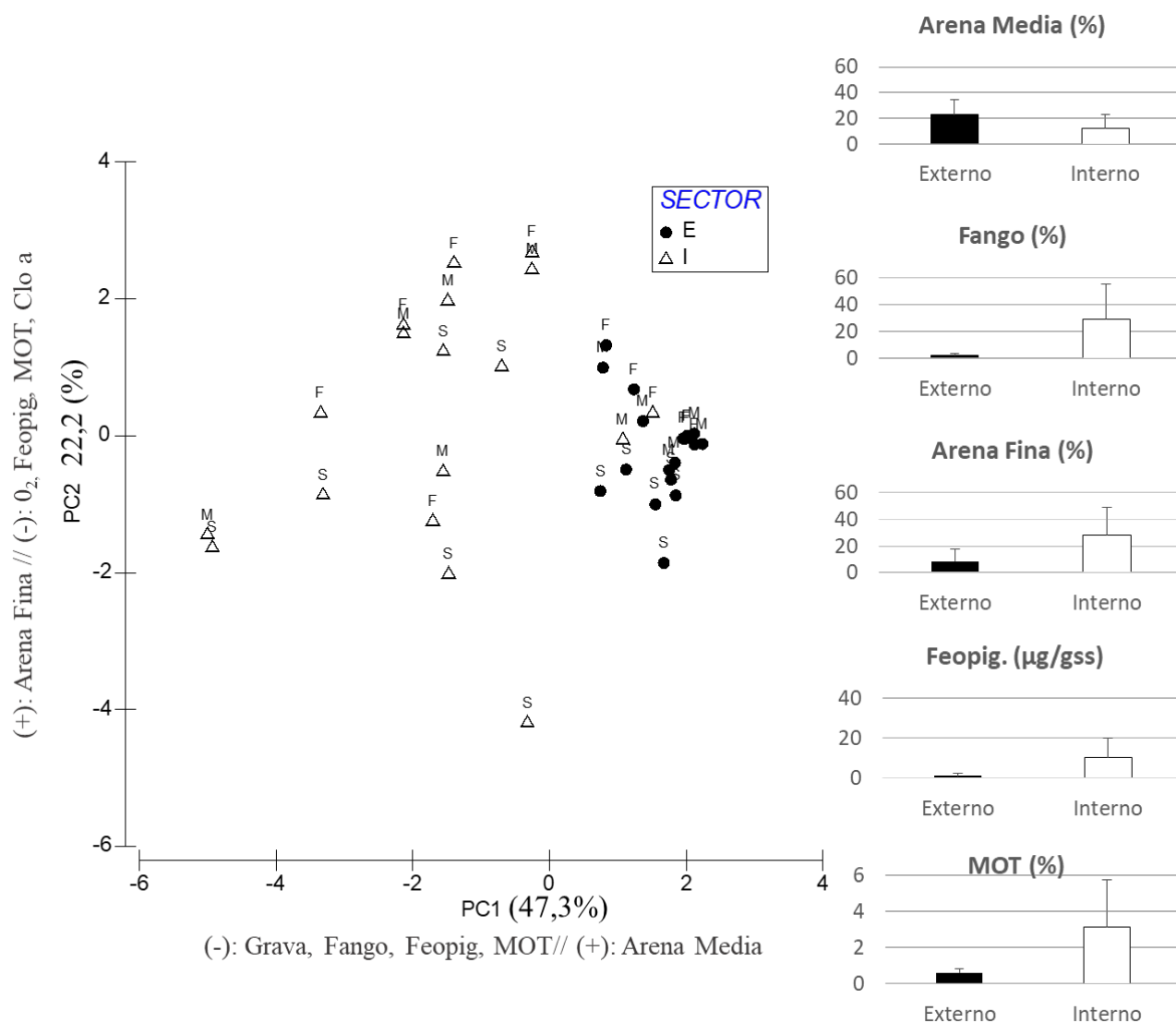


**Figura 8.** Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento para la campaña de noviembre. Se identifican los estratos: superficie (S), medio (M) y fondo (F) y los sectores externo (● E) e interno (△I). Además, se presentan los valores promedios y desvío estándar para cada sector de algunas de las variables que componen los ejes.

Para la campaña de abril los dos primeros ejes del análisis explicaron el 69.5% de la variación de los datos, donde PC1 explica el 47.3% y PC2 el 22.2% (Tabla 6, Figura 9).

El eje 1 presentó correlación negativa con la grava, fango, feopigmentos, MOT y correlación positiva con arena media. Mientras que PC2 presentó correlación negativa con feopigmentos, MOT, Clo a y oxígeno y además una correlación positiva con la arena fina (Tabla 6, Figura 9).

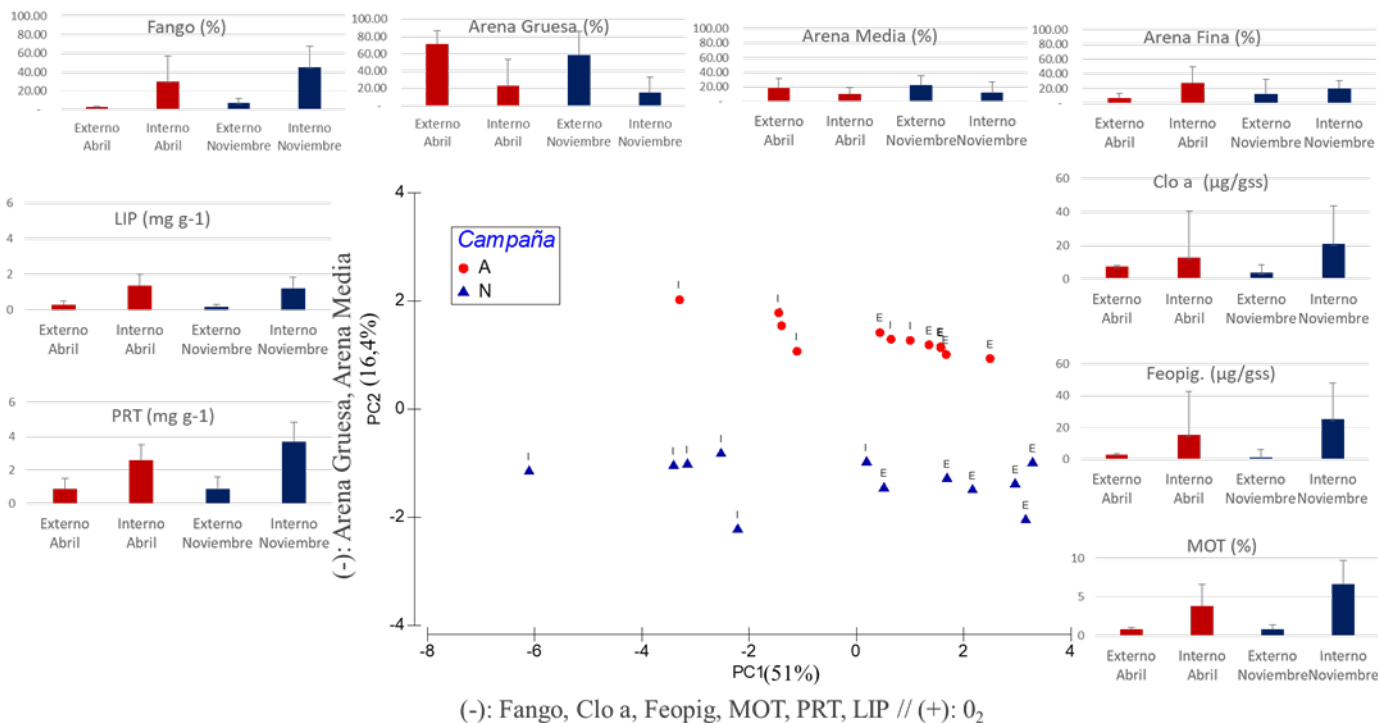
En ambas campañas se observa una separación de los sectores, donde los sitios del sector externo se caracterizan por sedimentos más gruesos y menos contenido de MOT, Clo a y feopigmentos y en la campaña de noviembre menos contenido de biopolímeros que los internos.



**Figura 9.** Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento para la campaña de abril. Se identifican los estratos: superficie (S), medio (M) y fondo (F) y los sectores externo (●E) e interno (△I). Además se presentan los valores promedios y desvío estándar para cada sector de algunas de las variables que componen los ejes.

Para el análisis de ambas campañas del estrato superficial los dos primeros ejes del análisis explicaron el 67.4% de la variación de los datos, donde PC1 explica el 51% y PC2 el 16.4% (Tabla 6, Figura 9).

El eje 1 presentó correlación negativa con el fango, Clo a, feopigmentos, MOT, PRT y LIP y correlación positiva con el oxígeno, mientras que PC2 presentó correlación negativa con arena gruesa y media (Tabla 6, Figura 9). Se observa una separación tanto de sectores como de campañas.

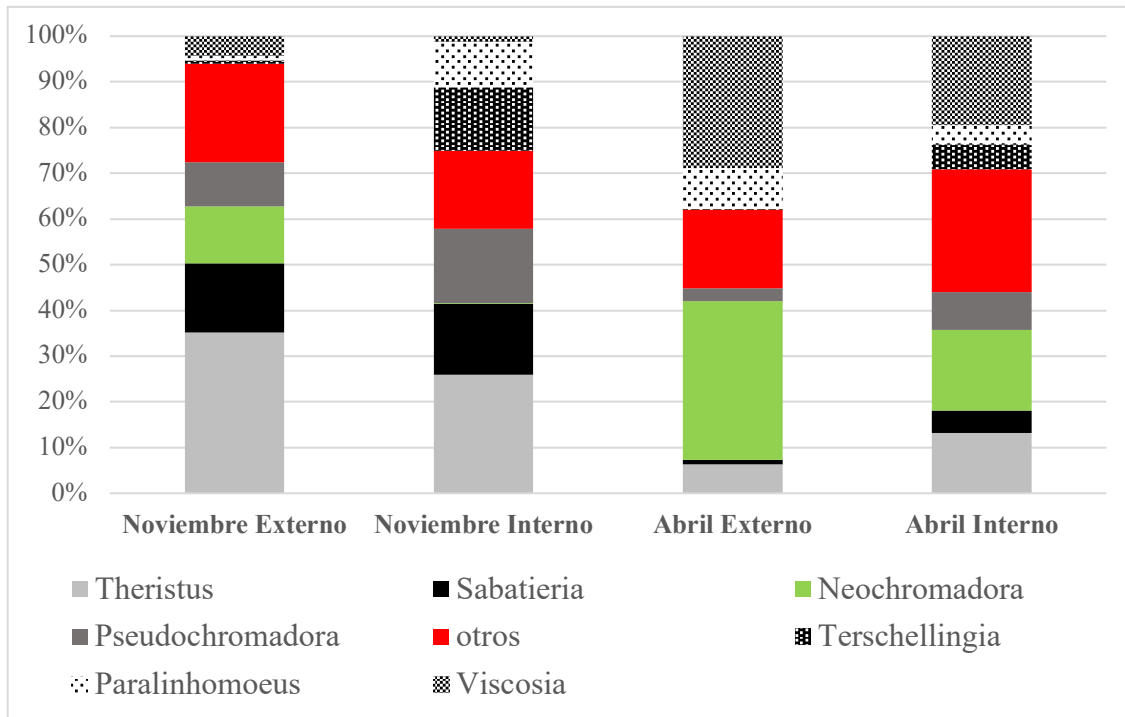


**Figura 10.** Análisis de componentes principales de las variables abióticas del sedimento superficial de ambas campañas (▲N: noviembre, ●A: abril). Se identifican los sectores externo (E) e interno (I). Además se presentan los valores promedios y desvío estándar para cada campaña y sector de algunas de las variables que componen los ejes.

### **Matriz biótica**

En ambas campañas se identificó un total de 7720 nematodos pertenecientes a 16 familias, 26 géneros, 27 especies y 2 morfotipos (Anexo II). En el sector externo ocurrieron 25 géneros, siendo *Enoplolaimus*, *Mesacanthion*, *Mesorhabditis*, *Monhystera*, Morfotipo 1 y 2, *Paracyatholaimus* y *Pomponema* exclusivos del sector. En el sector interno se determinaron 21 géneros, siendo *Halalaimus*, *Kosswigonema* y *Meloidogyne* los exclusivos (Tabla 7). Los géneros más abundantes en la campaña de noviembre en el sector externo fueron *Theristus* (37.4%), *Sabatieria* (16.1%),

*Neochromadora* (13.3%) y *Pseudochromadora* (10.2%), mientras que en el sector interno fueron *Theristus* (26.3%), *Pseudochromadora* (16.4%), *Sabatieria* (15.8%), *Terschellingia* (14.1%) y *Paralinhomoeus* (10.1%). En abril los géneros más abundantes en el sector externo fueron *Neochromadora* (38.6%), *Paralinhomoeus* (10%) y *Viscosia* (32.1%) y en el sector interno *Viscosia* (22.7%), *Neochromadora* (20.6%), *Theristus* (15.5%) y *Pseudochromadora* (9.8%) (Figura 11).



**Figura 11.** Proporción de los géneros más abundantes (%) discriminado por campaña y sector.

De los géneros identificados se seleccionaron aquellos que presentaron abundancias superiores a 30 individuos en por lo menos uno de los sectores para realizar un análisis de datos exhaustivo de los patrones de distribución tanto horizontales (sectores) como verticales (estratos) por campaña. De igual modo se analizaron los patrones de la abundancia total y de los índices ITD y MI (Tabla 7).

**Tabla 7.** Lista de géneros identificados en las dos campañas, se presentan datos de abundancia total y relativa (%) por sector y campaña, tipo de boca y valor de cp. \* Géneros seleccionados para análisis de datos. Destacado en negrita porcentajes de los géneros con mayor abundancia por sector.

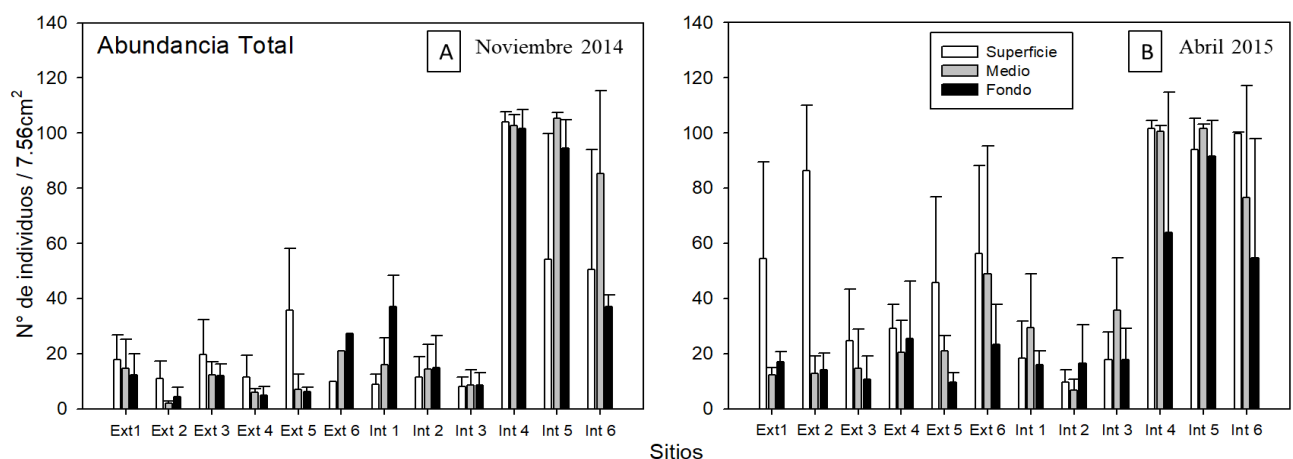
	Tipo de Boca	cp	Ext Nov	%	Int Nov	%	Ext Abr	%	Int Abr	%	E/I
<i>Anonchus*</i>	2A	5	4	0.5	117	4.6	9	0.6	154	5.5	E & I
<i>Anoplostoma*</i>	1B	2	33	4.3	54	2.1	8	0.5	21	0.7	E & I
<i>Antomicron</i>	1A	3	1	0.1	1	0.0	1	0.1	1	0.0	E & I
<i>Daptonema*</i>	1B	2	33	4.3	57	2.2	26	1.6	70	2.5	E & I
<i>Enoplolaimus</i>	2B	2	0	0.0	0	0.0	5	0.3	0	0.0	E
<i>Halalaimus</i>	1A	4	0	0.0	1	0.0	0	0.0	0	0.0	I
<i>Kosswigonema</i>	2B	3	0	0.0	7	0.3	0	0.0	14	0.5	I
<i>Leptolaimus*</i>	1A	2	30	3.9	38	1.5	54	3.4	38	1.4	E & I
<i>Meloidogyne</i>	-	-	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.0	I
<i>Mesacanthion</i>	2B	3	8	1.0	0	0.0	1	0.1	0	0.0	E
<i>Mesorhabditis</i>	1B	-	2	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	E
<i>Monhystera</i>	1B	1	2	0.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	E
<i>Morfotipo 1</i>	1B	-	1	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	E
<i>Morfotipo 2</i>	1B	-	1	0.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	E
<i>Neochromadora*</i>	2A	2	101	<b>13.3</b>	4	0.2	619	<b>38.6</b>	576	<b>20.6</b>	E & I
<i>Odontophora</i>	1B	2	0	0.0	1	0.0	4	0.2	1	0.0	E & I
<i>Oncholaimus</i>	2B	4	4	0.5	12	0.5	0	0.0	0	0.0	E & I
<i>Oxystomina*</i>	1A	4	1	0.1	57	2.2	3	0.2	87	3.1	E & I
<i>Paracyatholaimus</i>	2A	2	2	0.3	30	1.2	0	0.0	4	0.1	E & I
<i>Pseudochromadora*</i>	2A	3	78	<b>10.2</b>	418	<b>16.4</b>	49	3.1	275	<b>9.8</b>	E & I
<i>Pseudosteineria</i>	1B	2	1	0.1	5	0.2	3	0.2	0	0.0	E & I
<i>Paradontophora</i>	2B	4	3	0.4	25	1.0	7	0.4	20	0.7	E & I
<i>Paralinhomoeus*</i>	1B	2	8	1.0	259	<b>10.1</b>	160	<b>10.0</b>	137	4.9	E & I
<i>Pomponema</i>	2B	4	0	0.0	0	0.0	2	0.1	0	0.0	E
<i>Sabatieria*</i>	1B	2	123	<b>16.1</b>	403	<b>15.8</b>	17	1.1	157	5.6	E & I
<i>Theristus*</i>	1B	2	285	<b>37.4</b>	671	<b>26.3</b>	113	7.1	434	<b>15.5</b>	E & I
<i>Terschellingia*</i>	1A	3	6	0.8	361	<b>14.1</b>	2	0.1	178	6.4	E & I
<i>Viscosia*</i>	2B	3	35	4.6	34	1.3	515	<b>32.1</b>	635	<b>22.7</b>	E & I
<b>Total</b>			<b>762</b>		<b>2555</b>		<b>1602</b>		<b>2801</b>		

Donde 1A: depositívoros selectivos, 1B: depositívoros no selectivos, 2A: comedores de superficie, 2B: predadores, cp 1: colonizador extremo, cp 2: aumentan abundancia en condiciones de estrés, cp 3: intermedios, cp 4: sensibles al estrés, cp 5: persistentes extremos, Ext Nov/Abr: abundancia sector externo en noviembre y en abril respectivamente e Int Nov/Abr: abundancia sector interno en noviembre y abril respectivamente. E: externo, I: interno.



Los géneros *Anoplostoma*, *Theristus*, *Sabatieria*, *Paralinhomoeus*, *Neochromadora*, *Daptonema* y *Viscosia* presentaron una distribución binomial negativa tipo 2 (Negbin 2) en ambas campañas. *Anonchus* presentó una distribución binomial negativa tipo 2 en la campaña de noviembre y tipo 1 en la campaña de abril. En cambio, *Leptolaimus* y *Oxistomina* presentaron una distribución Poisson cero inflada (ZPoisson) en noviembre, mientras que en abril su distribución se ajustó a una binomial negativa tipo 2. *Terschellingia* presentó una distribución binomial negativa tipo 1 cero inflada en noviembre, mientras que en abril presentó una distribución binomial negativa tipo 1. *Pseudochromadora* presentó una distribución Gaussiana cero inflada en noviembre y binomial negativa tipo 2 en abril. La abundancia total presentó en noviembre una distribución binomial negativa cero inflada y en abril una distribución binomial negativa tipo 1 (Tabla S1 y S2 ANEXO I).

La abundancia total de nematodos presentó en ambas campañas una respuesta factorial (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En ambas campañas se registraron las máximas abundancias en los sitios internos 4, 5 y 6 mientras que los sitios internos 1 y 2 presentaron abundancias similares a los externos. A su vez, se observó un aumento en la abundancia en los sectores externos en la campaña de abril respecto a noviembre, siendo este aumento más notorio en los estratos superficiales. Se observó además, en los sectores externos de la campaña de abril, una tendencia a la disminución en la abundancia con la profundidad (Figura 12).

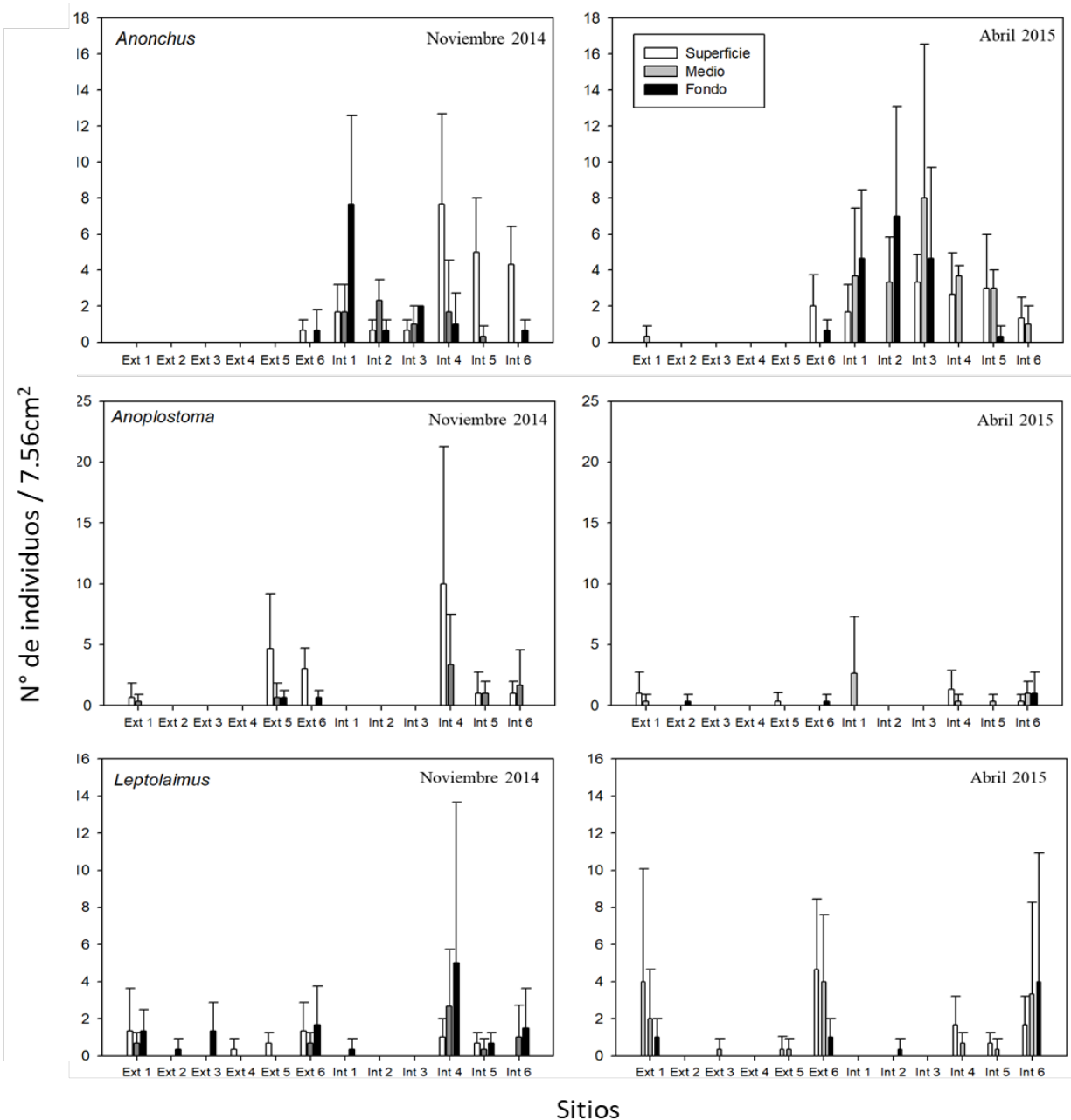


**Figura 12.** Abundancia total de nematodos (número de individuos por muestra, media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de la Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre (A) y abril (B).

El género *Anonchus* presentó una respuesta aditiva en noviembre y a nivel de sector en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En ambas campañas la abundancia de *Anonchus* fue claramente superior en el sector interno y a su vez en noviembre tuvo mayor abundancia en los estratos superficiales (Figura 13).

*Anoplostoma* presentó una respuesta factorial en noviembre y a nivel de sector en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I). Se observó una mayor abundancia en el sector interno en ambas campañas, siendo más notorio en la campaña de noviembre, donde además se observó una mayor abundancia en los estratos superficiales de ambos sectores (Figura 13).

*Leptolaimus* tuvo una respuesta factorial en noviembre y a nivel de estratos en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En la campaña de noviembre se observó mayor abundancia en el sector interno y una tendencia al aumento de la abundancia a medida que aumenta la profundidad del estrato, mientras que en la campaña de abril la tendencia fue de mayor abundancia en el estrato superior y una disminución a medida que aumenta la profundidad, salvo en el sitio Int 6 donde se mantiene la tendencia de noviembre, de aumentar la abundancia a medida que se profundiza en el sedimento (Figura 13).



**Figura 13.** Abundancia de géneros de nematodos (media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre y abril.

*Terschellingia* presentó en ambas campañas una respuesta aditiva (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En ambas campañas se observó mayor abundancia en el sector interno principalmente en los sitios Int 4, 5 y 6 y una tendencia, que fue más notoria en la campaña de noviembre, al aumento de la abundancia con la profundidad (Figura 14).

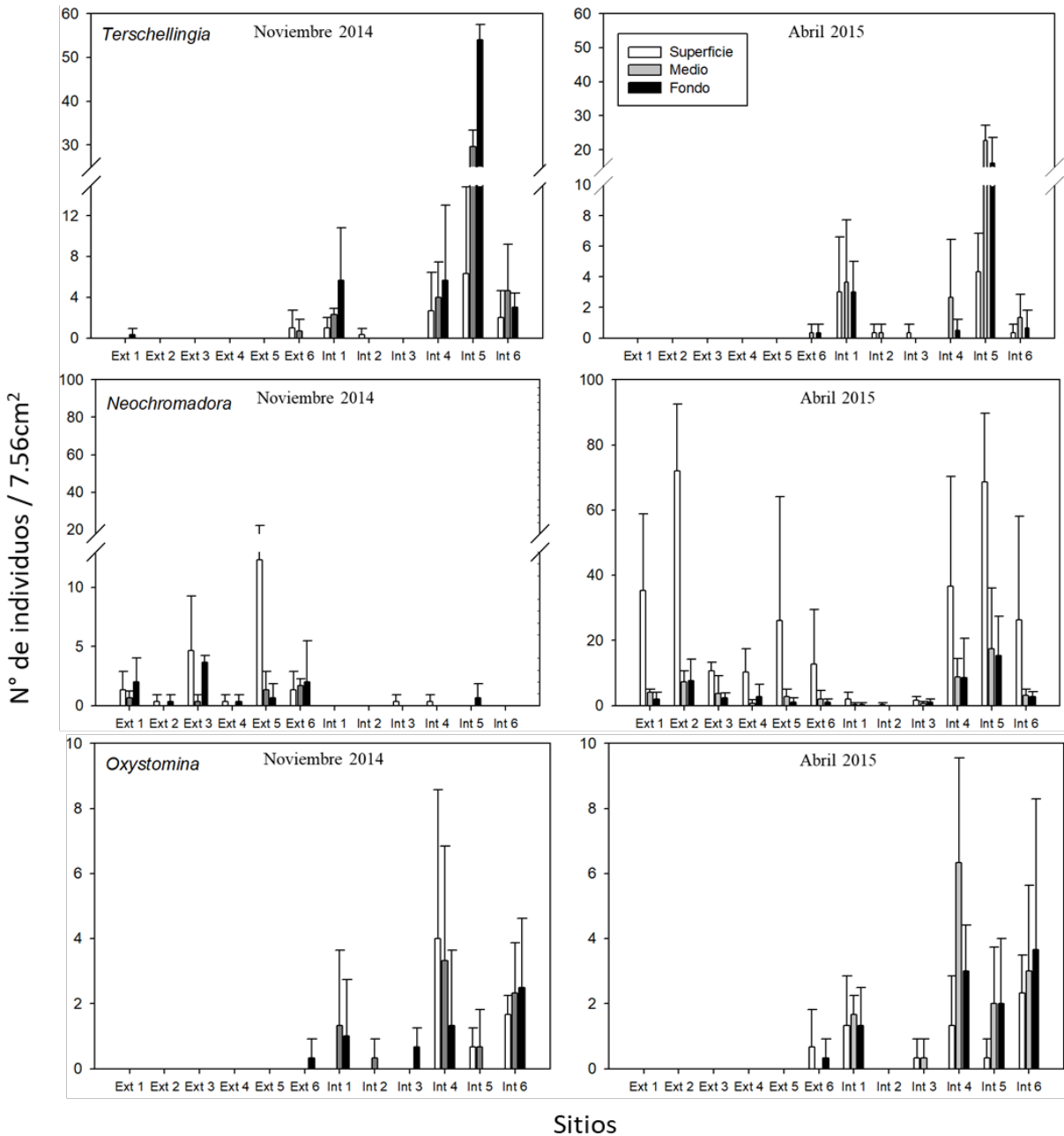
*Neochromadora* presentó una respuesta aditiva en noviembre y a nivel de estrato en abril. (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En la campaña de noviembre se registró mayor abundancia en el sector externo y una pobre aparición en el sector interno y, a su vez, una tendencia a mayor abundancia en los estratos superficiales. Por otro lado, en abril se mantuvo la tendencia de mayores abundancias en los estratos superficiales, destacándose un incremento en la abundancia en ambos sectores (Figura 14).

*Oxystomina* presentó una respuesta a nivel de sector en ambas campañas (Tabla S1 y S2 ANEXO I), observándose mayor abundancia en el sector interno. Vale resaltar que en el sector externo solo en el sitio Ext 6 fue registrado este género (Figura 14).

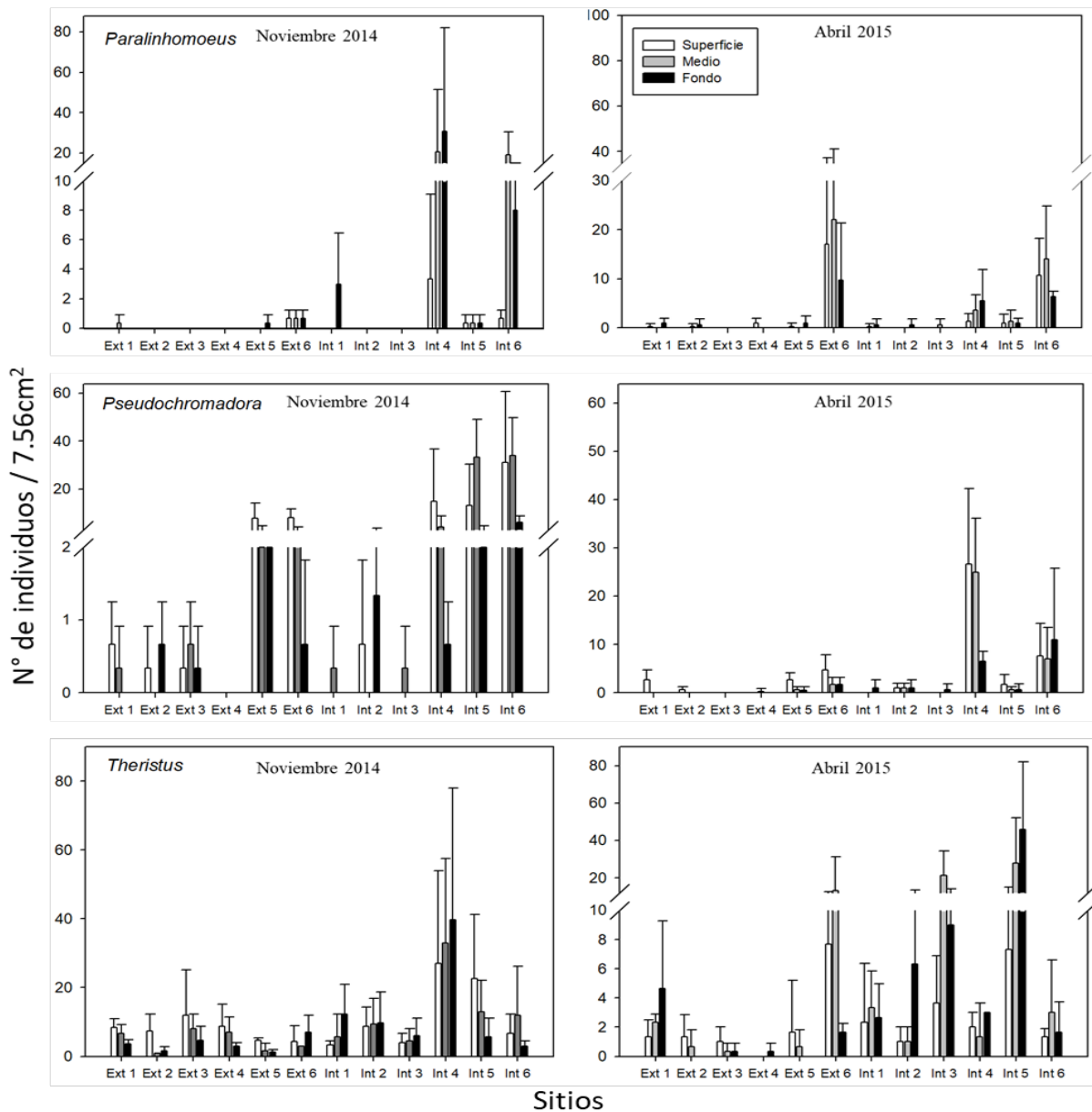
*Paralinhomoeus* presentó en noviembre una respuesta a nivel de sector mientras que en abril su respuesta fue nula (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En la campaña de noviembre se observó mayor abundancia en el sector interno siendo los sitios Int 4 y 6, que presentaron mayor abundancia, mientras que en abril se registraron bajas abundancias en ambos sectores (Figura 15).

*Pseudochromadora* mostró respuesta a nivel de sector en noviembre y factorial en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En noviembre se registraron mayores abundancias en el sector interno, tendencia que se mantuvo en abril y a su vez se observó mayor abundancia de este género a nivel superficial (Figura 15).

*Theristus* presentó una respuesta a nivel de sector en noviembre y en abril factorial (Tabla S1 y S2 ANEXO I). Se registraron en noviembre mayores abundancias en el sector interno respecto al externo y en abril se mantuvo esa tendencia a nivel de sectores. En el sector interno y los sitios Ext1 y 6 se observó un aumento de la abundancia a medida que se profundiza en el sedimento (Figura 15).



**Figura 14.** Abundancia de nematodos (media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre y abril.



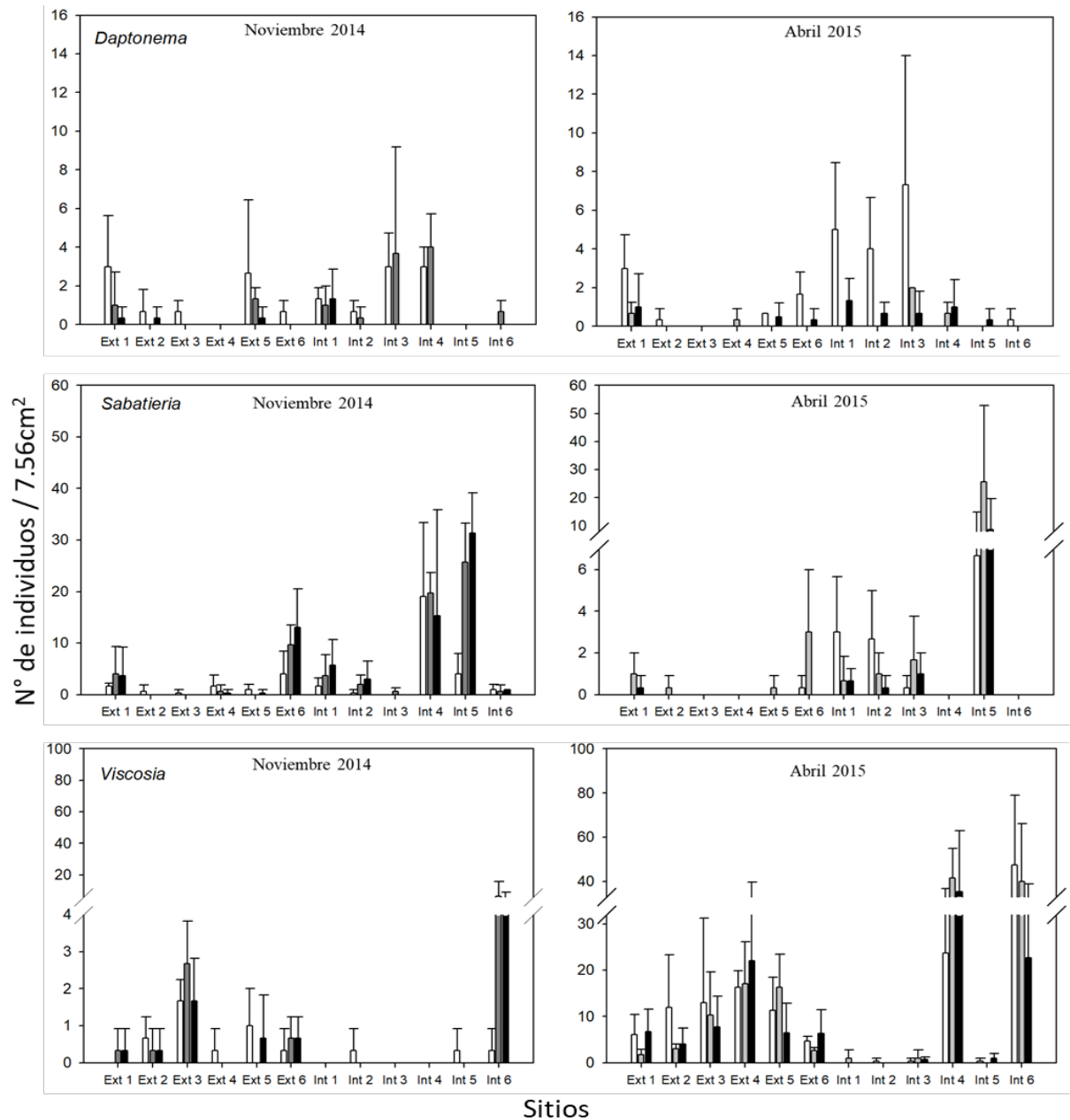
**Figura 15.** Abundancia de nematodos (media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre y abril.

*Daptonema* presentó en ambas campañas una respuesta a nivel de estrato (Tabla S1 y S2 ANEXO I), registrándose una disminución de la abundancia con la profundidad (Figura 16).

*Sabatieria* presentó una respuesta nula en noviembre y factorial en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I), con valores máximos en noviembre en las estaciones internas 4 y 5 seguido de las externas 6

y 1, mientras que en la campaña de abril se observó una mayor abundancia en el sector interno y una tendencia en el aumento a medida que se profundiza en el sedimento (Figura 16).

*Viscosia* presentó una respuesta nula en noviembre y a nivel de sector en abril (Tabla S1 y S2 ANEXO I). En la campaña de noviembre se registraron bajas abundancias en todos los sitios mientras que en abril fueron mayores en el sector interno (Figura 16).



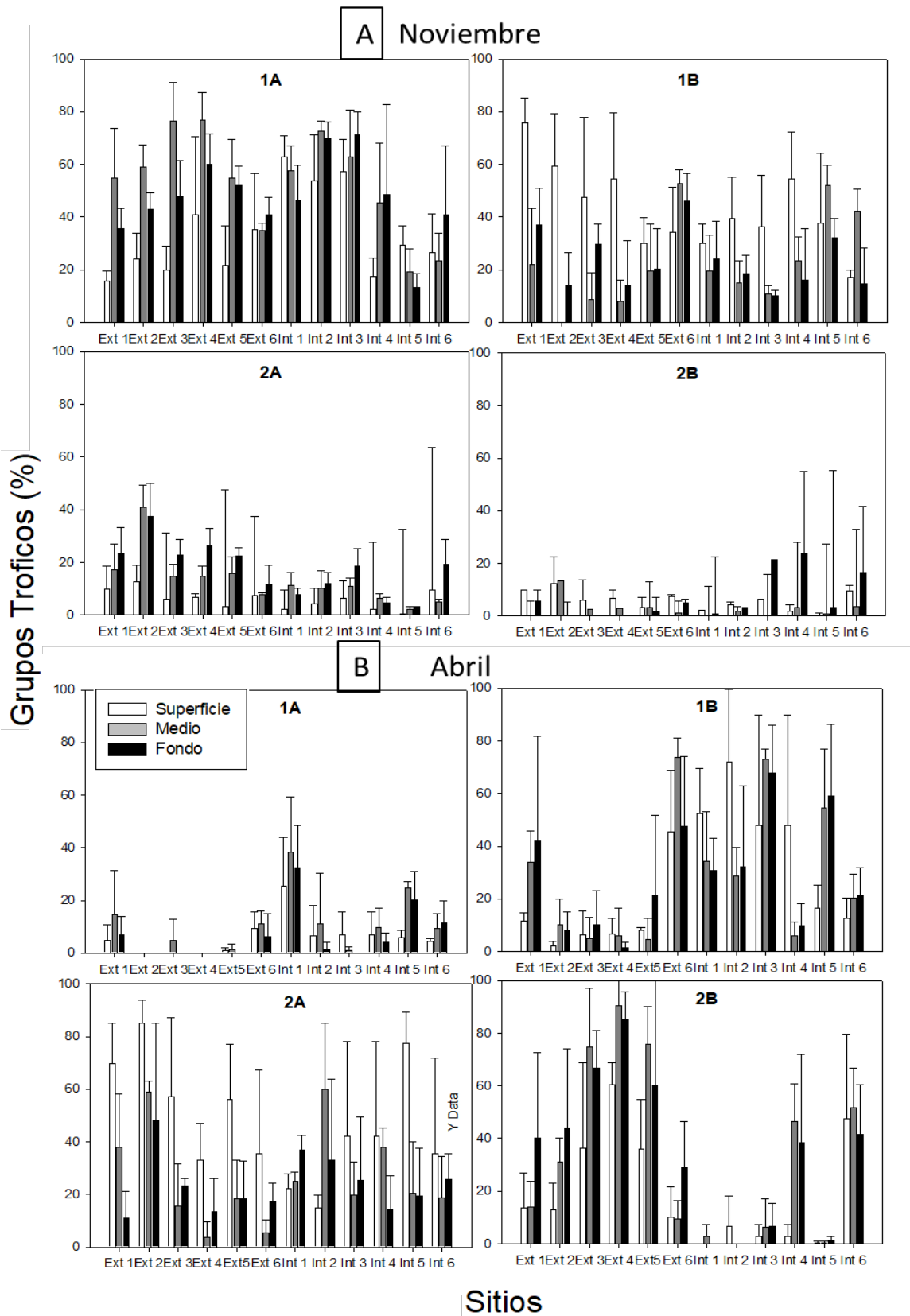
**Figura 16.** Abundancia de nematodos (media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre y abril.

En el muestreo de noviembre los grupos tróficos más abundantes fueron los depositívoros selectivos y no selectivos (1A y 1B), mientras que en abril se observó un considerable incremento de los comedores de superficie y predadores (2A y 2B) (Figura 17). En noviembre los estratos superficiales de los sitios externos e internos presentaron mayoritariamente organismos 1A y 1B y a medida que aumenta la profundidad se observó un incremento de los grupos tróficos 1A y 2A. A nivel de sectores, los sitios internos 1, 2 y 3 presentaron en la superficie mayor presencia de organismos 1A que el resto de los sitios, mientras que los sitios externos presentaron una mayor proporción de 1B y 2A respecto a los internos. También se destaca una mayor proporción de organismos 2B en los sitios internos respecto a los externos.

En abril los estratos superficiales de los sitios externos presentaron mayoritariamente organismos 2A y 2B, mientras que los internos presentaron mayoritariamente organismos 1B y 2A. Además, a medida que aumenta la profundidad incrementó la presencia de los 1A, 1B y 2B, mientras que disminuyó la abundancia de los 2A.

La distribución del ITD y el MI en noviembre fue heterogénea, mientras que en abril presentaron una distribución heterogénea-sector. En noviembre ambos índices presentaron un comportamiento factorial, sin embargo, en abril el MI tuvo un comportamiento aditivo mientras que el ITD tuvo un comportamiento a nivel de sector (Tabla 8). Los mayores valores de ITD fueron registrados en los sitios externos 1 y 4 en noviembre y en externo 2 e interno 5 en abril, indicando una menor diversidad trófica. A su vez en abril se registraron mayores valores de ITD que en noviembre. Además, en noviembre se observó una disminución de los valores de ITD (aumento de la diversidad trófica) a medida que aumenta la profundidad. Se registraron en superficie, en ambas campañas, valores de MI de 2-3 indicando un ambiente perturbado. En la campaña de noviembre, en contraste, se observaron valores más bajos de MI (2) indicando un mayor nivel de perturbación de la superficie respecto a los estratos más profundos (3-4) (Figura 18).





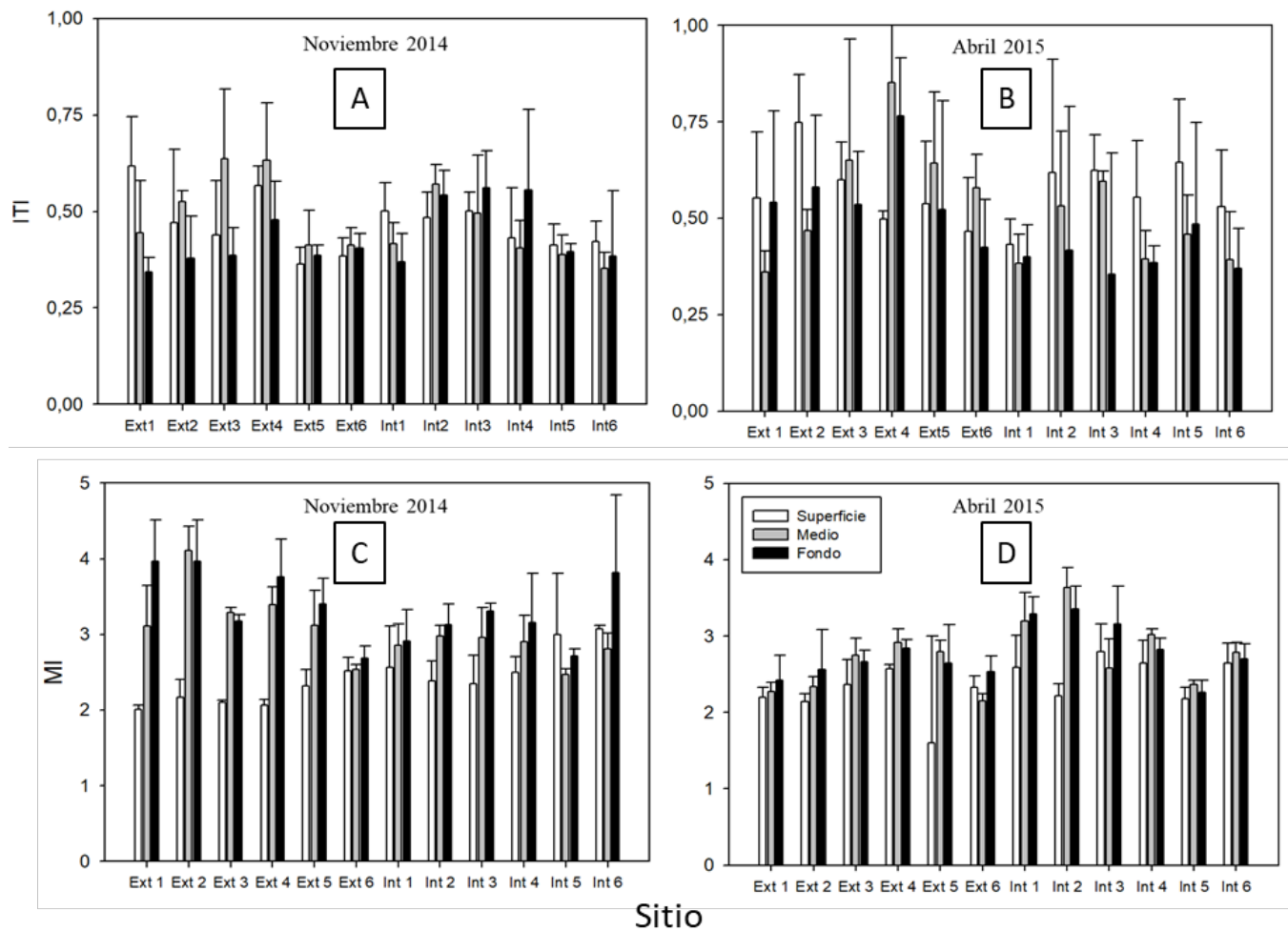
**Figura 17.** Grupos tróficos (media  $\pm$  desvío estándar), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre (A) y abril (B).

**Tabla 8.** Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para la campaña de abril y de noviembre del Índice de Diversidad Trófica (ITD) y del Índice de Madurez (MI). Los modelos seleccionados se identifican por el valor AIC en negrita.

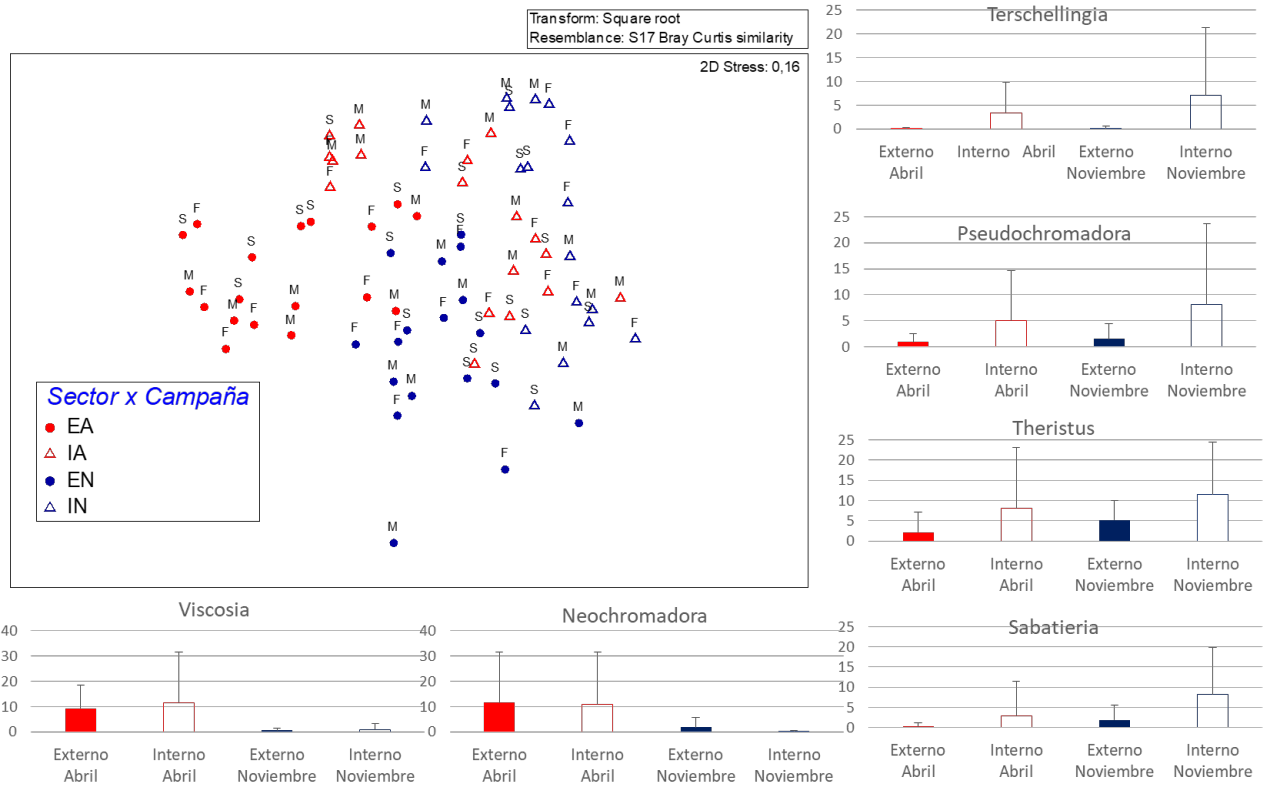
Modelo	Noviembre		Abril	
	ITD	MI	ITD	MI
<b>Varianza</b>				
Hetero	<b>-132</b>	<b>154</b>	-43	89
Hetero-sector	-128	160	<b>-46</b>	<b>85</b>
Homo	-130	159	-42	92
<b>Términos Fijos</b>				
Factorial	<b>-164</b>	<b>137</b>	-70	67
Aditivo	-159	152	-69	<b>66</b>
Sector	-160	188	<b>-71</b>	68
Estrato	-162	150	-68	86
Nulo	-161	190	-70	89

Los análisis de proximidad nMDS de los géneros mostraron que los ensamblajes del sector interno se separan de los ensamblajes del sector externo (Figura 19). Por otra parte, para los grupos tróficos mostraron que el ensamblaje de nematodos difiere entre sectores pero a su vez el comportamiento de cada sector es diferente entre campañas, siendo el sector externo de abril el que se separa más del resto de los ensamblajes (Figura 20).

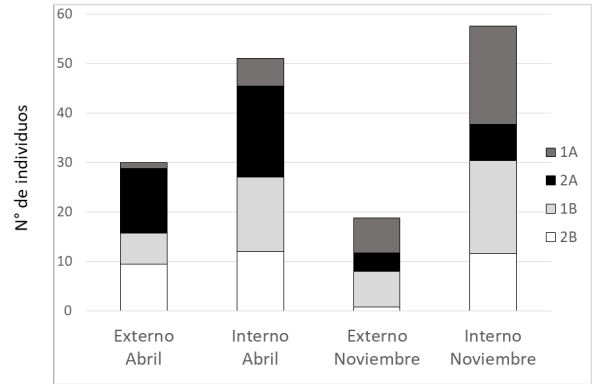
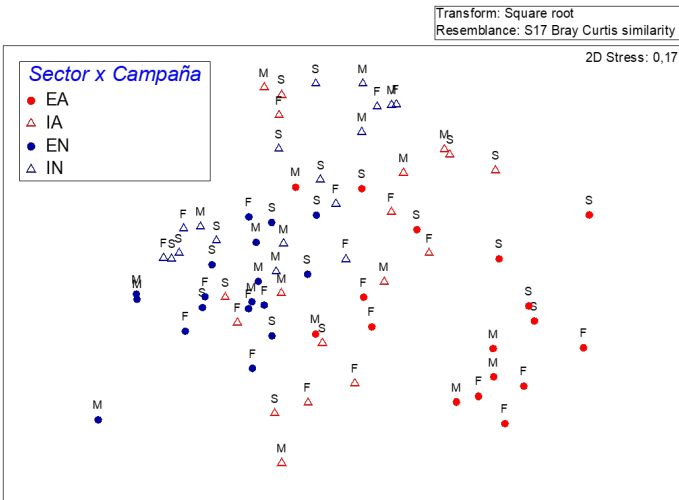
El análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) de los géneros mostro que la similitud dentro de cada grupo formado por el cruce de sector y campaña ronda el 40% en el caso de los externos (abril: EA y noviembre: EN) y el 30% en los internos (abril: IA y noviembre: IN), mostrando una gran variabilidad en ambas campañas entre los sitios de cada sector (Tabla 9). Los porcentajes de disimilitud entre grupos fue alto, superando el 70% en todos los casos. Los géneros *Neochromadora*, *Viscosia*, *Theristus*, *Pseudochromadora*, *Terschellingia* y *Sabatieria* son los que explican la disimilitud entre campañas y sectores (Tabla 9, Figura 19). Por otra parte el SIMPER de los grupos tróficos mostro que la similitud dentro de cada grupo fue superior al 40% en todos los casos, la mayor similitud correspondió al grupo externo noviembre (69.6%), indicando una mayor homogeneidad en la proporción de los grupos tróficos entre sus sitios (Tabla 9). Los porcentajes de disimilitud entre grupos supero el 60% en todos los casos. El grupo EA se diferencia más del resto de los grupos (Tabla 9, Figura 20).



**Figura 18.** Valores medio  $\pm$  desvío estándar del Índice de Diversidad Trófica (ITD: A, B) y del Índice de Madurez (MI: C, D), en los sitios del sector externo (Ext 1-Ext 6) e interno (Int 1-Int 6) de Laguna de Rocha. Se presentan los resultados de superficie, medio y fondo para cada sitio para las campañas de noviembre y abril.



**Figura 19.** Diagrama nMDS del análisis realizado sobre la matriz de géneros de nematodos encontrados en ambos sectores (interno y externo) y en los tres estratos (superficie: S, medio: M y fondo: F) para ambas campañas (abril y noviembre). Donde, externo abril: EA (●), interno abril: IA (△), externo noviembre: EN (●) e interno noviembre: IN (△). Además se presentan las abundancias (número de individuos promedio  $\pm$  desvío estándar) de los géneros arrojados por el análisis SIMPER como los principales responsables de la disimilitud entre los grupos.



**Figura 20.** Diagrama nMDS del análisis realizado sobre la matriz de grupos tróficos de nematodos encontrados en ambos sectores (interno y externo) y en los tres estratos (superficie: S, medio: M y fondo: F) para ambas campañas (abril y noviembre). Donde, externo abril: EA (●), interno abril: IA (△), externo noviembre: EN (●) e interno noviembre IN (△). Además se presentan las abundancias promedio de los grupos tróficos.

El BIOENV de noviembre mostro que CHO y arena fina son las variables abióticas que mejor explican el ensamble de géneros (coeficiente: 0.324), mientras que en abril la grava, arena gruesa, feopigmentos, MOT y oxígeno son las variables que explicaron mejor el ensamble (coeficiente: 0.587).

**Tabla 9.** Análisis del porcentaje de similaridad (SIMPER) de los géneros y grupos tróficos. Se presentan los resultados de similaridad dentro de cada grupo (sector x campaña). Además se presentan los porcentajes de disimilaridad y se especifican los géneros que contribuyen al porcentaje de la misma entre los grupos. En negrito se presentan los porcentajes en base a los géneros y en rojo para los grupos tróficos (porcentaje de corte 90%).

Similaridad (%)	Externo Abril (EA)	Interno Abril (IA)	Externo Noviembre (EN)	Interno Noviembre (IN)
	46.8 / <b>53.8</b>	28.3 / <b>42.8</b>	41.8 / <b>69.6</b>	31.5 / <b>54.7</b>
Disimilaridad	EA		EN	IA
	<b>78.9% / 68%</b>			
EN	<i>Viscosia</i> <i>Neochromadora</i> <i>Theristus</i> <i>Paralinhomoeus</i> <i>Sabatieria</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Leptolaimus</i>			
	<b>77.5% / 62%</b>	<b>77.2% / 57%</b>		
IA	<i>Viscosia</i> <i>Neochromadora</i> <i>Theristus</i> <i>Anonchus</i> <i>Paralinhomoeus</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Terschellingia</i> <i>Sabatieria</i> <i>Daptonema</i>	<i>Viscosia</i> <i>Theristus</i> <i>Neochromadora</i> <i>Anonchus</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Sabatieria</i> <i>Terschellingia</i> <i>Daptonema</i> <i>Paralinhomoeus</i>		
	<b>88% / 67%</b>	<b>70% / 51%</b>	<b>72% / 59%</b>	
IN	<i>Viscosia</i> <i>Neochromadora</i> <i>Theristus</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Paralinhomoeus</i> <i>Sabatieria</i> <i>Terschellingia</i> <i>Anonchus</i>	<i>Theristus</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Sabatieria</i> <i>Terschellingia</i> <i>Paralinhomoeus</i> <i>Anonchus</i> <i>Neochromadora</i> <i>Daptonema</i> <i>Viscosia</i> <i>Anoplostoma</i>	<i>Theristus</i> <i>Viscosia</i> <i>Pseudochromadora</i> <i>Neochromadora</i> <i>Sabatieria</i> <i>Terschellingia</i> <i>Paralinhomoeus</i> <i>Anonchus</i> <i>Daptonema</i>	

## DISCUSIÓN

La integración de nuestros resultados proporcionó una descripción cuantitativa de los patrones de biodiversidad de los nematodos estuarino/marinos de vida libre de la Laguna de Rocha. A fin de abordar los temas más relevantes derivados de nuestros resultados dividimos esta sección en dos partes:

### 1. Condiciones ambientales

#### *Columna de agua*

Las mayores profundidades observadas, de manera general, en todos los sitios en la campaña de noviembre junto a valores de salinidad homogéneos para toda la laguna podrían relacionarse con el nivel de precipitaciones previas a la fecha del muestreo. Estas precipitaciones pudieron aumentar el caudal de entrada de agua dulce al sistema y con el hecho del escaso tiempo que hacía que la barra había sido abierta (pocos días, registro de guardaparques), imposibilitando la entrada de mucha agua oceánica. En abril la mayor salinidad registrada en el sector externo podría relacionarse con el tiempo que la barra llevaba abierta (aproximadamente un mes, apertura natural- viento, registro de guardaparques). Varios autores ya han resaltado que la conexión intermitente con el océano constituye un factor estructurador de las lagunas costeras (e.g., Conde et al., 2003; Perissinotto et al., 2010). En el comienzo de la intrusión no son detectadas las diferencias en la salinidad del sistema, seguramente ese sería el escenario en la campaña de noviembre. En el caso que la intrusión continúe y alcance únicamente la región más cercana a la barra, se genera un gradiente salino en el sistema, con características marinas en esta zona, mientras que la región cercana a los tributarios mantiene las condiciones límnicas, este sería el escenario registrado en la campaña de abril. Si las condiciones favorables a la intrusión persisten (dirección e intensidad del viento), ésta puede alcanzar la zona próxima a los tributarios, por lo cual el sistema es nuevamente homogéneo y con condiciones estuarinas a lo largo de todo el sistema (Conde et al., 2003). De igual modo el sistema se homogeniza una vez que la conexión se corta, y el gradiente de salinidad horizontal tiende a desaparecer, quedando un remanente del mismo que radica en la diferencia entre la desembocadura y la parte interna o cabeza del sistema que recibe el aporte dulceacuícola del continente (Perissinotto et al., 2010, Conde et al., 2019). La variación temporal observada en la temperatura, coincide con lo registrado en estudios previos (Meerhoff et al., 2013; Kandratavicius et al., 2015). Dicha variación temporal se atribuye a la variación propia de las épocas en que se realizaron los muestreos, temperaturas más cálidas

en noviembre (primavera) respecto a abril (otoño). El pH del agua en ambas campañas con mayores valores en los sectores externos respecto a los internos puede atribuirse a la relación del pH con los valores de salinidad, el cual aumenta con la salinidad hasta que se alcanza la saturación del carbonato de calcio, y los sectores externos tienen mayores valores de salinidad.

### ***Sedimento Dimensión Horizontal***

La predominancia para el ambiente estudiado de arena gruesa y media en el sector externo y de fango y arena fina en el interno está de acuerdo con lo encontrado en estudios previos (Giménez et al., 2005; 2014; Meerhoff, 2009; Kandratavicius et al., 2015). La distribución de las distintas fracciones de sedimento presenta un patrón consistente con la descripción general dada por Phleger (1981). Según este autor los sedimentos más gruesos se encuentran en las desembocaduras (sector externo), donde las velocidades de corriente son máximas, mientras que sedimentos más finos se encuentran en las zonas más internas, donde las velocidades de corriente se acercan a cero. Además, el sector interno presentó mayor contenido de materia orgánica, Clo a y feopigmentos. En términos generales, el patrón de distribución de la materia orgánica, Clo a y feopigmentos se corresponde con lo observado para el sedimento: los sedimentos finos presentan una mayor capacidad de retención de los compuestos orgánicos y pigmentos (Gray & Elliott, 2009). En ese sentido, el sector interno presentó sedimentos más finos (arena fina y fango) y mayor contenido de materia orgánica, denotando entonces ambientes de menor energía. El sector interno de la Laguna de Rocha es entonces una región más abrigada, menos expuesta a la fuerza del océano y del viento, generando un ambiente de menor energía, donde las fracciones de sedimento más finos se hacen presente en mayor proporción y contienen mayor contenido de materia orgánica sedimentaria. La presencia de grava en el sector interno ya ha sido observada en estudios previos (Kandratavicius et al., 2015), destacando que estos valores se corresponden con la presencia de clastos biogénicos (conchillas) y no a la presencia de las fracciones minerales de sedimentos gruesos, indicando que en estos sectores se da el mayor depósito y acumulación de este tipo de material.

La cantidad y calidad de la materia orgánica particulada presente en los sedimentos varía temporal y espacialmente en respuesta a factores físicos y biológicos. Las tres clases de biopolímeros orgánicos (CHO, PRT y LIP) estudiados se utilizan para evaluar el grado de degradación de la materia orgánica, su valor nutricional y el estado trófico del ambiente bentónico (Dell'Anno et al., 2002). El presente estudio determinó en ambas campañas una mayor



proporción de CHO, PRT y LIP en el sector interno de la laguna, patrón que ya había sido evidenciado por Pita et al. (2017). El sitio Ext 6 también presentó un comportamiento similar a los internos respecto a los biopolímeros, al igual que en su composición granulométrica, siendo este el sitio más alejado de la desembocadura. Las mayores concentraciones de CHO en el sector interno pueden asociarse con la baja hidrodinámica, la presencia de sedimento fino y con la presencia de hidrófitas (Conde & Sommaruga, 1999; Conde & Rodríguez-Gallego, 2002; Rodríguez-Gallego 2010). De igual modo puede asociarse con la presencia de microfitobentos que es común en ecosistemas costeros poco profundos como el aquí estudiado (Conde et al., 1999; Pusceddu et al., 2003; Rodríguez-Graña et al., 2008), caracterizado por producir considerables cantidades de CHO como sustancias exopoliméricas (Welker et al., 2002). En vista de las altas concentraciones de Clo a registradas en los sectores internos, principalmente en la campaña de noviembre, las microalgas bentónicas también pueden representar una fuente relevante de CHO en los sedimentos de la Laguna de Rocha. Las PRT son el biopolímero más abundante en la Laguna de Rocha, representa la fuente de nitrógeno más importante para los organismos heterotróficos y es consumido en una tasa superior que los CHO (Joseph et al., 2008), además su presencia en los sedimentos refleja la productividad de los sistemas acuáticos (Danovaro et al., 1999). La razón PRT/CHO es usada como un indicador de la edad relativa de la materia orgánica sedimentaria (Danovaro et al., 1993), y cuando es mayor a 1 es indicativa de materia orgánica nueva y fresca, mientras que si  $PRT/CHO < 1$  es indicativa de materia orgánica vieja y degradada (Dell'Anno et al., 2002). En la campaña de noviembre (primavera) en ambos sectores (excepto Int 6) y en la campaña de abril (otoño) en el sector interno, esta razón presentó valores  $>1$ , confirmando la presencia de materia orgánica nueva y fresca. En el sector externo, en la campaña de abril los valores  $<1$  indican la presencia de materia orgánica vieja y degradada. Incrementos en la materia orgánica recién producida, generalmente, se asocian con picos de producción primaria bentónica (Fabiano et al., 1995) y entradas recientes de fitoplancton de la deposición de la columna de agua (Pusceddu et al., 2003). Por lo tanto, las diferencias observadas entre las campañas de muestreo deben estar relacionadas con patrones estacionales en la productividad, existiendo una mayor productividad en primavera. También se puede relacionar con la morfodinámica del sistema, donde el sector interno, más estable en condiciones hidrodinámicas y con presencia de sedimentos finos, retiene más materia orgánica, lo que explicaría que incluso en una temporada de menor productividad, como lo sería otoño el sector interno, presente materia orgánica nueva y fresca. En este sentido nuestros resultados son coincidentes con los patrones estacionales encontrados por Pita et al. (2017) respecto a la edad relativa de la materia orgánica

sedimentaría. Por otro lado, la concentración de lípidos ha sido relacionada con la fracción lábil de la materia orgánica y la razón CHO/LIP es usada como un indicador del valor energético como alimento de la materia orgánica sedimentaria para el bentos (Joseph et al., 2008). En ambas campañas los valores de la razón CHO/LIP >>1 en ambos sectores, indicando un bajo valor energético de la materia orgánica. Los sitios Int 4 en noviembre e Int 1 en abril constituyeron la excepción a este patrón, presentando valores que indicaron un alto nivel energético de los sedimentos. Esto indicaría un efecto de la morfodinámica del sector interno que permitiría la permanencia de materia orgánica de mejor valor nutricional para los organismos, independientemente de la estación del año. Los resultados de este trabajo difieren en este aspecto a lo encontrado por Pita et al. (2017) quienes reportaron un mayor valor energético en los sedimentos en primavera respecto a los de otoño atribuyéndolo a las diferencias de productividad estacionales. Las concentraciones de carbono biopolimérico (CB) encontradas fueron similares a la registradas anteriormente en Laguna de Rocha, al igual que el registro de sus mayores valores en sectores internos de la laguna (Pita et al., 2017), sugiriendo una mejor calidad de la materia orgánica de este sector (Fabiano et al., 1995).

### ***Sedimento Dimensión Vertical***

El aumento del fango observado en el sector interno (abril) a medida que aumenta la profundidad en el perfil del sedimento, se explicaría por la deposición y acumulación de los sedimentos finos que se ve posibilitada por la menor hidrodinámica del sector (Gimenez et al., 2006, 2014). En la campaña de primavera este patrón no se observa y seguramente esté vinculado a la acción de los vientos más intensos de esta época, que tendrían un importante efecto de resuspensión en el cuerpo de agua somero de la laguna (Conde et al., 1999), no permitiendo la deposición de los sedimentos finos. La disminución con la profundidad, en ambos sectores y campañas, en el contenido de MOT, Clo a, feopigmentos, CHO, CB y concentración de oxígeno disuelto, es consistente con lo encontrado por Pereira et al. (2019) en la zona de la barra vieja de la propia Laguna de Rocha (parte del sector interno del presente trabajo). En la literatura internacional existen también estudios que presentan idéntico patrón de comportamiento de las variables aquí estudiadas (Venturini, 2007; Vieira & Fonseca, 2013). La degradación de los pigmentos fotosintéticos es un factor determinante de su concentración en el sedimento y en general la tasa de degradación es mayor en la capa límite bentónica debido a la mayor mezcla y contacto del material con las bacterias sedimentarias, el oxígeno en el agua intersticial y en la columna de agua adyacente (Boon & Duineveld, 1996; Quintana et al., 2010; Muniz et al., 2013). La

disminución en la concentración de pigmentos fotosintéticos dentro de la columna sedimentaria sugiere que los pigmentos fotosintéticos están siendo remineralizados dentro de la columna sedimentaria. En la campaña de noviembre se observó una disminución de los biopolímeros verticalmente, sin embargo, la edad relativa de la materia orgánica (PRT/CHO >1) indicó que esta era fresca incluso en los estratos medio y fondo (excepto en los sitios Int 1 e Int 6). Esto podría interpretarse como un constante ingreso de material fresco al sistema que es facilitado por la poca profundidad de la columna de agua y a la actividad de bioturbación de los organismos que posibilitan la llegada de este a los estratos más profundos. En ese sentido, ya se ha reportado que la comunidad bentónica puede cambiar las condiciones geoquímicas locales a través del retrabajamiento de las partículas de sedimento durante la alimentación, excreción y locomoción de organismos dentro y a través de diferentes capas del sedimento (Flach & Heip, 1996; Venturini et al., 2011).

Por otro lado, los sedimentos superficiales generalmente están más oxigenados que los sedimentos más profundos donde las reacciones de óxido-reducción predominan (Vieira & Fonseca, 2013). La profundidad de la capa oxigenada es variable y dependiente del balance entre el régimen hidrodinámico, la bioturbación y la degradación orgánica (Gibson et al., 2001; Huettel et al., 2003). Los resultados del presente trabajo evidencian una disminución de la concentración de oxígeno en el sedimento mucho más abrupta en el sector interno respecto al externo. Dicho patrón coincide con lo observado en estudios previos en los que en ambientes de alta energía, como playas de arena, la capa oxigenada puede alcanzar profundidades mayores de 20 cm (Vieira & Fonseca, 2013), debido al drenaje mantenido por el fuerte régimen hidrodinámico. Mientras tanto, en entornos de baja energía, como estuarios fangosos, la capa oxigenada está restringida a pocos milímetros, debido a las altas cargas orgánicas y al débil régimen de hidrodinámica (Coull, 1999; Incera et al., 2003; Pereira et al., 2019).

## **2. Estructura del ensamble de nematodos**

### ***Patrones Horizontales***

Los organismos bentónicos pequeños están sometidos a los mismos procesos de erosión, suspensión y transporte que actúan sobre las partículas de sedimento (Palmer & Gust, 1985). Esto explicaría la mayor abundancia total de nematodos en los sitios internos más resguardados

y de menor hidrodinámica (Int 4, 5 y 6).

La estructura del ensamble observada (pocos géneros dominantes y un mayor número con baja abundancia) es típica de sustratos fangosos (Heip et al., 1985; Pallo et al., 1998; Perez-Garcia et al., 2009). En las muestras colectadas en el sector interno para la fase experimental de esta tesis se estableció que *Pseudochromadora* fue el género dominante (Kandratavicius et al., 2018).

Los géneros *Halalaimus*, *Kosswigonema* y *Meloidogyne* fueron registrados exclusivamente en el sector interno. *Halalaimus* es típico de ambientes con mucho fango (Gagarin & Thanh, 2004), mientras que *Kosswigonema* ha sido originalmente descrito en playas arenosas (Veneky et al., 2010; Grzelak et al., 2018) siendo éste el segundo registro en el sector interno de la Laguna de Rocha, ambiente con predominancia de sedimento fino (Kandratavicius et al., 2018). *Meloidogyne* por su parte, es un género de nematodos parásitos de plantas terrestres por lo que su llegada al sector interno de la laguna sería producto del transporte por escorrentía (Eisenback & Triantaphyllou, 1991). Los múltiples usos de las zonas costeras pueden movilizar materiales terrígenos al medio marino en cantidades similares o incluso superior a los introducidos a través de procesos de meteorización natural (Bruland et al., 1974).

La presencia de los géneros *Enoplolaimus*, *Mesacanthion*, *Mesorhabditis*, *Monhystera*, *Pomponema*, Morfotipo 1 y 2 exclusivamente en el sector externo se explicaría por su preferencia por sedimentos más gruesos y estaría de acuerdo con lo reportado por investigaciones previas. En tal sentido, *Enoplolaimus*, *Monhystera* son géneros típicos de playas arenosas no impactadas (Veneky, 2007; Losi et al., 2013; Grzelak et al., 2018). *Mesacanthion* ha sido reportado en playas arenosas y rocosas al igual que en islas oceánicas, de igual forma que *Pomponema*, quien además ha sido registrada en estuarios (Veneky, 2007) y con mayores abundancias en sitios prístinos y baja carga orgánica (Heip et al., 1985; Bongers et al., 1991; Danovaro et al., 1995). *Mesorhabditis* es un género terrestre que se alimenta de bacterias por lo que su llegada al sector externo de la laguna sería producto del transporte por escorrentía desde la orilla (Hassan & Nashaat, 2018).

Los géneros que fueron registrados en ambos sectores: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Daptonema*, *Leptolaimus*, *Oxystomina*, *Pseudochromadora*, *Paralinhomoeus*, *Sabatieria*, *Theristus*, *Terschellingia* y *Viscosia* presentaron mayor abundancia en el sector interno a excepción de *Neochromadora*. De hecho, *Neochromadora* es descrito como un género marino (Veneky, 2007) por lo que sería lógico alcance abundancias mayores en el sector externo ya que este recibe mayor influencia de agua oceánica. El género *Theristus* es muy abundante y diverso en

sedimentos marinos y estuarinos, los géneros *Anonchus*, *Leptolaimus*, *Anoplostoma*, *Pseudochromadora* también son típicos de sedimentos marinos y estuarinos, sin embargo varias especies de estos géneros son encontradas incluso en ambientes dulceacuícolas, indicando una gran plasticidad y tolerancia a diferentes salinidades (Eyualet et al., 2006). *Daptonema* es considerado un género eurihalino (Patricio et al., 2012), mientras que *Oxystomina*, si bien se encuentra en ambientes salobres nunca en salinidades elevadas (Eyualet et al., 2006). *Paralinhomoeus*, *Sabatieria*, *Terschellingia* y *Viscosia* son mayoritariamente marinos pero también hay dulceacuícolas (Eyualet et al., 2006).

La mayor abundancia en el sector interno de casi la totalidad de los géneros analizados podría explicarse por la alta disponibilidad de alimento que fue evidenciada en este sector. La materia orgánica que ingresa al sedimento está compuesta básicamente por una fracción lábil y una refractaria. La fracción lábil es fácilmente digerible y asimilable por los heterótrofos, es la fracción biodisponible, compuesta principalmente de los biopolímeros carbohidratos, lípidos y proteínas (Danovaro et al., 1993). La materia orgánica constituye la principal fuente de energía para los organismos bentónicos (Gooday, 2002; Ruhl et al., 2008). Tanto la cantidad como la composición y la calidad de la materia orgánica biodisponible influyen la productividad del sistema bentónico (Henrichs, 1992). En este sentido la mayor concentración de biopolímeros en el sector interno sería la responsable de sustentar una mayor abundancia de nematodos

El papel funcional de los nematodos según el tipo de alimentación, fue descrito por primera vez por Wieser (1953), y puede explotarse para comprender mejor la dinámica de un ecosistema particular, ya que este enfoque, a pesar de sus limitaciones conocidas, proporciona información valiosa sobre el ecosistema. La proporción relativa de cada uno de los cuatro grupos de alimentación de nematodos en una comunidad generalmente dependen de la naturaleza de los alimentos disponibles, que a su vez depende de la composición del sedimento (Danovaro & Gambi, 2002; Moens & Vincx, 1997). La cantidad y la calidad de la materia orgánica tienen una influencia fundamental en la biomasa, distribución y estructura trófica de las comunidades bentónicas en general (Marsh & Tenore, 1990). Los organismos meiofaunales, en especial los nematodos, son ágiles y explotan rápidamente el material orgánico fresco (Calles et al., 2006). Esto se vio reflejado en el presente estudio en la campaña de primavera (noviembre), en ambos sectores el sedimento presentó materia orgánica nueva y fresca ( $PRT/CHO > 1$ ), más palatable y no se observaron diferencias en la proporción de los grupos tróficos, dominando en ambos sectores los grupos tróficos 1A y 1B. Este patrón se vio reflejado en los valores de ITD no

encontrándose diferencias entre sectores. Esto es coincidente con otras investigaciones que determinaron que sedimentos finos con altas concentraciones de materia orgánica promueven la dominancia de nematodos depositívoros (1A, 1B) y de comedores de superficie (2A) ya que son capaces de usar el exceso de materia orgánica y la producción primaria de las diatomeas (Tietjen, 1969; Schratzberger & Warwick, 1999; Armenteros et al., 2010). En la campaña de otoño (abril) el sector interno presentó una mayor presencia de organismos depositívoros y comedores de superficie beneficiados por la mayor disponibilidad de materia orgánica nueva y fresca, mientras que en el sector externo predominó la materia orgánica vieja y degradada ( $PRT/CHO < 1$ ) y una mayor presencia de organismos predadores. La alta abundancia de predadores, según Semprucci et al. (2015), mostraría un ensamble trófico más heterogéneo y bien estructurado indicando una mayor complejidad de hábitat. Los presentes resultados coinciden con dicha apreciación ya que los valores más bajos de ITD (alta diversidad trófica) fueron encontrados en abril en sitios del sector externo con una importante presencia de predadores (Ext 4 y 5). De lo anteriormente mencionado se desprende que los grupos tróficos responden de forma diferencial a la calidad de la materia orgánica, específicamente a la palatabilidad de la misma y que dicha respuesta se ve reflejada por el índice de diversidad trófica. Este índice generalmente ha sido utilizado para relacionar diversidad trófica con niveles de contaminación (Alves et al., 2015). El presente estudio sugiere su para evaluar además otros aspectos de las comunidades. Si bien una mayor cantidad de materia orgánica es la responsable de sostener una comunidad más abundante, la estructura funcional (trófica) de la misma es determinada por la calidad de dicha materia, específicamente por la frescura de la misma.

El MI no detectó diferencias entre sectores y en ambas campañas los valores indicaron un ambiente perturbado. Según Semprucci et al. (2010, 2013) el MI responde a la descarga del río y es más eficiente que los índices de diversidad en la detección de efectos de perturbación; sin embargo, también es sensible al tamaño de grano del sedimento. MI y las categorías de c-p a veces no pueden identificar el estresor dominante cuando múltiples estresores actúan juntos (Semprucci et al., 2013). Indiscutiblemente los estuarios son ambientes donde múltiples factores actúan en conjunto y los resultados de este estudio sugieren que este índice no sería apropiado para monitorear a la Laguna de Rocha en la escala horizontal.

### ***Patrones verticales***

La abundancia total de nematodos disminuye con la profundidad del sedimento y coincide con lo

reportado en otras investigaciones (Steyaert et al., 2003; Colla Argeiro, 2009; Vieira & Fonseca, 2013). En el presente estudio dicho patrón es más evidente en los sectores externos de la campaña de abril. En la superficie la dispersión de los nematodos se produce principalmente a través de procesos pasivos, a través de fuerzas hidrodinámicos (Fleeger & Decho, 1987; Boeckner et al., 2008). En las capas más profundas, en contraste, las especies no están expuestas a la hidrodinámica y los organismos llegan principalmente por migración activa y, por lo tanto, su acceso está limitado por el conjunto de especies circundantes (Chandler & Fleeger, 1983). La colonización vertical depende principalmente de las tasas de inmigración y emigración, de las condiciones ambientales locales y de las interacciones de especies (Palmer, 1988). Generalmente las diferencias significativas son evidentes entre la capa superior (0–3 cm) y la más profunda (12–15 cm), mientras que las capas intermedias (3–6, 6–9 y 9–12 cm) son altamente variables y no difieren entre sí (Vieira & Fonseca, 2013). En este estudio, las diferencias son notorias a lo largo de la columna de sedimento analizada (6 cm). Dicha variabilidad podría deberse a las características morfológicas e hidrodinámicas de la laguna, ya que es un entorno altamente dinámico que presenta variación a escala horizontal y vertical de sus variables físicoquímicas. Es bien aceptado que la distribución vertical dentro del sedimento está determinada por gradientes ambientales (Kotwicki et al., 2005; Steyaert et al., 1999; Teiwes et al., 2007) e interacciones biológicas (Joint et al., 1982; Soetaert et al., 1994; Maria et al., 2012). Uno de los factores más importantes en el control de la distribución vertical dentro del sedimento de los organismos bentónicos es el contenido de oxígeno en los sedimentos y la presencia de H<sub>2</sub>S, que provoca que estos tiendan a permanecer principalmente en condiciones de alta oxigenación (Coull, 1988; Hendelberg & Jensen, 1993). Sin embargo, la actividad de alimentación también puede afectar la distribución vertical de los organismos, ya que los organismos pueden migrar dentro de la columna de sedimento y ubicarse a diferentes profundidades. De acuerdo con Steyaert et al. (2003), la competencia interespecífica resulta en la segregación vertical de los nichos permitiendo la coexistencia de especies con requerimientos nutricionales y comportamientos alimentarios similares en el mismo lugar. *Oxystomina* y *Viscosia* son géneros resistentes al enriquecimiento (Mirto et al., 2002; Schratzberger et al., 2004; Kandratavicius et al., 2018), de hecho, son más abundantes en el sector interno donde el alimento es más abundante (distribución horizontal). En la superficie la disponibilidad de alimento es mayor y sería esperable que fueran más abundantes que en las capas más profundas. Sin embargo, son capaces de ocupar la columna de sedimento indistintamente (ningún patrón a nivel de estrato) posiblemente esto pueda

explicarse como una segregación vertical de los nichos permitiendo la coexistencia con otros géneros. *Paralinhomoeus* tampoco presentó ningún patrón a nivel de estrato lo que mostraría una capacidad de ocupar la columna de sedimento indistintamente.

Los géneros que presentaron una mayor abundancia en los estratos superficiales (*Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora* y *Daptonema* y *Pseudochromadora*) se vieron beneficiados por los altos contenidos de materia orgánica total y de biopolímeros y por mayores concentraciones de oxígeno disuelto. Si bien la materia orgánica superficial fue fresca en la mayoría de los sitios, excepto en los sitios externos de la campaña de abril, igualmente se observó una alta abundancia de *Pseudochromadora*, *Neochromadora* y *Daptonema*. Lo anterior indica que más allá de la calidad de la materia orgánica, para estos géneros es más importante la cantidad de la misma. Los resultados coinciden con investigaciones previas, que para el caso de *Daptonema*, se ha reportado que son típicos de fondos enriquecidos orgánicamente y pobremente oxigenados en todo el mundo y son tolerantes a una variedad de compuestos xenobióticos (Soetaert et al., 1994; Schratzberger et al., 2006; Steyaert et al., 2007). Para el género *Neochromadora* se ha reportado que si bien no tiene restricciones en cuanto a la profundidad del sedimento que ocupa tiende a aparecer en sedimentos superficiales (Pérez-García et al., 2009). Por su parte, *Anoplostoma* en estuarios es característico de sedimentos fangosos en los que la capa de sulfuro de hidrógeno está cerca de la superficie (Warwick, 1971). El género *Pseudochromadora*, que consume bacterias, microalgas y fitodetritos (Pinto & Bemvenuti, 2003) estaría claramente favorecido por proteínas y altos valores de CB (Kandratavicius et al., 2018) lo que explicaría su mayor presencia en superficie.

Por otra parte, el aumento de la abundancia a medida que se profundiza en el sedimento de los géneros *Terschellingia* (noviembre), *Sabatieria* (abril), *Theristus* (abril), donde el nivel de oxígeno y la cantidad de alimento es menor, sería consistente con el hecho que son indicadores de una mala calidad ecológica, por su conocida tolerancia a la contaminación y bajos niveles de oxígeno disuelto (Soetaert et al., 1995; Austen & Somerfield, 1997; Schratzberger et al., 2006; Steyaert et al., 2007; Gambi et al., 2009).

El género de nematodos consumidores de bacterias, *Leptolaimus*, presentó tendencias opuestas entre campañas. El aumento de la densidad en primavera con la profundidad, es presumiblemente inducido principalmente por la temperatura, pero también puede relacionarse con un incremento de la comida (diatomeas y bacterias) que si bien es abundante durante todo el año,



particularmente lo es a principios de la primavera (Bouwman et al., 1984) y esto posibilitaría que puedan profundizar más en el sedimento. Mientras que en la campaña de otoño, donde se registraron menos temperaturas, presentó una mayor abundancia en el estrato superior y una disminución a medida que aumenta la profundidad. En cuanto a los grupos tróficos, discutiremos aquí lo que ocurre a nivel de los estratos medio y fondo ya que los patrones superficiales fueron discutidos en la sección anterior. Los organismos depositívoros y comedores de superficie son capaces de explotar rápidamente la materia orgánica fresca del sedimento (Rodil et al., 2008) y presentan tolerancia a bajas concentraciones de oxígeno disuelto. En este estudio la materia orgánica fresca estuvo presente en todos los estratos. En los estratos profundos existe una mayor estabilidad y resguardo, por ende, un menor nivel de perturbación que fue evidenciado por los valores más altos de MI (3-4) que favorecería el aumento de la abundancia de estos grupos con la profundidad. De igual forma, el aumento de los predadores observado con el aumento de la profundidad se explicaría por una mayor abundancia de presas. Se observó una disminución de los valores de ITD (aumento de la diversidad trófica) con la profundidad relacionada con el aumento de los predadores y un balance de los otros grupos tróficos (Semprucci et al., 2015).

En la campaña de otoño a medida que aumenta la profundidad aumenta la presencia de los depositívoros y predadores, mientras que disminuye la abundancia de los comedores de superficie, además no se observó efecto a nivel de estrato de ITD. En esta campaña no contamos con información sobre los biopolímeros en los estratos medio y fondo lo que no nos permite discutir en profundidad estos patrones, pero son muy similares a lo observado en la campaña de primavera.

Al igual que en la dimensión horizontal, los patrones en la vertical apoyarían la idea de que la calidad de la materia orgánica, específicamente la fresca de la misma, sería la principal responsable del ensamble trófico de la comunidad de nematodos, dicha respuesta además se ve reflejada por el índice de diversidad trófica. El MI y las categorías de c-p a veces no pueden identificar el estresor dominante cuando múltiples estresores actúan juntos (Semprucci et al., 2013), los presentes resultados sugieren que este índice en la escala vertical responde de forma más apropiada, posiblemente en respuesta a que se eliminan factores como fuertes variaciones de salinidad que en la escala horizontal generan distorsión en estos resultados.

## CONCLUSIONES

Los patrones comunitarios de nematodos observados a nivel de géneros, grupos tróficos e índice de diversidad trófica tanto en la dimensión horizontal (sectores) como en la vertical (estratos) fueron explicados principalmente por la calidad de la materia orgánica (más específicamente por la frescura de la misma) y por la concentración de oxígeno disuelto en el interior del sedimento. El enfoque de rasgos biológicos o funcionales agregó información relevante y complementaria a la taxonómica, con respecto a las relaciones entre los patrones de diversidad de los nematodos y los factores abióticos.

El ITD mostro ser un índice de gran utilidad para evaluar patrones en los ensambles de nematodos en el campo (en ambas dimensiones espaciales) y para establecer relaciones con las variables abióticas. El presente estudio apoyaría el uso del mismo para evaluar otros aspectos de las comunidades, además de evaluar el grado de perturbación de un ambiente para lo que fue propuesto originalmente. Por otra parte, el MI resultó ser sensible en la dimensión vertical pero no lo fue en la horizontal.

A pesar de estas conclusiones interesantes, no se puede excluir la existencia de otros factores que pueden tener un rol importante en estos patrones y que no fueron abordados en este estudio, como podrían ser la bioturbación y depredación por parte de la macrofauna, así como las relaciones predador-presa dentro de la meiofauna y en particular la nematofauna.

## CAPÍTULO 3

# RESPUESTA TRÓFICA DEL ENSAMBLE DE NEMATODOS ESTUARINOS DE VIDA LIBRE AL ENRIQUECIMIENTO ORGÁNICO: UNA APROXIMACIÓN EXPERIMENTAL

### RESUMEN EXTENDIDO

El enriquecimiento orgánico, especialmente de fuentes antrópicas, es una de las amenazas actuales para la biodiversidad marina costera. Este se produce principalmente en fondos blandos protegidos, caracterizados por sedimentos finos, y produce múltiples cambios en el hábitat bentónico, entre los que se destacan el advenimiento de condiciones de hipoxia y un aumento en la concentración de compuestos que son tóxicos para los invertebrados marinos. En este capítulo se presentan los resultados de un experimento basado en microcosmos (duración = 30 días), que cuantifica los efectos del enriquecimiento orgánico en la diversidad taxonómica y funcional de los conjuntos de nematodos de una laguna costera de América del Sur (Laguna de Rocha, Uruguay), que presenta intermitencia en su conexión con el océano a través de la apertura o cierre de una barra arenosa. En lagunas de conexión intermitente, la entrada de materia orgánica se convierte en una perturbación importante debido a la limitación en la renovación del agua. Entre los principales problemas ecológicos de Laguna de Rocha se encuentra la reciente eutrofización, probablemente causada por el uso de la tierra y el aporte de efluentes domésticos (Rodríguez-Gallego et al., 2008). La actividad industrial es limitada y es principalmente ganadería, pero la laguna recibe insumos antropogénicos de la ciudad de Rocha y el matadero municipal (a través del Arroyo Rocha) y ha recibido en el pasado vertidos de una planta de procesamiento de pescado y de las actividades de agricultura (Arocena et al., 2000). Recientemente Pita et al. (2017) clasificaron a la laguna de Rocha como eutrófica utilizando materia orgánica sedimentaria y la composición bioquímica de la misma. Kandratavicius et al. (2015) encontraron que la meiofauna está dominada por nematodos (63%), copépodos (15%) y ostrácodos (7%). Los nematodos fueron significativamente más abundantes en verano en los sectores interiores de la Laguna de Rocha, donde los sedimentos son ricos en arena fina.

Para la realización del experimento se colectaron sedimentos superficiales y nematodos en enero de 2015 en el sur de la Laguna de Rocha, Uruguay (34 ° 39 '47.42 "S, 54 ° 13' 47.36"O). Esta zona es caracterizada por sedimentos finos (69% fango, arena fina y media), bajo contenido

orgánico (~ 1.32%), salinidad 18.9 (promedio en verano) y altas temperaturas (28 ° C) (Giménez et al., 2014, Kandravicius et al., 2015). Se colectaron cinco muestras de sedimento con un *corer* plástico (2.7 cm de diámetro interno) a una profundidad de 10 cm para la descripción de la estructura de la comunidad. Además, se recogieron 3 muestras de sedimentos superficiales (1 cm de profundidad, aproximadamente 300 g) para la estimación de la materia orgánica total, clorofila a y biopolímeros (lípidos, carbohidratos y proteínas totales). Todas estas muestras fueron consideradas como controles de campo. Un punto clave para la validez del estudio experimental es que debe ser lo más homogéneo posible en todas las unidades experimentales, y los efectos de los tratamientos deben ser más fuertes que el "efecto microcosmos", es decir que el efecto de la manipulación del sedimento (Austen & McEvoy, 1997). Recolectamos cuidadosamente aproximadamente 15 litros de sedimento superficial para armar las unidades experimentales o microcosmos. El sedimento fresco recogido en la laguna fue transportado al laboratorio, almacenado en 2 contenedores con aireación durante aproximadamente 24 horas. Posteriormente, el sedimento se homogeneizó suavemente con una cuchara, y se tomaron 5 alícuotas aleatoriamente para detectar la presencia de nematodos vivos, identificados como individuos que se mueven en el sedimento. Se consideró que cada microcosmos era una unidad experimental independiente y consistía en un vaso de precipitados de vidrio de 250 ml con 150 ml de sedimento (que resulta en una capa de sedimento de 4 cm) y agua de la laguna con un aireador individual. Los microcosmos se colocaron en una mesa de laboratorio y se mantuvieron en condiciones climáticas naturales, con temperaturas que oscilaban entre 20 y 25 ° C y un ciclo de luz: oscuridad correspondiente al verano de regiones templadas (aproximadamente 14:10 h luz: oscuridad). En total, se armaron 77 microcosmos: 50 microcosmos se usaron para evaluar la respuesta de las comunidades de nematodos al enriquecimiento orgánico, y 27 microcosmos para evaluar los cambios en la clorofila a (Clo a), la materia orgánica total y los biopolímeros (Fig. 1 del manuscrito). Los tratamientos de enriquecimiento orgánico se crearon mediante la adición de microalgas comerciales en partículas: *Spirulina platensis*. La composición biopolimérica de *S. platensis* consistió en 60% de proteína, 30% de carbohidratos y 10% de lípidos, similar a las proporciones reportadas en las poblaciones naturales (Ríos et al., 1998). El contenido de Clo a fue de 87  $\mu\text{g g}^{-1}$  de peso seco. El contenido de Clo a en campo fue de 10  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Conde et al., 2003); considerando esos resultados, modificamos el método de Armenteros et al. (2010) para producir 3 tratamientos: (1) Nivel alto de enriquecimiento: adición al microcosmos de 5 g de *S. platensis* equivalente a 43.5  $\mu\text{g l}^{-1}$  Clo a, alrededor de 4 veces la concentración de campo (24 microcosmos = 15 para el análisis de la comunidad de nematodos + 9 para el análisis de

sedimentos); (2) Nivel medio: adición de 2.5 g de *S. platensis* equivalente a 21.75  $\mu\text{g l}^{-1}$  Clo a, alrededor del doble de la concentración de campo (24 microcosmos = 15 para el análisis de la comunidad de nematodos + 9 para el análisis de sedimentos) y (3) Control: sin adición de *S. platensis* (29 microcosmos = 20 para el análisis de la comunidad de nematodos + 9 para el análisis de sedimentos). Al comienzo del experimento (Tiempo 0, T0), se utilizaron 5 microcosmos del tratamiento control para analizar la estructura de la comunidad de nematodos (control microcosmos). A los 4, 15 y 30 días, se usaron 5 microcosmos de cada tratamiento para analizar la estructura de la comunidad de nematodos, y 3 microcosmos para analizar la materia orgánica, los biopolímeros y el contenido de Clo a (Fig. 1 del manuscrito). La concentración de oxígeno disuelto y la temperatura se midieron diariamente en la matriz de agua (mediciones realizadas con un microsensar de O<sub>2</sub> Unisens® OX50 y multiparámetro YSI®, respectivamente). Los pigmentos fotosintéticos (Clo a y feopigmentos) se analizaron según Lorenzen (1967), modificado por Sündback (1983) para sedimentos. La materia orgánica total (MOT) se analizó con base en Byers et al. (1978) y expresada como porcentaje (%). La composición bioquímica de MOT se analizó siguiendo los protocolos descritos por Danovaro (2010). El análisis de proteína total (PRT) se realizó de acuerdo con Hartree (1972), modificado por Rice (1982) para compensar la interferencia de fenol. Los carbohidratos totales (CHO) se analizaron de acuerdo con Gerchakov & Hatcher (1972). Los lípidos totales (LIP) se extrajeron mediante ultrasonidos con una mezcla de cloroformo: metanol (1: 2 v / v) y se analizaron siguiendo el protocolo descrito por Marsh & Weinstein (1966). Los blancos para cada análisis se realizaron con sedimento muflado (450 ° C, 4 h). Las concentraciones de PRT, CHO y LIP se expresaron como equivalentes de albúmina sérica bovina, glucosa y tripalmitina, respectivamente. Las concentraciones de PRT, CHO y LIP se convirtieron en equivalentes de carbono suponiendo un factor de conversión de 0.49, 0.40 y 0.75  $\mu\text{g}$ , respectivamente (Fabiano & Danovaro, 1994). La suma de los equivalentes de carbono PRT, CHO y LIP se informa como el carbono biopolimérico (CB) y se utiliza como una estimación confiable de la fracción lábil de MOT (Fabiano et al., 1995) y para clasificar el estado trófico del sedimentos. Además, se calcularon las razones PRT/CHO y CHO/ LIP para utilizarlas como indicadores del estado de los procesos de degradación bioquímica (Galois et al., 2000). Con el fin de obtener los nematodos, el contenido de cada microcosmos se lavó entre un tamiz de 500 y 63  $\mu\text{m}$  usando agua filtrada. Para extraer la meiofauna de la fracción de sedimento, retenida en el tamiz de 63  $\mu\text{m}$ , aplicamos una técnica de flotación usando sílice coloidal Ludox HS 40 (1.18  $\text{g cm}^{-3}$ ) y centrifugación (Heip et al., 1985; Vincx, 1996). Este proceso se repitió 3 veces, por lo que cada vez que el sobrenadante Ludox

que contiene los organismos meiofaunales se decantó y se lavó. La muestra final lavada y extraída se conservó luego en 4% de formaldehído y se añadió una pequeña cantidad de rosa de bengala para facilitar la identificación. Usando una lupa binocular, se extrajeron al azar 100 nematodos de cada microcosmos y se montaron en portaobjetos de vidrio para la identificación del género bajo el microscopio (Sommerfield & Warwick, 1996) usando claves pictóricas (Platt & Warwick, 1983; 1988; Warwick et al., 1998). Se determinó la riqueza (como número de géneros) y la abundancia de nematodos por género para cada microcosmos. Cada uno se clasificó de acuerdo con su estrategia de vida en el espectro de colonizador-persistencia (valor c-p: Bongers, 1990; Bongers et al., 1991). El rango se define desde colonizadores extremos (c-p = 1) hasta persistentes extremos (c-p = 5). Se calculó el índice de madurez (MI) de la comunidad utilizando la fórmula propuesta por Bongers et al. (1991). Además, los géneros de nematodos se asignaron a los tipos de alimentación de acuerdo con la clasificación de Wieser (1953) basada en la morfología de la cavidad bucal: depositívoro selectivo (1A), depositívoro no selectivo (1B), alimentador de subsuperficie (2A) y omnívoro / depredador (2B). Esta clasificación se utilizó para calcular el índice de diversidad trófica (ITD, Heip et al., 1985). Los valores de ITD oscilan entre 0.25 (alta diversidad trófica: los 4 grupos tienen una representación del 25%) y 1.0 (baja diversidad trófica: un solo grupo trófico domina a 100%).

Se utilizaron técnicas múlt y univariadas para el análisis de datos utilizando el software PRIMER 6.0.2 (Clarke & Gorley, 2006) y STATISTICA 10.0 de StatSoft. Se realizaron comparaciones para evaluar los cambios en la biota y el estado trófico de sedimentos (basados en MOT, Clo a, faeopigmentos y biopolímeros) entre los grupos de control para evaluar el “efecto microcosmos” (cambios abióticos y bióticos debido a artefactos experimentales) utilizando ANOVA de 1 vía con 5 niveles: control de campo, T0 (control microcosmo) y controles en el tiempo 4, 15 y 30 d. Si las diferencias en ANOVA fueron significativas, se realizaron 2 comparaciones utilizando las medias de mínimos cuadrados (prueba t): (1) campo vs. T0 para probar el "efecto microcosmos", es decir, las diferencias entre el campo y las condiciones experimentales; y (2) T0 vs. controles a los 4, 15 y 30 días (C4, C15, C30) para probar los cambios temporales en los controles de microcosmos. Los resultados de estas pruebas permiten establecer la validez de la configuración experimental.

Los efectos del tratamiento (es decir, entre los niveles de enriquecimiento) se evaluaron primero para el estado trófico del sedimento y por separado para un posible efecto sobre la respuesta trófica de los nematodos (MI e ITD) o cambios estructurales en el ensamblaje (riqueza y abundancia por género). Esas pruebas se llevaron a cabo a través de ANOVA factorial de 2 vías, donde los

tratamientos de enriquecimiento (control, medio y alto) y el tiempo (4, 15, 30 d) se utilizaron como factores. Los efectos del tratamiento del oxígeno disuelto se evaluaron con ANOVA de medidas repetidas, donde el tiempo fue el factor de repetición.

Las respuestas de la estructura multivariada de los ensambles de nematodos a los tratamientos se probaron con ANOVA basado en permutación, utilizando PERMANOVA (Anderson et al., 2008). Los datos se transformaron a raíz cuadrada para disminuir la contribución de las especies dominantes. Las matrices de similitud se construyeron utilizando el índice Bray-Curtis y las permutaciones se ejecutaron en el modelo reducido. Los valores p informados se basan en las pruebas de Monte Carlo, y los resultados se consideraron significativos en  $p < 0.05$ . El procedimiento SIMPER se aplicó para identificar los géneros que más contribuyeron a la similitud / disimilitud entre tratamientos y / o tiempos.

Al evaluar el efecto del enriquecimiento en los ensambles de nematodos, utilizando un enfoque de microcosmos, aumentamos la capacidad para establecer relaciones causa-efecto a costa de perder el realismo. Minimizamos los efectos relacionados con la construcción de los ensamblajes de laboratorio, el llamado “efecto de microcosmos” (que conduce a la homogeneización de microhábitat, hipoxia temporal y mortalidad de especies sensibles): en T0, los ensambles no diferían de aquellos en el campo (Fig. 9 del manuscrito), y tanto las condiciones de campo como el control al comienzo del experimento tenían MOT sedimentaria envejecida y degradada de manera similar (relación PRT: CHO  $< 1$ : Dell'Anno et al., 2002) y MOT de baja calidad (relación CHO/ LIP  $\gg 1$ ). El hecho de que los efectos de enriquecimiento fueran más fuertes que los efectos de la alteración del sedimento (ver Tabla 1 del manuscrito) validó el enfoque de acuerdo con los criterios recomendados por Austen & McEvoy (1997). Las variables ambientales y los ensambles de nematodos variaron poco en los controles. La pequeña variación en el ensamblaje de nematodos entre las muestras de campo, T0 y los controles fue consistente con el hecho de que los nematodos estuarinos son robustos para la manipulación de laboratorio (Austen & McEvoy, 1997) y sufren un mínimo “efecto microcosmos” (Schratzberger et al., 2000; Hedfi et al., 2007).

Los tratamientos experimentales fueron precisos para recrear el enriquecimiento orgánico y sus consecuencias, en términos de estado trófico de sedimentos e hipoxia. En el experimento se simuló una entrada importante de MOT lábil con la adición de *Spirulina platensis*. Por lo tanto, a medida que las partículas se hundieron en las unidades experimentales, hubo un aumento en Clo a y PRT (detectado como una interacción significativa entre el enriquecimiento por tiempo; Tabla 2 del

manuscrito). También hubo un incremento en los feopigmentos cuatro días después del comienzo del experimento, así como un cambio en la edad de la MOT, de envejecido a nuevo / fresco, como se cuantificó a partir de la proporción de PRT/ CHO ( $<1$  en controles y  $> 1$  en tratamientos enriquecidos; Danovaro et al., 1993). Igualmente, la calidad de la MOT aumentó según lo indicado por el aumento en los niveles de CB (Fabiano et al., 1995) y las bajas razones CHO/ LIP (Joseph et al., 2008) impulsado por un aumento en la concentración de LIP. Las razones CHO/ LIP ( $>> 1$ ) indicaron que la entrada de MOT fresca tenía un bajo nivel nutricional, aunque más alto que el registrado en los controles. El enriquecimiento también resultó en hipoxia del sedimento (concentraciones de oxígeno  $<2.8$  mg l<sup>-1</sup>: Díaz & Rosenberg, 1995), de acuerdo con estudios previos (Armenteros et al., 2010). La magnitud de la hipoxia fue mayor durante los primeros 15 días del experimento (detectado como una interacción significativa de enriquecimiento con el tiempo: Tabla 2). Por el contrario, la mayoría de las variables ambientales variaron poco en los controles, con la excepción de aumentos en MOT y feopigmentos, pero eran esperables tales patrones, ya que, con el tiempo las partículas se hunden lentamente.

En el experimento, el enriquecimiento condujo a reducciones en la abundancia, riqueza de géneros y diversidad trófica del ensamblaje de nematodos, así como la reducción en la concentración de oxígeno. Se registraron reducciones rápidas en la abundancia total (después de 4 días), mientras que la riqueza disminuyó hacia el final del experimento (~ 30 días). Los cambios tróficos se caracterizaron por la pérdida de depredadores/omnívoros y el predominio de los depositívoros selectivos y los comedores de superficie (“epigrowth feeders”). Por el contrario, no encontramos ningún efecto del enriquecimiento asociado con los rasgos de la historia de vida (por ejemplo, el índice de madurez). En general, estos hallazgos tienen dos implicaciones importantes para la conservación y el monitoreo de la salud de las lagunas costeras: primero, que el monitoreo de los ensambles de nematodos a nivel de género es suficiente para detectar los efectos de enriquecimiento; y segundo, que el índice de diversidad trófica constituye un buen indicador de los efectos del enriquecimiento en las comunidades naturales.



# Response of estuarine free-living nematode assemblages to organic enrichment: an experimental approach

Noelia Kandravicius<sup>1,\*</sup>, Catalina Pastor de Ward<sup>2</sup>, Natalia Venturini<sup>3</sup>,  
Luis Giménez<sup>4</sup>, Marcel Rodriguez<sup>1</sup>, Pablo Muniz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oceanografía & Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (UdelaR), Iguá 4225, Montevideo 11400, Uruguay

<sup>2</sup>Instituto de Diversidad y Evolución Austral (IDEAUs), CCT, CONICET, Bulevar Almirante Brown 2915, Puerto Madryn, U9120ACF Chubut, Argentina

<sup>3</sup>Laboratorio de Biogeoquímica Marina, Oceanografía & Ecología Marina, Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, UdelaR, Iguá 4225, Montevideo 11400, Uruguay

<sup>4</sup>School of Ocean Sciences, Bangor University, Menai Bridge, Anglesey LL59 5AB, UK

**ABSTRACT:** Organic enrichment, especially from anthropogenic sources, is one of the current threats to coastal marine biodiversity. Organic enrichment occurs mainly in sheltered soft bottoms, characterized by fine sediments, and results in multiple changes in the benthic habitat, including hypoxia and an increased concentration of compounds that are toxic to marine invertebrates. We report on the results of a microcosm-based experiment (duration = 30 d), quantifying the effects of organic enrichment on taxonomic and functional diversity of nematode assemblages from an open/closed coastal lagoon of South America (Rocha Lagoon, Uruguay). In open/closed lagoons, the input of organic matter becomes a major disturbance due the limitation in water renewal. In our experiment, enrichment led to reductions in abundance, richness and trophic diversity of the nematode assemblage. Rapid reductions in total abundance (after 4 d) were registered, while richness decreased only towards the end of the experiment (~30 d). Trophic changes were characterized by loss of predators/omnivores and dominance of selective deposit-feeders and epigrowth-feeders. By contrast, we did not find any selective effect of enrichment associated with life history traits (e.g. maturity index). Overall, these findings have 2 important implications for the conservation and monitoring of the health of coastal lagoons: first, monitoring of nematode assemblages at the genus level is sufficient to detect enrichment effects; second, an index of trophic diversity would be a good indicator of the effects of enrichment on natural communities.

**KEY WORDS:** Free-living nematodes · *Spirulina platensis* · Eutrophication · Laguna de Rocha · Uruguay

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

## INTRODUCTION

Nutrient enrichment of marine/estuarine areas can favour algal growth and lead to eutrophication, the occurrence of anoxia and hypoxia, fish kills (Glasgow & Burkholder 2000), loss or degradation of habitat for benthic organisms and a decrease in the number of

fisheries. Eutrophication is considered one of the major stresses for aquatic environments, and it is characterized by excess biomass (Sampou & Oviatt 1991) and accumulation of refractory organic matter. Anthropogenic activities, including agricultural production and industrial and domestic effluents, modify the physicochemical and biological conditions of estuar-

ine systems (Day et al. 1989, Perissinotto et al. 2010). These activities generally intensify the process of eutrophication, introducing inorganic nutrients that support the consequent increase in algal biomass and primary productivity in the water column (Cloern 2001, Pusceddu et al. 2009).

Organic enrichment is an important ecological process in marine/estuarine sediments (Kelly & Nixon 1984). Organic enrichment occurs more frequently in habitats characterized by fine sediments, low hydrodynamics and low dissolved oxygen concentration (Snelgrove & Butman 1994). Accumulation of organic compounds (labile and refractory) leads to changes in physical, chemical, biological and ecological features of sediments (Cloern 2001) and defines the quality and amount of food resources, and hence affects metabolic processes and mobility, as well as community structure, biodiversity and trophic structure (Grall & Chauvaud 2002). The labile fraction of the organic matter (carbohydrates, lipids and proteins) is easily digested and assimilated by heterotrophic organisms, and is the major energy source for benthic organisms (Ruhl et al. 2008). By contrast, the refractory fraction (e.g. humic and fulvic acids) are degraded more slowly and do not represent a favourable source of nutrition (Joseph et al. 2008).

At moderate levels of organic enrichment, benthic animals may show altered behavioural patterns, decreased feeding and reproductive activity, and changes in physiological functions (see reviews by Vernberg 1972, Herreid 1980). High levels of organic enrichment can produce important changes in communities and food webs, through e.g. reductions of oxygen levels and modification of the chemical conditions of the sediment. Enrichment leads to reductions in diversity and community shifts, where the original community is replaced by one characterized by species resistant to organic pollution (Pearson & Rosenberg 1978, Hargrave et al. 2008, Venturini et al. 2012). At these levels, enrichment also leads to an impoverishment of the functional structure of the community (Pearson & Rosenberg 1978). Given that organic matter can cause changes at so many levels of biological organization, excessive input of organic matter can be considered a strong stressor (Pearson & Rosenberg 1978, Diaz & Rosenberg 2008).

In spite of the extensive coverage of the impact of organic enrichment on marine/estuarine ecosystems, the effect of the organic matter on the biota of coastal lagoons is not well documented or is underestimated (Kendall et al. 1995, Armenteros et al. 2010). Coastal lagoons are common coastal habitats, for instance in the Mediterranean Sea, the Gulf of Mexico and the

Atlantic coast of North America, as well as the Atlantic coast of South America. Overall, lagoons comprise 13% of coastal regions globally (Bird 1994, Anthony et al. 2009). In coastal lagoons, the input of organic matter becomes a major disturbance because of the limitation in the capacity for water renewal (Urban et al. 2009). Coastal lagoons are considered particularly vulnerable to eutrophication, due to their restricted exchange with the adjacent sea, their shallow nature, and their high productivity. Lagoon eutrophication results from increasing human population densities along the lagoon coastline and from use of fertilizers for agriculture in their surrounding watershed (Cloern 2001).

Here, we quantified the effects of organic enrichment on taxonomic and functional diversity of assemblages of free-living nematodes from Rocha Lagoon (Atlantic coast of Uruguay, South America). The process of eutrophication existing in Rocha lagoon (see 'Study area' below for details) is representative of the situation being experienced by other coastal systems worldwide (Cloern 2001). We studied the effects of enrichment, through a laboratory experiment, using nematode assemblages as a model system. Laboratory experiments are considered an appropriate approach to study the effect of organic enrichment in marine and estuarine communities (Coull & Chandler 1992). Microcosm experiments enable the establishment of cause–effect relationships (Nilsson et al. 1991) and can be used to determine which organisms are indicators of disturbances (Heip et al. 1985, Coull 1988).

Free-living nematodes are excellent organisms for laboratory experiments purposes, due to their small size, short life cycle, quick response to environmental changes and resistance to sediment manipulation (Warwick et al. 1988). Although the manipulation of field sediment leads to a disruption of the interstitial environment, the response of nematodes has been successfully separated from the 'microcosm effect' in a procedural control in studies of effects of xenobiotics (Austen & McEvoy 1997, Hedfi et al. 2007), sedimentation (Schratzberger et al. 2000) and organic enrichment (Schratzberger & Warwick 1998, Armenteros et al. 2010). Several ecological factors such as habitat type (e.g. sandy beaches, estuaries, etc.), the origin of organic inputs and the intensity of human disturbances affect spatial distributional patterns of free-living nematodes (Schratzberger et al. 2008).

We studied the effect of enrichment on taxonomic diversity at the species/genus levels as well as functional diversity, quantified in terms of feeding types and life strategies. We expected that by combining

taxonomic and functional diversity we would obtain a better understanding of the structural components and the functioning of the benthic community (Norling et al. 2007). In particular, for nematodes, the relationships between the functional attributes (e.g. trophic responses) and organic matter amount and quality are not well understood yet. Therefore, our experimental approach also offers the possibility to establish the taxonomic and functional responses of nematodes to enrichment. The patterns observed in experimental approaches may contribute to a better understanding and prediction of the patterns observed in nature. In particular, we hypothesized that organic enrichment would lead to reductions in taxonomic diversity and an increase in the abundance of nematodes that are tolerant to disturbance. We also expected low trophic diversity, as well as the dominance of organisms with short life cycles.

## MATERIALS AND METHODS

### Environmental set-up

Experimental surface sediments and experimental nematodes were collected during January 2015 in the south of Laguna de Rocha, Uruguay (34° 39' 47.42" S, 54° 13' 47.36" W, see Fig. 1 in Kandratavicius et al. 2015). Rocha Lagoon is a choked type lagoon (Kjerfve & Magill 1989, Conde et al. 2000) with an area of 7304 ha, shallow and with an intermittently open-closed connection with the Atlantic Ocean. The connection with the ocean takes place several times per year, when depth increases and when the sandbar is breached by wave action (Conde & Rodríguez-Gallego 2002).

Among the major ecological problems of Rocha Lagoon is the recent eutrophication, probably caused by land use and the input of domestic effluents (Rodríguez-Gallego et al. 2008). Industrial activity is limited and is mainly stockbreeding, but the lagoon receives anthropogenic inputs from the city of Rocha and the municipal slaughterhouse (via Rocha Stream) and has received further inputs in the past from a fish-processing plant and agriculture (Arocena et al. 2000). Using sedimentary organic matter and biochemical composition, Pita et al. (2017) recently classified Rocha Lagoon as eutrophic.

Kandratavicius et al. (2015) found that meiofauna is dominated by nematodes (63%), copepods (15%) and ostracods (7%). Nematodes were significantly more abundant in summer and in fine sand, which was more common in the inner zones of Rocha lagoon.

### Sampling and microcosm set-up

Sediment samples and fauna were collected by hand because of the shallow habitats (<1 m) in a location known as 'old bar' (34° 39' 47.20" S, 54° 13' 50.41" W) characterized by fine sediments (69% mud, fine and medium sand), low organic content (~1.32%), salinity 18.9 (average in summer) and high temperatures (28°C) (Giménez et al. 2014, Kandratavicius et al. 2015). Five plastic cores (2.7 cm internal diameter) were buried to 10 cm depth in the sediment in order to take samples for the description of community structure. In addition, 3 surface sediment samples (1 cm depth, approximately 300 g) were collected for the estimation of total organic matter, chlorophyll *a* and organic biopolymers (total lipids, carbohydrates and proteins). All of these samples were considered as field controls.

A key point for the validity of the experimental study is that it should be as homogeneous as possible across experimental units, and the effects of treatments must be stronger than the 'microcosm effect', i.e. the effect of manipulation of sediments (Austen & McEvoy 1997). We carefully collected approximately 15 l of surface sediment to set-up the experimental units or microcosms. The fresh sediment collected in the lagoon was transported to the laboratory, stored in 2 containers with aeration for approximately 24 h. Thereafter, the sediment was gently homogenized with a spoon, and 5 random aliquots of sediment were checked for the presence of living nematodes, identified as individuals moving in the sediment. Each microcosm was considered to be an independent experimental unit and consisted of a 250 ml glass beaker with 150 ml of sediment (resulting in a 4 cm layer of sediment) and lagoon water with an individual aerator. The microcosms were placed on a lab table and kept under natural climatic conditions, with temperatures ranging from 20–25°C and a summer light:dark cycle of temperate regions (about 14:10 h light:dark). In total, 77 microcosms were made: 50 microcosms were used to evaluate the response of the nematode communities to organic enrichment, and 27 microcosms were used to evaluate changes in chlorophyll *a* (chl *a*), total organic matter and biopolymers (Fig. 1).

The increased organic matter treatment was created by adding commercial microalgae *Spirulina platensis* particulate. The biopolymeric composition of *S. platensis* was 60% protein, 30% carbohydrates and 10% lipids, which was similar to the proportions reported from natural populations (Ríos et al. 1998). The chl *a* content was 87 µg g<sup>-1</sup> dry weight. The chl *a*

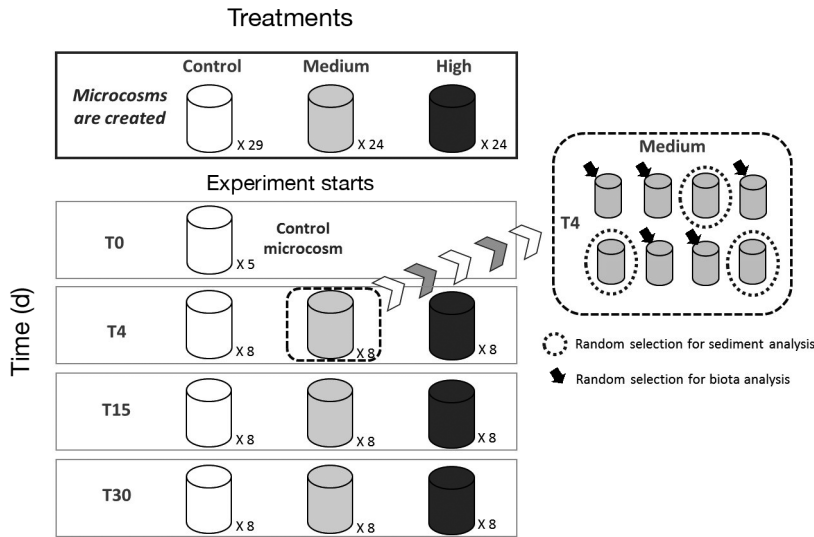


Fig. 1. Experimental design. Three different treatments were applied: Medium (2.5 g *Spirulina platensis*), High (5 g *S. platensis*) and Control (no *S. platensis*). On Day 0, 5 microcosms were removed from the control treatment to analyze the initial structure of the nematode assemblages (microcosm control). On Days 4, 15 and 30, we randomly extracted 24 microcosms (8 replicates treatment<sup>-1</sup>). From 8 replicated microcosms treatment<sup>-1</sup>, 5 were taken for the analysis of nematode structure and 2 for the chemical analysis of sediment

content in field was  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (Conde et al. 2003); considering those results, we modified the method of Armenteros et al. (2010) in order to produce 3 treatments as follows: (1) High level: addition to the microcosm of 5 g of *S. platensis* equivalent to  $43.5 \mu\text{g l}^{-1}$  chl *a*, around 4 times the field concentration (24 microcosms = 15 for nematode community analysis + 9 for sediment analysis); (2) Medium level: addition of 2.5 g of *S. platensis* equivalent to  $21.75 \mu\text{g l}^{-1}$  chl *a*, around twice the field concentration (24 microcosms = 15 for nematode community analysis + 9 for sediment analysis) and (3) Control: no addition (29 microcosms = 20 for nematode community analysis + 9 for sediment analysis).

At the beginning of the experiment (Time 0, T<sub>0</sub>), 5 microcosms of the control treatment were used to analyse the structure of the nematode community (microcosms are destroyed during the sampling and thus are used only once). At 4, 15 and 30 d, 5 microcosms from each treatment were used to analyse the structure of the nematode community, and 3 microcosms were used to analyse the organic matter, biopolymers and chl *a* content (Fig. 1). The dissolved oxygen concentration and temperature were measured daily in the water matrix (measurements done with an O<sub>2</sub> microsensors Unisens® OX50 and YSI® multi-parameter, respectively).

### Sample processing

The content of each microcosm was used to analyze different attributes of sediment. Photosynthetic pigments (chl *a* and phaeopigments) were analyzed according to Lorenzen (1967), modified by Sündback (1983) for sediments. Total organic matter (OM) was

analyzed based on Byers et al. (1978) and expressed as a percentage (%). The biochemical composition of OM was analyzed following the protocols described by Danovaro (2010). Total protein (PRT) analysis was conducted according to Hartree (1972), modified by Rice (1982) to compensate for phenol interference. Total carbohydrates (CHO) were analyzed according to Gerchakov & Hatcher (1972). Total lipids (LIP) were extracted by ultrasonication with a mixture of chloroform:methanol (1:2 v/v) and analyzed following the protocol described by Marsh & Weinstein (1966). Blanks for each analysis were performed with pre-combusted sediment (450°C, 4 h). PRT, CHO and LIP concentrations were expressed as bovine serum albumin, glucose and tripalmitine equivalents, respectively. PRT, CHO and LIP concentrations were converted to carbon equivalents assuming a conversion factor of 0.49, 0.40 and 0.75  $\mu\text{g}$ , respectively (Fabiano & Danovaro 1994). The sum of PRT, CHO and LIP carbon equivalents is reported as the biopolymeric carbon (BPC) and used as a reliable estimate of the labile fraction of OM (Fabiano et al. 1995) and to classify the trophic status of the sediments. Also, the PRT:CHO ratio and the CHO:LIP ratio were calculated and used as indicators of the status of biochemical degradation processes (Galois et al. 2000).

In order to sample nematodes, the content of each microcosm was washed between a 500 and a 63  $\mu\text{m}$  sieve using filtered water. To extract the meiofauna from the sediment fraction, retained on the 63  $\mu\text{m}$  sieve, we applied a flotation technique using Ludox HS 40 colloidal silica ( $1.18 \text{ g cm}^{-3}$ ) and centrifugation (Heip et al. 1985, Vincx 1996). This process was repeated 3 times, whereby each time the supernatant Ludox containing the meiofaunal organisms was decanted and washed. The final washed and ex-

tracted sample was then preserved in 4% formaldehyde, and a small amount of Rose Bengal was added to facilitate identification. Using a binocular loupe, 100 nematodes were randomly picked out of each microcosm and mounted on glass slides for genus identification under the microscope (Sommerfield & Warwick 1996) using pictorial keys (Platt & Warwick 1983, 1988, Warwick et al. 1998).

Before assembly onto glass slides, nematodes were placed in a solution of glycerol–ethanol and allowed to evaporate in a desiccator so that the nematodes remained in glycerin, facilitating the observation of their structures.

### Structure of nematode assemblages and biological/functional traits

Richness (as number of genera) and abundance of nematodes per genus was determined for each microcosm. Each one was classified according to its life strategy on the spectrum of coloniser–persister (c-p score: Bongers 1990, Bongers et al. 1991). The scale range is defined from extreme colonisers (c-p score = 1) to extreme persisters (c-p score = 5). The maturity index (MI) of the community was calculated using the formula (Bongers et al. 1991):

$$MI = \sum (v_{(i)} \times f_{(i)}) \quad (1)$$

where  $v_{(i)}$  = the c-p value of genus  $i$  and  $f_{(i)}$  = the relative frequency of genus  $i$ .

Additionally, nematode genera were assigned to feeding types according to Wieser's (1953) classification based on the morphology of the buccal cavity: selective deposit-feeder (1A), nonselective deposit-feeder (1B), epigrowth feeder (2A) and omnivore/predator (2B). This classification was used to calculate the index of trophic diversity (ITD, Heip et al. 1985), calculated as:

$$ITD = \sum \theta^2 \quad (2)$$

where  $\theta$  is the percentage contribution of each trophic group according to Wieser (1953). ITD values range between 0.25 (high trophic diversity: the 4 groups have a representation of 25%) and 1.0 (low trophic diversity: a single trophic group dominates at 100%).

### Data analysis

Multi- and univariate techniques were used for data analysis using the software PRIMER 6.0.2 (Clarke & Gorley 2006) and STATISTICA 10.0 from StatSoft. If

needed, data were transformed and re-checked to determine if parametric assumptions were applicable. Comparisons to test changes in biota and trophic status of sediment (based on OM, chl *a*, phaeopigments and biopolymers) between control groups were done in order to assess the 'microcosm effect' (abiotic and biotic changes due to experiment artifacts) using a 1-way ANOVA with 5 levels: field control,  $T_0$  (microcosm control) and controls at Time 4, 15 and 30 d. If the differences in ANOVA were significant, 2 comparisons using least square means ( $t$ -test) were performed: (1) field vs.  $T_0$  to test the 'microcosm effect', i.e. the differences between field and the experimental conditions; and (2)  $T_0$  vs. controls at 4, 15 and 30 d ( $C_4$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{30}$ ) to test the temporal changes in the microcosm controls. The results of these tests allow establishing the validity of the experimental setting.

Treatment effects (i.e. among levels of enrichment) were evaluated first for the trophic status of sediment and separately for a possible effect on the trophic response of nematodes (MI and ITD) or structural changes in the assemblage (richness and abundance per genus). Those tests were carried out through a 2-way factorial ANOVAs where the treatments of OM input (control, medium and high) and time (4, 15, 30 d) were used as factors. Treatment effects of dissolved oxygen were evaluated with a repeated measures ANOVA, where time was the repeat factor.

Responses of multivariate structure of nematode assemblages to treatments were tested with permutation-based ANOVA, using PERMANOVA (Anderson et al. 2008). Data were square root transformed in order to downweigh the contribution of dominant species. Similarity matrices were built using the Bray-Curtis index and permutations were run on the reduced model; reported  $p$ -values are based on Monte Carlo tests, and results were considered significant at  $p < 0.05$ . The SIMPER procedure was applied to identify genera which contributed the most to similarity/dissimilarity across treatments and/or times.

## RESULTS

### Abiotic component

#### Validation of the experimental setting

On average, chl *a*, phaeopigments and CHO (Figs. 2 & 3) were significantly higher in the control  $T_0$  than in the field (1-way ANOVA and  $t$ -test: chl *a*:  $F_{4,10} = 23.73$ ,  $p < 0.001$ , phaeopigments:  $F_{4,10} = 53.95$

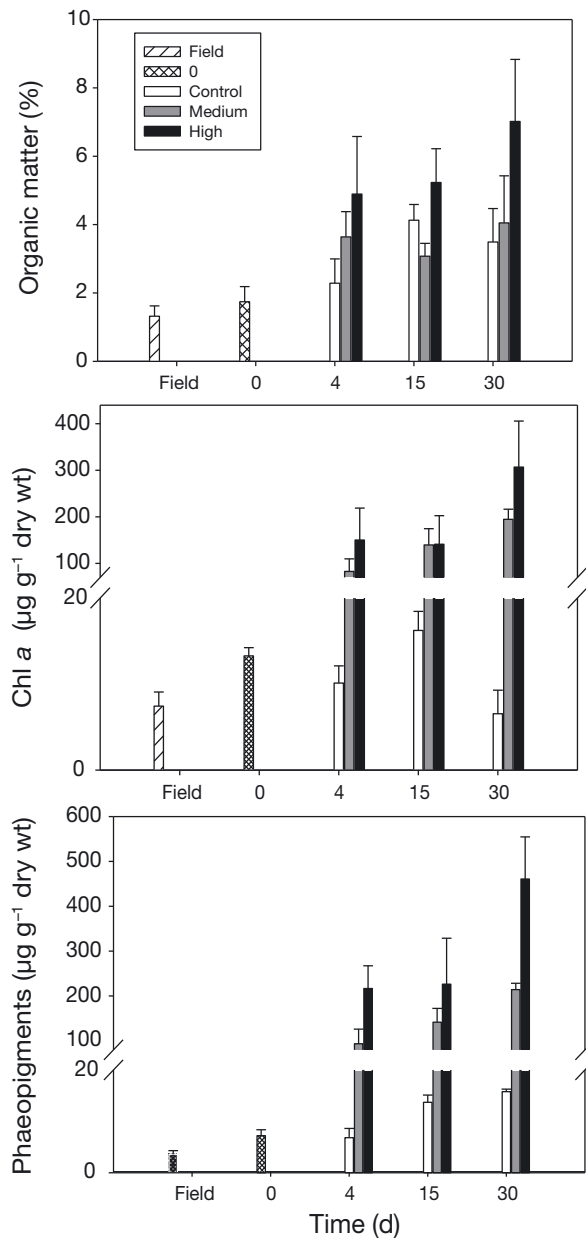


Fig. 2. Means and SD of abiotic factors measured from a field site, at Time 0 and in microcosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15 and 30 d after the onset of the experiment)

$p < 0.001$ , carbohydrates:  $F_{4,10} = 5.26$   $p < 0.001$ , Table 1). These variables had an important increase in  $T_0$  with respect to field samples (Table 2). The percent increase was 78% in chl *a*, 100% in phaeopigments and 25% in CHO.

Only the phaeopigments, chl *a* and OM increased significantly over time in the controls (Table 1), where values were more than twice those found in the field. The PRT:CHO ratio was  $<1$  in field samples,

$T_0$  and controls, while in the treatments, recorded values were  $>1$ . The CHO:LIP ratio was  $\gg 1$  in field samples,  $T_0$ , controls and both treatments.

## Enrichment

There was a significant and important enrichment in terms of OM, chl *a* and phaeopigments (Fig. 2, Tables 2 & 3). The addition of *Spirulina platensis* at both densities resulted in significant increases in chl *a* and phaeopigments, while the maximum levels of OM were clear only under high levels of *S. platensis*. The significant increase in phaeopigments occurred progressively from Day 4 to Day 30 (post hoc test:  $T_4 < T_{15} < T_{30}$ ; see Table S1 in the Supplement at [www.int-res.com/articles/suppl/m602p117\\_supp.pdf](http://www.int-res.com/articles/suppl/m602p117_supp.pdf)).

The addition of *S. platensis* also increased the levels of BPC, LIP and PRT (Fig. 3, Table 2 & 3) while CHO levels were not significantly affected. PRT levels increased progressively (significant interaction of time  $\times$  treatment, Table S1), while those of BPC and lipids were established quickly, especially after addition of *S. platensis* in the high-density treatment.

The addition of *S. platensis* resulted in a significant decrease in dissolved oxygen (Table 3, Fig. 4). Its levels reached the limit of hypoxia ( $2 \text{ mg l}^{-1}$ ) after  $\sim 1$  d and tended to recover after around 10 d; recovery took place more slowly after addition of *S. platensis* in the highest treatment (Fig. 4, see Table S1). In addition, enrichment led to hypoxia.

Overall, our results (increased levels of pigments, OM, LIP, PRT and BPC) validated the experimental setting. Hence, in the remainder of this article, we call the treatments 'control', 'medium level of enrichment' (= addition of 2.5 g of *S. platensis*) and 'high level of enrichment' (= addition 5 g of *S. platensis*).

## Responses of the nematode assemblage

A comparison of univariate measures of assemblages between field and control samples on Day 0 indicates how much the assemblages in the experimental conditions mimic those of the natural environment (Fig. 5). In general, nematode assemblages were similar in field, control microcosms and  $T_0$ . There were no significant differences in the log-transformed number of nematodes ( $F_{4,20} = 1.641$ ,  $p > 0.05$ ). Also, nematode abundance did not vary significantly at the end of the experiment in comparison with  $T_0$ .

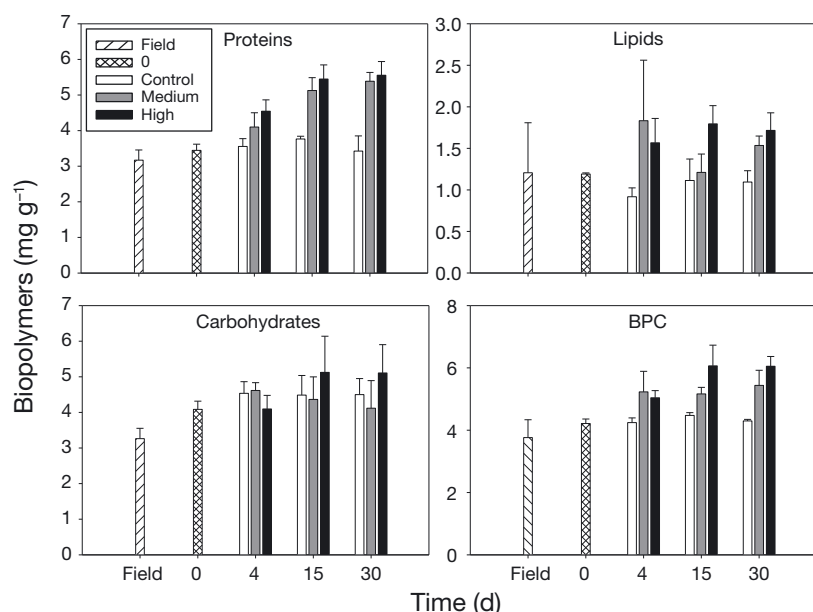


Fig. 3. Means and SD of biopolymers (BPC: biopolymeric carbon) measured from a field site, at Time 0 and in microcosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15 and 30 d after the onset of the experiment)

Nineteen genera of free-living marine/estuarine nematodes were recorded in our study (Table S2 in the Supplement). In general, the assemblages of genera were similar in field and control microcosms at  $T_0$ . There were no significant differences in the richness of genera (Table 4, Fig. 6) or in the number of individuals per genus, except in the case of rare genera (*Neochromadora*, *Oncholaimus*, *Oncholaimellus*, *Halalaimus*, *Kosswigonema*, *Antomicron*, *Daptonema*, *Leptolaimus*, morphotype 1, *Theristus*) with higher abundance in the field with respect to  $T_0$ , and *Sabatieria* with lower abundance in the field in compared to  $T_0$  (Table 4, Fig. 7). The dominant genus (*Pseudochromadora*) was the same in the field control and  $T_0$ .

The number of genera (richness) was significantly different among treatments, with lower values in medium and high treatments compared to control. There

were no significant changes over time in genus richness in the controls, but in the treatments, both the medium and high treatment suffered a decrease in the number of genera over time (Table 4).

There was a significant multivariate effect of enrichment and time on the nematode assemblage (PERMANOVA significant Time  $\times$  Treatment interaction: pseudo- $F = 2.735$ , Monte Carlo  $p = 0.0006$ ; 9920 permutations), showing that differences among treatments depended on the sampling time (Tables 5 & S1). After 15 d, significant differences were found only between medium and high enrichment treatments ( $t = 1.599$ , Monte Carlo  $p = 0.05$ , 126 permutations); however, after 30 d, differences between control versus both medium and high enrichment treatments were significant (Monte Carlo  $p = 0.0006$ ,  $p = 0.006$ , 126 permutations) (Tables 5 & S1).

The SIMPER procedure indicated that the same genera contributed to similarity within groups of controls at 4, 15 and 30 d: *Pseudochromadora* and *Ter-schellingia*. In addition, the average dissimilarity between controls at different times did not exceed 20%. The pairwise comparisons between  $T_0$  and the field sample also showed a significant difference, but the R value was low ( $R = 0.28$ ,  $p = 0.04$ , 126 permutations), suggesting a small effect (Fig. 8, average dissimilarity: 38%). The most marked differences (average dissimilarity 50%) were observed in the pairwise comparisons between enriched treatments at 4 and 30 d.

There were significant effects of enrichment on the number of individuals in 6 out of 10 genera (exceptions were *Oxystomina*, *Sabatieria*, *Paradontophora*

Table 1. Results of least square means ( $t$ -test) of field samples vs. Time 0 ( $T_0$ ) to test the differences between field and experimental conditions; and of  $T_0$  vs. controls at Time 4, 15 and 30 d ( $C_4$ ,  $C_{15}$ ,  $C_{30}$ ) to test the temporal changes in the microcosm controls. This test was applied to variables with significant 1-way ANOVA. In all cases,  $df = 4$ . OM: organic matter, CHO: carbohydrates. \* $p < 0.05$

	Field vs. $T_0$		$T_0$ vs. $C_4$		$T_0$ vs. $C_{15}$		$T_0$ vs. $C_{30}$	
	$t$	$p$	$t$	$p$	$t$	$p$	$t$	$p$
OM	1.37	0.242	-1.11	0.327	6.45	0.003*	-2.81	0.04*
Chl a	3.35	0.028*	-4.22	0.01*	8.32	0.001*	-1.04	0.35
Phaeopigments	4.63	0.009*	0.31	0.77	6.17	0.003*	-11.7	<0.001*
CHO	4.17	0.014*	-1.52	0.20	2.91	0.04	-1.07	0.34

Table 2. Size effects expressed as % increase (Time 0 [T<sub>0</sub>] vs. field samples and T<sub>0</sub> vs. enrichment treatments, where M: medium enrichment, H: high enrichment; 4, 15 and 30 represent time in days) in chl *a*, phaeopigments, organic matter (OM) and biopolymers (CHO: carbohydrates, PRT: proteins, LIP: lipids, BPC: biopolymeric carbon)

	Chl <i>a</i>	Phaeopig	OM	CHO	PRT	LIP	BPC
T <sub>0</sub> vs. Field	78	100	32	25	9	-1	12
T <sub>0</sub> vs. M4	524	1197	109	13	19	52	39
T <sub>0</sub> vs. M15	953	1867	76	7	49	0.4	37
T <sub>0</sub> vs. M30	1367	2877	132	1	56	27	45
T <sub>0</sub> vs. H4	1032	2911	181	0.3	32	30	34
T <sub>0</sub> vs. H15	964	3044	200	25	58	49	61
T <sub>0</sub> vs. H30	2214	6303	303	25	61	42	61

and *Terschellingia*: Table 3). In the genera *Anonchus* and *Anoplostoma*, a decrease in the number of individuals was observed in both enriched treatments (high and medium) compared to the control (Fig. 8). For *Viscosia* and *Paralinhomoeus*, the number of individuals decreased in the medium enrichment treatment with respect to the control but increased under high level of enrichment compared to medium (Fig. 8). All genera significantly decreased in abundance over the experimental time, especially under high enrichment; by contrast, *Pseudochromadora* increased in abundance with time, especially under high enrichment conditions (Table 4, Fig. 8).

### Community maturity and trophic diversity

The MI and ITD did not show significant differences among field samples and controls on Day 0 (Table 4, Fig. 9). There was, however, a significant

temporal variation and a significant effect of organic enrichment on trophic structure of assemblages depending on time (significant interaction of time × enrichment: Table 4), shown from ITD values driven by changes in deposit-feeders (groups 1A and 1B) as well as epigrowth feeders (2A). At the end of the experiment (T<sub>30</sub>), the trophic diversity decreased, which was driven by a decrease in the percentage associated with deposit-feeders (1B) and predators/omnivores (2B) accompanied by an increase in the proportion of epigrowth feeders

(Fig. 9). In addition, a general decrease in trophic diversity and the increase of MI values over time (significant time effect: Table 4, Fig. 9) were observed in both treatments. However, the increase in MI (to values of 3 or 4), indicates a lack of disturbance effects.

## DISCUSSION

In assessing the effect of enrichment on nematode assemblages, we used a microcosm approach. We therefore increased our capacity to establish cause-effect relationships at the cost of losing realism. We minimized effects related to the construction of laboratory assemblages, the so-called microcosm effect (leading to microhabitat homogenization, temporal hypoxia and mortality of sensitive species): at T<sub>0</sub>, assemblages did not differ from those in the field (Fig. 9), and both field conditions and the control at the beginning of the experiment had similarly aged

Table 3. Results of statistical comparisons of univariate measures of abiotic components. For all variables except dissolved oxygen, data were analyzed with a standard 2-way crossed ANOVA, considering treatment and sampling time as factors. Oxygen data were analyzed using within-subject (repeated measures) ANOVA considering time as a within-subject factor and treatment as a between-subject factor; in this case, there are 3 separate analyses by time comparing daily measures of oxygen level. OM: organic matter, BPC: biopolymeric carbon. \*p < 0.05

F	Treatment			Time			Treatment × Time		
	df	F	p	df	F	p	df	F	p
OM	2,18	12.37	<0.001*	2,18	2.78	0.089	4,18	1.48	0.25
Chl <i>a</i>	2,18	85.03	<0.001*	2,18	7.47	0.04*	4,18	4.1	<0.016*
Phaeopigments	2,18	344.7	<0.001*	2,18	21.3	<0.001*	4,18	1.7	0.202
BPC	2,18	30.01	<0.001*	2,18	3.4	0.056	4,18	2.12	0.121
Proteins	2,18	58.69	<0.001*	2,18	13.96	0.00*	4,18	3.86	0.02*
Lipids	2,18	10.68	<0.001*	2,18	0.16	0.855	4,18	1.82	0.17
Carbohydrates	2,18	1.007	0.385	2,18	0.354	0.707	4,18	1.41	0.271
O <sub>2</sub> Time 4	2,12	529.34	<0.001*	4,48	24.545	<0.001*	8,48	19.607	<0.001*
O <sub>2</sub> Time 15	2,12	171.82	<0.001*	14,168	11.779	<0.001*	28,168	8.921	<0.001*
O <sub>2</sub> Time 30	2,12	53.542	<0.001*	27,324	46.642	<0.001*	54,324	12.788	<0.001*



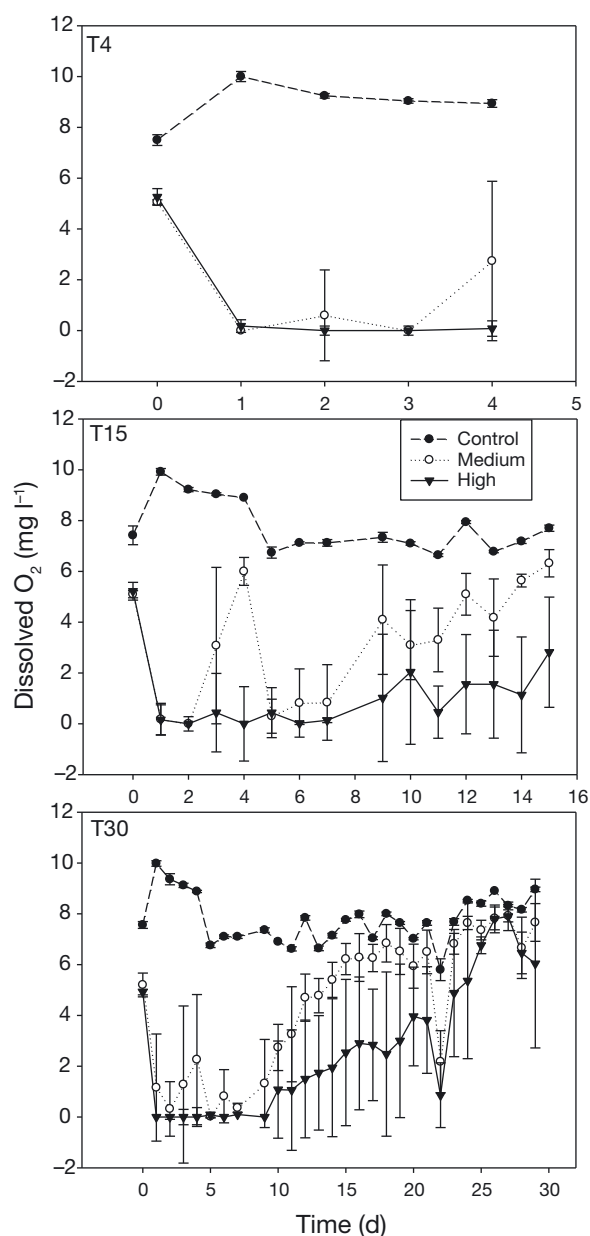


Fig. 4. Means and SD of dissolved oxygen from microcosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) sampled 4, 15 and 30 d after the onset of the experiment (T4, T15 and T30, respectively)

and degraded sedimentary OM (PRT:CHO ratio <1: Dell'Anno et al. 2002) and low-quality OM (CHO:LIP ratio  $\gg$ 1). The fact that the enrichment effects were stronger than the effects of sediment disruption (see Table 1) validated our approach according to the criteria recommended by Austen & McEvoy (1997). The environmental variables and the nematode assemblages varied little in the controls. The little variation in the nematode assemblage between field samples,

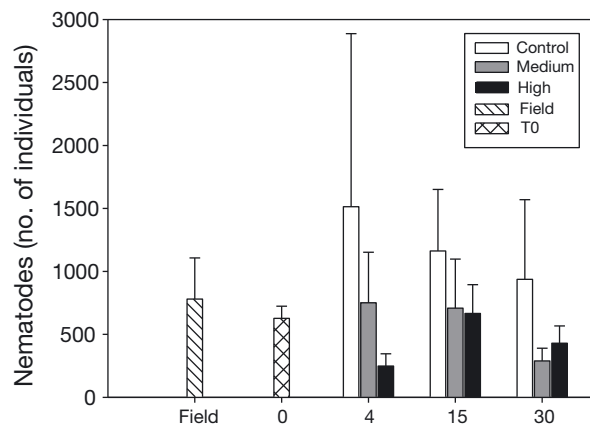


Fig. 5. Means and SD of nematode abundance measured from a field site, at Time 0 and in microcosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15 and 30 d after the onset of the experiment)

T<sub>0</sub> and controls was consistent with the fact that estuarine nematodes are robust to laboratory manipulation (Austen & McEvoy 1997) and elicit a minimal 'microcosm effect' (e.g. Schratzberger et al. 2000, Hedfi et al. 2007). Overall, microcosm effects, if they existed, would have led to immediate changes in the environment and biota. We conclude that the observed reductions in abundance, richness of genera and trophic richness and changes in trophic structure (loss of predators/omnivores and a dominance of selective deposit-feeders and epigrowth-feeders) in responses to enrichment as well as with reductions in oxygen concentration, are likely to occur under natural conditions given that we started our experiment with realistic nematode assemblages. However, we recognize that further confirmation is needed through monitoring of natural assemblages and field experiments.

The experimental treatments were accurate in recreating organic enrichment and its consequences, in terms of trophic status of sediment and hypoxia. In our experiment, we simulated an important input of labile OM with the addition of *Spirulina platensis*. Hence, as particles sank in the experimental units, there was an increase in chl *a* and PRT (detected as a significant interaction between enrichment by time; Table 2). There was also an increment in phaeopigments 4 d after the beginning of the experiment, as well as a change in the age of the OM, from aged to live/fresh, as quantified from the ratio of PRT:CHO (<1 in controls and >1 in enriched treatments; Danovaro et al. 1993). Equally, the quality of OM increased as indicated from the increase in levels of BPC (Fabiano et al. 1995) and low CHO:LIP ratios

Table 4. Results of statistical comparisons of univariate measures of nematode assemblages, based on the 2 types of ANOVA used: 1-way (field collected samples vs. Time 0 [T<sub>0</sub>]) and 2-way crossed. ITD: index of trophic diversity. Feeding types are 1A: selective deposit-feeder, 1B: non-selective deposit-feeder, 2A: epigrowth feeder and 2B: omnivore/predator. \*p < 0.05

Factor	Treatment		Time		Treatment × Time		Field vs. T <sub>0</sub>	
	F <sub>2,36</sub>	p	F <sub>2,36</sub>	p	F <sub>4,36</sub>	p	F <sub>1,8</sub>	p
Nematodes	17.11	<0.001*	4.8	0.014*	3.95	0.009*	1.25	0.297
<i>Anonchus</i>	13.38	<0.001*	10.44	<0.001*	1.08	0.381	2.89	0.128
<i>Anoplostoma</i>	5.01	0.012*	15.4	<0.001*	4.32	0.006*	5	0.056
<i>Oxystomina</i>	2.985	0.063	0.002	0.998	1.791	0.152	2.51	0.152
<i>Pseudochromadora</i>	12.04	<0.001*	27.27	<0.001*	5.86	0.001*	0.256	0.626
<i>Paradontophora</i>	2.537	0.093	6.805	0.003*	2.154	0.094	4.5	0.067
<i>Paralinhomoeus</i>	4.544	0.017*	1.931	0.16	0.504	0.733	1.76	0.221
<i>Sabatieria</i>	1.95	0.156	11.51	<0.001*	5.6	0.001*	9.09	0.017*
<i>Terschellingia</i>	0.964	0.391	1.581	0.222	2.568	0.054	0.61	0.459
<i>Viscosia</i>	7.14	0.002*	26.87	<0.001*	1.03	0.404	0.276	0.614
Rare genera	3915	0.029*	5.06	0.012*	1.70	0.17	7.86	0.023*
Richness of genera	9.25	<0.001*	17.79	<0.001*	3.37	0.019*	3.368	0.104
ITD	12.56	<0.001*	32.64	<0.001*	7.52	<0.001*	0.255	0.627
1A	2.269	0.118	2.295	0.115	4.02	0.009*	0.116	0.745
1B	3.39	0.045*	15.53	<0.001*	3.84	0.011*	0.857	0.39
2A	6.68	0.003*	18.78	<0.001*	4.48	0.005*	0.437	0.533
2B	7.04	0.003*	27.88	<0.001*	1.21	0.325	0.023	0.884
MI	0.353	0.705	7.412	0.002*	1.941	0.125	0.191	0.63

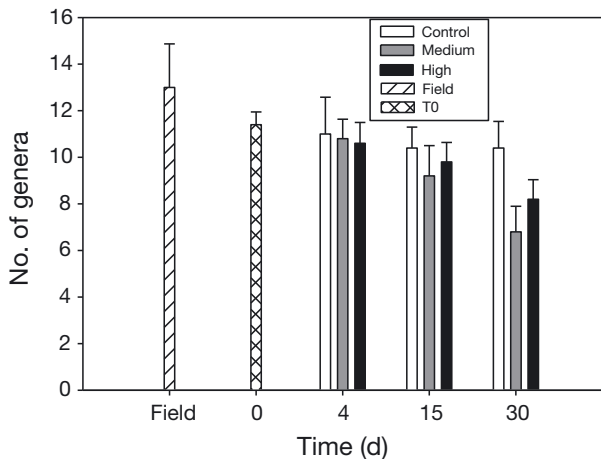


Fig. 6. Richness of genera (mean and SD) of nematode assemblages in sediments from a field site, at Time 0, and in microcosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15 and 30 d after the onset of the experiment)

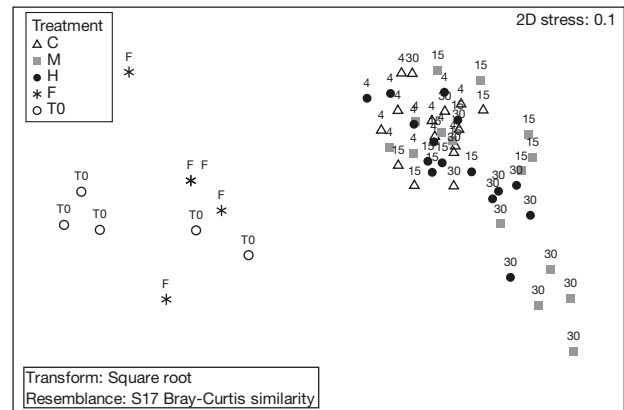


Fig. 7. Non-metric multidimensional scaling ordination of samples based on square-root transformed data of the density of nematode genera in sediment from: a field site (F), at Time 0 (T<sub>0</sub>), and in microcosm treatments (C: control, M: medium and H: high levels of enrichment). Numbers above symbols indicate days after the onset of the experiment

Table 5. PERMANOVA testing for responses of nematodes to enrichment (control, medium and high) and time. Perm: number of permutations. \*p < 0.05

	df	SS	MS	Pseudo-F	p (Monte Carlo)	Perm.	p(perm)
Treatment	2	1799	899.5	5.5485	0.0001*	9936	0.0001*
Time	2	3394.5	1697.2	10.469	0.0001*	9930	0.0001*
Treatment × Time	4	1773.8	443.45	2.7354	0.0006*	9920	0.0003*
Residual	36	5836.2	162.12				
Total	44	12803					

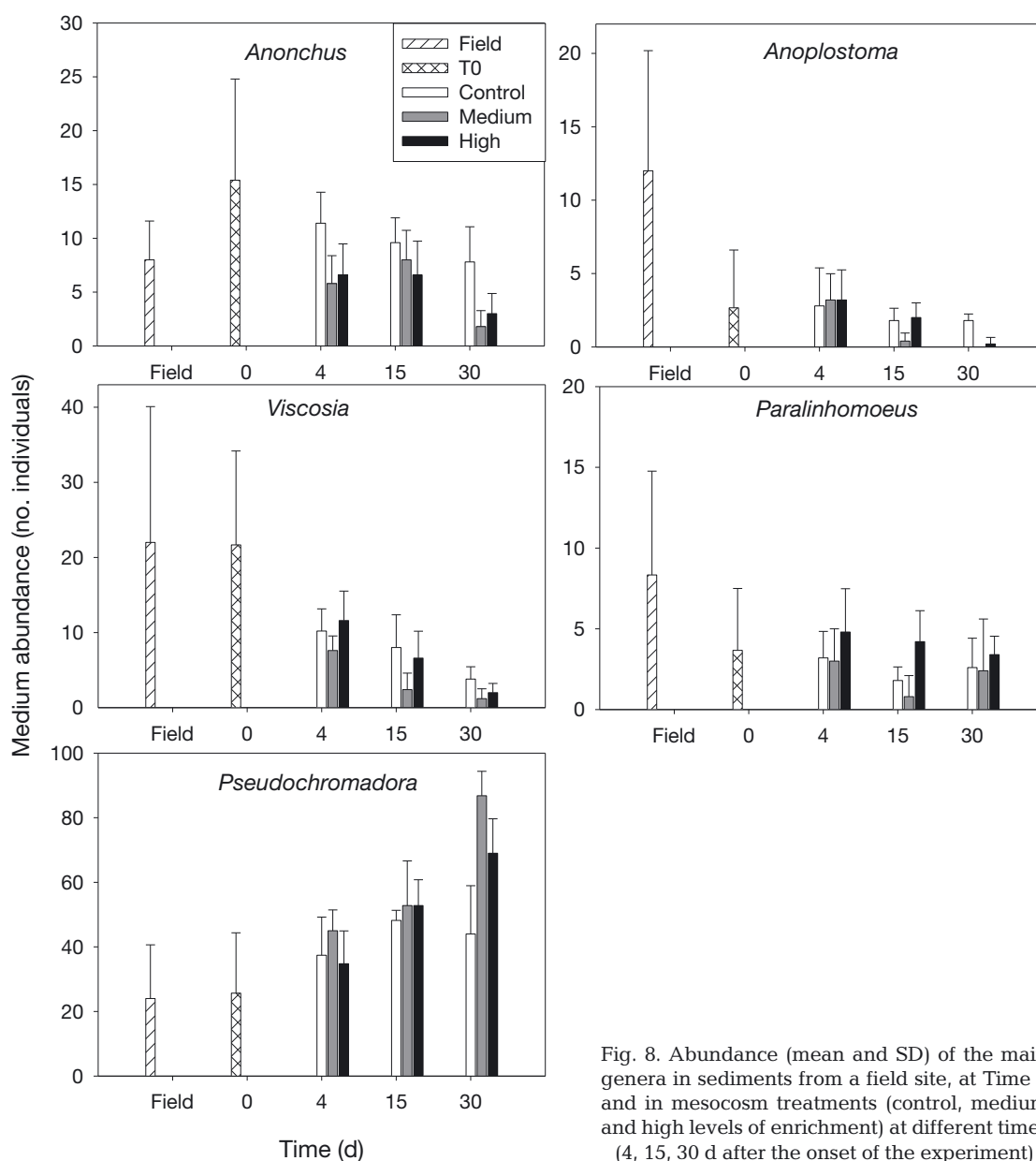


Fig. 8. Abundance (mean and SD) of the main genera in sediments from a field site, at Time 0 and in mesocosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15, 30 d after the onset of the experiment)

(Joseph et al. 2008) driven by an increase in the concentration of LIP. CHO:LIP ratios ( $\gg 1$ ) indicated that the input of fresh OM had a low nutritional level, albeit higher than that registered in controls. Enrichment also resulted in sediment hypoxia (oxygen concentrations  $< 2.8 \text{ mg l}^{-1}$ ; Diaz & Rosenberg 1995), consistent with previous studies (Armenteros et al. 2010). The magnitude of hypoxia was higher over the first 15 d of the experiment (detected as a significant interaction of enrichment with time: Table 2). By contrast, most environmental variables varied little over time in the controls, with the exception of increases in OM and phaeopigments, but we expected such

patterns, as over time, particles would sink slowly from the water column.

Enrichment resulted in a quick reduction of the total abundance (after 4 d), while the number of genera (i.e. richness) decreased only towards the end of the experiment ( $\sim 30$  d). This response was consistent with that found in other eutrophic estuaries (Netto & Valgas 2010, Armenteros et al. 2010). The response of nematodes was not consistent with the model proposed by Pearson & Rosenberg (1978). The model establishes that in high organically enriched sediments, the macrofauna is absent and nematodes are the dominant metazoans, predicting an initial in-

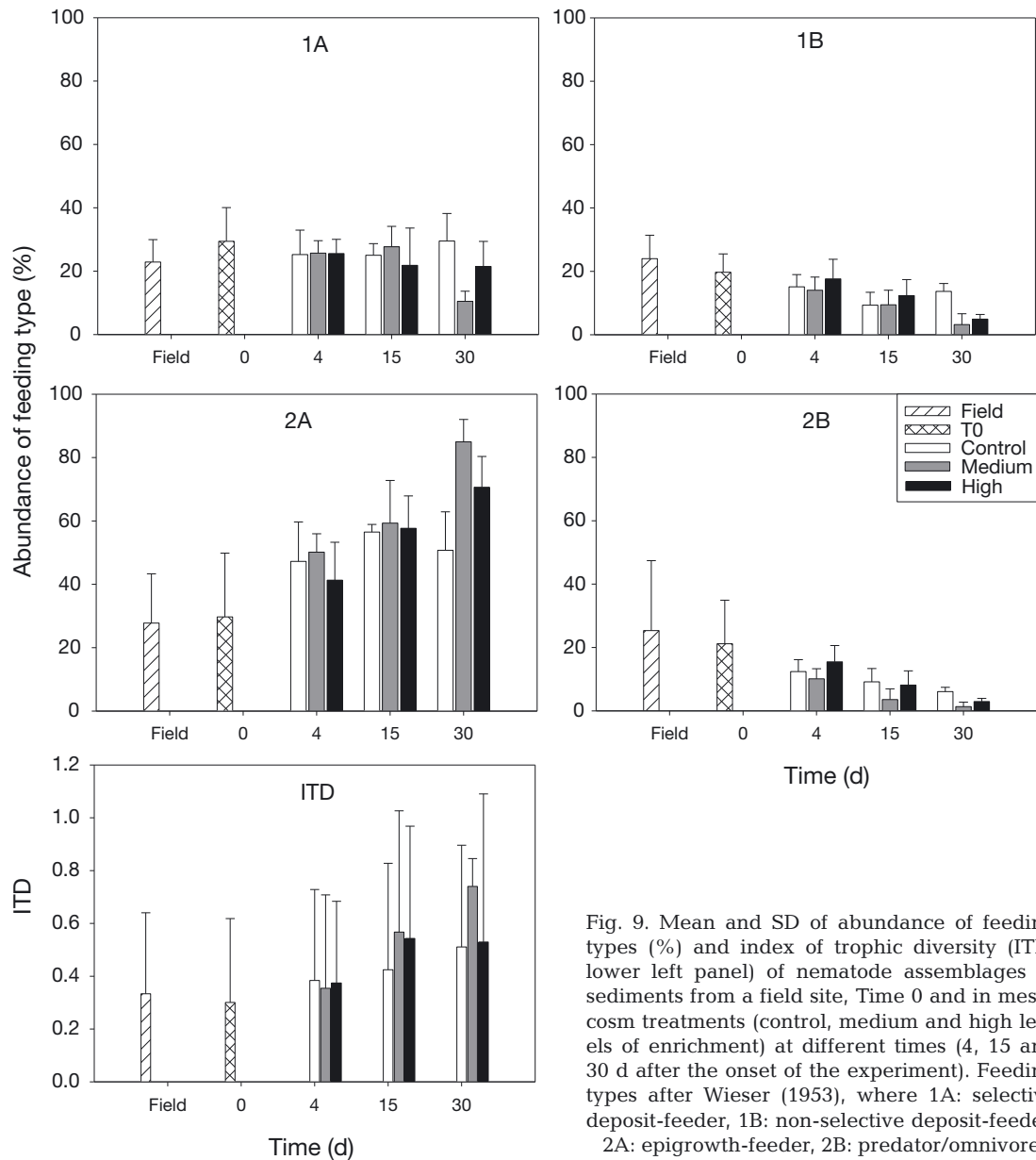


Fig. 9. Mean and SD of abundance of feeding types (%) and index of trophic diversity (ITD, lower left panel) of nematode assemblages in sediments from a field site, Time 0 and in mesocosm treatments (control, medium and high levels of enrichment) at different times (4, 15 and 30 d after the onset of the experiment). Feeding types after Wieser (1953), where 1A: selective deposit-feeder, 1B: non-selective deposit-feeder, 2A: epigrowth-feeder, 2B: predator/omnivore

crease in species richness in response to enrichment followed by a subsequent increase in abundance as richness starts to decline. The response of nematodes may perhaps fit with the dynamic equilibrium model, whereby richness peaks at intermediate levels of disturbance and productivity (Huston 1979). According to this model, a decrease in species richness means that few opportunistic species become overabundant. Dominance may increase either as a consequence of competitive exclusion or as a consequence of fewer species tolerating the harsh conditions.

Most of the genera were affected by enrichment, but some responses were difficult to interpret and

may reflect non-linear or complex responses to the multiple environmental changes associated with enrichment (e.g. changes in dissolved oxygen and OM composition). For instance, *Anoplostoma*, which decreased in abundance in both enrichment treatments, has been reported as being favoured by organic enrichment (Kapusta et al. 2006). *Viscosia*, composed mainly of facultative predators able to exploit a wide range of food resources (Moens & Vincx 1997), had the lowest abundance at medium levels of enrichment and a higher abundance at the high level of enrichment. The increased density of *Pseudochromadora* in response to organic enrichment is more

logical: these are epistrate feeders that benefit from the availability and diversity of food resources (Pinto & Bemvenuti 2003, Kapusta et al. 2006). Some genera (*Oxystomina*, *Sabatieria*, *Terschellingia* and *Paradontophora*) appeared to be tolerant to enrichment, as they did not show changes among treatments. This is consistent with previous studies showing that such genera are well known for their proliferation in stressful conditions or in close association with sediment organic enrichment (Mirto et al. 2002). Species of the genus *Terschellingia* are tolerant to a diversity of stressors in soft bottoms (Schratzberger et al. 2006); *Sabatieria* and *Oxystomina* are tolerant to aquaculture deposition; and *Sabatieria* is well adapted to live in environments with high organic carbon loads, low oxygen and high sulfide concentrations (Jensen et al. 1992, Soetaert & Heip 1995). *Paradontophora* species have been reported to be unresponsive to changes in chl *a* sediment concentrations (Quang et al. 2016).

Enrichment also resulted in a reduction of the non-selective deposit-feeders (*Anoplostoma*, *Paralinhomoeus*) and predator/omnivores (*Viscosia*), which have faster metabolic rates, and presumably lower tolerance to hypoxia, than the epigrowth feeders (*Pseudochromadora*) and selective deposit-feeders (*Oxystomina*, *Terschellingia*) (Heip et al. 1985), which would make them less tolerant to the hypoxia. The decline of predators could also be a consequence of the loss of habitat complexity, as the higher abundance of predators indicates a more heterogeneous and well-structured trophic assemblage that might imply a higher habitat complexity (Semprucci et al. 2015). Metabolic rates, which are high in predators/omnivores but low in deposit and epigrowth feeders, should be a key factor explaining the responses: selective deposit-feeders showed only a temporary decrease and epigrowth feeders increased under conditions of enrichment. The combination of low metabolic rates and the feeding mode may thus enable tolerance or proliferation under enrichment. Selective deposit-feeders take advantage of the food supply (Armenteros et al. 2010) until the most deleterious effects derived from the organic input occurs. Epigrowth feeders, common in estuaries (Ndaro & Ólafsson 1999) may be able to exploit a diversity of food sources available after enrichment; *Pseudochromadora*, the dominant genus in this trophic group, consumes bacteria, microalgae and phytodetritus (Pinto & Bemvenuti 2003) and was clearly favoured by proteins and high values of BPC.

We found clear responses of trophic groups due to organic enrichment, despite the controversy of

assigning whole genera to different trophic groups (Heip et al. 1985). This classification strategy ignores the complexity of nematode feeding habitats (Moens & Vincx 1997) and their trophic plasticity (Schratzberger et al. 2008). Most likely, the species composition and richness within each genus, and hence the likelihood of incorrectly assigning a specific organism to a particular trophic group, changes from site to site. It may well be that assemblages at Rocha Lagoon are dominated by a single species per genus which might drive the observed responses at the level of trophic groups. The effect of enrichment was also observed as a reduction in trophic richness (detected as an increase in the ITD index), which is contrary to with findings of other authors (Mirto et al. 2002, Alves et al. 2013) but consistent with Semprucci et al. (2013). Thus our study supports the hypothesis that enrichment alters nematode trophic structure. Nevertheless, we recognize the need to reevaluate the level of tolerance/sensitivity of the trophic groups to different stressors.

In contrast to the effects on trophic structure, enrichment did not seem to select for a particular life history (as quantified by the MI index), perhaps as a result of a high percentage of *K*-strategists (c-p value of 3). MI was initially proposed for the study of terrestrial and freshwater habitats (Bongers 1990), and marine and brackish ecosystems were included later (Bongers et al. 1991), but the lack of empirical evidence regarding life strategies of most marine genera resulted in a conservative use of this index. MI is responsive to river discharge and is more efficient than diversity indices in detecting effects of disturbance; however, it is also sensitive to sediment grain size (Semprucci et al. 2010, 2013). MI and c-p classes are sometimes unable to identify the dominant stressor when multiple stressors act together (Semprucci et al. 2013).

Given the multiple stressor nature of enrichment (OM content and quality are increased, but oxygen levels drop and drive the increases in concentrations of hydrogen sulfide and ammonia), we cannot identify which stressor drives the observed patterns in the nematode assemblages. Decreases in abundance may be driven mainly by hypoxia, as suggested by Gray et al. (2002) and Van Colen et al. (2009). Oxygen limitation is also suggested by the fact that the less responsive trophic groups were those characterized by low metabolic rates. Behavioural and physiological adaptations (e.g. migration to 'oxygen islands': Balsamo et al. 2012; slow movement and low metabolic rates: Warwick & Price 1979, Warwick & Gee 1984) may explain why some groups were not

affected in terms of their abundances (or they were able to maintain their densities). In addition, tolerance of hypoxia would have allowed greater access to OM in terms of amount and quality (availability of food), which are key controlling factors of the growth, metabolism and distribution of benthic communities within the substrate (Danovaro & Fabiano 1997, Venturini et al. 2011).

In summary, our study showed that organic enrichment can drive changes in the trophic status of sediments, reductions in the abundance and richness of nematodes, the loss of predators/omnivores and the dominance of selective deposit-feeders and epigrowth feeders. Our results also suggest that the study of nematode assemblages at the genus level is enough to detect effects of enrichment, consistent with other studies carried out elsewhere (Balsamo et al. 2012, Mirto et al. 2014), but also that the ITD seems to be a good candidate as an indicator of eutrophication effects on nematode assemblages.

Extrapolation from the experiment to nature should be done cautiously, since this is one of the main sources of misleading conclusions (Carpenter 1996). However, the responses of infauna to organic enrichment are governed primarily by the adaptations of species to conditions caused by organic load, thus extrapolation of responses from small-scale experiments to larger scales can be accepted (Zajac et al. 1998). Although our experimental set-up probably amplified the effects of treatments because of the stagnant conditions and the lack of water and sediment renewal, such amplification may be considered appropriate for a semi-enclosed coastal lagoon (Urban et al. 2009).

*Acknowledgements.* We thank our colleagues from Oceanografía y Ecología Marina, Facultad de Ciencias, UdelaR and CURE, Rocha, for their kind collaboration during sampling surveys and laboratory assistance. Special thanks to Karen Iglesias for help with biopolymeric analysis and Carolina Bueno for help with an earlier version of this manuscript. N.K. was supported by the Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) and P.M. and N.V. by SNI-ANII. Special thanks to the anonymous reviewers whose comments improved the quality of the manuscript.

#### LITERATURE CITED

- Alves AS, Adão H, Ferrero TJ, Marques JC, Costa MJ, Patrício J (2013) Benthic meiofauna as an indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: the use of nematodes in ecological quality assessment. *Ecol Indic* 24: 462–475
- Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR (2008) PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E, Plymouth
- Anthony A, Atwood J, August P, Byron C and others (2009) Coastal lagoons and climate change: ecological and social ramifications in U.S. Atlantic and Gulf coast ecosystems. *Ecology and Society* 14:8
- Armenteros M, Pérez-García JA, Ruiz-Abierno A, Díaz-Asencio L, Helguera Y, Vincx M, Decraemer W (2010) Effects of organic enrichment on nematode assemblages in a microcosm experiment. *Mar Environ Res* 70:374–382
- Arocena R, Fabián D, Clemente J (2000) Las causas naturales versus la contaminación orgánica como factores estructuradores del zoobentos en tres afluentes de una laguna costera. *Limnetica* 18:99–113
- Austen MC, McEvoy AJ (1997) The use of offshore meiobenthic communities in laboratory microcosm experiments: response to heavy metal contamination. *J Exp Mar Biol Ecol* 211:247–261
- Balsamo M, Semprucci F, Frontalini F, Coccioni R (2012) Meiofauna as a tool for marine ecosystem biomonitoring marine ecosystems. In: Cruzado A (ed) *Marine ecosystems*. InTech Open, Rijeka, p 77–104
- Bird ECF (1994) Physical setting and geomorphology of coastal lagoons. In: Kjerfve (ed) *Coastal lagoon processes*, *Oceanogr Ser* 60. Elsevier, New York, NY, p 9–40
- Bongers T (1990) The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83:14–19
- Bongers T, Alkemade R, Yeates GW (1991) Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. *Mar Ecol Prog Ser* 76:135–142
- Byers S, Mills E, Stewart P (1978) Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiologia* 58: 43–47
- Carpenter SR (1996) Microcosm experiments have limited relevance for community and ecosystem ecology. *Ecology* 77:677–680
- Clarke KR, Gorley RN (2006) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*, 2nd edn. PRIMER-v6, Plymouth
- Cloern JE (2001) Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar Ecol Prog Ser* 210: 223–253
- Conde D, Rodríguez-Gallego L (2002) Problemática ambiental y gestión de las lagunas costeras atlánticas de Uruguay. In: Domínguez A, Prieto R (eds) *Perfil Ambiental del Uruguay 2002*. NORDAN, Montevideo, p 149–166
- Conde D, Aubriot L, Sommaruga R (2000) Changes in UV penetration associated with marine intrusions and freshwater discharge in a shallow coastal lagoon of the Southern Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser* 207:19–31
- Conde D, Rodríguez-Gallego L, Rodríguez-Graña L (2003) Análisis conceptual de las interacciones abióticas y biológicas ente el océano y las lagunas de la costa Atlántica de Uruguay. Informe final FREPLATA. Sección Limnología, Facultad de Ciencias. Universidad de la Republica, Montevideo
- Coull BC (1988) Ecology of the marine meiofauna. In: Higgins RP, Thiel H (eds) *Introduction to the study of meiofauna*. Smithsonian Institution Press, London, p 18–38
- Coull BC, Chandler GT (1992) Pollution and meiofauna: field, laboratory and mesocosm studies. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 30:191–271
- Danovaro R (2010) *Methods for the study of deep-sea sediments, their functioning and biodiversity*. CRC Press,

- New York, NY
- Danovaro R, Fabiano M (1997) Seasonal changes in quality and quantity of food available for benthic suspension-feeders in the Golfo Marconi (north-western Mediterranean). *Estuar Coast Shelf Sci* 44:723–736
- Danovaro R, Fabiano M, Della Croce N (1993) Labile organic matter and microbial biomasses in deep-sea sediments (eastern Mediterranean Sea). *Deep-Sea Res* 40:953–965
- Day JW, Hall CAS, Kemp WM, Yañez-Arancibia A (1989) *Estuarine ecology*. Wiley & Sons Publications, New York, NY
- Dell'Anno A, Mei ML, Pusceddu A, Danovaro R (2002) Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Mar Pollut Bull* 44:611–622
- Diaz RJ, Rosenberg R (1995) Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 33:245–303
- Diaz RJ, Rosenberg R (2008) Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science* 321:926–929
- Fabiano M, Danovaro R (1994) Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia* 277:71–84
- Fabiano M, Danovaro R, Fraschetti S (1995) A three-year time series of elemental and biochemical composition of organic matter in subtidal sand sediments of the Ligurian Sea (Northwestern Mediterranean). *Cont Shelf Res* 15:1453–1469
- Galois R, Blanchard G, Seguignes M, Huet V, Joassard L (2000) Spatial distribution of sediment particulate organic matter on two estuarine mudflats: a comparison between Marennes-Oléron Bay (France) and the Humber estuary (UK). *Cont Shelf Res* 20:1199–1217
- Gerchakov SM, Hatcher PG (1972) Improved technique for analysis of carbohydrates in the sediment. *Limnol Oceanogr* 17:938–943
- Giménez L, Venturini N, Kandratavicius N, Hutton M and others (2014) Macrofaunal patterns and animal–sediment relationships in Uruguayan estuaries and coastal lagoons (Atlantic coast of South America). *J Sea Res* 87:46–55
- Glasgow HB Jr, Burkholder JM (2000) Water quality trends and management implications from a five-year study of a eutrophic estuary. *Ecol Appl* 10:1024–1046
- Grall J, Chauvaud L (2002) Marine eutrophication and benthos: the need for new approaches and concepts. *Glob Change Biol* 8:813–830
- Gray JS, Wu RS, Or YY (2002) Effects of hypoxia and organic enrichment on the coastal marine environment. *Mar Ecol Prog Ser* 238:249–279
- Hargrave BT, Holmer M, Newcombe CP (2008) Towards a classification of organic enrichment in marine sediments based on biogeochemical indicators. *Mar Pollut Bull* 56:810–824
- Hartree EF (1972) Determination of proteins: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal Biochem* 48:422–427
- Hedfi A, Mahmoudi E, Boufahja F, Beyrem H, Aïssa P (2007) Effects of increasing levels of nickel contamination on structure of offshore nematode communities in experimental microcosms. *Bull Environ Contam Toxicol* 79:345–349
- Heip PC, Vincx M, Vranken G (1985) The ecology of marine nematodes. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 23:399–489
- Herreid CF II (1980) Hypoxia in invertebrates. *Comp Biochem Physiol A* 67:311–320
- Huston MA (1979) A general hypothesis of species diversity. *Am Nat* 113:81–101
- Jensen P, Rumohr J, Graf G (1992) Sedimentological and biological differences across a deep-sea ridge exposed to advection and accumulation of fine-grained particles. *Oceanol Acta* 15:287–296
- Joseph MM, Ratheesh Kumar CS, Greesh Kumar TR, Renjith KR, Chandramohanakumar N (2008) Biogeochemistry of surficial sediments in the intertidal systems of a tropical environment. *Chem Ecol* 24:247–258
- Kandratavicius N, Muniz P, Venturini N, Giménez L (2015) Meiobenthic communities in permanently open estuaries and open/closed coastal lagoons of Uruguay (Atlantic coast of South America). *Estuar Coast Shelf Sci* 163:44–53
- Kapusta SC, Würdig NL, Bemvenuti CE, Pinto TK (2006) Spatial and temporal distribution of Nematoda in a subtropical estuary. *Acta Limnol Bras* 182:133–144
- Kelly JR, Nixon SW (1984) Experimental studies of the effect of organic deposition on the metabolism of a coastal marine bottom community. *Mar Ecol Prog Ser* 17:157–169
- Kendall MA, Davey JT, Widdicombe S (1995) The response of two estuarine benthic communities to the quantity and quality of food. *Hydrobiologia* 311:207–214
- Kjerfve B, Magill K (1989) Geographic and hydrodynamic characteristics of shallow coastal lagoons. *Mar Geol* 88:187–199
- Lorenzen CJ (1967) Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnol Oceanogr* 12:343–346
- Marsh JB, Weinstein DB (1966) Simple charring methods for determination of lipids. *J Lipid Res* 7:574–576
- Mirto S, La Rosa T, Gambi C, Danovaro R, Mazzola A (2002) Nematode community response to fish-farm impact in the western Mediterranean. *Environ Pollut* 116:203–214
- Mirto S, Arigò C, Genovese L, Pusceddu A, Gambi C, Danovaro R (2014) Nematode assemblage response to fish-farm impact in vegetated (*Posidonia oceanica*) and non-vegetated habitats. *Aquacult Environ Interact* 5:17–28
- Moens T, Vincx M (1997) Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. *J Mar Biol Assoc UK* 77:211–227
- Ndaró SGM, Ólafsson E (1999) Soft-bottom fauna with emphasis on nematode assemblage structure in a tropical intertidal lagoon in Zanzibar, eastern Africa: I. spatial variability. *Hydrobiologia* 405:133–148
- Netto SA, Valgas I (2010) The response of nematode assemblages to intensive mussel farming in coastal sediments (Southern Brazil). *Environ Monit Assess* 162:81–93
- Nilsson P, Jönsson B, Swanberg IL, Sundbäck K (1991) Response of a marine shallow-water sediment system to an increased load of inorganic nutrients. *Mar Ecol Prog Ser* 71:275–290
- Norling K, Rosenberg R, Hulth S, Grémare A, Bonsdorff E (2007) Importance of functional biodiversity and species-specific traits of benthic fauna for ecosystem functions in marine sediment. *Mar Ecol Prog Ser* 332:11–23
- Pearson TH, Rosenberg R (1978) Macrobenthic succession

- in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 16: 229–311
- Perissinotto R, Stretch DD, Whitfield AK, Adams JB, Forbes AT, Demetriades NT (2010) Ecosystem functioning of temporarily open/closed estuaries in South Africa. In: Crane JR, Solomon AE (eds) *Estuaries: types, movement patterns and climatical impacts*. Nova Science Publishers, New York, NY, p 1–69
- Pinto TK, Bemvenuti CE (2003) Changes in Nematoda community structure related to sewage discharge. *J Coast Res* 39:1807–1810
- Pita AL, Gimenez L, Kandratavicius N, Muniz P, Venturini N (2017) Benthic trophic status of aquatic transitional environments with distinct morphological and dynamic characteristics on the South-western Atlantic coast. *Mar Freshw Res* 68:2028–2040
- Platt HM, Warwick RM (1983) Free living marine nematodes. Part I. British enoplids. In: Kermack DM, Barnes RSK (eds) *Synopses of the British Fauna 28*. Published for the Linnean Society of London & the Estuarine & Brackish-Water Sciences Association, Cambridge University Press, Cambridge
- Platt HM, Warwick RM (1988) Free living marine nematodes. Part II. British chromadorids. In: Kermack DM, Barnes RSK (eds) *Synopses of the British Fauna 38 (New Series)*. Published for the Linnean Society of London & the Estuarine & Brackish-Water Sciences Association. Brill/Backhuys, Leiden
- Pusceddu A, Dell'Anno A, Fabiano M, Danovaro R (2009) Quantity and bioavailability of sediment organic matter as signatures of benthic trophic status. *Mar Ecol Prog Ser* 375:41–52
- Quang NX, Chau NN, Smol N, Prozorova L, Vanreusel A (2016) Intertidal nematode communities in the Mekong estuaries of Vietnam and their potential for biomonitoring. *Environ Monit Assess* 188:91
- Rice DL (1982) The detritus nitrogen problem: new observations and perspectives from organic geochemistry. *Mar Ecol Prog Ser* 9:153–162
- Ríos AF, Fraga F, Pérez FF, Figueiras FG (1998) Chemical composition of phytoplankton and particulate organic matter in the Ría de Vigo (NW Spain). *Sci Mar* 62:257–271
- Rodríguez-Gallego L, Santos C, Amado S, Gorfinkel D and others (2008) Costos y beneficios socioeconómicos y ambientales del uso actual de la Laguna de Rocha y su cuenca: insumos para la gestión integrada de un área protegida costera. PROYECTO 36-09. Programa de desarrollo tecnológico. Informe Final
- Ruhl HA, Ellena JA, Smith KL Jr (2008) Connections between climate, food limitation, and carbon cycling in abyssal sediment communities. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17006–17011
- Sampou P, Oviatt CA (1991) Seasonal patterns of sedimentary carbon and anaerobic respiration along a simulated eutrophication gradient. *Mar Ecol Prog Ser* 72:271–282
- Schratzberger M, Warwick RM (1998) Effects of physical disturbance on nematode communities in sand and mud: a microcosm experiment. *Mar Biol* 130:643–650
- Schratzberger M, Rees HL, Boyd SE (2000) Effects of simulated deposition of dredged material on structure of nematode assemblages: the role of burial. *Mar Biol* 136: 519–530
- Schratzberger M, Warr K, Rogers SI (2006) Patterns of nematode populations in the southwestern North Sea and their link to other components of the benthic fauna. *J Sea Res* 55:113–127
- Schratzberger M, Forster RM, Goodsir F, Jennings S (2008) Nematode community dynamics over an annual production cycle in the central North Sea. *Mar Environ Res* 66: 508–519
- Semprucci F, Colantoni P, Baldelli G, Rocchi M, Balsamo M (2010) The distribution of meiofauna on back-reef sandy platforms in the Maldives (Indian Ocean). *Mar Ecol* 31: 592–607
- Semprucci F, Moreno M, Sbrocca S, Rocchi M, Albertelli G, Balsamo M (2013) The nematode assemblage as a tool for the assessment of marine ecological quality status: a case-study in the Central Adriatic Sea. *Mediterr Mar Sci* 14:48–57
- Semprucci F, Losi V, Moreno M (2015) A review of Italian research on free-living marine nematodes and the future perspectives on their use as ecological indicators (Eco-Inds). *Mediterr Mar Sci* 16:352–365
- Snelgrove PVR, Butman CA (1994) Animal-sediment relationships revisited: cause versus effects. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 32:111–177
- Soetaert K, Heip C (1995) Nematode assemblages of deep-sea and shelf break sites in the North Atlantic and Mediterranean Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 125:171–183
- Somerfield P, Warwick R (1996) *Meiofauna in marine pollution monitoring programmes: a laboratory manual*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Directorate of Fisheries Research Technical Series, Lowestoft
- Sündback K (1983) *Microphytobenthos on sand in shallow brackish water. Öresund Sweden. Primary production, chlorophyll a content and species composition (Diatom) in relation to some ecological factors*. PhD Thesis, University of Lund
- Urban ER, Sundbay B, Malanotte-Rizzoli P, Melillo JM (2009) *Watersheds, bays and bounded seas*. Island Press, Washington, DC
- Van Colen C, Montserrat F, Verbist K, Vincx M and others (2009) Tidal flat nematode responses to hypoxia and subsequent macrofauna-mediated alteration of sediment properties. *Mar Ecol Prog Ser* 381:189–197
- Vernberg FJ (1972) *Dissolved gases — Animals*. In: Kinne O (ed) *Marine ecology, Vol 1*. Wiley-Interscience, London, p 1491–1526
- Venturini N, Pires-Vanin AMS, Salhi M, Bessonart M, Muniz P (2011) Polychaete response to fresh food supply at organically enriched coastal sites: repercussion on bioturbation potential and trophic structure. *J Mar Syst* 88: 526–541
- Venturini N, Pita AL, Brugnoli E, García-Rodríguez F and others (2012) Benthic trophic status of sediments in a metropolitan area (Rio de la Plata estuary): linkages with natural and human pressures. *Estuar Coast Shelf Sci* 112: 139–152
- Vincx M (1996) Meiofauna in marine and freshwater sediments. In: Hall GS (ed) *Methods for the examination of organismal diversity in soils and sediments*. CAB International, Wallingford, p 187–195
- Warwick RM, Gee JM (1984) Community structure of estuarine meiobenthos. *Mar Ecol Prog Ser* 18:97–111
- Warwick RM, Price R (1979) Ecological and metabolic studies on free-living marine nematodes from an estuarine mud-flat. *Estuar Coast Shelf Sci* 9:257–271
- Warwick RM, Carr MR, Clarke KR, Gee JM, Green RH (1988) A mesocosm experiment on the effects of hydro-



carbon and copper pollution on a sublittoral soft-sediment meiobenthic community. *Mar Ecol Prog Ser* 46: 181–191

Warwick RM, Platt HM, Sommerfield PJ (1998) Free-living marine nematodes. Part III. Monhysterids. In: Barnes RSK, Crothers JH (eds) *Synopsis of British fauna*, No. 53. Field Studies Council, Shrewsbury

*Editorial responsibility: Robinson Fulweiler, Boston, Massachusetts, USA*

Wieser W (1953) Die Beziehung zwischen Mundhöhlen-gestalt, Ernährungsweise und Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Ark Zool* 4:439–484

Zajac RN, Whitlatch RB, Thrush SF (1998) Recolonization and succession in soft-sediment infaunal communities: the spatial scale of controlling factors. *Hydrobiologia* 375/376: 227–240

*Submitted: November 9, 2017; Accepted: July 16, 2018*  
*Proofs received from author(s): August 16, 2018*

## CAPÍTULO 4

### SÍNTESIS

Esta tesis constituye el primer estudio exhaustivo de la comunidad de nematodos de vida libre de la Laguna de Rocha, una importante laguna costera de nuestro país perteneciente al Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP), donde se abordaron aspectos ecológicos, funcionales y experimentales.

A continuación se resumen los principales hallazgos (Figura 1):

1) *¿Cuáles son los principales patrones en la estructura y distribución (horizontal y vertical) del ensamble de nematodos estuarino/marinos de vida libre de la Laguna de Rocha y cuáles son los principales factores ambientales que los determinan?*

En el **capítulo 2** se abordaron estos aspectos encontrándose que el ensamble de nematodos de la Laguna de Rocha estuvo compuesto por pocos géneros dominantes (*Theristus*, *Nechromadora* y *Viscosia*: sector externo; y *Nechromadora*, *Viscosia*, *Pseudochromadora* y *Theristus*: sector interno) y la presencia de 6-11 géneros con baja abundancia. La mayoría de los géneros fueron más abundantes en el sector interno que presentó una alta disponibilidad de materia orgánica total y biopolímeros. Además, la abundancia total de nematodos disminuye a medida que aumenta la profundidad, patrón este, más evidente en los sectores externos de la campaña de abril. Esta variabilidad podría deberse a las características morfológicas e hidrodinámicas del estuario, ya que son entornos altamente dinámicos que presentan variación a escala horizontal y vertical de sus variables fisicoquímicas. El contenido de oxígeno disuelto en los sedimentos tiene un importante rol en el control de la distribución vertical de organismos. En ese sentido, los organismos tienden a permanecer principalmente en condiciones de alta oxigenación, ubicándose en los sedimentos superficiales. Sin embargo otros factores como la actividad de alimentación (migrar en busca de alimento), la competencia interespecífica (segregación vertical de los nichos de organismos con requerimientos nutricionales similares) también pueden afectar la distribución vertical de los organismos. En este sentido, se observaron tres respuestas a nivel de géneros: 1) ningún patrón a

nivel de estrato: *Oxystomina*, *Viscosia* y *Paralinhomoeus* (segregación vertical de los nichos); 2) disminución de abundancia con la profundidad: *Anonchus*, *Anoplostoma*, *Neochromadora*, *Daptonema* y *Pseudochromadora* (la cantidad de materia orgánica y presencia de oxígeno rige su distribución); 3) aumento de la abundancia con la profundidad: *Terschellingia*, *Sabatieria* y *Theristus* (resistentes a baja concentración de oxígeno disuelto).

En cuanto a los patrones funcionales del ensamble, en primavera (campana de noviembre/2014) en ambos sectores, ocurrió un dominio de organismos depositívoros y una baja diversidad trófica (valores altos de ITD), coincidente con la presencia en el sedimento de materia orgánica nueva y fresca (PRT/CHO>1). En otoño, el sector interno presentó una mayor presencia de organismos depositívoros y comedores de superficie y presencia de materia orgánica nueva y fresca. Sin embargo, en el sector externo la materia orgánica fue más vieja y degradada (PRT/CHO<1) y con una mayor presencia de organismos predadores y una alta diversidad trófica (valores bajos de ITD).

Existe una variación temporal en el ensamble producto de la existencia de una respuesta de los grupos tróficos a la frescura de la materia orgánica. Los patrones observados, tanto en escala horizontal como vertical, apoyarían la idea de que la calidad de la materia orgánica, específicamente la frescura de la misma sería la responsable del ensamble trófico de la comunidad de nematodos, dicha respuesta además se ve reflejada por el índice de diversidad trófica (ITD). Por otra parte, no se encontró diferencia entre los sectores en la abundancia de los organismos colonizadores, lo cual se vio reflejado en los valores de MI, que no muestran diferencias entre sectores, esto ocurrió en ambas campañas. Los valores de MI indicaron un ambiente perturbado, sugiriendo que éste índice no sería apropiado para monitorear la Laguna de Rocha en la escala horizontal. Sin embargo, en escala vertical, en los estratos profundos existe una mayor estabilidad y resguardo, por ende, un menor nivel de perturbación que fue evidenciado por los valores más altos de MI.

Por lo expuesto estamos en condiciones de no rechazar la **hipótesis 1**.

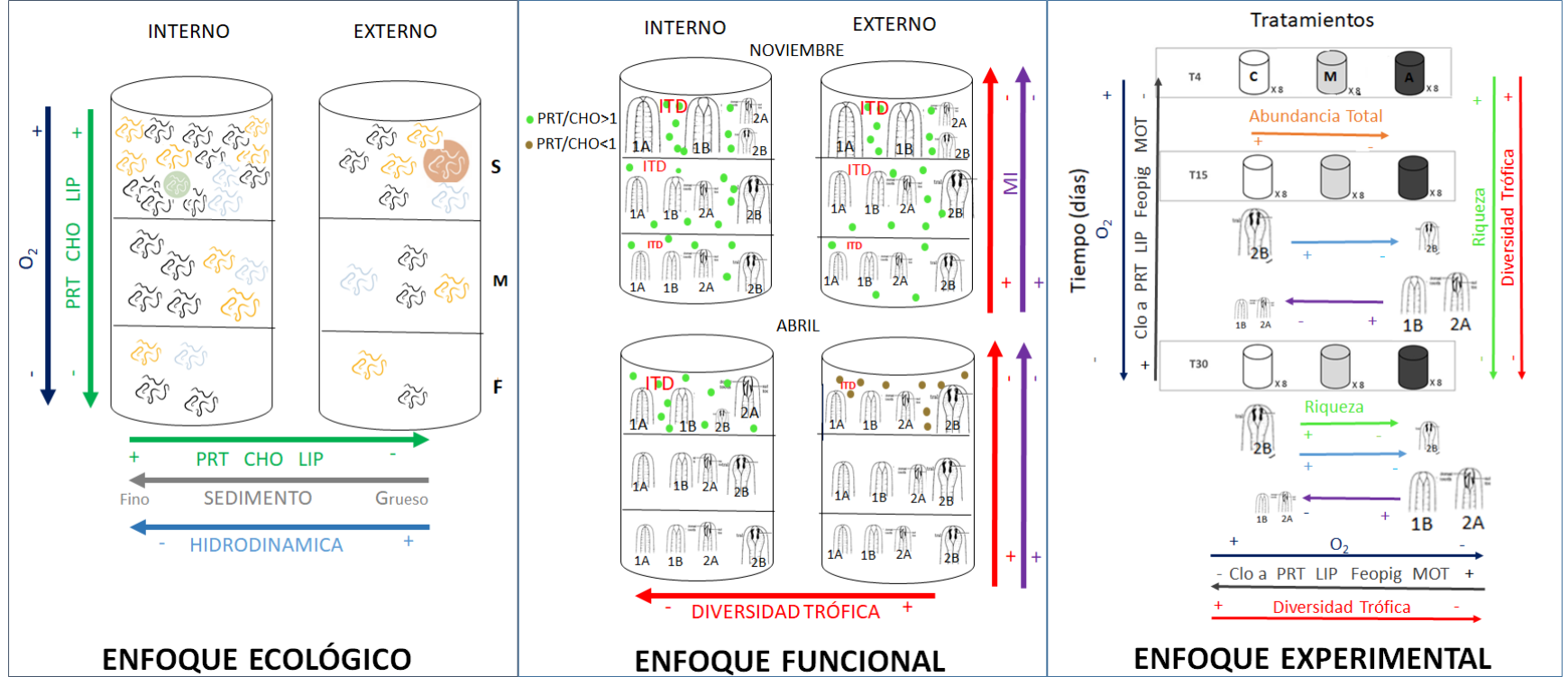
2) *¿Cuáles son los efectos del enriquecimiento orgánico en dichos ensambles de nematodos?*

La respuesta del ensamble de nematodos al enriquecimiento orgánico fue abordada en el **capítulo 3** a través de la realización de un experimento de microcosmos. En el experimento, el

enriquecimiento condujo a reducciones en la abundancia, riqueza y diversidad trófica del ensamble de nematodos, por lo que aceptamos la **hipótesis 2**. Luego de transcurridos 4 días del inicio del experimento se registraron reducciones en la abundancia total de nematodos, mientras que la riqueza disminuyó solo hacia el final del experimento (~ 30 días). En cuanto a la diversidad funcional, los tratamientos con enriquecimiento se caracterizaron por la pérdida de depredadores/omnívoros y el predominio de los depositívoros selectivos y los comedores de superficie (“epigrowth feeders”).

3) *¿Los nematodos estuarino/marinos de vida libre pueden ser utilizados como indicadores de eutrofización?*

El ensamble de nematodos mostro tener una respuesta a nivel de géneros y grupos tróficos en respuesta a la calidad y cantidad de la materia orgánica registrada en condiciones naturales como en experimentales, dichas respuestas son consistentes en ambas aproximaciones. El índice de diversidad trófica (ITD) mostro una buena performance tanto en campo, registrando variaciones naturales, como en el laboratorio frente a la simulación de enriquecimiento orgánico, por lo que consideramos que sería un índice muy útil en el monitoreo de sistemas acuáticos como la Laguna de Rocha que son vulnerables a eventos de eutrofización.



**Figura 1.** Resumen de los principales hallazgos a través de los diferentes enfoques utilizados. En el esquema correspondiente al *enfoque ecológico* se representa el comportamiento de los géneros de nematodos con las principales variables ambientales analizadas en el perfil de sedimento (3 estratos superficie: S, medio: M y fondo: F) para cada sector (Interno y Externo). Para el *enfoque funcional* se representa el comportamiento de los grupos tróficos e índices respecto a las variables ambientales en los estratos y sectores, además se representan los resultados de la campaña de abril y de noviembre. En el caso del *enfoque experimental* se presentan los principales patrones de los nemátodos (ecológico y funcional) en respuesta a los tratamientos de enriquecimiento orgánico (control: C, medio: M y alto: A) en el tiempo (T4, T15 y T30: 4, 15 y 30 días). Donde cada color representa un género de nematodos y el tamaño del grupo de nematodos representa la abundancia del mismo. A su vez los grupos de nematodos resaltados con fondo representan los géneros exclusivos de cada sector. El tamaño del esquema de cada grupo funcional representa la abundancia del mismo al igual que el tamaño de la sigla ITD representa el valor del índice. Los puntos verdes corresponden a materia orgánica fresca mientras que los puntos marrones representan materia orgánica vieja, refractaria.

## CONCLUSIONES GENERALES

Los patrones comunitarios observados en el campo a nivel de géneros, grupos tróficos, e índice de diversidad trófica en la dimensión horizontal (sectores) y vertical (estratos) fueron explicados principalmente por la calidad de la materia orgánica específicamente por la edad (frescura) de la misma, así como por la concentración de oxígeno disuelto encontrada en el interior de la columna de sedimento. El enfoque de rasgos biológicos agregó información relevante, y complementaria a la taxonómica, con respecto a las relaciones entre los patrones de diversidad de los nemátodos y los factores abióticos.

En el experimento controlado de laboratorio, el enriquecimiento condujo a reducciones en la abundancia, riqueza y diversidad trófica del ensamblaje de nemátodos. Se registraron reducciones rápidas en la abundancia total (después de 4 días), mientras que la riqueza disminuyó solo hacia el final del experimento (~ 30 días). Los cambios tróficos se caracterizaron por la pérdida de depredadores/omnívoros, y un predominio de los depositívoros selectivos y los comedores de superficie. Por el contrario, no encontramos ningún efecto del enriquecimiento asociado con los rasgos de la historia de vida. Estos patrones resultaron ser congruentes con lo observado en campo.

El ITD mostro ser un índice de gran utilidad para evaluar patrones en los ensambles de nemátodos en el campo (en ambas dimensiones espaciales) y para establecer relaciones con las variables abióticas, así como en el experimento de enriquecimiento. Por lo que el presente estudio apoyaría el uso del mismo para evaluar otros aspectos de las comunidades, además de evaluar el grado de perturbación de un ambiente que es para lo que fue propuestos originalmente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves AS, Adao H, Ferrero TJ, Marques JC, Costa MJ & Patricio J (2013) Benthic meiofauna as indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: The use of nematodes in ecological quality assessment. *Ecological Indicators*. 24: 462-475.
- Armenteros M, Pérez-García JA, Ruiz-Abierno A, Díaz-Asencio L, Helguera Y, Vincx M & Decraemer W (2010) Effects of organic enrichment on nematode assemblages in a microcosm experiment. *Marine Environmental Research*. 70: 374-82.
- 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. In: Vila I, Pizarro I (eds) Taller Internacional de Eutrofización de Lagos y Embalses. CYTED XVIIIB, Patagonia Impresores, Santiago de Chile, p 65–85
- Austen MC & McEvoy AJ (1997) The use of offshore meiobenthic communities in laboratory microcosm experiments: response to heavy metal contamination. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 211: 247-261.
- Austen MC & Somerfield PJ (1997) A community level sediment bioassay applied to an estuarine heavy metal gradient. *Marine Environmental Research*. 43: 315–328.
- Austen MC, McEvoy AJ & Warwick RM (1994) The specificity of meiobenthic community response to different pollutants: results from microcosm experiments. *Marine Pollution Bulletin*. 28: 557-563.
- Arocena R Fabián D & J Clemente (2000) Las causas naturales versus la contaminación orgánica como factores estructuradores del zoobentos en tres afluentes de una laguna costera. *Limnética*.18: 99-113.
- Baguley JG, Montagna PA, Rowe GT & Hyde LJ (2008) Metazoan meiofauna biomass, grazing, and weight dependent respiration in the northern Gulf of Mexico deep sea. *Deep-sea Research Part II - Topical Studies in Oceanography*. 55: 2607-2616.
- Baldrighi E, Grall J, Quillien N, Carriço R, Verdon V & Zeppilli D (2019) Meiofauna communities' response to an anthropogenic pressure: The case study of green macroalgal bloom on sandy beach in Brittany Estuarine, *Coastal and Shelf Science* 227: 106326.
- Bhadury P, Austen MC, Bilton DT, Lambshead PJD, Rogers AD & Smerdon GR (2008) Evaluation of combined morphological and molecular techniques for marine nematode (*Terschellingia* spp.) identification. *Marine Biology*. 154: 509-518.

- Boeckner MJ, Sharma J & Proctor HC (2008) Revisiting the meiofauna paradox: dispersal and colonization of nematodes and other meiofaunal organisms in low and high-energy environments. *Hydrobiologia*. 624: 91–106.
- Bolker BM. (2015) Linear and Generalized Linear Mixed Models. In G. A. Fox, S. Negrete-Yankelevich, and V. J. Sosa, editors, *Ecological Statistics*. Oxford University Press, Oxford, UK, p378- 379.
- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MHH & White JSS (2009) Generalized Linear Mixed Models: a Practical Guide for Ecology and Evolution. *Trends in Ecology & Evolution*. 24:127–135.
- Bongers T (1990) The Maturity Index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia*. 83: 14-19.
- Bongers T & Ferris H (1999) Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology & Evolution*. 14: 224–228.
- Bongers T & Bongers M (1998) Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*. 10: 239–251.
- Bongers T, Alkemade R & Yeates GW (1991) Interpretation of disturbance- induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. *Marine Ecology Progress Series*. 76: 135–142.
- Boon AR & Duineveld GCA (1996) Phytopigments and fatty acids as molecular markers of the quality of near-bottom particulate organic matter in the North Sea. *Journal of Sea Research*. 35: 279-291.
- Bouwman LA, Romeijn K & Admiraal W (1984) On the ecology of meiofauna in an organically polluted estuarine mudflat. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 19: 633–653.
- Brazeiro A, Achkar M, Canavero A, Fagúndez C, González E, Grela I, Lezama F, Maneyro R, Barthesagy L, Camargo A, Carreira S, Costa B, Núñez D, da Rosa I & Toranza C (2008) Prioridades geográficas para la conservación de la biodiversidad terrestre de Uruguay. Executive Report of the Project PDT 3226.
- Bruland KW, Bertine K, Koide M & Goldberg ED (1974) History of metal pollution in Southern California coastal zone. *Environmental Science and Technology*. 8: 425-432.
- Byers S, Mills E & Stewart P (1978) Comparison of methods of determining organic carbon in marine sediments, with suggestions for a standard method. *Hydrobiology*. 58: 43- 47.
- Calles Procel AK, Vincx M, Degraer S, Arcos F & Gheskiere, T (2006). The dominance of



- predatory nematodes at the high water level in an Ecuadorian sandy beach, *in*: Calles Procel, A.K. Spatial and temporal patterns of meiofauna along Ecuadorian sandy beaches, with a focus on nematode biodiversity. pp. 89-118.
- Chandler GT & Fleeger JW (1983) Meiofaunal colonization of azoic estuarine sediment in Louisiana: Mechanisms of dispersal. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 69: 175–188.
- Clarke KR & Gorley RN (2006) *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. 2nd ed. PRIMER-v6 Plymouth. 192p.
- Cloern JE (2001) Our evolving conceptual model of coastal eutrophication problem (Review). *Marine Ecology Progress Series*. 210: 223-253.
- Conde D & Sommaruga R (1999) A review of the state of Limnology in Uruguay. In: Wetzel R. & B. Gopal (Eds). *Limnology in Developing Countries II*. International Scientific Publications/SIL, New Delhi.
- Conde D & Rodríguez-Gallego L (2002) Problemática ambiental y gestión de las lagunas costeras atlánticas de Uruguay. *Perfil Ambiental 2002*. Domínguez A & Prieto R (Eds.). NORDAN, Montevideo. 149-166 pp.
- Conde D, Bonilla S, Aubriot L, De Leon R, & Pintos W (1999) Comparison of the areal amount of chlorophyll a of planktonic and attached microalgae in a shallow coastal lagoon. *Hydrobiologia*. 408/409: 285–295.
- Conde D, Aubriot L, Sommaruga R (2000) Changes in UV penetration associated with marine intrusions and freshwater discharge in a shallow coastal lagoon of the Southern Atlantic Ocean. *Marine Ecology Progress Series*. 207: 19-31.
- Conde D, Rodríguez-Gallego L & Rodríguez-Graña L (2003) Análisis conceptual de las interacciones abióticas y biológicas entre el océano y las lagunas de la costa Atlántica de Uruguay. Informe final FREPLATA. Sección Limnología, Facultad de Ciencias. Universidad de la República.
- Conde D, Solari S, de Álava D, Rodríguez-Gallego L, Verrastro N, Chreties C, Lagos X, Piñeiro G, Teixeira L, Seijo L, Vitancurt J, Caymaris H & Panario D (2019) Ecological and social basis for the development of a sand barrier breaching model in Laguna de Rocha, Uruguay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.003>.
- Corbisier TN (1993) Meiofauna da plataforma continental interna do litoral norte de Sao Paulo-verao/89. *Publicación especial del Instituto Oceanográfico San Pablo*. 10: 123-135.

- Colla Argeiro MC (2009) Os nematoda da plataforma continental da regio sudeste brasileira sob influencia da agua central do Atlantico Sul: Cabo Frio (RJ) e Ubatuba (SP). Tesis de doctorado, San Pablo, Brasil.121pp.
- Coull BC (1988) Ecology of the marine meiofauna. In: Higgins RP et al. (1988). Introduction to the study of meiofauna. 18-38 pp.
- Coull BC (1999) Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats. *Austral Journal of Ecology*. 24: 327–343.
- Coull BC & Palmer MA (1984) Field experimentation in meiofaunal ecology. *Hydrobiologia*. 118: 1-19.
- Coull BC & Chandler GT (1992) Pollution and meiofauna: field, laboratory and mesocosm studies. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*. 30: 191-271.
- Daehler CC & Strong DR (1996) Can you bottle nature? The roles of microcosms in ecological research. *Ecology* 77: 663-664.
- Danovaro, R (2000) Benthic microbial loop and meiofaunal response to oil-induced disturbance in coastal sediments: a review. *International Journal of Environment and Pollution*. 13: 380-391.
- Danovaro R, Fabiano M & Della Croce N (1993) Labile organic matter and microbial biomasses in deep-sea sediments (Eastern Mediterranean Sea). *Deep-Sea Research*. 40: 953-965.
- Danovaro R, Fabiano M & Vincx M (1995) Meiofauna response to the Agip Abruzzob oil spill in subtidal sediments of the Ligurian Sea. *Marine Pollution Bulletin* 30:133-145.
- Danovaro R, Della Croce N, Marrale D, Martorano D, Parodi P, Pusceddu A & Fabiano M (1999) Biological indicators of oil induced disturbance in coastalsediments of the Ligurian Sea. In: Lokman S, Shazili NAM, Nasir MS & Borowitzka MA (Eds.) *Assessment & Monitoring of Marine Science*. UniversityPutra Malaysia Terengganu, Kuala Terengganu, Malaysia, pp. 75-85.
- Danovaro R & Gambi C (2002) Biodiversity and trophic structure of nematode assemblages in sea- grass systems: evidence for a coupling with changes in food availability. *Marine Biology*. 141: 667-677.
- Danovaro R, Gambi MC, Mirto S, Sandulli R & Ceccherelli VU (2004) Chapter 3. Meiofauna In: Gambi, MC & Dappiano M (eds) *Biologia Marina Mediterranea Societa Italiana Di Biologia Marina*, Genova.11: 55-97.
- Danovaro R, Gambi C, Dell'Anno A, Corinaldesi C, Fraschetti S, Vanreusel A, Vincx M &

- Gooday AJ (2008) Exponential decline of deep-sea ecosystem functioning linked to benthic biodiversity loss. *Current Biology*. 18: 1–8.
- Day JW, Hall CAS, Kemp WM & Yañez-Arancibia A (1989) *Estuarine ecology*. Wiley & Sons Publications, New York, 558 pp.
- Dell'Anno A, Mei ML, Pusceddu A, Danovaro R (2002) Assessing the trophic state and eutrophication of coastal marine systems: a new approach based on the biochemical composition of sediment organic matter. *Marine Pollution Bulletin*. 44:611–622.
- Derycke S, Remerie T, Vierstraete A, Backeljau T, Vanfleteren J, Vincx M & Moens T (2005) Mitochondrial DNA variation and cryptic speciation within the free-living marine nematode *Pellioditis marina*. *Marine Ecology Progress Series*. 300: 91-103.
- Derycke S, Fonseca G, Vierstraete A, Vanfleteren J, Vincx M & Moens T (2008) Disentangling taxonomy within the *Rhabditis (Pellioditis) marina* (Nematoda, Rhabditidae) species complex using molecular and morphological tools. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 152: 1-15.
- Diaz RJ & Rosenberg R (1995) Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioral responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*. 33: 245-303.
- Diaz RJ & Rosenberg R (2008) Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*. 321: 926-929.
- Eisenback JD & Triantaphyllou HH (1991) Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. Pp. 191-274, In: Nickle WR (ed) *Manual of Agricultural Nematology*. Marcell Dekker: New York. Freshwater nematodes: ecology and taxonomy/edited by A. Eyualem, I. Andrásy, W. Traunspurger. 2006 UK 747pp
- Esteves FA, Caliman A, Santagnelo JM, Guariento RD, Farjalla VF & Bozeli RL (2008) Neotropical coastal lagoons: an appraisal of their biodiversity, functioning, treats and conservation management. *Brazilian Journal of Biology* 68: 967–981.
- Eyualem-Abebe E, Andrásy I & Traunspurger W (eds) (2006) *Freshwater Nematodes: Ecology and Taxonomy*. CABI Publishing, Oxfordshire, 253 pp.
- Fabiano M & Danovaro R (1994) Composition of organic matter in sediments facing a river estuary (Tyrrhenian Sea): relationships with bacteria and microphytobenthic biomass. *Hydrobiologia*. 277: 71-84.
- Fabiano G & Santana O (2006) Las pesquerías en las lagunas salobres de Uruguay. In: Menafra,

- Rodríguez-Gallego RL, Scarabino F & Conde D (Eds). Bases para la Conservación y el Manejo de la Costa Uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo.
- Fabiano M, Danovaro R & Fraschetti S (1995) A three-year time series of elemental and biochemical of organic matter in subtidal sand sediments of the Ligurian Sea (Northwestern Mediterranean). *Continental Shelf Research*. 15: 1453-1469.
- Fenchel T (1978) The ecology of micro-and meiobenthos. *Annual Review of Ecology*. 9: 99– 121.
- Ferreira JG, Andersen JH, Borja A, Bricker SB, Camp J, da Silva CM, Garcés E, Heiskanen AS, Humborg C, Ignatiades L, Lancelot C, Menesguen A, Tett P, Hoepffner N & Claussen U (2011) Overview of eutrophication indicators to assess environmental status within the European Marine Strategy Framework Directive. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 93: 117-131.
- Flach E & Heip C (1996) Vertical distribution of macrozoobenthos within the sediment of the continental slope of the Goban Spur area (NE Atlantic). *Marine Ecology Progress Series*. 141, 55– 66.
- Fleeger J & Decho A (1987) Spatial variability of interstitial meiofauna: a review. *Stygologia*. 3: 35–54.
- Fleeger JW, Shirley TC & McCall JN (1995) Fine-scale vertical profiles of meiofauna in muddy subtidal sediments. *Canadian Journal of Zoology*. 73: 1453-1460.
- Folch J, Lees M & Sloane Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biology Chemistry*. 226: 497-509.
- Folk RL & Ward WC (1957) Brazos River bar: a study in the significance of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Petrology*. 27:3–26.
- Fonseca G, Derycke S & Moens T (2008) Integrative taxonomy in two free-living nematode species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society*. 94: 737-753.
- Forster SJ (1998) Osmotic stress tolerance and osmoregulation of intertidal and subtidal nematodes *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 224: 109-125.
- Gagarin VG & Thanh NV (2004) Four species of the genus *Halalaimus* de Man, 1888 (Nematode: Enoplida) from Mekong River Delta, Vietnam. *International Journal of Nematology*. 14: 213-220.
- Galois R, Blanchard G, Seguignes M, Huet V & Joassard L (2000) Spatial distribution of sediment particulate organic matter on two estuarine mudflats: a comparison between Marennes-Oléron Bay (France) and the Humber estuary. *Continental Shelf Research*. 20: 1199-1217.
- Gambi C, Bianchelli S, Pérez M, Invers O, Ruiz JM & Danovaro R (2009). Biodiversity response

- to experimental induced hypoxic-anoxic conditions in seagrass sediments. *Biodiversity Conservation*. 18: 33–54.
- García R & Johnstone RW (2006) Effects of *Lyngbya majuscula* (Cyanophyceae) blooms on sediment nutrients and meiofaunal assemblages in seagrass beds in Moreton Bay, Australia. *Marine and Freshwater Research*. 57: 155-165.
- Gerchacov SM & Hatcher PG (1972) Improved technique for analysis of carbohydrates in the sediment. *Limnology and Oceanography*. 17: 938-943.
- Gheskiere T, Hoste E, Vanaverbeke J, Vincx M & Degraer S (2004) Horizontal zonation pattern sandfeeding structure of marine nematode assemblages on a macrotidal, ultra-dissipative Sandy beach (DePanne, Belgium). *Journal of Sea Research*. 52: 211–226.
- Gheskiere T, Vinck M, Weslawski JM, Scapini F & Degraer S (2005a) Meiofauna as descriptor of tourism-induced changes at sandy beaches. *Marine Environmental Research*. 60: 245- 264.
- Gheskiere T, Vinck M, Urban-Malinga B, Rossano C, Scapini F & Degraer S (2005 b) Nematodes from wave-dominated sandy beaches: diversity, zonation patterns and testing of the isocommunities concept. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 62: 365-375.
- Gibson RN, Barnes M, Atkison RJA (2001) Functional group ecology in softsediment marine benthos: the role of bioturbation. *Oceanography Marine Biology Annual Review*. 39: 233–267.22.
- Giere O (1993) *Meiobenthology: The Microscopic Fauna in Aquatic Sediment*. Springer, Berlin, 273pp
- Gimenez L, Borthagaray A, Rodríguez M, Brazeiro A & Dimitriadis K (2005) Scale- dependent patterns of macroinfaunal distribution in softsediment intertidal habitats along a large-scale estuarine gradient. *Helgoland Marine Research*. 59: 224-236.
- Giménez JL, Dimitriadis C, Carranza A, Borthagaray AI & Rodríguez M (2006) Unravelling the complex structure of a benthic community: A multiscale-multianalytical approach to an estuarine sandflat. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 68: 462-472.
- Giménez L, Venturini, N, Kandratavicius N, Hutton M, Lanfranconi A, Rodríguez M, Brugnoli E & Muniz P (2014) Macrofaunal patterns and animal-sediment relationships in Uruguayan estuaries and coastal lagoons (Atlantic coast of South America). *Journal of Sea Reserche*. 87: 46-55.
- Giere O (2009) *Meiobenthology: The Microscopic Motile Fauna of Aquatic Sediments*, second ed. Springer-Verlag, Berlin.
- Glud RN (2008) Oxygen dynamics of marine sediments.

- Marine Biology Research. 4: 243–289.
- Gooday AJ (2002) Biological responses to seasonally varying fluxes of organic matter to the sea floor: a review. *Journal of Oceanography*. 58: 305–332.
- Gray JS & Elliott M (2009) *Ecology of Marine Sediments*. Oxford University Press. 225pp.
- Grzelak K, Tamborski J, Kotwicki L & Bokuniewicz H (2018) Ecostructuring of marine nematode communities by submarine groundwater discharge, *Marine Environmental Research*, doi: 10.1016/j.marenvres.2018.01.013.
- Gyedu-Ababio TK, Furstenberg JP, Baird D & Vanreusel A (1999) Nematodes as indicators of pollution: a case study from the Swartkops River estuary, South Africa. *Hydrobiologia*. 397:155–169.
- Gyedu-Ababio TK & Baird D (2006) Response of meiofauna and nematode communities to increased levels of contaminants in a laboratory microcosm experiment *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63: 443 – 450.
- Hartree EF (1972) Determination of proteins: a modification of the Lowry method that give a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*. 48: 422-427.
- Hassan L & Nashaat MR (2018) First record of free living soil nematodes, *Mesorhabditis minuta* (Bostrom, 1991) in Iraq. *Biochemical and Cellular Archives* 18:1289-1292.
- Hedfi A, Mahmoudi E, Boufahja F, Beyrem H & Aïssa P (2007) Effects of increasing levels of nickel contamination on structure of offshore nematode communities in experimental microcosms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 79: 345-349.
- Heip PC, Vincx M & Vranken G (1985) The ecology of marine nematodes. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. 23: 399-489.
- Heip C, Hummel H, van Avesaath P, Appeltans W, Arvaniditis C, Aspden R, Austen MC, Boero F, Bouma TJ, Boxshall G, Buchholz F, Crowe T, Delaney A, Deprez T, Emblow C, Feral JP, Gasol JM, Gooday AJ, Harder J, Ianora A, Kraberg A, Mackenzie B, Ojaveer H, Paterson D, Rumohr H, Schiedek D, Sokolowski A, Somerfield PJ, Sousa Pinto I, Vincx M, Weslawski JM. & Nash R (2009) *Marine biodiversity and ecosystem functioning*. Marine Biodiversity and Ecosystem Functioning, EU Network of Excellence. 90 pp.
- Hendelberg M & Jensen P (1993) Vertical Distribution of the nematode fauna in a coastal sediment influenced by seasonal hypoxia in the bottom water. *Ophelia*. 37:83–94.
- Henrichs SM (1992) Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity. *Marine Chemistry*. 39: 119-149.

- Higgins & Thiel (Eds.) (1988) Introduction to the Study of meiofauna. Washington, DC, Smithsonian Institution press, 488p.
- Hong JH, Semprucci F, Jeong R, Kim K, Lee S, Jeon D, Yoo H, Kim J, Kim J, Yeom K, Lee S, Lee K & Le W (2020) Meiobenthic nematodes in the assessment of the relative impact of human activities on coastal marine ecosystem. *Environmental Monitoring Assessment* 192:81 <https://doi.org/10.1007/s10661-019-8055-2>.
- Hourston M, Potter IC, Warwick RM & Valesini FJ (2011) The characteristics of the nematode faunas in subtidal sediments of a large microtidal estuary and near shore coastal waters differ markedly. *Estuarine, Coastal, and Shelf Science*. 94: 68–76.
- Hua E, Zhang ZN & Zhang Y (2009) Environmental factors affecting nematode community structure in the Changjiang Estuary and its adjacent waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 89: 109-117.
- Huettel M, Røy H, Precht E, Ehrenhauss S (2003) Hydrodynamical impact on biogeochemical processes in aquatic sediments. *Hydrobiologia* 494: 231–236.
- Incera M, Cividanes SP, Lo'pez J & Costas R (2003) Role of hydrodynamic conditions on quantity and biochemical composition of sediment organic matter in sandy intertidal sediments (NW Atlantic coast, Iberian Peninsula ). *Hydrobiologia* 497: 39–51.
- Ingole BS, Goltekar R, Gonsalves S & Ansari ZA (2005) Recovery of deep-sea meiofauna after artificial disturbance in the Central Indian Basin. *Marine Georesources and Geotechnology* 23:253–266.
- Joint I, Gee J & Warwick R (1982) Determination of fine-scale vertical distribution of microbes and meiofauna in an intertidal sediment. *Marine Biology* 72: 157–164.
- Joseph MM, Ratheesh Kumar CS, Greesh Kumar TR, Renjith KR, Chandramohanakumar N (2008) Biogeochemistry of surficial sediments in the intertidal systems of a tropical environment. *Chem Ecol* 24:247–258.
- Kandratavicius N (2011) Ecología de la comunidad meiobentónica de estuarios uruguayos: una aproximación mediante múltiples escalas. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.
- Kandratavicius N, Muniz P, Venturini N, Giménez L (2015) Meiobenthic communities in permanently open estuaries and open/closed coastal lagoons of Uruguay (Atlantic coast of South America). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 163: 44–53
- Kandratavicius N, Pastor de Ward C, Venturini N, Giménez L, Rodríguez M & Muniz P (2018)

- Response of estuarine free-living nematode assemblages to organic enrichment: an experimental approach *Marine Ecology - Progress Series* Kelly JR & Nixon SW (1984) Experimental studies of the effect of organic deposition on the metabolism of a coastal marine bottom community. *Marine Ecology Progress Series*. 17: 157-169.
- Kjerfve B (1994) Coastal lagoon. En: Kjerfve, B., ed. Coastal lagoon processes. Amsterdam: Elsevier. (Oceanography Series, 60), pp.1-8.
- Kjerfve B & Magill K (1989) Geographic and hydrodynamic characteristics of shallow coastal lagoons. *Mar. Geol.* 88: 187-199.
- Knoppers B (1994) Aquatic primary production in coastal lagoons. En: Kjerfve B (Ed.) Coastal lagoon processes. Elsevier; Oceanography Series, Amsterdam, 563p.
- Kotwicki L, Troch M De, Urban-Malinga B, Gheschiere T & Weslawski JM (2005) Horizontal and vertical distribution of meiofauna on sandy beaches of the North Sea (The Netherlands, Belgium, France). *Helgoland Mar Res* 59: 255–264.
- Kristensen K, Nielsen A, Berg CW, Skaug H & Bell B (2016) TMB: Automatic Differentiation and Laplace Approximation. *Journal of Statistical Software*. 70:1–2.
- Lamshead PJD (1986) Sub-catastrophic sewage and industrial waste contamination as revealed by marine nematode faunal analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 29: 247- 260.
- Lamshead PJD, Tietjen J, Moncrieff CB & Ferrero T (2001) North Atlantic latitudinal diversity patterns in deep-sea marine nematode data: a reply to Rex et al. *Marine Ecology Progress Series*. 210: 299–301.
- Lamshead PJD, Brown CJ, Ferrero TJ, Mitchell NJ, Smith CR, Hawkins LE & Tietjen J (2002) Latitudinal diversity patterns of deep-sea marine nematodes and organic fluxes a test from the central equatorial Pacific *Marine Ecology Progress Series*. 236: 129–135.
- Lampadariou N, Karakassis I & Pearson TH (2005) Cost/benefit analysis of a benthic monitoring programme of organic benthic enrichment using different sampling and analysis methods. *Marine Pollution Bulletin*. 50: 1606–1618.
- Levin SA (1992). The problem of pattern and scale in Ecology: The Robert H. MacArthur Award Lecture. *Ecology*. 73:1943-1967.
- Lorenzen CJ (1967) Determination of chlorophyll and pheopigments: Spectrofotometric equations. *Limnology and Oceanography*. 12: 343-346.
- Lorenzen S, Prein M & Valentin C (1987) Mass aggregation of the free-living marine nematode *Pontonema vulgare* (Oncholaimidae) in organically polluted fjords. *Marine Ecology*



Progress Series. 37:27–34.

- Losi V, Ferrero TJ, Moreno M, Gaozza L, Rovere A, Firpo M, Marques JC & Albertelli G (2013) The use of nematodes in assessing ecological conditions in shallow waters surrounding a Mediterranean harbour facility. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 130: 209-22.
- Lozoya JP, Conde D, Asmus M, Polette M, Píriz C, Martins F, de Álava D, Marenzi R, Nin M, Anello L, Moraes A, Zaguini M, Verrastro N, Lagos X, Chreties C & Rodríguez L (2015) Linking social perception and risk analysis to assess vulnerability of coastal socio-ecological systems to climate change in Atlantic South America. In: Leal, W., (Ed.) *Handbook of Climate Change Adaptation*. Vol 1: Climate Change Impacts and Management. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 22: 373-399.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL & Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal Biology Chemistry*. 193: 265-275.
- McLachlan A (1978) A quantitative analysis of meiofauna and the chemistry of the redox potential discontinuity zone in a sheltered sandy beach. *Estuarine and Coastal Marine Science*. 7: 275–290.
- Mahmoudi E, Essid N, Beyrem H, Hedfi A, Boufahja F, Vitiello P & Aissa P (2005) Effects of hydrocarbon contamination on a free living marine nematode community: Results from microcosm experiments. *Marine Pollution Bulletin*. 50: 1197-1204.
- Magnone L, Bessonart M, Rocamora M, Gadea J & Salhi M (2015) Diet estimation of *Paralichthys orbignyanus* in a coastal lagoon via quantitative fatty acid signature analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 462 36–49.
- Maria TF, Vanaverbeke J, Esteves AM, De Troch M & Vanreusel A (2012) The importance of biological interactions for the vertical distribution of nematodes in a temperate ultra-dissipative sandy beach. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 97: 114–126.
- Marques JC, Salas F, Patrício J, Neto J, Teixeira H (2009) *Ecological Indicators for Coastal and Estuarine Environmental Assessment—A User Guide*. WIT Press, 208pp
- Marsh JB & Weinstein DB (1966) Simple charring methods for determination of lipids. *The Journal of Lipid Research*. 7: 574-576.
- Marsh AG & Tenore KR (1990) The role of nutrition in regulating the population dynamics of opportunistic surface deposit feeders in a mesohaline community. *Limnology and Oceanography*. 35: 710-724.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E & Westoby M (2006) Rebuilding community ecology from

- functional traits. *Trends in Ecology and Evolution*. 21: 178-185
- Meldal BHM, Debenham NJ, De Ley P, Tandingan De Ley I, Vanfleteren JR, Vierstraete AR, Bert W, Borgonie G, Moens T, Tyler PA, Austen MC, Blaxter ML, Rogers AD & Lamshead PJD (2007) An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 42: 622-636.
- Meerhoff E, Rodríguez-Gallego L, Gimenez L, Conde D, & Muniz P (2013) Spatial patterns of macrofaunal community structure in coastal lagoons of Uruguay. *Marine Ecology Progress Series*, 492: 97--110.
- Milessi AC, Calliari D, Rodríguez-Graña L, Conde D, Sellanes J & Rodríguez-Gallego L (2010) Trophic mass-balance model of a subtropical coastal lagoon, including a comparison with a stable isotope analysis of the food-web. *Ecological Modelling*. 221 2859–2869.
- Mirto S, La Rosa T, Gambi C, Danovaro R, Mazzola A (2002) Nematode community response to fish-farm impact in the western Mediterranean. *Environmental Pollution*. 116: 203- 214.
- Mitsch WJ & Gosselink JG (2000) *Wetlands*. John Wiley & Sons, Canada.
- Moens T & Vincx M (1997) Observations on the feeding ecology of estuarine nematodes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 77: 211-227.
- Moens T & Vincx M (2000) Temperature and salinity constraints on the life cycle of two brackish-water nematode species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 243: 115-135
- Moens T, Bouillon S & Gallucci F (2005) Dual stable isotope abundances unravel trophic position of estuarine nematodes. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 85:1401–1407.
- Montagna PA & Harper DE (1996) Benthic infaunal long term response to offshore production platforms in the Gulf of Mexico. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatics Sciences*. 53: 2567-2588.
- Moodley L, Chen G, Heip C & Vincx M (2000) Vertical distribution of meiofauna in sediments from contrasting sites in the Adriatic Sea: Clues to the role of abiotic versus biotic control. *Ophelia*. 53: 203-212
- Moreno M, Semprucci F, Vezzulli L, Balsamo M, Fabiano M & Albertelli G (2011) The use of nematodes in assessing ecological quality status in the Mediterranean coastal ecosystems. *Ecological Indicators* 11: 328–336.
- Morin PJ (2011) *Community ecology*. Wiley Blackwell, Estados Unidos 384pp.

- MOVTMA (2016) PLAN DE MANEJO - Paisaje Protegido Laguna de Rocha SISTEMA NACIONAL DE ÁREAS PROTEGIDAS DE URUGUAY. Montevideo Uruguay. 83pp
- Muniz P, Hutton M, Kandratavicius N, Lanfranconi A, Brugnoli E, Venturini N & Gimenez L (2012) Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): a multiple scale approach. *Ecological Indicators*. 19: 89-97.
- Neher DA & Darby BJ (2009) General community indices that can be used for analysis of nematode assemblages. In: *Nematodes as Environmental Indicators* (Ed.) Wilson M, Kakouli-Duarte T. 107–23 pp.
- Neira C, Sellanes J, Soto A, Gutiérrez D & Gallardo VA (2001) Meiofauna and sedimentary organic matter off central Chile: response to changes caused by the 1997–98 El Niño. *Oceanologica Acta*. 24: 313–328.
- Nilsson P, Jonsson B, Swanberg IL & Sundback K (1991) Response of marine shallow-water sediment system to an increased load of inorganic nutrients. *Marine Ecology Progress Series*. 71: 275–290.
- Norling K, Rosenberg R, Hulth S, Grémare A & Bonsdorff E (2007) Importance of functional biodiversity and species-specific traits of benthic fauna for ecosystem functions in marine sediment. *Marine Ecology Progress Series*. 332:11-23.
- Oksanen L (2001) Logic of experiments in ecology: is pseudoreplication a pseudoissue? *Oikos*. 94: 27-38.
- Olfsson E & Elmgren R (1997) Seasonal dynamics of sublittoral meiobenthos in relation to phytoplankton sedimentation in the Baltic Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 45: 149–164.
- Palmer M (1988) Dispersal of marine meiofauna: A review and conceptual model explaining passive transport and active emergence with implications for recruitment. *Marine Ecology Progress Series*. 48: 81–91.
- Palmer MA & Gust G (1985) Dispersal of meiofauna in a turbulent tidal cree. *Journal of marine research*. 43: 179-210.
- Pallo P, Widbom B & Olafsson E (1998) A quantitative survey of the benthic meiofauna in the Gulf of Riga (Eastern Baltic Sea) with special reference to the structure of nematode assemblages. *Ophelia*. 49: 117-139.
- Pearson TH, Rosenberg R (1978) Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and

- pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*. 16: 229-311.
- Patrício J, Adão H, Neto JM, Alves AS, Traunspurger W & Marques JC (2012) Do nematode and macrofauna assemblages provide similar ecological assessment information? *Ecological Indicators*. 14:124–137.
- Pereira J, Rodríguez M, Santos S, Kandratavicius N, Rodríguez M, Bueno C, Perez L, Venturini N, Brugnoli E & Muniz P (2019) Small-scale variation of the horizontal and vertical structure of macrobenthic communities in a coastal lagoon of the southwestern Atlantic. *INNOTEC*. 18:88 -110.
- Perez-Garcia JA, Armenteros M, Diaz-Asencio L, Diaz-Asencio M, Ruiz-Abierno A, Fernandez-Garces R, Bolaños-Alvarez Y & Alonso-Hernandez C (2009) Spatial distribution of nematode assemblages in Cienfuegos Bay (Caribbean Sea), and their relationship with sedimentary environment. *Meiofauna Marina*. 17: 71-81.
- Perissinotto R, Stretch DD, Whitfield AK, Adams JB, Forbes AT, Demetriades NT (2010) Ecosystem functioning of temporarily open/closed estuaries in South Africa. In: Crane JR, Solomon AE (eds) *Estuaries: types, movement patterns and climatical impacts*. Nova Science Publishers, New York, NY, p 1–69
- Phleger FB (1981) A review of some general features of coastal lagoons. *Coastal Lagoons Research, Present and Future, UNESCO Technical Papers. Marine Science*. 33: 7-14.
- Pinto TKO & Bemvenuti, CE (2003) Effects of burrowing macrofauna on meiofauna community structure. *Acta Limnologica Brasileira*. 15: 41-51.
- Pita AL, Giménez L, Kandratavicius N, Muniz M & Venturini N (2017) Benthic trophic state of estuaries with distinct morphodynamic on the South-western Atlantic coast. *Marine and Freshwater Research*. 68: 2028 - 2040
- Platt HM & Warwick RM (1980) The significance of free-living nematodes to the littoral ecosystem. 729-759pp. In: *The Shore Environment Vol 2. Ecosystems*. Price JH, Irvine DEG & Farnham WF (Eds.). Academic Press, New York.
- Platt HM & Warwick RM (1983) Free living marine nematodes. Parte I British Enoplids. Published for The Linnean Society of London & The Estuarine & Brackish-Water Sciences Association. Cambridge University Press.
- Platt HM & Warwick RM (1988) Free living marine nematodes. Parte II British Chromadorids. Synopses of the British Fauna (New Series). Kermack DM & Barnes RSK (Eds.).

Published for The Linnean Society of London & The Estuarine & Brackish-Water Sciences Association.

- Pusceddu A, Dell'Anno A, Danovaro R, Manini E, Sarà G, Fabiano M. (2003) Enzymatically hydrolyzable protein and carbohydrate sedimentary pools as indicators of the trophic state of detritus sink systems: a case study in a Mediterranean coastal lagoon. *Estuaries*. 26: 641-650.
- Pusceddu A, Dell'Anno A, Fabiano M & Danovaro R (2009) Quantity and bioavailability of sediment organic matter as signatures of benthic trophic status. *Marine Ecology Progress Series*. 375: 41-52.
- Quintana CO, Yoshinaga MY & Sumida PYG (2010) Benthic responses to organic matter variation in a subtropical coastal area off SE Brazil. *Marine Ecology*. 31: 457-472.
- R Core Team (2013) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Reiss J, Bridle JR, Montoya JM & Woodward G (2009) Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 505-514.
- Rodil IF, Cividanes S, Lastra M & López J (2008). Seasonal Variability in the Vertical Distribution of Benthic Macrofauna and Sedimentary Organic Matter in an Estuarine beach (NW Spain). *Estuaries and Coasts*, 31: 382–395.
- Rodríguez-Gallego L (2010) Eutrofización de las lagunas costeras de Uruguay: impacto y optimización de los usos del suelo. Tesis de Doctorado. Sección Limnología, IECA, Facultad de Ciencias – UdelaR.
- Rodríguez-Gallego L, Santos C, Amado S, Gorfinkel D, González MN, Gómez J, Neme C, Tommasino H & Conde D (2008) Costos y beneficios socioeconomicos y ambientales del uso actual de la Laguna de Rocha y su cuenca: insumos para la gestión integrada de un área protegida costera. PROYECTO 36-09. Programa de desarrollo tecnológico. Informe Final.
- Rodríguez-Gallego L, Conde D, Achkar M, Sabaj V, Rodó E & Arocena R (2009) Impacto del uso del suelo en la cuenca de la Laguna de Rocha. Resumen extendido, IV Congreso Nacional de Áreas Protegidas y V Encuentro Nacional de Ecoturismo y Turismo Rural, Trinidad, Flores. Formato digital.
- Rodríguez-Graña L, Calliari D, Conde D, Sellanes J & Urrutia R (2008) Food web of a SW Atlantic shallow coastal lagoon: spatial environmental variability does not impose

- substantial changes in the trophic structure. *Marine Ecology Progress Series* 362: 69–83.
- Ruhl HA, Ellena JA & Smith KL Jr (2008) Connections between climate, food limitation, and carbon cycling in abyssal sediment communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 105:17006–17011.
- Salgado-Negret B (ed) (2015) *La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C. Colombia. 236 pp.
- Sandulli R & Nicola-Giudici M (1989) Effects of organic enrichment on meiofauna: a laboratory study. *Marine Pollution Bulletin*. 20: 223-227.
- Santana O & Fabiano G (1999) *Medidas y mecanismos de administración de los recursos de las lagunas costeras del litoral atlántico del Uruguay* Lagunas José Ignacio Garzón de Rocha y de Castillos Rey MF Amestoy & G Arena Eds *Plan de investigación Pesquera INAPE-PNUD URU/92/003* 165 pp.
- Schratzberger M & Warwick RM (1998a) Effects of physical disturbance on nematode communities in sand and mud: a microcosm experiment. *Marine Biology*. 130: 643-650.
- Schratzberger M & Warwick RM (1998b) Effects of the intensity and frequency of organic enrichment on two estuarine nematode communities. *Marine Ecology Progress Series*. 164: 83-94.
- Schratzberger M & Warwick RM (1999) Differential effects of various types of disturbances on the structure of nematode assemblages: An experimental approach. *Marine Ecology Progress Series*. 181:227–236.
- Schratzberger M & Ingels J (2018) Meiofauna matters: The roles of meiofauna in benthic ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 502: 12–25.
- Schratzberger M, Rees HL & Boyd SE (2000a). Effects of simulated deposition of dredged material on structure of nematode assemblages: the role of burial. *Marine Biology* 136: 519-530.
- Schratzberger M, Rees HL & Boyd SE (2000b) Effects of simulated deposition of dredge material on structure on nematode assemblages - the role of contamination. *Marine Biology* 137: 613-622.
- Schratzberger M, Wall CM, Reynolds WJ, Reed J & Waldock MJ (2002) Effects of paint derived tributyltin on structure of estuarine nematode assemblages in experimental microcosms.

- Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 272: 217-235.
- Schratzberger M, Whomersley P, Kilbride R & Rees HL (2004) Structure and taxonomic composition of subtidal nematode and macrofauna assemblages at four stations around the UK coast. *Journal Marine Biology Association UK*. 84: 315–322.
- Schratzberger M, Warr K & Rogers SI (2006) Patterns of nematode populations in the southwestern North Sea and their link to other components of the benthic fauna. *Journal of Sea Research*. 55: 113–127.
- Schratzberger M, Warr K & Rogers SI (2007) Functional diversity of nematode communities in the southwestern North Sea. *Marine Environmental Research*. 63: 368-389.
- Schratzberger M, Maxwell TAD, Warr K, Ellis JR, Rogers SI (2008) Spatial variability of infaunal nematode and polychaete assemblages in two muddy subtidal habitats. *Marine Biology*. 153: 621–642.
- Semprucci P, Colantoni G, Baldelli M, Rocchi & Balsamo M. (2010) The distribution of meiofauna on back-reef sandy platforms in the Maldives (Indian Ocean). *Marine Ecology*. 31: 592–607.
- Semprucci F, Moreno M, Sbrocca S, Rocchi M, Albertelli G, Balsamo M (2013) The nematode assemblage as a tool for the assessment of marine ecological quality status: a case-study in the Central Adriatic Sea. *Mediterranean Marine Science*. 14:48–57.
- Semprucci F, Losi V, Moreno M (2015) A review of Italian research on free-living marine nematodes and the future perspectives on their use as ecological indicators (EcoInds). *Mediterranean Marine Science*. 16:352–365.
- Snelgrove PVR & Butman C (1994) Animal-Sediment relationships revisited: Cause versus effect. *Oceanography and Marine Biology: Annual Review*. 32: 111-177.
- Soetaert K, Vincx M, Wittoeck J, Tulkens M & Gansbeke D Van (1994) Spatial patterns of Westerschelde meiobenthos. *Estuarine Coast and Shelf Science* 39: 367–388. Soetaert K, Muthumbi A & Heip C (2002) Size and shape of ocean margin nematodes: morphological diversity and depth-related patterns. *Marine Ecology Progress Series*. 242: 179–193.
- Soltwedel T (1997) Meiobenthos distribution pattern in the tropical East Atlantic: indication for fractionated sedimentation of organic matter to the sea floor? *Marine. Biology* 129: 747-756
- Sotullo A, Bartesaghi L, Berazategui M, Clavijo I, Faccio C, Garcia M & Gonzales E (2010) Diseño espacial del Sistema Nacional de Areas Protegidas de Uruguay: sitios a integrar al

- sistema, prioridades de conservación en estos sitios y aportes a la protección de la biodiversidad fuera de áreas protegidas. Montevideo, Uruguay.
- Stachowicz JJ, Bruno JF & Duffy JE (2007). Understanding the effects of marine biodiversity on communities and ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 38:739-766.
- Steyaert M, Garner N, Gansbeke D Van & Vincx M (1999) Nematode communities from the North Sea?: environmental controls on species diversity and vertical distribution within the sediment. *Journal Marine Biology Association UK*.79: 253–264.
- Steyaert M, Vanaverbeke J, Vanreusel A, Barranguet C, Lucas C & Vincx M (2003) The importance of fine-scale, vertical profiles in characterizing nematode community structure. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 58: 353-366.
- Steyaert M, Deprez T, Raes M, Bezerra T, Demesel I, Derycke S, Desmet G, Fonseca G, Franco MA, Gheskiere T, Hoste E, Ingels J, Moens T, Vanaverbeke J, Van Gaeveer S, Vanhove S, Vanreusel, A, Verschelde D & Vincx M (2005) Electronic Key to the Free-living Marine Nematodes. <http://nemys.ugent.be>.
- Steyaert M, Moodley L, Nadong T, Moens T, Soetaert K, Vincx M.(2007) Responses of intertidal nematodes to short-term anoxic events. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 345:175–184.
- Sugio K (1973) *Introdução à sedimentologia*. São Paulo, Edgard Blucher. 317p
- Sündback, K (1983) *Microphytobenthos on sand in shallow brackish water. Öresund Sweeden. Primary production, chlorophyll a content and species composition (Diatom) in relation to some ecological factors. Tesis Doctoral. Department of Systematic Botany, University of Lund, Sweeden. LUNDS/ (NBBS-1006): 209p.*
- Sündback K, Jonsson B, Nilsson P, Lindström I (1990) Impact of accumulating drifting macroalgae on a shallow-water sediment system: an experimental study. *Marine Ecology Progress Series*. 58: 261-274.
- Teiwes M, Bergtold M & Traunspurger W (2007) Factors Influencing the Vertical Distribution of Nematodes in Sediments. *Journal of Freshwater Ecology* 22: 429–439.
- Teske P & Wooldridge T (2001) A comparison of the macrobenthic faunas of permanently open and temporarily open/closed South African estuaries. *Hydrobiologia*. 464: 227-243.
- Tietjen JH (1969) The ecology of shallow water meiofauna in two New England estuaries. *Oecologia*. 2: 251–291.



- Tietjen JH & Lee JJ (1984) The use of free-living nematodes as a bioassay for estuarine sediments. *Marine environmental research*. 11: 233-251.
- Tita G, Desrosiers G & Vano M (2001) Diversity and vertical distribution of nematode assemblages: the Saguenay fjord (Quebec, Canada) *Cah Biol Mar* 42: 263-274
- Trautspurger W (2009) Nematoda. In: Likens GE (Ed.) *Encyclopaedia of Inland Waters*. Oxford Elsevier. 2: 372-383.
- Underwood AJ, Chapman MG & Connell SD (2000) Observations in ecology: you can't make progress on processes without understanding the patterns. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 250: 97-115.
- Urban ER, Sundbø B, Malanotte-Rizzoli P, Melillo JM (2009) *Watersheds, Bays and Bounded Seas*. Island Press, Washington.
- Vieira DC & Fonseca G (2013) The Importance of Vertical and Horizontal Dimensions of the Sediment Matrix in Structuring Nematodes Across Spatial Scales. *PLoS ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0077704.
- Vincx M (1996) Meiofauna in marine and freshwater sediments. In: Hall GS (Ed.) *Methods for the Examination of Organismal Diversity in Soils and Sediments*. Cab International, Wallingford, UK. 187–195 pp.
- Venekey V (2007) *Atualização do conhecimento taxonômico dos Nematoda brasileira e sua ecologia na praia de Tamandare PE (Brasil)*. Recife, Brasil. 144pp
- Venekey V, Fonseca-Genovais VG & Santos P (2010) Biodiversity of free-living marine nematodes on the coast of Brazil: a review. *Zootaxa*. 2568: 39-66.
- Venturini N (2007) *Influência da quantidade da matéria orgânica sedimentar na estrutura e distribuição vertical e horizontal das comunidades bentônicas na plataforma de São Sebastião, São Paulo, Brasil (PhD. thesis)*. Universidade de São Paulo.
- Venturini N, Pires-Vanin AMS, Salhi M, Bessonart M & Muniz P (2011) Polychaete response to fresh food supply at organically enriched coastal sites: Repercussion on bioturbation potential and trophic structure. *Journal of Marine Systems* 88:526–541.
- Vizziano D, Saona G, Forni F & Norbis W (1998) Laguna de Rocha: una nueva área de reproducción de la corvina blanca *Micropogonias furnieri* Resumen XIII Simposio Científico-Tecnológico Comisión Técnico Mixta del Frente Marítimo. 30-32 pp
- Ysebaert T, Herman PMJ, Meire P, Craeymeersch J, Verbeek H & Heip CHR (2003) Large scale spatial patterns in estuaries: estuarine macrobenthic communities in the Schelde estuary,

- NW Europe. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 57: 335-355.
- Yodnarasri S, Montani S, Tada K, Shibamura S & Yamada T (2008) Is there any seasonal variation in marine nematodes within the sediments of the intertidal zone?. *Marine Pollution Bulletin*. 57: 149-154.
- Ward AR (1975) Studies on the sublittoral free living nematodes of Liverpool Bay II Influence of sediment composition on the distribution of marine nematodes *Marine Biology*. 30: 217-225.
- Warwick RM (1971) Nematode associations in the Exe estuary. *Journal Marine Biology Association UK*. 51: 439-454.
- Warwick RM, Carr MR, Clarke KR, Gee JM & Green RH (1988) A mesocosm experiment on the effects of hydrocarbon and copper pollution on a sublittoral soft-sediment meiobenthic community. *Marine Ecology Progress Series*. 46: 181–191.
- Warwick RM, Platt HM & Sommerfield PJ (1998) Free-living nematodes (Part III) Monhysterids. In: *Synopsis of British Fauna*, No. 53. Barnes and Crothers.
- Welker C, Sdrigotti E, Covelli S & Faganelli J (2002) Microphytobenthos in the Gulf of Trieste (northern Adriatic Sea): relationships with labile sedimentary organic matter and nutrients. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 55: 259–273.
- Wieser W (1953) Die Beziehung zwischen Mundhöhlengestalt, Ernährungswiese und 1000 Vorkommen bei freilebenden marinen Nematoden. *Ark. Zool*. 4: 439–484.
- Webb DG (1996) Response of macro and meiobenthos from a carbon-poor sand to phytodetrital sedimentation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 203: 259-271.
- Ysebaert T & Herman P (2002) Spatial and temporal variation in benthic macroinfauna and relationships with environmental variables in an estuarine intertidal soft sediment environment. *Marine Ecology Progress Series*.
- Zeppilli D, Sarrazin J, Leduc D, Arbizu PM, Fontaneto D, Fontanier C, Gooday AJ, Kristensen RM, Ivanenko VN, Sørensen MV, Vanreusel A, Thébault J, Mea M, Allio N, Andro T, Arvigo A, Castrec J, Danielo M, Foulon V, Fumeron R, Hermabessiere L, Hulot V, James T, Langonne-Augen R, Le Bot T, Long M, Mahabror D, Morel Q, Pantalos M, Pouplard E, Raimondeau L, Rio-Cabello A, Seite S, Traisnel G, Urvoy K, Van Der Stegen T, Weyand M, Fernandes D (2015) Is the meiofauna a good indicator for climate change and anthropogenic impacts? *Marine Biodiversity* 45:505–535.

# ANEXO I

Tablas suplementarias correspondientes al Capítulo 2.

**Tabla S1.** Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de géneros de nematodos para la campaña de noviembre. Los modelos seleccionados se identifican por el valor AIC en negrita.

Modelo	<i>Oxystomina</i>	<i>Daptonema</i>	<i>Leptolaimus</i>	<i>Viscosia</i>	Abundancia Tot.
<b>Familia &amp; Ceros</b>					
Zero-negbin2	165	244	213	204	<b>861</b>
Zero-negbin1		245		213	870
Zero-Poisson	<b>163</b>	245	<b>211</b>	216	1210
Zero-Gaussian	209	306	276	291	954
Negbin2	166	<b>242</b>	213	<b>202</b>	870
Negbin1		243		211	886
Poisson	179	249	241	216	1314
Gaussian	368	404	433	450	961
<b>Términos Fijos</b>					
Factorial	166	242	<b>213</b>	202	<b>869</b>
Aditivo	164	244	217	200	880
Sector	<b>160</b>	260	230	196	883
Estrato	175	<b>242</b>	215	200	879
Nulo	172	259	228	<b>196</b>	881

Tabla S1 (Continuación).

Modelo	<i>Anonchus</i>	<i>Anoplostoma</i>	<i>Theristus</i>	<i>Sabatieria</i>	<i>Terschellingia</i>	<i>Paralinhomoemus</i>	<i>Neochromadora</i>	<i>Pseudochromadora</i>
<b>Familia &amp; Ceros</b>								
Zero-negbin2	250	188	678	460	275	230	221	402
Zero-negbin1		191	704	467	<b>267</b>	249	228	415
Zero-Poisson	263	204	992	556	277	382	241	563
Zero-Gaussian	334	259	836	597	378	361	321	<b>400</b>
Negbin2	<b>248</b>	<b>186</b>	<b>676</b>	<b>458</b>	280	<b>229</b>	<b>219</b>	413
Negbin1		190	702	466	276	249	226	614
Poisson	287	217	1037	585	326	535	255	806
Gaussian	470	517	837	729	734	821	513	402
<b>Términos Fijos</b>								
Factorial	248	<b>186</b>	676	458	280	229	219	400
Aditivo	<b>246</b>	191	676	457	<b>265</b>	226	<b>216</b>	400
Sector	264	189	<b>675</b>	457	270	<b>227</b>	226	<b>398</b>
Estrato	249	201	679	455	280	229	222	407
Nulo	268	199	677	<b>455</b>	285	230	232	406

**Tabla S2.** Resultados de los glmm. Selección de modelo basada en los criterios de información de Akaike (AIC) para patrones de distribución de géneros de nematodos seleccionados para la campaña de abril. Los modelos seleccionados se identifican por el valor AIC en negrita.

Modelo	<i>Oxystomina</i>	<i>Daptonema</i>	<i>Leptolaimus</i>	<i>Viscosia</i>	<i>Abundancia Tot.</i>
<b>Familia &amp; Ceros</b>					
Zero-negbin2	196		223	599	945
Zero-negbin1	196		228	607	932
Zero-Poisson	198		236	872	1512
Zero-Gaussian	281	294	288	767	984
Negbin2	<b>193</b>	<b>238</b>	<b>221</b>	<b>597</b>	943
Negbin1	194	245	226	605	<b>930</b>
Poisson	196	247	260	870	1519
Gaussian	383	432	467	836	982
<b>Términos Fijos</b>					
Factorial	194	239	221	597	<b>930</b>
Aditivo	194	235	222	597	943
Sector	<b>194</b>	252	223	<b>594</b>	959
Estrato	201	<b>235</b>	<b>219</b>	595	941
Nulo	200	252	220	595	958

**Tabla S2 (Continuación).**

Modelo	<i>Anonchus</i>	<i>Anoplostoma</i>	<i>Theristus</i>	<i>Sabatieria</i>	<i>Terschellingia</i>	<i>Paralinhomoemus</i>	<i>Neochromadora</i>	<i>Pseudochromadora</i>
<b>Familia &amp; Ceros</b>								
Zero-negbin2	290	132	488	243	215	342	598	345
Zero-negbin1	291	137	502	258	212	348	617	351
Zero-Poisson	298	138	680	316	220	450	898	410
Zero-Gaussian	353		688	380	314	463	827	484
Negbin2	292	<b>134</b>	<b>486</b>	<b>241</b>	214	<b>340</b>	<b>596</b>	<b>343</b>
Negbin1	<b>291</b>	135	500	257	<b>211</b>	345	616	349
Poisson	342	156	699	337	224	449	908	423
Gaussian	506	301	800	681	560	684	903	670
<b>Términos Fijos</b>								
Factorial	292	130	<b>486</b>	<b>241</b>	214	335	596	<b>343</b>
Aditivo	289	129	489	243	<b>207</b>	332	594	348
Sector	<b>288</b>	<b>126</b>	487	246	216	329	656	348
Estrato	304	129	491	243	217	331	<b>593</b>	350
Nulo	303	126	490	246	226	<b>328</b>	655	350

## **ANEXO II**

Lista taxonómica de especies de nematodos de la Laguna de Rocha correspondiente al Capítulo 2.



Filo **NEMATODA** Poots, 1932

Clase **CHROMADOREA** Inglis, 1983

Sub clase **CHROMADORIA** Pearse, 1942

Orden **MONHYSTERIDA** Filipjev, 1929

Suborden **MONHYSTERINA** De Coninck y Stekhoven, 1933

Superfamilia **MONHYSTEROIDEA** De Man, 1876

Familia **MONHYSTERIDAE** De Man, 1876

*Monhystera* Bastian, 1865

*Monhystera* sp. 1

Superfamilia **SPHAEROLAIMOIDEA** Filipjev, 1918

Familia **XYALIDAE** Chitwood, 1951

*Daptonema* Cobb, 1920

*Daptonema* aff. *setosum*

*Pseudosteineria* Wieser, 1956

*Pseudosteineria* sp. 1

*Theristus* Bastian, 1865

*Theristus* aff. *Macroflevensis*

Suborden **LINHOMOEINA** Andrásy, 1974

Superfamilia **SIPHONOLAIMOIDEA** Filipjev, 1918

Familia **LINHOMOEIDAE** Filipjev, 1922

*Paralinhomoeus* de Man, 1907

*Paralinhomoeus* sp. 1

*Terschellingia* de Man, 1888

*Terschellingia* aff. *longicaudata*

Orden **ARAEOLAIMIDA** De Coninck y Stekhoven, 1933

Superfamilia **AXONOLAIMOIDEA** Filipjev, 1918

Familia **COMESOMATIDAE**

*Sabatieria* Rouville, 1903

*Sabatieria* aff. *mortenseni*

Familia **AXONOLAIMIDAE** Filipjev, 1918

*Parodontophora* Timm, 1963

*Parodontophora* aff. *chiliensis*

*Odontophora* Bütschli, 1874

*Odontophora* sp. 1

Orden **CHROMADORINAE** Filipjev, 1917

Familia **CYATHOLAIMIDAE** Filipjev, 1918

Subfamilia **POMPONEMATINAE** Gerlach y Riemann, 1973

*Pomponema* Cobb, 1917

*Pomponema* sp. 1

Familia **CHROMADORIDAE** Filipjev, 1917

Subfamilia **CHROMADORINAE** Filipjev, 1917

*Neochromadora* Micoletzky, 1924

*Neochromadora* aff. *complexa*

Familia **CYATHOLAIMIDAE** Filipjev, 1918

Subfamilia **PARACANTHONCHINAE** De Coninck, 1965

*Paracyatholaimus* Micoletzky, 1922

*Paracyatholaimus* aff. *chilensis*

Familia **SELACHINEMATIDAE** Cobb, 1915

*Kosswigonema* Gerlach, 1964

*Kosswigonema* aff. *acanthum*

Orden **PLECTIDA** Malakhov, 1982

Superfamilia **LEPTOLAIMOIDEA** Örley, 1880

Familia **LEPTOLAIMIDAE** Örley, 1880

Subfamilia **LEPTOLAIMINAE** Örley, 1880

*Leptolaimus* de Man, 1876

*Leptolaimus* aff. *keruelensis*

*Antomicron* Cobb, 1920

*Antomicron* aff. *pellucidum*

Familia **APHANOLAIMIDAE** Chitwood, 1936

*Anonchus* Cobb, 1913

*Anonchus* aff. *mangrovi*

Orden **DESMODORIDA** De Coninck, 1965

Suborden **DESMODORINA** De Coninck, 1965

Superfamilia **DESMODOROIDEA** Filipjev, 1922

Familia **DESMODORIDAE** Filipjev, 1922

*Pseudochromadora* Daday, 1899

*Pseudochromadora* aff. *cazca*

*Pseudochromadora* aff. *bulbosa*

Orden **RHABDITIDA** Chitwood, 1933

Suborden **RHABDITINA** Chitwood, 1933

Superfamilia **MESORHABDITOIDEA** Andrásy, 1976

Familia **MELOIDOGYNIDAE** Skarbilovich, 1959

*Meloidogyne* Goeldi, 1892

*Meloidogyne* sp.1

Familia **MESORHABDITIDAE** Andrassy, 1976

Mesorhabditis Osche, 1952

*Mesorhabditis* sp.1

Clase **ENOPLEA** Inglis, 1983

Sub clase **ENOPLIA** Pearse, 1942

Orden **ENOPLIDA** Filipjev, 1929

Suborden **ENOPLINA** Chitwood y Chitwood, 1937

Superfamilia **ENOPLOIDEA** Dujardin, 1845

Subfamilia **ENOPLOLAIMINAE** De Coninck, 1965

Familia **THORACOSTOMOPSIDAE** Filipjev, 1927

*Mesacanthion* Filipjev, 1927

*Mesacanthion* aff. *rigens*

*Enoplolaimus* de Man, 1893

*Enoplolaimus* sp.1

Familia **OXYSTOMINIDAE** Chitwood, 1935

Subfamilia **HALALAIMINAE** De Coninck, 1965

*Halalaimus* de Man, 1888

*Halalaimus* sp. 1

Subfamilia **OXYSTOMININAE** Chitwood, 1935

*Oxystomina* Filipjev, 1921

*Oxystomina* aff. *affinis*

Suborden **ONCHOLAIMINA** De Coninck, 1965

Superfamilia **ONCHOLAIMOIDEA** Filipjev, 1916

Familia **ONCHOLAIMIDAE** Filipjev, 1916

Subfamilia **ONCHOLAIMELLINAE** De Coninck, 1965

*Viscosia* de Man, 1890

*Viscosia* aff. *tumidula*

Subfamilia **ONCHOLAIMINAE** Filipjev, 1916

*Oncholaimus* Dujardi, 1845

*Oncholaimus* aff. *cobbi*

Familia **ANOPLOSTOMATIDAE** Gerlach & Riemann, 1974

*Anoplostoma* Bütschli, 1874

*Anoplostoma* aff. *viviparum*

## **ANEXO III**

Tablas suplementarias correspondientes al Capítulo 3.

# Response of estuarine free-living nematode assemblages to organic enrichment: an experimental approach

Noelia Kandravicius\*, Catalina Pastor de Ward, Natalia Venturini, Luis Giménez, Marcel Rodriguez, Pablo Muniz

\*Corresponding author: nkandra@fcien.edu.uy

Marine Ecology Progress Series 602: 117–133 (2018)

Table S1. Post Hoc comparisons using the Tukey test:

A) PERMANOVA \* significant difference

Time (days)	Grups	t	p(perm)	perm	p(MC)
4	C, M	0.96	0.5498	126	0.4745
	C, H	0.99986	0.4115	126	0.396
	M, H	0.99247	0.5061	126	0.4282
15	C, M	1.262	0.1302	126	0.1764
	C, H	1.2364	0.1066	126	0.2
	M, H	1.599	0.0085	126	0.050*
30	C, M	3.7808	0.0077	126	0.0006*
	C, H	2.4845	0.0077	126	0.006*
	M, H	1.3853	0.0992	126	0.1449

B) Two-way crossed ANOVA (all variables except oxygen). Repeated measures ANOVA by oxygen.

B1) TREATMENT Were, treatments: control (C), medium (M) and high (H) \* Significant difference

OM	PHEOPIG	LIP
C=M	C<M	C<M
0.851699	0.000149*	0.010469*
C<H	C<H	C<H
0.000798*	0.000149*	0.000968*
M<H	M<H	M=H
0.002358*	0.000271*	0.503104
MS =	MS =	MS =
1.2644,	0.01386,	0.09640,
df = 18	df = 18	df = 18

B2) TIME. Were, time in days: 4 (T4), 15 (T15) and 30 (T30). \* Significant difference

Chl-a	PHEOPIG
T4<T30 0.003656*	T4<T15 0.020450*
T4=T15 0.411820	T4<T30 0.000156*
T15=T30 0.055659	T15<T30 0.006543*
MS= 3.2304 df = 18	MS = 0.01386 df = 18

B3) TREATMENT X TIME. Were letter represent the treatment and the number the time in days e.g. M0= medium at 0 days, significance p<0.001

Chl-a	PRT	O <sub>2</sub> T <sub>4</sub>	O <sub>2</sub> T <sub>15</sub>	O <sub>2</sub> T <sub>30</sub>
C4<M4, H4, M15, H15, M30, H30	C4<H4, M15, H15, M30, H30	C0<C1 C0>M0, M1, M2, M3, M4, H0, H1, H2, H3, H4	C0>M1-M3, M5-M12, H1-H14	C0>M1-M10, M20, H1-H20
M4>C30, H30	M4<M15, H15, M30, H30	C1> M0, M1, M2, M3, M4, H1, H2, H3, H4	C1<C5, C11, C12 C1>M0-M14, H0-H14	C1> C5-C7, C9, C10, C12, C13, C15, C18, C20, M0- M15, M18, M20, H0-H22, H27
H4>C15, C30, H30	H4>C30 H4<H30	C2>M0, M1, M2, M3, M4, H1, H2, H3, H4	C2>M0-M13, H0-H14	C2, C3, C4> C20, M0-M13, M20, H0-H22
C15<M15, H15, M30, H30	C15<M15, H15, M30, H30	C3>M0, M1, M2, M3, M4, H1, H2, H3, H4	C3, C4>M0-M3, M5-M13, H0-H14	C5> M1-M9, M20, H1-H17, H20
M15>C30, H30	M15>C30	C4> M0, M1, M2, M3, M4, H1, H2, H3, H4	C5, C6, C7>M1-M3, M5-M7, M10, M11, H1-H14	C6> M1-M10, M20, H1-H17, H20
H15>C30, H30	H15>C30	M0>M1, M2, M3, M4, H1, H2, H3, H4	C8, C9> M1-M3, M5-M11, H1-H14	C7> M0-M10, M20, H1-H17, H20

Chl-a	PRT	O <sub>2</sub> T <sub>4</sub>	O <sub>2</sub> T <sub>15</sub>	O <sub>2</sub> T <sub>30</sub>
C30<M30, H30	C30<M30, H30	M1<M4, H0 M2<H0 M3<M4, H0 M4<H0 M4>H1, H2, H3, H4 H0> H1, H2, H3, H4	C10, C11, C12, C13> M1-M3, M5-M7, M10, M11, H1-H14 C14> M1-M3, M5-M12, H1-H14 M0> M1, M2, M5-M7, H1-H9, H11- H13 M1< M4, M9-M14, H0 M2< M3-M4, M9-M14, H0 M3<M4, M14, H2, H4 M4> M5-M7, H1- H14	C9, C10, C12, C15> M1-M11, M21, H1-H18, H21 C11, C13, C14> M1-M10, M21, H1-H18, H21 C16, C17, C18, C19 > M1-M11, M21, H1-18, H21 C20> M1-M11, M21, H1-H21 C21<C25, C28 C22>M1-M11, M21, H1-H13, H21 C23, C25> M1-M13, M21, H0-H22



			M5< M9, M11-M14, H0	C24> M1-M13, M21, H0-H21
			M6, M7<, M9, M12-M14, H0	C26> M1-M12, M21, H0-H21
			M9< H1-H7, H11	C27> M1-M11, M21, H1-H21
			M10< M14	C28> M0-M13, M21, H0-H23
			M10> H2, H4	
			M11<M14	M0>M1-M9, M21, H1-H12, H21
			M11>H2,H4,H6	
			M12> H1-H7, H11	M1<M12-M20, M22-M28, H22-H28
			M13, H0> H1-H13	M2<M11-M20, M22-M28, H19, H22-H28
			M14> M10, M11, H1-H14	M3<M12-M20, M22-M28, H0, H22-H28
			H2, H4< H14	M4<M14-M20, M22-M28, H24-H28
<b>Chl-a</b>	<b>PRT</b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>4</sub></b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>15</sub></b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>30</sub></b>
				M5<M11-M20, M22-M28, H0, H12, H20, H22-H28
				M6<M12-M20, M22-M28, H0, H22-H28
				M7<M11-M20, M22-M28, H0, H19, H22-H28
				M9< M12-M20, M22-M28, H0, H23-H28
				M10< M15-M20, M22-M28, H24-H27
				M11<M15-M18, M20, M22-M28, H3, H25, H26
				M12<M23, M25, M26, M28
				M12, M13> H1-H11
				M13, M12, M14>H21
				M13<M23, M25,M26, M28
				M14> H1-H13
				M15, M16> H1-H15, H17
				M17>H1-H18
				M18>H1-H17
				M19>H1-H14
				M20>H1-H17
				M21<M22-M28, H24-H28
				M14, M15, M16, M17, M19, M18, M20> M21, H21
				M22> H1-H18, H21
				M23> H1-H21
				M24>H1-H18, H21
<b>Chl-a</b>	<b>PRT</b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>4</sub></b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>15</sub></b>	<b>O<sub>2</sub> T<sub>30</sub></b>
				M25, M26, M28> H1-H21
				M27>H1-H18, H21
				H0>H1-H14, H21
				H0<H25, H26
				H1<H16, H18, H19, H20, H22, H28
				H2< H15, H16, H18-H20, H22-H28

---

				H3<H15-H20, H22-H28
				H4<H15, H16, H18-H20, H22-H28
				H5, H6< H16, H18-H20, H22-H28
				H7<H18-H20, H22-H28
				H9<H16, H18-H20, H22-H28
				H10, H11<H19, H22-H28
				H12,H13,H14< H22-H28
				H15, H17<H23-H28
				H16, H18< H24-H28
				H19>H21
				H19, H20< H24, H25, H26
				H22<H25, H26
MS=3.2304	MS=0.11054	MS = 0.90073	MS = 1.3681	MS = 1.6451
df = 18	df = 18	df = 60	df = 168	df = 77

---

**Table S2.** Mean abundance of identified nematode genera in sediments from: field site, control at day 0, control and treatments (medium and high) at different time (4, 15, 30 days). Also, total nematode abundance by microcosm is shown. Code of treatments: 0= T0, C= control, M= medium and H= high. FT= Feeding Type: 1A= selective deposit-feeder, 1B= non-selective deposit-feeder, 2A= epigrowth feeder and 2B= omnivore/predator. Hyphen indicates absence.

	F.T	C4	C15	C30	M4	M15	M30	H4	H15	H30	T0	FIELD
Anonchus	2A	11 ± 3	10 ± 2	8 ± 3	6 ± 3	8 ± 3	2 ± 1	7 ± 3	7 ± 3	3 ± 2	15 ± 9	8 ± 4
Anoplostoma	1B	3 ± 3	2 ± 1	2 ± 0	3 ± 2	1 ± 1	-	3 ± 2	2 ± 1	0 ± 1	3 ± 4	12 ± 8
Antomicron	1A	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 1	1 ± 1	1 ± 2	0 ± 1	-	-	0 ± 1	-	-
Daptonema	1B	0 ± 1	1 ± 1	-	0 ± 1	1 ± 1	-	1 ± 1	-	-	1 ± 1	1 ± 1
Halalaimus	1A	-	-	-	0 ± 1	-	-	-	-	-	-	-
Kosswigonema	2B	0 ± 1	-	-	-	-	-	0 ± 1	-	-	0 ± 1	3 ± 5
Leptolaimus	1A	2 ± 1	2 ± 2	1 ± 1	1 ± 1	2 ± 2	1 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	3 ± 1	4 ± 5
Morphotype 3	1B	0 ± 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neochromadora	2A	-	-	0 ± 1	-	-	-	-	-	-	0 ± 1	0 ± 1
Oncholaimellus	2B	0 ± 1	-	-	-	1 ± 1	-	-	-	-	-	-
Oncholaimus	2B	0 ± 1	-	-	-	0 ± 1	-	0 ± 1	-	-	-	1 ± 1
Oxystomina	1A	7 ± 4	7 ± 3	9 ± 3	7 ± 4	6 ± 2	3 ± 2	4 ± 2	5 ± 4	6 ± 2	7 ± 4	6 ± 6
Pseudochromadora	2A	37 ± 12	48 ± 3	44 ± 15	45 ± 6	53 ± 14	87 ± 8	35 ± 10	53 ± 8	69 ± 11	26 ± 19	24 ± 17
Paradontophora	2B	2 ± 1	1 ± 2	2 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	0 ± 1	4 ± 2	2 ± 1	1 ± 1	5 ± 3	3 ± 2
Paralinhomoeus	1B	3 ± 2	2 ± 1	3 ± 2	3 ± 2	1 ± 1	2 ± 3	5 ± 3	4 ± 2	3 ± 1	4 ± 4	8 ± 6
Sabatieria	1B	9 ± 2	5 ± 2	8 ± 2	7 ± 2	8 ± 4	1 ± 1	9 ± 3	6 ± 5	1 ± 1	8 ± 4	4 ± 3
Theristus	1B	1 ± 2	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 1	0 ± 1	-	0 ± 1	0 ± 1	3 ± 3	2 ± 4
Terschellingia	1A	16 ± 6	16 ± 4	20 ± 7	17 ± 1	19 ± 7	7 ± 5	20 ± 5	17 ± 9	15 ± 8	15 ± 8	17 ± 11
Viscosia	2B	10 ± 3	8 ± 4	4 ± 2	8 ± 2	2 ± 2	1 ± 1	12 ± 4	7 ± 4	2 ± 1	22 ± 13	22 ± 18
Nematodes total abundance	-	1514 ± 1374	1162 ± 489	937 ± 633	750 ± 402	709 ± 389	289 ± 101	249 ± 98	666 ± 229	430 ± 137	627 ± 96	780 ± 327