

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctora en Ciencias
Biológicas

***Ceratium*: filogeografía y ecología de un género invasor en Sudamérica**

Lic. Victoria Accattatis

Directora de tesis: Dra. Melina Devercelli

Co-directora de tesis: Dra. Claudia Piccini

Lugar de realización: Laboratorio de Plancton - Instituto Nacional de Limnología (CONICET-
UNL)

-2025-

Agradecimientos

Esta tesis fue posible gracias a un organismo unicelular eucariota que viene acompañándome desde mis primeros pasos en la investigación. Este microorganismo, al igual que yo, no habría logrado tantas adaptaciones ni novedades evolutivas sin sus caracteres morfológicos, moleculares, tróficos y el ambiente acuático donde se desarrolla.

Gracias a mi núcleo: Lauti, mamá y papá, la estructura principal y más importante de mi célula, la información genética sin la cual no podría realizar las funciones vitales para existir.

Agradezco profundamente a mis directoras, Meli y Clau, quienes desde el primer día confiaron en mí para llevar adelante este trabajo. Su generosidad, tanto en el conocimiento como en la escucha y la atención, fue incondicional. No tengo palabras suficientes para expresar mi gratitud por su enorme apoyo, y por haber compartido conmigo (y con *Ceratium*) este maravilloso viaje. A pesar de todas las dificultades, logramos llevar adelante un trabajo del cual me siento profundamente orgullosa.

Gracias a mis organelas facultativas: Lari, Flora, Gigi, Pitu, Eve, Danita, Valle, Cuffia, Belu, Pau y Ange; cada una con su función específica para hacer que mi célula en su conjunto funcione perfectamente. Gracias por las horas de estudio, de risas, de salidas con juegos de mesa y pelucas, karaokes y viajes a lugares hermosos. Por estar siempre, desde el inicio de mi etapa litoraleña.

Gracias a mi familia extendida desde el Limay hasta el Paraná: Marie, Edu, Luli, Tata, Osvaldo, Joaquín, Anita, Ciro, Julián, Lucas, Wandí, Leo, Gaspi, y Augu. Gracias por ser los flagelos que me impulsan a avanzar y me mantienen en movimiento.

Gracias Gladish, quien fue mi compañera incondicional en tierras santafesinas, apoyándome y dándome consejos a lo largo de este camino. Gracias por ser la luz solar de esta célula fotosintética.

Gracias Jules, que, a pesar de la distancia, sigue siendo uno de los nutrientes esenciales que necesito todos los días. Su presencia, aunque a kilómetros, siempre alimenta mi crecimiento.

Gracias a mis amigas neuquinas: Mica, Lari, Emilce, Mari, Maca, Lau, Emi, Fierro, las cuales son parte de las variables más importantes para mi crecimiento. Desde el principio, siguen haciéndome crecer. Sin ustedes, no habría podido conquistar tantos ambientes diversos y desafiantes para esa pequeña célula neuquina que salió de su ciudad hace 13 años, con características muy diferentes a las de hoy.

Gracias al hermoso y diverso grupo de organismos chocopamelas: Cape, Jose, Cami, Vicky, Pablo, Andrés, Aye, Flor, Iri, Ceci, Pocha, Flor y Dani, que aseguraron mi supervivencia más de una vez en este camino doctoral permitiendo enquistarme de vez en cuando. Gracias por transitarlo conmigo y compartir momentos cervancieros y lúdicos, almuerzos con largas sobremesas, escape rooms y casas en construcción.

Gracias a mi familia adoptiva: Mica, Susi, Herni y Agus, quienes siempre fueron un apoyo incondicional desde ese día de marzo de 2001 donde conocí a mi mejor amiga.

Gracias Pauli y Seba, que siempre han sido una estructura de soporte y escucha en todas mis dudas e inseguridades, ayudándome en todo momento de este camino científico.

A todas/os las/os amigas/os que fui haciendo a lo largo de este camino y que *Ceratium* me permitió conocer, gracias por ser los nuevos ambientes de agua dulce con las condiciones perfectas para la supervivencia y prosperidad de esta célula. En ambientes de Uruguay: Romi, Facu, Ale y todas/os las/os integrantes del laboratorio de Microbiología del IIBCE que siempre me recibieron con mucha calidez; y de Brasil: Edna, Hugo, Pedro, Isra, Karime, Luciana, Layla, Mai, y todas/os las hermosas personas del LMPB.

Gracias a mis compañeras/os del Laboratorio de Plancton: Male, Flor, Jose, Vicky, Gise, Dani, Flor, Agus, Diego, Aye, Flor, Pau, quiénes todos estos años han enriqueciendo mi ambiente compartiendo experiencias, conocimientos y apoyo incondicional en todo lo que necesitaba.

Gracias a la familia MicroSudAqua por su colaboración y apoyo, formando una red tan compleja y esencial como las interacciones en los ecosistemas acuáticos.

Gracias a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral donde realicé mis estudios del Doctorado en Ciencias Biológicas, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por la beca doctoral y al Instituto Nacional de Limnología que fue mi segundo hogar todos estos años y a todas/os mis compañeras/os con quienes compartí allí.

Gracias al jurado de esta tesis por sus correcciones y valiosos aportes.

A todas las personas que de alguna forma influyeron en el desarrollo de esta tesis ya sea con muestras, mates, escucha o correcciones.

Finalmente, a quienes ya no están, dejaron una huella imborrable en mi vida y en este camino, como los genes adquiridos por transferencia horizontal en *Ceratium*, que enriquecen su evolución y la hacen única.

Gracias a todas y todos por ser parte de este hermoso y diverso ecosistema.

Aportes Científico-Tecnológicos

Capítulo 3:

Accattatis, V., Piccini, C., Huber, P., Metz, S., Rueda, EC., Devercelli, M. (2020) Identifying invaders: the case of *Ceratium furcoides* in South America. *Journal of Phycology* 56 (5): 1362-1366.

Capítulo 4:

Kruk, C., Piccini, C., Devercelli, M., Nogueira, L., Accattatis, V., Sampognaro, L., Segura, AM. (2021) A trait-based approach predicting community assembly and dominance of microbial invasive species. *Oikos* 130 (4): 571-586.

Publicaciones asociadas:

Huber, P., Devercelli, M., Metz, S., Accattatis, V., Unrein, F. (2022). Determinación del ADN ambiental. En: Giorgi, A., Domínguez, E., & Gómez, N. (compiladores). En: Técnicas de monitoreo para ecosistemas fluviales de la Argentina (pp. 154). CONICET.

Metz, S., Huber, P., Accattatis, V., Lopes dos Santos, A., Bigeard, E., Unrein, F., Chambouvet, A., Not, F., Lara, E., Devercelli, M. (2022) Freshwater protists: unveiling the unexplored in a large floodplain system. *Environmental Microbiology* 24 (4): 1731-1745.

Metz, S., Huber, P., Mateus-Barros, E., Junger, P. C., de Melo, M., Bagatini, I. L., Izaguirre, I., Câmara dos Reis, M., Llamas, M., Accattatis, V., ... & Sarmiento, H. (2022). A georeferenced rRNA amplicon database of aquatic microbiomes from South America. *Scientific Data*, 9(1), 565.

Índice

Abreviaturas y símbolos	7
Resumen.....	9
Abstract.....	11
Introducción general	13
Objetivo general.....	17
Objetivos específicos	17
CAPÍTULO 1: Árboles de referencia de Dinophyceae y Gonyaulacales y clasificación de secuencias ambientales	
INTRODUCCIÓN	19
MATERIALES Y MÉTODOS	22
1. Construcción del árbol de referencia del gen 18S ARNr del grupo <i>Dinophyceae</i>	22
2. Clasificación de secuencias ambientales del grupo Dinophyceae por diferentes métodos bioinformáticos	24
3. Construcción del árbol de referencia del orden Gonyaulacales	28
4. Clasificación de secuencias ambientales asignadas como Gonyaulacales por diferentes métodos bioinformáticos.....	29
RESULTADOS.....	30
1. Árbol de referencia del grupo <i>Dinophyceae</i>	30
2. Clasificación de secuencias ambientales.....	32
3. Construcción del árbol de referencia del orden Gonyaulacales	39
4. Clasificación de secuencias ambientales.....	41
DISCUSIÓN	48
CAPÍTULO 2: Distribución mundial de <i>Ceratium</i> y análisis de sus preferencias ambientales	
INTRODUCCIÓN	56
MATERIALES Y MÉTODOS	58
1. Construcción de la base de datos	58
2. Análisis de distribución global.....	59
3. Desarrollo de la plataforma web	59
RESULTADOS.....	61
DISCUSIÓN	68
CAPÍTULO 3: Filogenia y diversidad de las poblaciones de <i>Ceratium</i> a nivel global	
INTRODUCCIÓN	74

MATERIALES Y MÉTODOS	75
1. Filogenia de <i>Ceratium</i>	75
2. Cálculo de estadísticos por clado	80
3. Diversidad genética del gen 18S de las especies de <i>Ceratium</i>	81
4. Distribución de secuencias del gen 18S de <i>Ceratium</i>	82
RESULTADOS.....	82
1. Filogenia de <i>Ceratium</i>	82
2. Análisis por clados	88
3. Diversidad genética de las especies de <i>Ceratium</i>	91
4. Distribución de secuencias de <i>Ceratium</i>	92
5. Diferencias entre clados del árbol filogenético	94
DISCUSIÓN	95
CAPÍTULO 4: Ensamblaje de comunidades con dominancia de la especie invasora <i>Ceratium furcoides</i> _Toc201353023	
INTRODUCCIÓN	101
MATERIALES Y MÉTODOS	103
1. Área de estudio.....	103
2. Mediciones y clasificación de organismos del fitoplancton en GFBM	105
3. Cálculo de curvas de rendimiento térmico y estimación del <i>fitness</i>	106
RESULTADOS.....	107
1. <i>Ceratium furcoides</i> y otras especies flageladas del fitoplancton	107
2. Rasgos funcionales de especies dentro del mismo grupo: <i>C. furcoides</i> y otras especies de GFBM V	108
3. <i>Fitness</i> de especies dentro del mismo grupo: <i>C. furcoides</i> y otras especies del GFBM V	110
4. <i>Fitness</i> de especies de diferente grupo: GFBM V y VII	112
DISCUSIÓN	114
CAPÍTULO 5: Predicción de la distribución potencial de <i>Ceratium</i> en Sudamérica	
INTRODUCCIÓN	120
MATERIALES Y MÉTODOS	121
RESULTADOS.....	124
DISCUSIÓN	128
CONCLUSIONES FINALES.....	131
Desafíos y perspectivas futuras	134

BIBLIOGRAFÍA	136
ANEXOS	170
Sección A1	170
Sección A2.....	174
Sección A3.....	195
Sección A4.....	208

Abreviaturas y símbolos

Capítulo 1

ADN: Ácido Desoxirribonucleico
ARNr: Ácido Ribonucleico Ribosomal
ASV: Amplicon Sequence Variant
BLAST: Basic Local Alignment Search Tool
EDPL: Expected Distance between Placement Locations
EPA: Evolutionary Placement Algorithm
LWR: Likelihood Weight Ratio
PR²: Protist Ribosomal Reference

Capítulo 2

ETC: Extracción, Transformación y Carga
FAN: Floraciones Algales Nocivas

Capítulo 3

II: Diversidad nucleotídica
AMOVA: Análisis de Varianza Molecular
D: D de Tajima
ENA: European Nucleotide Archive
Fs: Fs de Fu
Fst: Índice de fijación
GC: Guanina-Citosina
MCMC: Monte Carlo Markov Chains
N: Número de secuencias
SI: Sitios Idénticos
S: Número de sitios segregantes
TCS: Templeton, Crandall y Sing (1992)

Capítulo 4

ρ : correlación de Spearman
Ea: Energía de activación

Eh: Energía de desactivación a altas temperaturas

k: Constante de Boltzmann

$\mu_{\max}$: Tasa de crecimiento

T: Temperatura en Kelvin

T_c: Temperatura de estandarización

Th: Temperatura a la cual la mitad de las enzimas están activas y la otra mitad se encuentra inhibida por altas temperaturas

*R**: indicador de aptitud

CRT: Curva de Rendimiento Térmico

GFBM: Grupos Funcionales Basados en Morfología

LRT: Likelihood Ratio

MAC: *Microcystis aeruginosa* complex

MLD: Dimensión Lineal Máxima

S: Área Superficial

V: Volumen Individual

Capítulo 5

AUC: Area Under the Curve

SDMs: Species Distribution Models

VIF: Variance Inflation Factor

Resumen

Los dinoflagelados conforman un grupo diverso de protistas ampliamente distribuidos en ambientes acuáticos, tanto marinos como continentales. Desempeñan roles ecológicos fundamentales como productores primarios, simbioses y, en algunos casos, como parásitos. A pesar de su relevancia ecológica y evolutiva, su filogenia sigue siendo motivo de debate, ya que aún no se ha alcanzado un consenso sobre las relaciones evolutivas entre los principales linajes del grupo. En particular, el género *Ceratium* Schrank, 1793 incluye microorganismos planctónicos de agua dulce capaces de formar floraciones masivas no tóxicas, que, sin embargo, pueden provocar importantes problemas ecológicos y económicos, como la mortandad de peces y otros organismos acuáticos, así como la obstrucción de filtros en plantas potabilizadoras de agua. La expansión de *Ceratium* hacia nuevos ambientes ha generado creciente preocupación debido a sus posibles impactos sobre la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, especialmente en Sudamérica, donde su avance ha incrementado notablemente en las últimas décadas. No obstante, la información disponible sobre estos organismos en la bibliografía sigue siendo muy limitada.

Esta tesis aborda un estudio integrador del género *Ceratium* que combina herramientas moleculares y filogenéticas, bases de datos, análisis ecológicos y modelos predictivos de distribución de especies. Este trabajo está organizado en cinco Capítulos que abordan diferentes escalas de análisis, desde la construcción de árboles filogenéticos de referencia para el grupo Dinophyceae hasta la predicción de la distribución potencial de las principales especies de *Ceratium* presentes en Sudamérica.

Entre los principales resultados, se logró construir un árbol filogenético de referencia para el grupo Dinophyceae y el orden Gonyaulacales, los cuales permitieron evaluar y comparar métodos de clasificación de secuencias ambientales. Además, se desarrolló una plataforma web interactiva que reúne registros globales exclusivamente del género *Ceratium*, integrando datos provenientes de la bibliografía junto con registros inéditos. A partir de esta base de datos, se realizaron diversos análisis en función de las variables ambientales asociadas a cada registro, lo que permitió obtener conclusiones generales sobre las preferencias ambientales de las especies de *Ceratium*. También se construyó un árbol filogenético con más de 340 secuencias del gen 18S ARNr de *Ceratium*, en el que se evidenció una gran variabilidad genética dentro del género, permitiendo identificar nueve clados bien diferenciados y patrones geográficos en las poblaciones. Complementariamente, se utilizó la metodología de la red de haplotipos con el propósito de explorar las similitudes y diferencias entre secuencias parciales del gen 18S originarias de diversas partes del mundo. Este análisis reveló la existencia de dos regiones claramente diferenciados dentro de la red: una correspondiente a los nodos que reunían secuencias de *C. furcoides* y otra región únicamente compuesta por secuencias de *C. hirundinella*. A partir de este ordenamiento, se pudo observar que *C. hirundinella*

mostró una mayor dispersión de secuencias, lo que podría indicar una población más diversa o estructurada, mientras que las secuencias de *C. furcoides* se agruparon en torno a un nodo central conectado con múltiples nodos menores a pocos pasos mutacionales, lo que sugiere una expansión reciente a partir de un grupo de secuencias ancestrales de diferentes regiones geográficas.

En cuanto a los resultados ecológicos, se observó que la alternancia en la dominancia entre *C. furcoides* y las cianobacterias estuvo relacionada con el uso de nichos diferenciados. A su vez, las especies del Grupo Funcional Basado en Morfología (GFBM) V resultaron dominantes en ambientes con características similares. Dentro de este grupo funcional, *C. furcoides* evidenció una mayor aptitud biológica bajo condiciones de bajo recambio de agua (*low flushing*) y alta presión de depredación, ventaja atribuida a una combinación distintiva de rasgos funcionales. Finalmente, se encontró que *C. hirundinella* tuvo una magnitud de expansión menor en Sudamérica en comparación con *C. furcoides*; sin embargo, su invasión en el continente comenzó antes. En tan solo una década, entre 2002 y 2012, *C. furcoides* expandió rápidamente su rango de distribución, invadiendo aproximadamente el 70% del territorio sudamericano. Como resultado, las áreas más susceptibles a la presencia de *C. furcoides* se ubicaron principalmente a lo largo de la región costera de Brasil y en países vecinos. En contraste, las zonas de mayor susceptibilidad para *C. hirundinella* se concentraron en el oeste de Argentina y Chile, en concordancia con las preferencias ambientales identificadas en nuestros análisis.

En conclusión, esta tesis aporta conocimiento novedoso y significativo sobre la diversidad, distribución y ecología del género *Ceratium*, destacando su capacidad como invasor y su rol ecológico en los ecosistemas de agua dulce en Sudamérica. Los resultados obtenidos no solo enriquecen el conocimiento actual sobre estas especies, sino que también ofrecen una base sólida para futuras investigaciones orientadas a comprender su dinámica poblacional y sus implicancias ecológicas en el contexto de los cambios ambientales globales.

Abstract

Dinoflagellates comprise a diverse group of protists widely distributed in aquatic environments, both marine and freshwater. They play essential ecological roles as primary producers, symbionts, and, in some cases, as parasites. Despite their ecological and evolutionary importance, their phylogeny remains a subject of debate, as no consensus has yet been reached regarding the evolutionary relationships among the group's main lineages. In particular, the genus *Ceratium* Schrank, 1793 includes freshwater planktonic microorganisms capable of forming massive non-toxic blooms that can nevertheless cause significant ecological and economic problems, such as fish kills and the mortality of other aquatic organisms, as well as the clogging of filters in water treatment plants. The expansion of *Ceratium* into new environments has raised growing concerns due to its potential impacts on biodiversity and the functioning of aquatic ecosystems, especially in South America, where its spread has increased notably in recent decades. However, the available information on these organisms in the scientific literature remains very limited.

This thesis presents an integrative study of the genus *Ceratium* combining molecular and phylogenetic tools, databases, ecological analyses, and predictive species distribution models. The work was structured into five chapters addressing different scales of analysis, ranging from the construction of reference phylogenetic trees for the group Dinophyceae to the prediction of the potential distribution of the main *Ceratium* species present in South America.

Among the main results, a reference phylogenetic tree was constructed for Dinophyceae and the order Gonyaulacales, allowing the evaluation and comparison of environmental sequence classification methods. Additionally, an interactive web platform was developed, gathering global records exclusively of the genus *Ceratium*, integrating both data from the literature and unpublished records. Based on this database, several analyses were conducted considering the environmental variables associated with each record, which allowed us to draw general conclusions about the environmental preferences of *Ceratium* species. A phylogenetic tree including more than 340 sequences of the 18S rRNA gene of *Ceratium* was also constructed, revealing significant genetic variability within the genus and identifying nine well-differentiated clades and geographic patterns in the populations. Complementarily, the haplotype network methodology was used to explore the similarities and differences among partial 18S gene sequences originating from various parts of the world. This analysis revealed the presence of two clearly differentiated regions within the network: one corresponding to nodes grouping sequences of *C. furcoides*, and another composed exclusively of *C. hirundinella* sequences. Based on this arrangement, it was observed that *C. hirundinella* exhibited greater sequence dispersion, which could indicate a more diverse or structured population, whereas *C. furcoides* sequences clustered around a central node connected to multiple minor

nodes separated by few mutational steps, suggesting a recent expansion from a group of ancestral sequences from different geographic regions.

Regarding the ecological results, it was observed that the alternation in dominance between *C. furcoides* and cyanobacteria was related to the use of differentiated niches. In turn, species belonging to MBFG V were dominant in environments with similar characteristics. Within this functional group, *C. furcoides* showed higher fitness under low flushing conditions and high predation pressure, an advantage attributed to a distinctive combination of functional traits. Finally, it was found that *C. hirundinella* exhibited a smaller expansion magnitude in South America compared to *C. furcoides*; however, its invasion of the continent began earlier. In just a decade, between 2002 and 2012, *C. furcoides* rapidly expanded its distribution range, invading approximately 70% of South America's territory. As a result, the areas most susceptible to the presence of *C. furcoides* were mainly located along Brazil's coastal region and neighboring countries. In contrast, the zones of greatest susceptibility for *C. hirundinella* were concentrated in western Argentina and Chile, consistent with the environmental preferences identified in our analyses.

In conclusion, this thesis provides novel and significant knowledge about the diversity, distribution, and ecology of the genus *Ceratium*, highlighting its invasive potential and ecological role in freshwater ecosystems in South America. The results obtained not only enhance the current understanding of these species but also offer a solid foundation for future research aimed at understanding their population dynamics and ecological implications in the context of global environmental changes.

Introducción general

Las especies exóticas invasoras son aquellas cuya presencia en una región es consecuencia directa de la acción humana, ya sea accidental o intencional, lo que les permite superar las barreras biogeográficas y expandirse más allá de su rango nativo (Richardson et al. 2011; Thomaz et al. 2015; Essl et al. 2019). Estos organismos establecen poblaciones que pueden expandirse, generando impactos negativos en el ambiente, la economía y la salud humana. Su éxito en invadir nuevos hábitats y desplazar especies nativas se asocia comúnmente a la ausencia de reguladores biológicos naturales que incluyen depredadores, parásitos y parasitoides, su alta adaptabilidad ecológica y una elevada tasa de reproducción o rasgos que le confieren ventajas para ello (Richardson et al. 2000; Keane & Crawley 2002; Blackburn et al. 2011). En los sistemas acuáticos, la proliferación de estas especies invasoras se ve favorecida por múltiples factores, muchos de los cuales se intensifican con las alteraciones humanas, tales como la contaminación, la construcción de presas, la interrupción de la conectividad y otros proyectos de ingeniería (Vidal & Kruk 2008; Paerl & Huisman 2009; Moss et al. 2011). Al establecerse en un nuevo entorno, estas especies alteran el funcionamiento del ecosistema, modificando las tramas tróficas mediante la introducción de nuevas interacciones con las especies locales (Simberloff 2011; Gallardo et al. 2016). En ciertos casos, estos cambios pueden llevar a la pérdida de biodiversidad, tanto a nivel local como regional. De hecho, se ha señalado que las especies invasoras representan una de las principales causas de extinción de especies, lo que constituye uno de sus efectos más preocupantes (Bellard et al. 2016; Blackburn et al. 2019; Mollot et al. 2017).

A diferencia de las especies invasoras de plantas y animales, los microorganismos invasores han sido menos estudiados, pese a que se ha observado que el cambio climático y las alteraciones en el uso del suelo ampliaron el rango de su expansión (Bellard et al. 2013, 2018).

Litchman (2010) define a las especies invasoras del fitoplancton como aquellas que proliferan en un nuevo rango de condiciones ambientales e impactan sobre las comunidades locales. La gran mayoría de los estudios de estos organismos se desarrollaron en ambientes marinos y los procesos de invasión se asocian generalmente a la contaminación por agua de lastre (Carlton 2009; Bailey et al. 2015; Hyun et al. 2017; Kraus 2023). En los ecosistemas de agua dulce, el tema se ha abordado más recientemente. Algunos ejemplos son los casos de la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* (Padisak 1997; Piccini et al. 2011; Antunes et al. 2015), la rafidofita *Gonyostomum semen* (Lebret et al. 2015; Sassenhagen et al. 2015), o de la diatomea *Didymosphenia geminata* (Kilroy & Unwin 2011; Jaramillo et al. 2015; Ladrera et al. 2018).

Dentro del grupo de los dinoflagelados, numerosas especies invasoras han sido introducidas en distintas regiones del mundo a través del agua de lastre de los barcos (Casas-Monroy et al. 2011; Garrett et

al. 2014; Hyun et al. 2016; Shang et al. 2024). Dado que algunos dinoflagelados pueden formar quistes de resistencia en condiciones desfavorables y precipitar al fondo de los tanques de lastre, es probable que su abundancia en los sedimentos sea mayor que en el plancton o en el biofilm (Doblin et al. 2007; Shang et al. 2019).

Uno de los casos más destacados de dinoflagelados invasores es el género *Ceratium*, que ha logrado superar las barreras osmóticas de la salinidad e invadir ambientes continentales en distintas regiones del mundo (Logares et al. 2007). La ampliación de su distribución geográfica podría estar relacionada con un proceso de expansión de nicho, lo que le ha permitido adaptarse a condiciones más allá de su distribución original (Rojas-Castillo et al. 2023). A pesar del creciente interés que ha despertado este fenómeno, aún persisten interrogantes clave, entre ellos el origen geográfico de estas especies. Determinar con precisión dicho origen continúa siendo un desafío. Los primeros registros conocidos, correspondientes a *Bursaria hirundinella*, se observaron en Dinamarca (Müller 1773), y posteriormente el género *Ceratium* fue descrito a partir de muestras provenientes de ambientes de Baviera, Alemania. Por esta razón, se ha generalizado la idea de que *Ceratium* es nativo de Europa (Macêdo et al. 2021a), aunque hasta el momento no existe evidencia concluyente que lo confirme.

Ceratium puede encontrarse en alta biomasa en los ambientes acuáticos dada su capacidad de producir floraciones. Se lo ha clasificado dentro de las Floraciones Algales Nocivas (FANs o HABs por las siglas en inglés de “Harmful Algal Blooms”). Estas floraciones están compuestas por algas tóxicas que pueden producir la muerte de diferentes organismos; y también por algas no tóxicas como es el caso de *Ceratium* (cuya toxicidad aún no ha sido confirmada) que ocasionan problemas ambientales como mortandades de peces y otros animales debido a la disminución de oxígeno o anoxia resultante del consumo bacteriano, obstrucción de filtros en plantas de potabilización del agua, olores y sabores desagradables en el agua potable, entre otros (Nicholls et al. 1980; Bazán et al. 2007; Hart & Wragg 2009; Pacheco et al. 2021). Como resultado, son consideradas perjudiciales en los programas de monitoreo de cuencas destinadas al consumo público (Hart & Wragg 2009; Ewerts et al. 2013). Sumado a esto, presenta rasgos que lo hacen tener un gran éxito invasor en nuevos ambientes: la producción de quistes de resistencia en condiciones ambientales desfavorables, mixotrofia, evasión del pastoreo por su gran tamaño en relación al resto de las microalgas y por su forma (Logares et al. 2007; Cavalcante et al. 2016; Pacheco et al. 2021).

Sudamérica es una de las regiones donde este género se encuentra mayormente distribuido y actualmente en proceso de expansión. Las especies que se han registrado más frecuentemente, identificadas en base a rasgos morfológicos son: *Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Dujardin 1841 y *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925. Ambas se encuentran realizando procesos diferentes de dispersión: *C. hirundinella* parece ampliar su distribución desde el sur de Argentina hacia el norte (Thomasson 1963;

Boltovskoy 2005; Silverio et al. 2009), mientras que *C. furcoides* parece hacerlo más tardíamente desde Colombia y Brasil hacia el sur (Boltovskoy et al. 2013; Cavalcante et al. 2016).

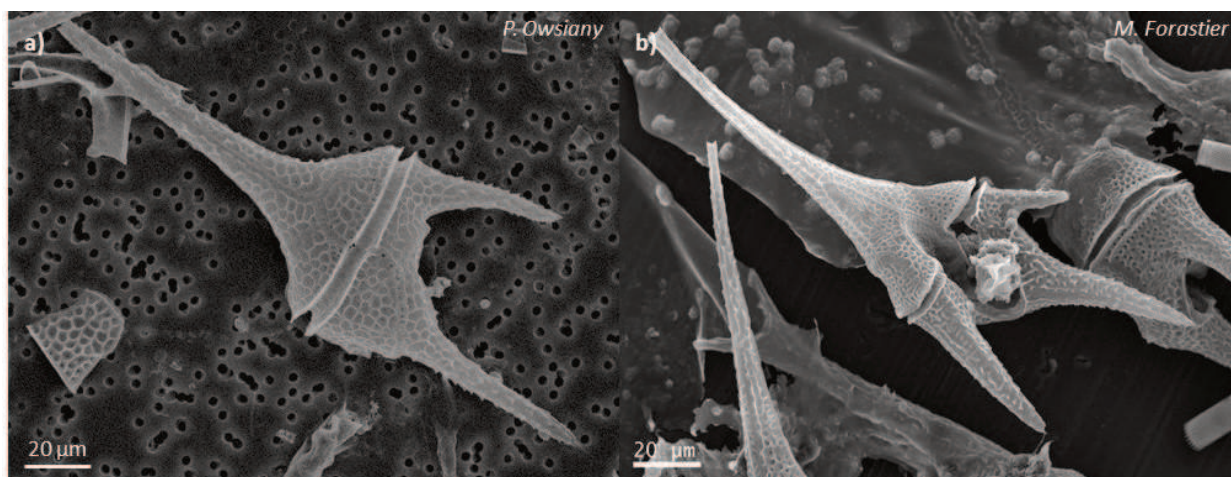


Figura 1. Imágenes de las especies de *Ceratium* en las que se centra la presente tesis doctoral. (a) *Ceratium hirundinella* y (b) *Ceratium furcoides*. Ambas imágenes fueron obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Fotografías: Pawel Owsiany y Marina Forastier.

Es de vital importancia generar conocimiento sobre estos organismos que aún se encuentran poco estudiados y escasamente representados en las bases de datos moleculares, a pesar de que es muy frecuente encontrarlos en ambientes dulceacuícolas de todo el mundo (Carty 1993; Bustamante Gil et al. 2012; Eyo et al. 2013; Katsiapi et al. 2013; Gao et al. 2019; Pearman et al. 2022). Una de las formas más rápidas y eficientes para contribuir con el descubrimiento de la diversidad microbiana en un ecosistema, es mediante la secuenciación masiva (o *high throughput sequencing*, HTS) de muestras de ADN ambiental (ej. *Illumina MiSeq*), a partir de la cual se obtienen secuencias de aproximadamente 550 pb (Di Bella et al. 2013; Reuter et al. 2015). Esta tecnología ha permitido la identificación de una gran diversidad de organismos en comunidades complejas sin necesidad de cultivos previos, y también permitió la detección temprana de especies que se encontraban en bajas densidades. Gracias a su capacidad de generar grandes volúmenes de datos de manera rápida y relativamente económica, HTS ha sido aplicada en estudios de metagenómica, transcriptómica y microbiomas, permitiendo una comprensión más profunda de los ecosistemas y su biodiversidad. Además, la mejora continua de las plataformas de secuenciación y los avances en la bioinformática han incrementado la precisión y la resolución de los análisis, lo que facilita la detección de especies raras o poco abundantes y la identificación de nuevas especies aún no descritas.

En este contexto, conocer las características de los organismos y comprender los mecanismos ecológicos que favorecen la invasión de *Ceratium* es información que resulta clave para poder evaluar sus impactos y desarrollar estrategias de monitoreo y manejo. En la presente tesis doctoral se busca analizar la

expansión de *Ceratium* desde diferentes enfoques, abordados en cinco Capítulos (Figura 2) con el fin de avanzar en la comprensión de los mecanismos ecológicos y de distribución que subyacen a su éxito invasor, así como en el conocimiento de aspectos evolutivos y filogenéticos de los dinoflagelados en general.

En el **primer Capítulo** de esta tesis se presenta un árbol filogenético de referencia para el grupo de los dinoflagelados construido en base a secuencias de genes concatenados (18S+ITS1+5.8S+ITS2+28S) junto con secuencias del gen 18S. A partir de este árbol y su alineamiento de referencia, se evalúan diferentes métodos de clasificación de secuencias ambientales. Sumado a esto, debido a la pertenencia del género *Ceratium* al orden Gonyaulacales, se construye el árbol de referencia para este grupo y se comparan diferentes métodos de clasificación de secuencias cortas pertenecientes al mismo.

En el **segundo Capítulo** se explora la distribución mundial de diferentes especies de *Ceratium* a partir de la creación de una plataforma web interactiva y actualizable ([Ceratium tracker](#)), y se construye una base de datos que incorpora registros de la bibliografía y registros nuevos de estos organismos. A partir de esta información, elaboran conclusiones globales sobre los ambientes donde se desarrolla este género, y comparaciones entre las preferencias ambientales generales de las dos especies más frecuentes: *C. furcoides* y *C. hirundinella*.

El **tercer Capítulo** se centra en analizar la variabilidad de diferentes poblaciones de *Ceratium* a nivel global, principalmente a partir de la reconstrucción de la filogenia de secuencias cortas del gen 18S ARNr. Con este árbol, e incorporando el origen geográfico de las secuencias, se reconocen los patrones generales de la distribución actual de este género y estructura genética.

En el **cuarto Capítulo** se abordan los procesos involucrados en la dominancia de *C. furcoides* en el ensamblaje comunitario a partir de paradigmas de neutralidad y nicho. Se utilizan aproximaciones basadas en rasgos y grupos funcionales para definir el nicho y se estima el *fitness* a fin de indagar en los mecanismos que facilitan las invasiones.

Finalmente, en el **quinto Capítulo** se presentan los modelos de distribución potencial en Sudamérica para las dos especies mayormente distribuidas: *C. furcoides* y *C. hirundinella*, y se elaboran mapas que permiten predecir las áreas de mayor susceptibilidad a la invasión de ambas especies

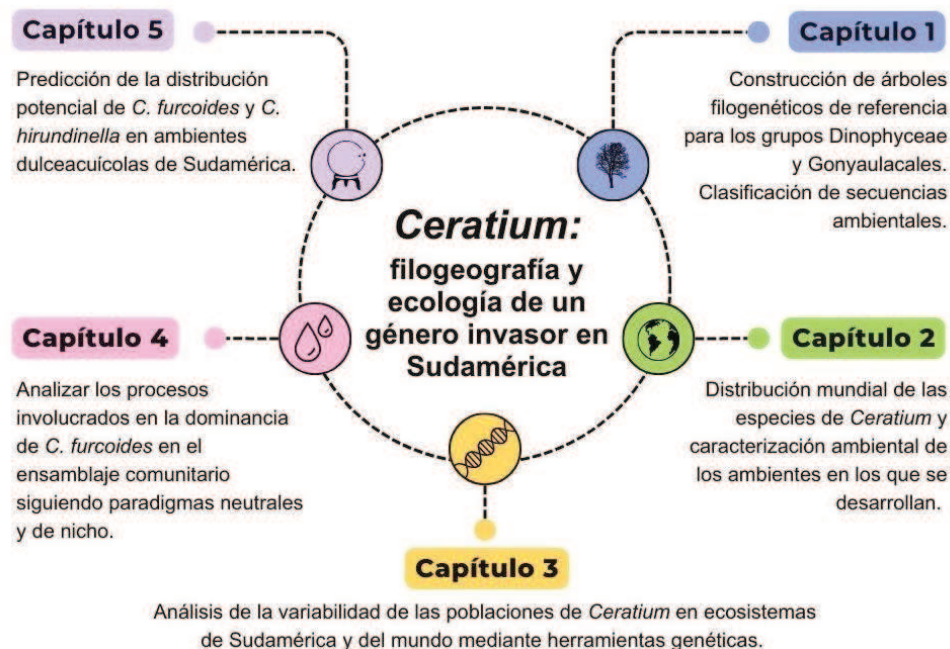


Figura 2. Organización y temática de cada uno de los Capítulos que componen la presente tesis.

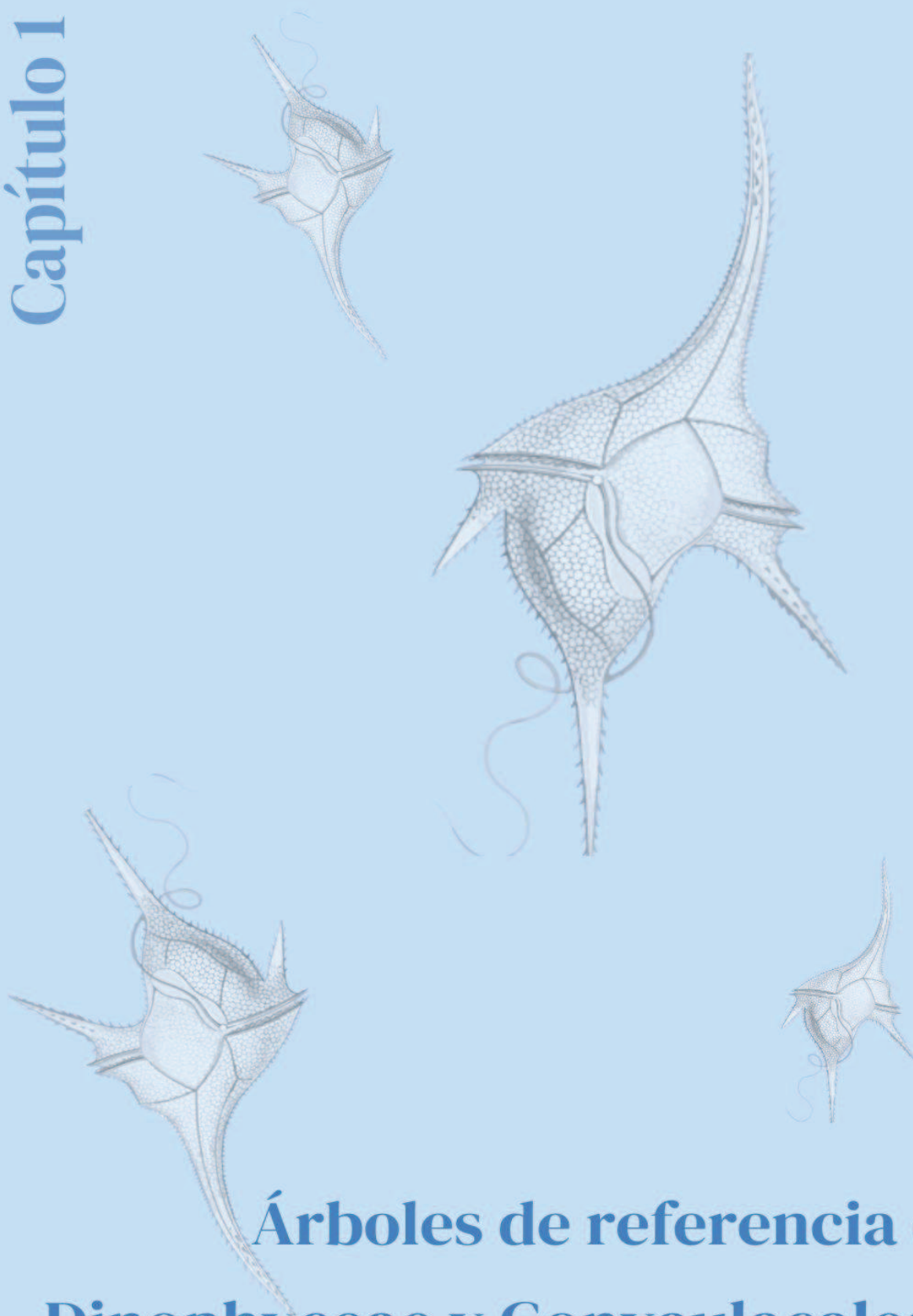
Objetivo general

Analizar los distintos aspectos involucrados en la expansión geográfica del género *Ceratium* en Sudamérica.

Objetivos específicos

- 1) Contribuir a la clasificación de secuencias ambientales asignadas al grupo Dinophyceae mediante su posicionamiento filogenético en árboles de referencia y su comparación con una base de datos de referencia
- 2) Explorar la distribución mundial de las especies de *Ceratium* y las principales características de los ambientes en los que se desarrollan.
- 3) Analizar la diversidad de secuencias del gen 18S de poblaciones de *Ceratium* en ecosistemas de Sudamérica y del mundo mediante herramientas genéticas.
- 4) Analizar los procesos que intervienen en la dominancia de *Ceratium furcoides* dentro del ensamblaje comunitario, a partir de paradigmas de neutralidad y nicho.
- 5) Predecir la distribución potencial de *C. furcoides* y *C. hirundinella* en ambientes dulceacuícolas de Sudamérica mediante la aplicación de modelos de distribución de especies (SDMs).

Capítulo 1



**Árboles de referencia de
Dinophyceae y Gonyaulacales y
clasificación de secuencias
ambientales**

INTRODUCCIÓN

Los dinoflagelados (subphylum Dinoflagellata, phylum Dinzoa) son un grupo evolutivamente diverso y monofilético, con un extenso registro fósil que se remonta a varios cientos de millones de años (Graham & Wilcox 2000), lo que respalda la teoría de que su origen se sitúa en las primeras etapas de la evolución eucariota (Spector 2012). Filogenéticamente, se encuentran estrechamente relacionados con los ciliados y los apicomplexos, formando el clado Alveolata (Cavalier-Smith 1998; Bachvaroff et al. 2014). Según la clasificación taxonómica de Adl et al. (2012), Dinoflagellata está conformado por el orden Noctilucales Haeckel 1894, caracterizado por organismos unicelulares móviles de vida libre, heterótrofos y con capacidad de producir bioluminiscencia; y la clase Dinophyceae Pascher 1914, constituida por organismos en los cuales la membrana celular presenta alvéolos (vesículas), tienen la capacidad de producir quistes de resistencia, y presentan sus cromosomas permanentemente condensados durante todo el ciclo de vida. A pesar de ser uno de los grupos eucariotas marinos más abundantes en los océanos del mundo (de Vargas et al. 2015), los análisis filogenéticos de dinoflagelados han incluido pocos taxones o se han basado en un pequeño conjunto de marcadores filogenéticos (Oldach et al. 2000; Orr et al. 2012; Bachvaroff et al. 2014). Los genes nucleares que codifican para el ARN ribosomal (ARNr), particularmente en el gen 18S, parecen ser los más confiables para determinar las relaciones filogenéticas en este grupo (Ott et al. 2022). También se han utilizado otros genes, como por ejemplo los mitocondriales *cox1*, *cob*, y *hsp90* (Zhang et al. 2005; Murray et al. 2009; Raho et al. 2013). Por el contrario, los genes cloroplastídicos como *rbcL*, ampliamente utilizados en otros linajes del fitoplancton, no son totalmente adecuados para los dinoflagelados debido a la existencia de numerosas especies no fotosintéticas, la adquisición independiente de estos plástidos en varios linajes y la particular estructura del genoma cloroplastídico en comparación a otros organismos, en forma de minicírculos con unos pocos genes (Howe et al. 2008; Keeling 2010).

Al igual que muchos otros linajes protistas, los dinoflagelados tienen su origen en los océanos primitivos (Kretschmann et al. 2018; Riding et al. 2022), colonizando posteriormente los cuerpos de agua dulce. Desde una perspectiva filogenética, los dinoflagelados dulceacuícolas son un grupo heterogéneo que han realizado numerosas transiciones de los ambientes marinos a los continentales (Logares et al. 2007; Žerdoner Čalasan et al. 2019). Por esta razón, este grupo cuenta con representantes que habitan en ambos tipos de ambientes. Las relaciones filogenéticas entre los dinoflagelados marinos y los de agua dulce han sido durante mucho tiempo inciertas (Boltovskoy 1999), pero recientemente se han encontrado estrechas relaciones entre especies de ambos grupos, evidenciando transiciones recientes entre ambos hábitats (Annenkova et al. 2015, 2020). En contraste, también se ha encontrado un gran número de especies de dinoflagelados de agua dulce más cercanamente relacionadas con otras especies dulceacuícolas que con especies marinas (Logares et al. 2007). Sin embargo, la mayoría de las filogenias moleculares incluyen solo un pequeño número de dinoflagelados de agua dulce (Murray et al. 2005; Hoppenrath & Leander 2010;

Bachvaroff et al. 2014), lo que ha aportado poco a la clarificación de sus posiciones filogenéticas. Actualmente, existen 65 géneros y 350 especies de dinoflagelados dulceacuícolas definidas a partir de su morfología (Moestrup & Calado 2018), que habitan ambientes con un amplio rango de temperaturas, salinidad, pH, nutrientes y materia orgánica.

A lo largo del tiempo, se han descubierto nuevas especies dentro de Dinophyceae y la clasificación taxonómica ha experimentado varios cambios. Estos avances fueron inicialmente impulsados por revisiones taxonómicas y, más recientemente, complementados por estudios moleculares (Chinain et al. 2002; Leaw et al. 2010; Li et al. 2020; Zhang et al. 2020; Selina et al. 2023). Pese a esto, la filogenia de este grupo está lejos de ser resuelta y aún existe mucha incertidumbre en su taxonomía, con géneros o familias que no se clasifican dentro de un orden (*Dinophyceae* incertae sedis) o que presentan una clasificación diferente dependiendo del/la autor/a y/o el marcador molecular utilizado para reconstruir su filogenia. Independientemente de estos antecedentes, existe un consenso general sustentado por numerosos trabajos que distinguen seis órdenes principales: Peridinales, Gymnodinales, Prorocentrales, Dinophysiales, Suessiales y Gonyaulacales (Orr et al. 2012; Gottschling et al. 2019). En la presente tesis, se siguió la clave taxonómica publicada en Adl et al. (2012) para clasificar los géneros de Dinophyceae en los diferentes órdenes (Tabla A1).

Particularmente, el orden Gonyaulacales está compuesto principalmente por organismos marinos, aunque también incluye ocho especies de agua dulce ampliamente distribuidas a nivel global (Moestrup & Calado 2018). Siete de ellas pertenecen al género *Ceratium*, considerado invasor en diversas regiones del mundo y uno de los pocos géneros que ha realizado una transición exitosa de ambientes marinos a agua dulce, superando las barreras osmóticas impuestas por la salinidad (Logares et al. 2007; Masure et al. 2013). A pesar de esta transición, *Ceratium* mantiene una estrecha relación filogenética con el género marino *Tripes* (Logares et al. 2007), aunque diferenciándose en otro clado con un alto soporte estadístico (Gottschling et al. 2019; Accattatis et al. 2020). Inicialmente, las especies del género *Tripes* fueron clasificadas dentro del género *Ceratium*, junto con las especies de agua dulce (Saldarriaga et al. 2004). Posteriormente, las especies marinas se reubicaron en el género *Neoceratium* (Gómez et al. 2010) y, finalmente, en *Tripes* (Gómez 2013), donde permanecen hasta la actualidad. El género *Ceratium* quedó reservado exclusivamente para las especies de agua dulce, clasificación que sigue vigente (Moestrup & Calado 2018). Dentro de la filogenia de los dinoflagelados, el clado *Ceratium-Tripes* forma un grupo monofilético, estrechamente relacionado con las especies marinas del género *Alexandrium* (Orr et al. 2012; Gottschling et al. 2020; Ott et al. 2022). No obstante, muchas relaciones filogenéticas dentro del grupo siguen siendo inciertas, especialmente debido a la escasez de datos moleculares para varias especies. En este contexto, la secuenciación de ADN ambiental (eDNA) ha emergido como una herramienta poderosa para caracterizar la diversidad microbiana, incluyendo dinoflagelados, a partir de muestras ambientales.

El ADN ambiental es el material genético de los organismos que puede extraerse de distintas matrices del ambiente como suelo, agua e incluso aire (Barnes & Turner 2015) sin necesidad de aislar o cultivar a los organismos. A partir de dicho material, es posible obtener fragmentos de ADN en función de los oligonucleótidos (*primers*) que se utilicen, tras la amplificación por PCR de regiones genéticas específicas y su posterior secuenciación mediante plataformas de secuenciación masiva. Esta estrategia ha revolucionado el estudio de la diversidad microbiana, ya que permite caracterizar comunidades completas de organismos, muchos de los cuales no son fácilmente cultivables (Shendure & Ji 2008; Shokralla et al. 2012) e incluso se ha aplicado en el estudio de la dinámica ecológica de poblaciones, comunidades y ecosistemas a escalas temporales (Bálint et al. 2018).

Una vez obtenidas, la evidencia sugiere que la información molecular contenida en fragmentos específicos del genoma es adecuada para la caracterización taxonómica de comunidades microbianas (Liu et al. 2008; Huse et al. 2008). Sin embargo, es importante seleccionar regiones de genes que tengan la suficiente variabilidad para diferenciar a los organismos en el nivel taxonómico deseado. La asignación taxonómica de estas secuencias ambientales generalmente se realiza con diferentes programas o algoritmos como BLAST (Camacho et al. 2009), IDTAXA (Murali et al. 2018), SINTAX (Edgar 2016) o DADA2 (Callahan et al. 2016), que utilizan una base de datos de referencia para realizar una comparación nucleotídica de las secuencias. No obstante, la gran cantidad de lecturas y la diversidad de organismos capturados mediante secuenciación masiva generalmente permiten clasificaciones taxonómicas fiables solo hasta niveles más generales, como filo, clase u orden (Quast et al. 2013). El posicionamiento filogenético de secuencias en árboles de referencia es un método complementario que permite asignaciones taxonómicas más detalladas (Gottschling et al. 2019; Czech et al. 2022). Este método se ha empleado recientemente en proyectos de *barcoding* y biomonitoreo de protistas con buenos resultados (Medinger et al. 2010; Vergin et al. 2013; Elferink et al. 2017; Keck et al. 2018).

El objetivo de este Capítulo fue contribuir a la clasificación de secuencias ambientales asignadas al grupo Dinophyceae mediante su posicionamiento filogenético en árboles de referencia y su comparación con una base de datos de referencia. Esto permite mejorar la resolución taxonómica de las secuencias detectadas en el ambiente, y también ofrecer ventajas concretas para el monitoreo y manejo de especies invasoras. Conocer la ubicación filogenética de las secuencias obtenidas de muestras ambientales permite detectar tempranamente la presencia de linajes invasores, rastrear su posible origen y comprender su relación con rasgos ecológicos relevantes, como la afinidad por ciertas condiciones ambientales o la capacidad de formar floraciones. En este sentido, los árboles filogenéticos de referencia constituyen una herramienta útil para identificar las especies y los linajes involucrados y contar con información de base que facilite el diseño de estrategias de monitoreo y manejo más adecuadas para cada caso.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente Capítulo se construyeron dos árboles de referencia: uno del grupo *Dinophyceae* y otro del orden Gonyaulacales, al que pertenece el género *Ceratium*, objeto de estudio de esta tesis. A partir de ellos, se evaluaron diferentes métodos de clasificación basados en comparaciones nucleotídicas y posicionamiento filogenético (Figura A1).

En términos generales, el trabajo se estructuró en cuatro etapas:

- Construcción de un árbol filogenético de referencia para el grupo *Dinophyceae*.
- Clasificación de secuencias ambientales del grupo *Dinophyceae* con métodos nucleotídicos (BLAST, DECIPHER, USEARCH) y filogenéticos (EPA-ng).
- Construcción de un árbol filogenético de referencia para el orden Gonyaulacales.
- Clasificación de secuencias ambientales del orden Gonyaulacales con métodos nucleotídicos (BLAST, DECIPHER, USEARCH) y filogenéticos (EPA-ng), y comparación de la eficiencia de los diferentes métodos para la clasificación de la totalidad de las secuencias descargadas y aquellas reasignadas filogenéticamente.

La construcción de los árboles de referencia y la clasificación de secuencias ambientales se realizó utilizando el clúster PIRAYÚ (<https://cimec.org.ar/c3/pirayu/index.php>), perteneciente al Centro de Investigación de Métodos Computacionales, Centro Científico Tecnológico Santa Fe, Santa Fe, Argentina (CIMEC, CONICET-UNL). A continuación, se explica en detalle la metodología utilizada para ello.

1. Construcción del árbol de referencia del gen 18S ARNr del grupo *Dinophyceae*

Descarga de secuencias de bases de datos

Se tomó como punto de partida el árbol filogenético construido en el trabajo de Gottschling et al. (2019), constituido por 245 secuencias del grupo *Dinophyceae*. A partir de los códigos de acceso brindados por este trabajo, se descargaron de la base de datos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) las secuencias de todas las especies incluidas en el árbol, correspondientes a 3 regiones nucleares (18S; ITS1+5.8S+ITS2; 28S). Las secuencias descargadas de la base de datos Genbank fueron 233 del gen 18S, 225 secuencias del gen 28S y 184 secuencias de la porción ITS2+5.8S+ITS2, a partir de los códigos de accesos disponibles en la información suplementaria del trabajo de Gottschling et al. (2019).

Para enriquecer el árbol de referencia y aumentar la diversidad de secuencias 18S, se descargaron 2560 secuencias clasificadas en los órdenes Peridiniales, Gymnodiniales, Prorocentrales, Dinophysiales, Suessiales y Gonyaulacales de la base de datos PR² (Protist Ribosomal Reference; Guillou et al. 2012) versión 5.0.1. Esta base de datos de secuencias de referencia posee secuencias curadas del gen 18S (ARNr) principalmente de protistas, las cuales se encuentran cuidadosamente anotadas y clasificadas en ocho niveles taxonómicos, desde reino hasta especie. La descarga de las secuencias se realizó a través de los

paquetes “devtools” (Wickham et al. 2022) y “pr2database” (Vaulot 2023) en el software RStudio versión 2023.12.0.

Alineamiento de secuencias de GenBank

Las secuencias correspondientes a cada una de las tres regiones se alinearon por separado utilizando el programa MAFFT versión 7.453 (Katoh & Standley, 2013), mediante el algoritmo E-INS-i. Luego, se revisaron individualmente los alineamientos y se filtraron las secuencias con distintos criterios utilizando el paquete 'Biostrings' (Pages et al. 2013) en el software RStudio. Los criterios de filtrado aplicados fueron: longitud de secuencia ≥ 500 y número de gaps ≤ 100 .

Finalmente, se aplicó TrimAl v.1.2 (Capella-Gutiérrez et al. 2009) al alineamiento resultante con los siguientes parámetros de gt para cada uno de los alineamientos: 0,25 (18S), 0,40 (ITS1+5.8S+ITS2) y 0,35 (28S).

Una vez que se editaron los tres alineamientos, se procedió a concatenarlos para obtener un único alineamiento con las tres regiones del operón ribosomal. Para este fin, se utilizó el paquete “ape” (Paradis et al. 2019) en el software Rstudio, con la función *cbind* y el parámetro *fill.with.gaps=TRUE*. Este alineamiento estuvo constituido por 721 secuencias y un largo de 4262 posiciones. Se construyó una primera versión del árbol filogenético con este alineamiento y a partir del mismo, se realizó un último filtrado de secuencias basado en el largo de las ramas y secuencias repetidas.

Construcción de árbol filogenético con secuencias de GenBank

Se utilizó el alineamiento concatenado para construir el árbol filogenético con el programa IQtree (Nguyen et al. 2015) seleccionando los parámetros *-altr 1000*, *-bb 1000*, *-nt AUTO*, *-ntmax 20* y *-m MF* (para la detección automática de modelos con ModelFinder; Kalyaanamoorthy et al. 2017). Se utilizaron 10 secuencias como grupo externo, pertenecientes a los géneros *Toxoplasma*, *Theileria*, *Perkinsus*, *Amoebophrya*, *Euduboscquella* y *Noctiluca*. El árbol final se visualizó en la página Interactive Tree of Life (IToL, <https://itol.embl.de/>; Letunic & Bork 2019).

Filtrado de secuencias de la base de datos PR²

Para eliminar aquellas secuencias de baja calidad o incorrectamente asignadas al grupo *Dinophyceae*, se realizaron dos etapas de filtrado de las secuencias descargadas de PR². En primer lugar, se eliminaron aquellas secuencias con menos de 500 pb de largo y más de 100 gaps. Las secuencias restantes se agregaron al alineamiento concatenado con la función *--add* del software MAFFT, que permite agregar secuencias largas a un alineamiento ya construido. Luego, se utilizó el programa IQtree para construir el árbol filogenético con los parámetros *-m MF*, *1000 bootstraps*, y *-ntmax 20*. Se analizó el árbol filogenético

resultante y se eliminaron aquellas secuencias que caían fuera del orden al que pertenecían. Finalmente, se volvió a construir el árbol filogenético con las secuencias de PR² restantes, se observó en más detalle con el programa Figtree v1.4.4 y se eliminaron aquellas secuencias idénticas a las del trabajo de Gottschling et al. (2019) y las secuencias muy similares, dejando únicamente uno o dos representantes por especie.

Construcción del alineamiento final

Se agregaron las secuencias finales de PR² al alineamiento concatenado a través de la función `--add` y los parámetros `--keeplenght` y `--reorder` del software MAFFT.

Construcción del árbol de referencia final

El árbol filogenético final se construyó con el método de máxima verosimilitud implementado en el software RAxML-ng v.1.2.0 (Kozlov et al. 2019) con el modelo evolutivo GTR+I+G4, previamente seleccionado utilizando el software modeltest-ng v0.1.5 (<https://github.com/ddarriba/modeltest>), y aplicando los parámetros: `--all --seed 4321 --bs-trees 1000`. El árbol fue visualizado y editado en la página ITOL (<http://itol.embl.de>).

2. Clasificación de secuencias ambientales del grupo Dinophyceae por diferentes métodos bioinformáticos

Una vez obtenido el árbol de referencia para el grupo Dinophyceae, se incorporaron secuencias ambientales que no contaban con una asignación taxonómica clara. Para ello, se utilizaron un total de 3844 secuencias del grupo Dinophyceae descargadas del repositorio público de *metabarcodes* EukBank. Este repositorio pertenece al proyecto UniEuk (<https://unieuk.net/project/>), una iniciativa internacional cuyo propósito es desarrollar un marco taxonómico universal que sea flexible y adaptativo para los eucariotas. Se evaluaron cuatro métodos distintos de clasificación para determinar la eficiencia de cada uno en la asignación de estas secuencias ambientales, utilizando el alineamiento y el árbol filogenético de referencia del grupo Dinophyceae previamente construidos.

Asignación taxonómica con EPA-ng y Gappa

Para la clasificación de las secuencias ambientales, se utilizó un método basado en el posicionamiento filogenético en un árbol de referencia, utilizando el software EPA-ng (Barbera et al. 2019), que se implementa como parte de RAxML v8.1.15. Con el algoritmo se calculó la mejor posición de inserción para cada secuencia de forma independiente e individual en un árbol de referencia determinado. El árbol permaneció sin cambios, es decir, en lugar de expandir el árbol de forma iterativa con cada secuencia de consulta, las consultas sólo se asignaron una por una a las ramas con mejor puntuación correspondientes (posiciones de inserción). La aplicación de este algoritmo a un conjunto de consultas

produce una distribución de ubicaciones de las mismas en el árbol de referencia. La confianza en la asignación filogenética de una secuencia desconocida a una rama particular del árbol filogenético se cuantificó a través del estadístico LWR. Este permite no solo asignar una secuencia a una posición específica en el árbol, sino también evaluar qué tan robusta es esa asignación en comparación con otras posibles ubicaciones de esa misma secuencia. Luego de correr el software EPA-ng, los datos se almacenaron en el formato .jplace para utilizarse en los análisis posteriores y visualización.

Por otra parte, el software Gappa (Czech et al. 2020) tiene como enfoque principal la ubicación evolutiva de secuencias ambientales cortas en un árbol filogenético de referencia. Se utilizó el módulo *examine*, que cuenta con comandos para examinar, visualizar y tabular información en formato placement. Dentro de este módulo, se seleccionó el comando *assign* cuya función es asignar taxonómicamente secuencias ambientales previamente posicionadas filogenéticamente en un árbol de referencia. También se utilizó el comando *edpl* para obtener el valor de *Expected Distance between Placement Locations* (EDPL), el cual se calcula en base al largo de las ramas del árbol utilizado como referencia. Un EDPL bajo indica que los posicionamientos de una secuencia de consulta están concentradas en una región estrecha del árbol, mientras que un EDPL alto indica que los posicionamientos están dispersos en el árbol. Este método se dividió en los siguientes pasos principales:

- Debido a que el alineamiento de las secuencias *query* debe tener el mismo largo que el de referencia, se incorporaron las secuencias de EukBank con la función *--addfragm* disponible en MAFFT, la cual permite agregar secuencias cortas de ADN a un alineamiento de múltiples secuencias. Luego se eliminaron del alineamiento resultante las secuencias de referencia para que solo queden las de EukBank.
- Se utilizó la opción *-f* e del software RAxML v.8.2.12 para optimizar los parámetros del modelo evolutivo y el largo de las ramas del árbol de referencia. La información del modelo se guardó en un archivo llamado RAxML_info.file.
- Se corrió el *script* para el posicionamiento filogenético de las secuencias de EukBank en el árbol de referencia con el programa EPA-ng, y los resultados se guardaron en el archivo *epa_result.jplace*.
- Se construyó el árbol de referencia con las secuencias de EukBank a partir del archivo *epa_result.jplace* con la opción *examine graft* del programa Gappa.
- Se asignaron taxonómicamente las secuencias de EukBank ubicadas en el árbol de referencia utilizando el módulo *examine* y el subcomando *assign* del programa Gappa, con los parámetros *--per-query-results*, *--best-hit*, *--allow-file-overwriting* y *--ranks-string* "TAX1|TAX2|TAX3|TAX4|TAX5|TAX6|TAX7|TAX8|TAX9". Además del archivo de salida

epa_result.jplace, también se utilizó como input un archivo con la clasificación taxonómica de cada secuencia de referencia (.tsv).

- Se construyó un histograma de frecuencias del estadístico *Likelihood Weight Ratio* (LWR) de las secuencias analizadas, para evaluar la confiabilidad de las asignaciones filogenéticas obtenidas mediante EPA-ng. El histograma fue construido utilizando el comando *gappa examine lwr --jplace-path, --num-lwrs 3, --allow-file-overwriting*, segmentando los valores de LWR en tres categorías: LWR1, LWR2, y LWR3. Es decir, el primer, segundo y tercer posicionamiento más probable para cada una de las secuencias desconocidas. Los valores de LWR toman valores de 0 a 1. El comando produce una tabla de histograma que contiene las razones de peso de verosimilitud (LWRs) más probables de las secuencias de consulta (queries) en los archivos jplace de entrada, según el valor especificado en --num-lwrs.

Asignación taxonómica con BLAST

Además del método descrito anteriormente, se utilizó la asignación taxonómica de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para clasificar las secuencias de EukBank:

A partir del comando *makeblastn*, se generó una base de datos BLAST utilizando el archivo fasta con el alineamiento de referencia construido anteriormente, junto con los parámetros *-parse_seqids, -dbtype nucl*.

Luego se utilizó el comando *blastn* para comparar las secuencias de EukBank contra la base de datos creada. Este paso permite identificar similitudes entre las secuencias desconocidas y las secuencias en la base de datos de referencia, permitiendo clasificarlas taxonómicamente. Se seleccionaron los siguientes parámetros: *-evalue 1e-6* (umbral de valor e para los resultados, limitando la búsqueda a coincidencias estadísticamente significativas); *-out out.blastn* (nombre del archivo de salida); *-outfmt '6 std slen qcovs'* (formato de salida en tabla, incluyendo el formato estándar, la longitud de la secuencia y la cobertura de la consulta); y *-num_threads 8* (indica el número de *threads* de procesamiento para acelerar el análisis).

Asignación taxonómica con DECIPHER

DECIPHER es un paquete de R que contiene un conjunto de herramientas utilizadas para descifrar secuencias biológicas de manera eficiente (Wright 2016). Para clasificar las secuencias de EukBank, se utilizó la función IDTAXA (Murali et al. 2018). En primer lugar, se importaron las secuencias de entrenamiento, es decir, el alineamiento de referencia construido anteriormente, junto con un archivo de identificadores taxonómicos (*taxid*). Luego, se realizaron los siguientes pasos para clasificar las secuencias de EukBank:

Filtrado del conjunto de entrenamiento: se eliminaron las secuencias redundantes o menos informativas del conjunto de entrenamiento para mejorar la precisión y eficiencia del modelo de clasificación. Este paso tiene como objetivo reducir el tamaño del conjunto de datos sin perder información relevante para la clasificación taxonómica. La eliminación de secuencias se realizó de distintas formas:

- Eliminación de secuencias duplicadas o muy similares, para evitar el sobreajuste y asegurar que el clasificador no se vea sesgado por múltiples copias de secuencias casi idénticas.
- Selección de secuencias que sean representativas de cada taxón, eliminando aquellas que no aportan información adicional significativa. En este caso, se dejaron como máximo 10 secuencias por grupo.
- Filtración de secuencias con baja calidad o con errores en el alineamiento que puedan afectar la precisión del modelo.
- Eliminación de secuencias demasiado cortas o demasiado largas en comparación con la mayoría del conjunto de entrenamiento, ya que estas pueden introducir ruido en el modelo.

Entrenamiento iterativo del clasificador: el modelo de clasificación fue entrenado en múltiples rondas para mejorar su precisión y rendimiento. Cada iteración permitió ajustar el modelo, refinar sus parámetros y mejorar su capacidad para clasificar secuencias de manera precisa. Se estableció el número máximo de iteraciones (*maxIterations*<5), permitiendo controlar el proceso de refinamiento del clasificador. En cada iteración, el clasificador fue entrenado con la función *LearnTaxa*, excluyendo las secuencias problemáticas identificadas en la iteración anterior. Las secuencias problemáticas fueron marcadas para su eliminación y, se aseguró que los grupos taxonómicos representados no fueran completamente eliminados. El proceso iterativo continuó hasta que no quedaron secuencias problemáticas o las secuencias problemáticas identificadas no cambiaron entre iteraciones, indicando la convergencia del modelo. Al final del proceso, se registró el número total de secuencias eliminadas y las secuencias problemáticas restantes.

Visualización de los datos de entrenamiento: para evaluar el rendimiento del clasificador entrenado, se realizó un resumen y visualización del mismo. Se utilizó la función *summary(trainingSet)* para obtener un resumen detallado del conjunto de entrenamiento, incluyendo el número de secuencias y grupos taxonómicos. Además, se identificaron las secuencias problemáticas utilizando *trainingSet\$problemSequences*. Para una mejor comprensión de la distribución de las secuencias y los grupos taxonómicos, se generaron gráficos con la función *plot(trainingSet)*.

Clasificación de secuencias desconocidas: las secuencias de EukBank se importaron utilizando la función *readDNAStringSet* y se eliminaron los espacios presentes con *RemoveGaps* para asegurar una clasificación precisa. Posteriormente, se aplicó la función *IdTaxa* para asignar clasificaciones taxonómicas a las secuencias desconocidas, utilizando el modelo de clasificación previamente entrenado (*trainingSet*).

El umbral de confianza (*threshold*) se estableció en 60, permitiendo ajustar la permisividad del modelo. Los resultados de la clasificación se revisaron y graficaron con *plot(ids, trainingSet)* para verificar la precisión y taxonomía de las secuencias clasificadas.

Exportación de las clasificaciones: para documentar y exportar los resultados de la clasificación de secuencias, se utilizó la función *sapply*, que creó una cadena de texto para cada secuencia que incluía el taxón clasificado y la confianza asociada. Finalmente, las clasificaciones se escribieron en un archivo de texto llamado *classifications.txt*, facilitando su revisión y análisis posterior.

Asignación taxonómica con USEARCH

El último método empleado para clasificar las secuencias de EukBank fue el algoritmo SINTAX del software USEARCH v.11. Para ello, se siguieron los siguientes pasos:

- Se creó una base de datos de referencia con el alineamiento del grupo Dinophyceae construido en la sección 1, a partir del comando *-makeudb_usearch*. Se editó el archivo de entrada de manera que las secuencias estuvieran en el formato correcto y que se incluyeran los identificadores taxonómicos correspondientes.
- El algoritmo SINTAX fue utilizado para la asignación de las secuencias desconocidas. La línea de comando incluyó: las secuencias de EukBank a clasificar (*-sintax*), la base de datos de referencia (*-db*) y el archivo de salida donde se almacenaron los resultados (*-tabbedout*). Además, se utilizó el parámetro *-strand* con la opción *both*, que permitió la búsqueda en ambas direcciones de las secuencias, y *-sintax_cutoff 0.8*, se utilizó un umbral de similitud de 0.8 para asegurar que las asignaciones taxonómicas fueran confiables. Las secuencias se clasificaron hasta el nivel taxonómico con un valor ≥ 0.8 .
- Los resultados obtenidos se analizaron para determinar la asignación taxonómica de cada secuencia. Se filtraron las asignaciones que no alcanzaron el umbral de similitud o que presentaron baja confianza. Finalmente, se realizó un análisis estadístico de la distribución de las asignaciones taxonómicas a partir del paquete *ggplot2* (Wickham 2016) en RStudio. Esto incluyó la identificación de los taxones más frecuentes y la evaluación de la diversidad taxonómica del conjunto de datos.

3. Construcción del árbol de referencia del orden Gonyaulacales

Se seleccionó el orden Gonyaulacales para realizar un análisis más detallado de los métodos de clasificación, al cual pertenece el género *Ceratium*, que constituye el objeto de estudio de la presente tesis doctoral. Se utilizó como referencia el alineamiento concatenado de 236 secuencias, reconstruido en la primera sección del Capítulo a partir del trabajo de Gottschling et al. (2019). Además, se incorporaron 781

secuencias del orden Gonyaulacales previamente descargadas de la base de datos PR² (versión 5.0.1). Estas secuencias fueron sometidas a un filtrado menos restrictivo que el aplicado para el árbol de referencia de Dinophyceae, con el fin de maximizar la representatividad y variabilidad del grupo Gonyaulacales en el árbol filogenético. Para ello, se incorporaron al árbol de Gottschling et al. (2019) mediante el software EPA-ng, y se eliminaron aquellas secuencias que no se ubicaron dentro del clado de Gonyaulacales. Luego de las etapas de filtrado, se obtuvieron 333 secuencias finales (Figura 1).

Con las secuencias de PR² definitivas, se procedió de la misma forma que con el árbol de referencia de *Dinophyceae*: se realizó el alineamiento con el software MAFFT opción --add y el árbol filogenético con el programa RAxML-ng v.1.2.0, seleccionando los mismos parámetros.

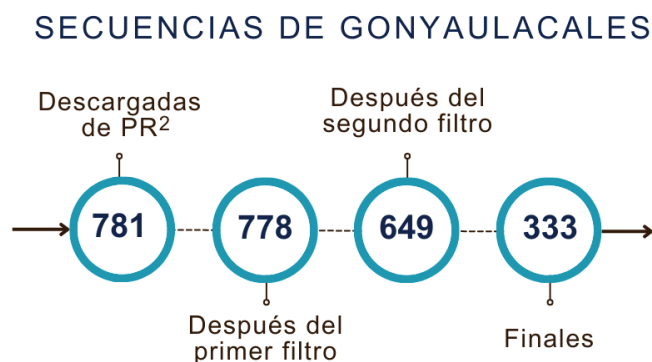


Figura 1. Diagrama que muestra el número de secuencias de Gonyaulacales descargadas de la base de datos PR² hasta las secuencias finales tras las etapas de filtrado.

4. Clasificación de secuencias ambientales asignadas como Gonyaulacales por diferentes métodos bioinformáticos

Se seleccionaron como secuencias *query* aquellas previamente clasificadas dentro del orden Gonyaulacales en la base de datos EukBank, sumando un total de 1475 secuencias, con el fin de realizar un análisis más exhaustivo y detallado de los métodos de clasificación utilizados. En primer lugar, se descargaron las tablas de taxonomía y de secuencias de la región V4 del gen 18S facilitadas de manera directa por el UniEuk Team, correspondientes al grupo Dinophyceae. A partir de ellas, se utilizó la función *merge* en Rstudio para fusionar ambas tablas por la columna común de ID de la secuencia. De esta forma, se obtuvo una única tabla con la siguiente información: ID, secuencia y asignación taxonómica correspondiente. A partir de ella, se seleccionaron sólo aquellas secuencias clasificadas en el orden Gonyaulacales.

Mediante el software EPA-ng, se posicionaron filogenéticamente todas las secuencias descargadas de EukBank sobre el árbol de referencia del orden Gonyaulacales, con el objetivo de verificar su correcta

asignación taxonómica. Si bien las secuencias disponibles en EukBank fueron originalmente clasificadas mediante métodos tradicionales y contrastadas con otras bases de datos de referencia, se optó por realizar una reasignación filogenética a fin de incorporar las relaciones evolutivas entre las secuencias. Aquellas secuencias que no se ubicaron dentro del clado Gonyaulacales fueron descartadas. Como resultado, se obtuvo un conjunto depurado de 836 secuencias de EukBank reasignadas filogenéticamente a dicho orden.

A continuación, se procedió a clasificar por separado ambos conjuntos de datos: por un lado, todas las secuencias del orden Gonyaulacales descargadas de EukBank, y por otro, aquellas reasignadas filogenéticamente. La clasificación se basó en el alineamiento de referencia previamente construido (sección 3 de Materiales y Métodos), utilizando los mismos programas (EPA-ng y GAPP; BLAST; DECIPHER; USEARCH) y la metodología descrita en la sección 2 de Materiales y Métodos.

RESULTADOS

1. Árbol de referencia del grupo *Dinophyceae*

A partir del trabajo de Gottschling et al. (2019), se seleccionaron secuencias correspondientes a los genes 18S, 28S y a la porción ITS2+5.8S+ITS2 disponibles en la base de datos GenBank. Estas regiones fueron alineadas por separado y, posteriormente, concatenadas, dando como resultado un alineamiento compuesto por 241 secuencias con una longitud total de 3839 posiciones.

Luego de aplicar diferentes filtros, se obtuvieron 480 secuencias adicionales a partir de la base de datos de PR². Este conjunto de secuencias fue utilizado para la construcción del árbol filogenético de referencia (Tabla 1).

Tabla 1. Número de secuencias de *Dinophyceae* descargadas de la base de datos PR², y retenidas cada etapa de filtrado, clasificadas según los órdenes seleccionados.

Orden	Descargadas	1 ^{er} filtro	2 ^{do} filtro	Secuencias finales
Dinophysiales	99	71	64	52
Peridinales	561	447	278	108
Gonyaulacales	737	632	225	87
Gymnodinales	592	489	265	116
Prorocentrales	126	81	73	58
Suessiales	445	394	132	59

El alineamiento final incluyó un total de 627 secuencias: 391 provenientes de la base de datos PR² y 236 obtenidas del trabajo de Gottschling et al. (2019). Los órdenes Dinophysiales, Suessiales, Gonyaulacales y Prorocentrales formaron clados monofiléticos, mientras que Peridinales y Gymnodinales formaron clados parafiléticos y polifiléticos, respectivamente (Figura 2).

La reconstrucción del árbol filogenético reveló que la diversidad de Dinophyceae se agrupa en dos grandes clados: uno compuesto por los órdenes Dinophysiales, Suessiales y Gonyaulacales, y el otro por el orden Prorocentrales y los clados principales de Peridinales y Gymnodinales. En el primer grupo, Dinophysiales y Suessiales están más relacionados filogenéticamente, formando un clado monofilético cuyo grupo hermano es el orden Gonyaulacales. En el segundo gran clado, el orden Gymnodinales aparece como el grupo más basal, compuesto por 128 secuencias, del cual deriva el clado principal del orden Peridinales, compuesto por 174 secuencias y el grupo monofilético del orden Prorocentrales. Este último quedó estrechamente relacionado al clado de la familia Amphidomataceae (*Azadinium*, *Amphidoma*), la cual no se clasifica en ninguno de los seis órdenes principales.

Por fuera de estos dos clados mayores y en posición basal, se encuentran, por un lado, las secuencias de los géneros *Bysmatrum* y *Glenodiniopsis*, formando un clado separado al principal de Peridinales; y por otro, dos clados pequeños de Gymnodinales: uno compuesto por 5 secuencias del género *Moestrupia* y otro por 11 secuencias del género *Amphidinium*.

En cuanto al hábitat de los géneros y/o especies que componen el árbol filogenético, se observa que la mayoría son de origen marino. Sin embargo, todos los órdenes, excepto Dinophysiales, cuentan con representantes de agua dulce. Algunos géneros son exclusivos de ambientes dulceacuícolas (como *Ceratium* y *Piscinoodinium*), mientras que otros incluyen especies que habitan en ambientes marinos, salobres y de agua dulce (como *Amphidinium* y *Gonyaulax*). También hay géneros que son exclusivos de ambientes marinos (como *Alexandrium*, *Tripes* y *Dinophysis*).

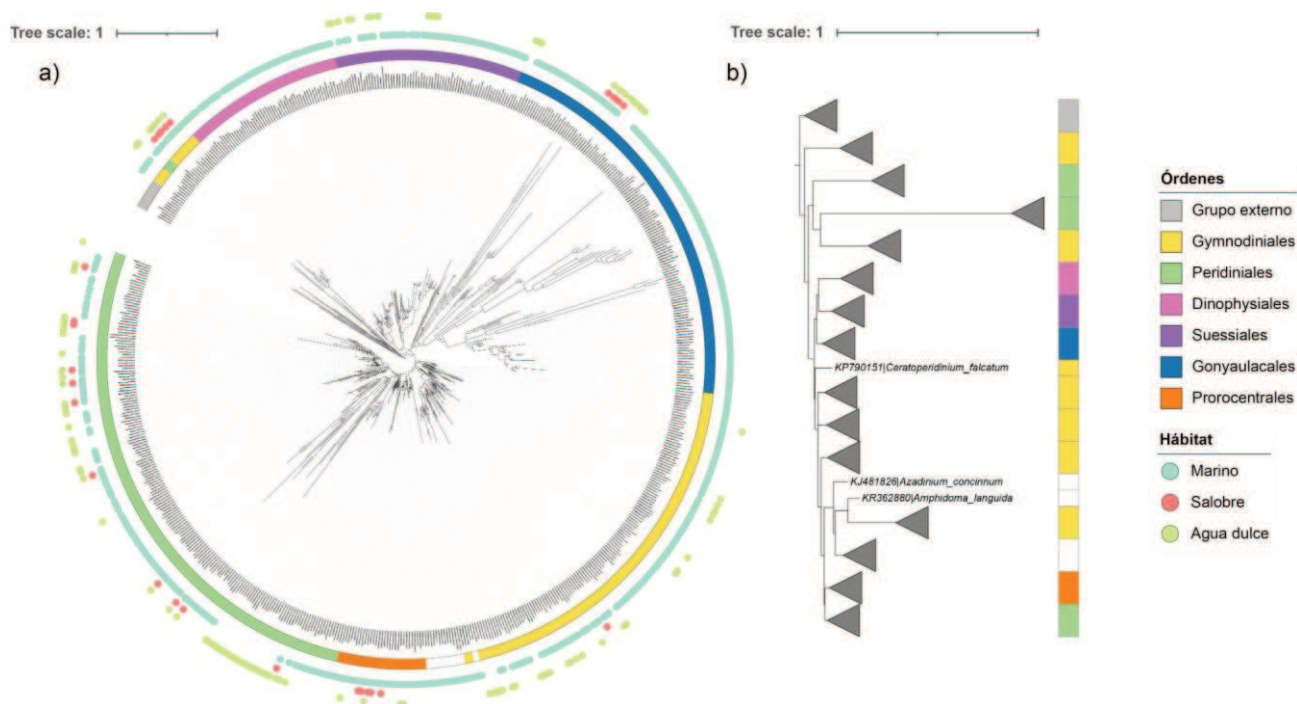


Figura 2. (a) Árbol filogenético de referencia de máxima verosimilitud para el grupo Dinophyceae completo y (b) con los órdenes colapsados. Se construyó utilizando secuencias concatenadas de los genes 18S+ITS1+5.8S+ITS2+28S descargadas de GenBank y secuencias del gen 18S descargadas de PR². En el interior, el anillo delimita los colores de los principales órdenes, permaneciendo en blanco aquellas secuencias que no pertenecen a ninguno de ellos. Los círculos externos simbolizan el hábitat de cada secuencia: ambientes marinos, salobres y agua dulce. El árbol puede visualizarse con mayor detalle en:

<https://itol.embl.de/export/19012224019762781725387874>

2. Clasificación de secuencias ambientales

Las secuencias del grupo *Dinophyceae* obtenidas de la base de datos EukBank fueron clasificadas con cuatro métodos bioinformáticos diferentes. Se observaron diferencias en las asignaciones taxonómicas obtenidas, las cuales se describen a continuación.

EPA-ng y Gappa

Las secuencias clasificadas se posicionaron en diferentes grupos dentro de los dinoflagelados. La mayoría se clasificó dentro de los órdenes Peridinales y Gymnodinales (Figura 3), excepto un 3,3% de las ASVs que cayeron dentro del grupo externo.

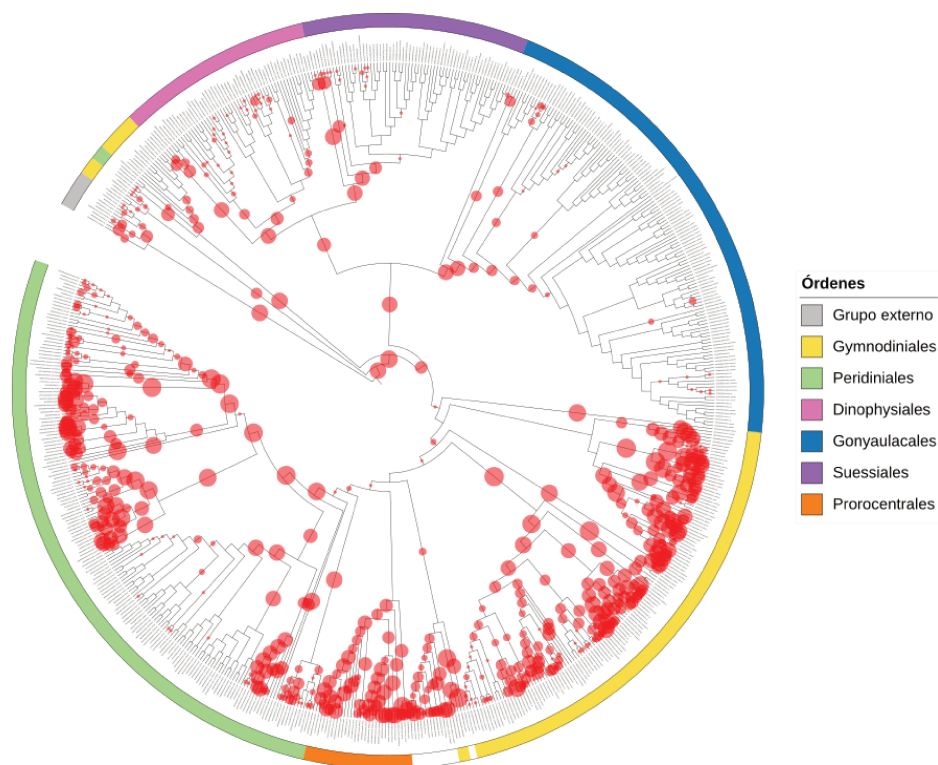


Figura 3. Árbol filogenético de referencia del grupo Dinophyceae (Figura 1). Los círculos rojos corresponden a los posicionamientos filogenéticos de las secuencias desconocidas en los clados más probables a partir del *Evolutionary Placement Algorithm* (EPA). El tamaño de los círculos es proporcional al número de secuencias que se posicionaron en esa rama o clado. El árbol puede visualizarse con mayor detalle en: <https://itol.embl.de/export/19012224019722701725545407>

Se observó que la mayoría de las secuencias de Eukbank (83%) presentaron valores de LWR.1 inferiores a 0,5, lo que sugiere una confianza baja en el posicionamiento de estas secuencias en una rama específica del árbol filogenético. Aproximadamente solo el 10% de las secuencias obtuvieron un valor de LWR.1 mayor a 0,9 (Figura 4a), lo que puede considerarse como una confianza alta de que fueron posicionadas en la rama correcta dentro del árbol filogenético.

A pesar de que pocas secuencias de EukBank tuvieron valores de LWR altos ($>0,9$), la mayoría presentaron un valor de EDPL inferior a 0,09 unidades de longitud de rama (Figura 4b). Esto significa que las secuencias tienden a tener posicionamientos probables próximos entre sí, en promedio a una distancia de una rama, dado que el árbol de referencia utilizado tiene una longitud de rama promedio de aproximadamente 0,08. Cuando las distancias entre las múltiples ubicaciones de posicionamiento de una secuencia a lo largo de las ramas del árbol de referencia son pequeñas, incluso si los valores de LWR son bajos, aumenta la confianza en que la secuencia pertenezca a una región o clado específico del árbol. Por

el contrario, si las distancias entre los posicionamientos son grandes, disminuye la confianza en la asignación de la secuencia *query* a un grupo definido, lo que sugiere que la secuencia se ha ubicado en diferentes sitios dispersos entre los distintos grupos del árbol filogenético de referencia.

Aunque los valores de LWR de las secuencias de EukBank fueron generalmente bajos (con el 83% presentando $LWR.1 \leq 0,5$ y únicamente con el 17% secuencias con $LWR > 0,5$; Figura 5), las secuencias se posicionaron consistentemente en ramas cercanas, lo que refuerza la confianza en su clasificación dentro de un grupo determinado dentro de Dinophyceae.

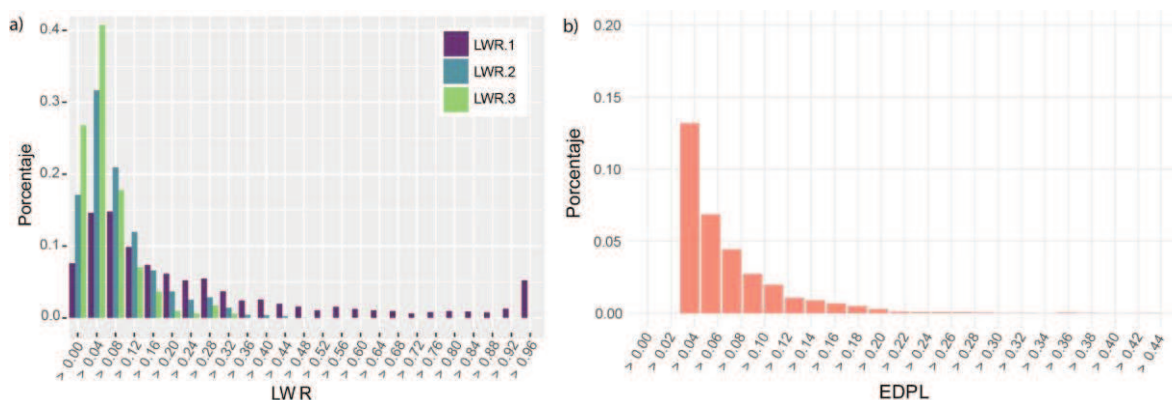


Figura 4. (a) Histograma de los valores LWR de los tres primeros posicionamientos más probables de cada secuencia, que muestra cuántas de las secuencias tienen su primera, segunda y tercera ubicación más probable en cada valor LWR. Por ejemplo, la última barra de LWR.1 al lado derecho indica que el 5% de las secuencias tienen un primer posicionamiento (más probable) en o por encima de un LWR de 0,95. Es decir, estas ubicaciones tienen un LWR alto y, por lo tanto, se colocan con alta certeza en sus respectivas ramas. (b) Histograma de la *Expected Distance between Placement Locations* (EDPL, Distancia esperada entre los sitios de posicionamiento), que se calcula como las distancias (en términos de longitud de rama del árbol) entre las ubicaciones de colocación de una secuencia de consulta, ponderada por el LWR respectivo de cada ubicación. La EDPL mide qué tan lejos se distribuyen las ubicaciones de una secuencia a lo largo de las ramas del árbol de referencia y, por lo tanto, qué tan segura es la ubicación en un grupo dentro del árbol.

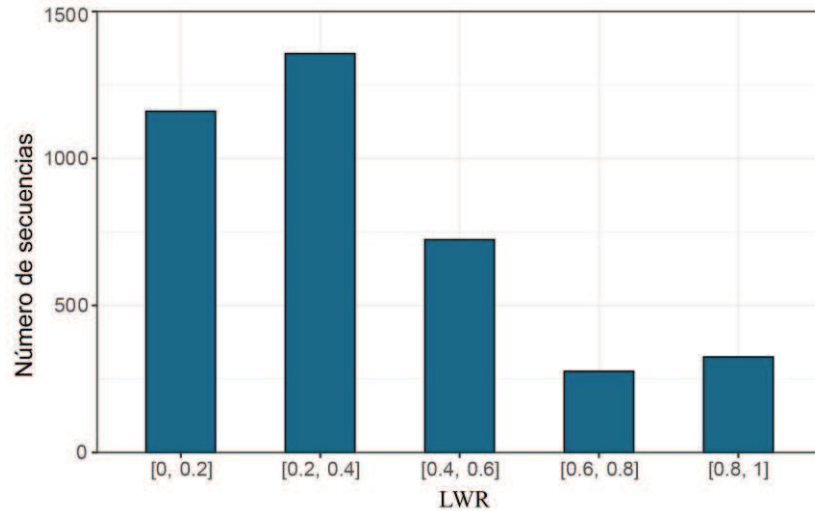


Figura 5. Distribución de los valores de LWR de las secuencias clasificadas, obtenidos mediante el programa EPA-ng. Cada barra representa un rango de LWR, mostrando la cantidad de secuencias de EukBank que se encuentran dentro de ese rango. Los valores de LWR reflejan la probabilidad de asignación de las secuencias a un clado específico dentro del árbol filogenético de referencia.

Tras ejecutar el software Gappa para la asignación taxonómica de las secuencias desconocidas, se observó que estas fueron clasificadas en distintos niveles taxonómicos. Del total, 986 secuencias (26%) se asignaron hasta el nivel de Dinophyceae (986 secuencias), y el 44% alcanzó los niveles de género y especie (Figura 6).

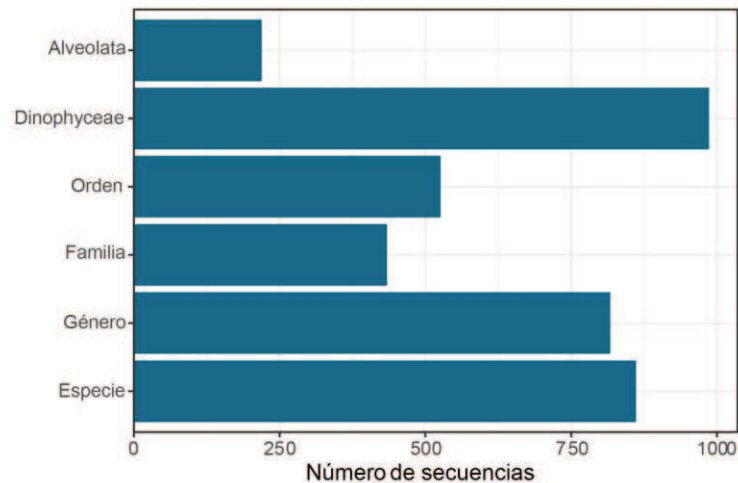


Figura 6. Número de secuencias asignadas hasta cada nivel taxonómico particular a partir del software Gappa. Cada barra representa la cantidad de secuencias que lograron ser clasificadas hasta ese nivel específico (por ejemplo, la segunda barra muestra que aproximadamente 1000 secuencias fueron clasificadas hasta Dinophyceae).

Al analizar las secuencias clasificadas a nivel de género, se observó que 817 secuencias asignadas se distribuyeron en 66 géneros diferentes. Estos géneros pertenecen a los seis órdenes principales y a la familia Amphidomataceae, que no pertenece a ninguno de ellos. Los órdenes con mayor cantidad de secuencias asignadas a nivel de género fueron Gymnodiniales y Peridinales (Figura 7).

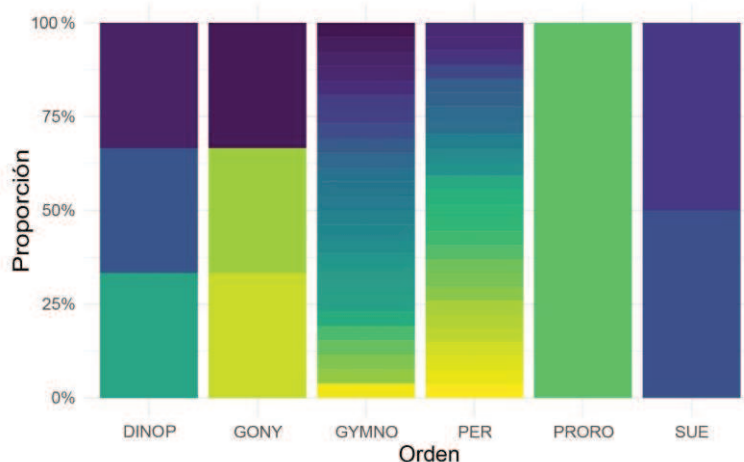


Figura 7. Distribución de los géneros asignados a las secuencias de EukBank en diferentes órdenes taxonómicos con el software Gappa. Cada color representa un género distinto. Los distintos colores en cada orden (columnas) indican el número de géneros en los que se clasificaron las secuencias. DINOP: Dinophysiales (n=3 géneros); GONY: Gonyaulacales (n=3); GYMNO: Gymnodiniales (n=26); PER: Peridinales (n=27); PRORO: Prorocentrales (n=1); SUE: Suessiales (n=2).

BLAST

Se clasificaron el 99,6% de las secuencias de EukBank a partir del alineamiento de referencia construido utilizando BLAST; solo 16 secuencias no se asignaron taxonómicamente ya que tenían un porcentaje de identidad menor al 70% con las secuencias de referencia. De las secuencias asignadas, la mayoría obtuvieron un porcentaje de identidad mayor al 90% con alguna de las secuencias de referencia (Figura 8). Sin embargo, más del 70% de las secuencias desconocidas fueron asignadas a las mismas secuencias de referencia de los géneros *Dinophysis* (EU780640) y *Scrippsiella* (HM103509). Si se observa específicamente el porcentaje de identidad de estas secuencias, solo una pequeña fracción de ellas presentan el 100% de identidad con las secuencias de referencia. Del total de secuencias de consulta, solo una coincidió con *Perkinsus atlanticus* (AF509333), perteneciente al grupo externo, con un porcentaje de identidad del 98,3%.

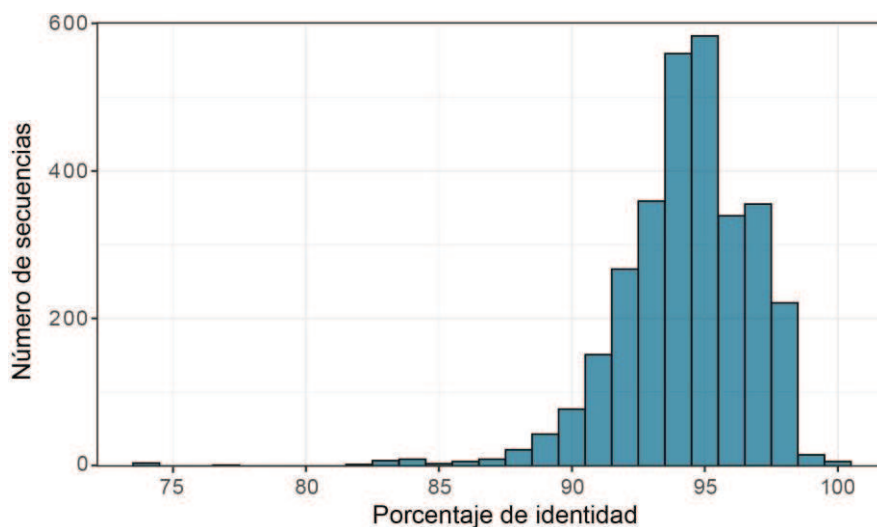


Figura 8. Distribución de los porcentajes de identidad de las secuencias clasificadas por BLAST. Se observa la frecuencia relativa de las secuencias a diferentes porcentajes de identidad, reflejando la variabilidad en la similitud genética entre las secuencias desconocidas y el alineamiento de referencia.

DECIPHER

Se clasificaron 3844 secuencias de EukBank, de las cuales 3729 fueron asignadas taxonómicamente como *unclassified_Root* y *unclassified_Dinophyceae* (Figura 9). Más específicamente, el 70% de las secuencias solo llegaron a clasificarse como “*unclassified_Root*”, lo que indica que no pudieron ser asignadas a ningún grupo taxonómico dentro del árbol del conjunto de entrenamiento. La clasificación realizada con este método sugiere que las secuencias podrían pertenecer a taxones no representados en el conjunto de datos de entrenamiento, o también podría deberse a la baja calidad o la incompletitud de las secuencias, lo que impide una asignación confiable.

Del total de secuencias asignadas mediante el algoritmo IDTAXA, 79 lograron clasificarse dentro de los órdenes principales. A excepción de Prorocentrales, que no recibió ninguna asignación, todos los órdenes estuvieron representados: 4 secuencias fueron asignadas a Dinophysiales, 54 a Gymnodiniales, 3 a Suessiales, 3 a Gonyaulacales y 15 a Peridinales.

Únicamente el 2% de las secuencias fueron asignadas taxonómicamente al nivel de orden o a niveles inferiores como familia, género y especie (Figura 9). Particularmente al nivel de especie, sólo se asignaron 19 secuencias (Figura 10), pertenecientes a los órdenes: Gymnodiniales (*Gyrodinium heterogramum*, *G. fusiforme*, *Erythropsidinium agile*); Peridinales (*Amphidiniopsis swedmarkii*, *Peridinium willei*, *Scrippsiella bicarinata*); Gonyaulacales (*Goniodoma polyedricum*) y Suessiales (*Borghiella tenuissima*).

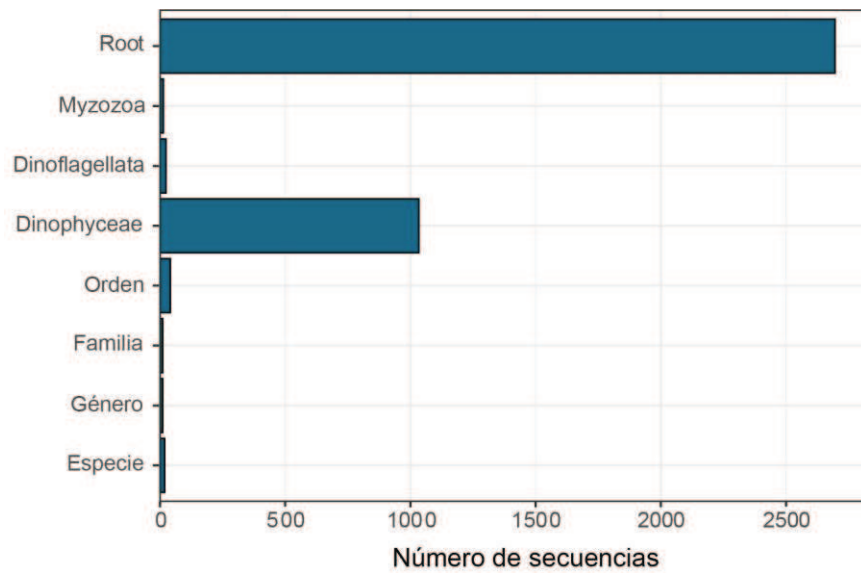


Figura 9. Número de secuencias asignadas con el algoritmo IDTAXA en los diferentes grupos taxonómicos. Cada barra representa la cantidad de secuencias que lograron ser clasificadas hasta ese nivel específico con un porcentaje de identidad mayor al 60% (por ejemplo, la cuarta barra muestra que algo más de 1000 secuencias se clasificaron hasta Dinophyceae).

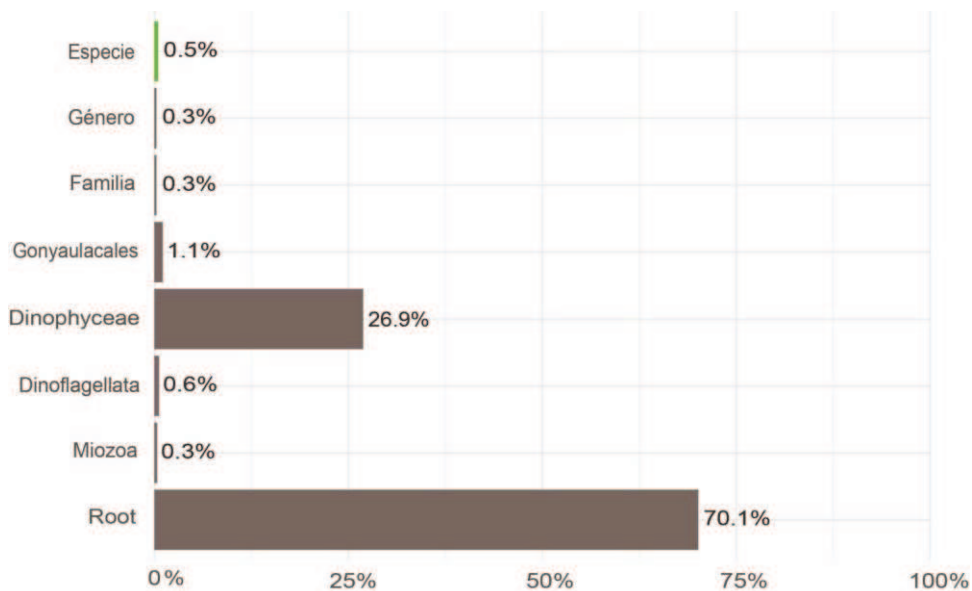


Figura 10. Porcentaje de secuencias de EukBank asignadas a diferentes niveles taxonómicos mediante el algoritmo IDTAXA del paquete DECIPHER.

USEARCH

Luego de la aplicación del algoritmo SINTAX, únicamente tres secuencias lograron ser asignadas a nivel de género (todas pertenecientes a *Gyrodinium*), mientras que dos alcanzaron el nivel de especie, clasificadas como *Gyrodinium heterogrammum* y *Amphidiniopsis swedmarkii*. El taxón más dominante fue *Dinophyceae*, con 3658 secuencias clasificadas a este nivel (95% del total; Figura 11). Además, se observó que 169 secuencias fueron asignadas hasta el nivel de orden, y dentro de ellas, 165 al orden *Gymnodiniales*. Por otra parte, 10 secuencias fueron clasificadas hasta el nivel de familia, distribuyéndose en: *Suessiaceae*, *Gymnodiniaceae* y *Gyrodiniaceae*.

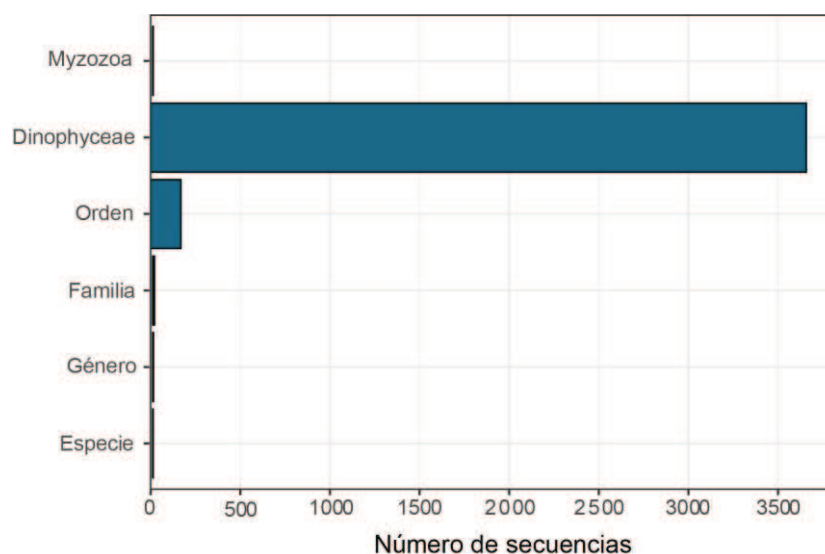


Figura 11. Número de secuencias asignadas con el algoritmo SINTAX en los diferentes grupos taxonómicos. Cada barra representa la cantidad de secuencias que lograron ser clasificadas hasta ese nivel específico con un porcentaje de identidad mayor al 80%.

3. Construcción del árbol de referencia del orden Gonyaulacales

A partir de la base de datos PR² se recuperaron todas las secuencias asignadas al orden Gonyaulacales. Tras aplicar diferentes filtros de calidad, las secuencias restantes fueron utilizadas para construir el árbol filogenético de referencia, junto con aquellas del trabajo de Gottschling et al. (2019) (Figura 12).

El árbol filogenético estuvo conformado por 10 secuencias del grupo externo presentes en el árbol de Dinophyceae, y 567 secuencias distribuidas entre los órdenes Gymnodiniales, Peridinales, Dinophysiales, Suessiales, Prorocentrales y Gonyaulacales. Dado que este árbol de referencia se centraba en el último grupo, fue el más representado, con un total de 383 secuencias.

Dentro del orden Gonyaulacales se destacan dos clados bien diferenciados y equilibrados: uno conformado por 179 secuencias, que incluye principalmente a las especies del género *Alexandrium* y otros géneros marinos (*Coolia*, *Ostreopsis*); mientras que el otro clado presenta mayor diversidad de géneros e incluye 204 secuencias, con representantes marinos y de agua dulce (ej. *Ceratium*, *Triplos*, *Gambierdiscus*, *Gonyaulax*, entre otros). Hay una clara diferenciación en el largo de ramas del subclado formado por los géneros *Coolia* y *Ostreopsis*, que lo distingue dentro del clado mayor que contiene a las especies de *Alexandrium*.

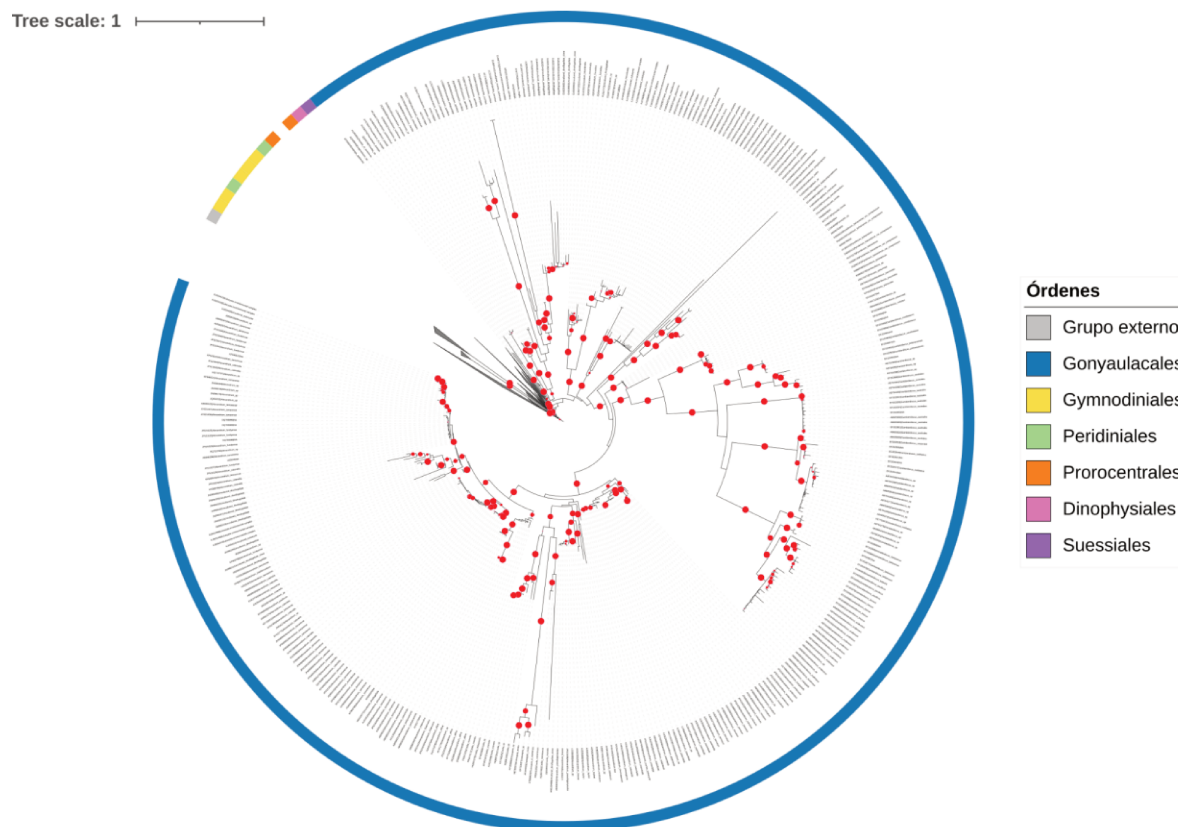


Figura 12. Árbol filogenético de referencia de máxima verosimilitud para el orden Gonyaulacales construido con RAxML. Se utilizaron las secuencias de Dinophyceae de Gottschling et al. (2019) y secuencias del gen 18S del orden Gonyaulacales descargadas de PR². Excepto por el orden Gonyaulacales, todos los clados presentes en el árbol se encuentran colapsados, incluyendo el grupo externo. La familia Amphidomataceae (en blanco) no se clasifica en ninguno de los órdenes encontrados y forma un clado independiente. Los círculos rojos indican aquellos valores de *bootstrap* mayores a 60. El árbol puede visualizarse con mayor detalle en:

<https://itol.embl.de/export/190122240197197251726661593>

4. Clasificación de secuencias ambientales

Se descargaron de la base de datos EukBank todas las secuencias clasificadas al orden Gonyaulacales. Estas secuencias fueron asignadas taxonómicamente con los cuatro métodos bioinformáticos también utilizados para el grupo Dinophyceae. Paralelamente, se realizó una reasignación filogenética de las mismas secuencias, y luego fueron clasificadas por los mismos métodos. Los resultados revelaron discrepancias entre las asignaciones taxonómicas obtenidas, tanto en función del método empleado como del conjunto de secuencias utilizado.

EPA-ng y GAPPa

En el árbol de referencia del orden Gonyaulacales, la familia con mayor número de secuencias fue Pyrocystaceae (Figura 13), que incluye géneros como *Alexandrium*, *Coolia*, *Gambierdiscus* y *Pyrocystis*, entre otros. Al posicionar filogenéticamente las secuencias de EukBank mediante el método EPA-ng, se observó que la mayoría se agrupa dentro de esta familia. Sin embargo, también se detectó una cantidad significativa de secuencias ubicadas en las familias Ceratiaceae y Gonyaulacaceae, tanto en las secuencias de EukBank (Figura 13a) como en las reasignadas filogenéticamente (Figura 13b). Por otro lado, al analizar la eficiencia de esta clasificación a partir del LWR, se observó que aproximadamente el 25% de las secuencias de Gonyaulacales provenientes de EukBank presentaron valores de LWR.1 superiores a 0,96 (Figura 14a). En cambio, tras su reasignación filogenética, solo el 5% de las secuencias mantuvieron valores de LWR.1 por encima de 0,96 (Figura 14b).

En cuanto a la asignación taxonómica realizada con Gappa, ambos conjuntos de secuencias se clasificaron en proporciones similares en cada nivel taxonómico (Figura 14c, 14d). Además, el porcentaje de secuencias clasificadas a nivel de especie fue comparable: 45% en las secuencias originales de EukBank y 43% en las reasignadas. Por último, la proporción de secuencias clasificadas únicamente hasta los niveles de Alveolata o Dinophyceae también fue baja en ambos casos, con un 6% y un 7% respectivamente.

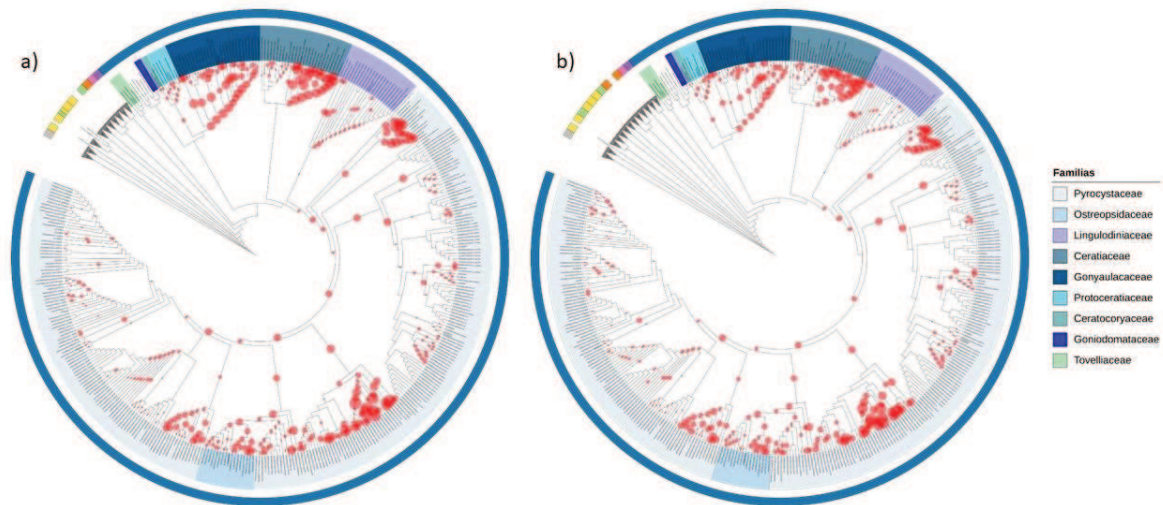


Figura 13. Árboles filogenéticos de referencia del orden Gonyaulacales que muestran los posicionamientos filogenéticos (círculos rojos) en los clados más probables de (a) la totalidad de las secuencias de Gonyaulacales descargadas EukBank y (b) las secuencias luego de la reasignación, a partir del *Evolutionary Placement Algorithm* (EPA). El tamaño de los círculos es proporcional al número de secuencias que se posicionaron en esa rama o clado.

Los árboles pueden visualizarse con mayor detalle en: (a) y (b)

<https://itol.embl.de/export/19012224019743901732902246>.

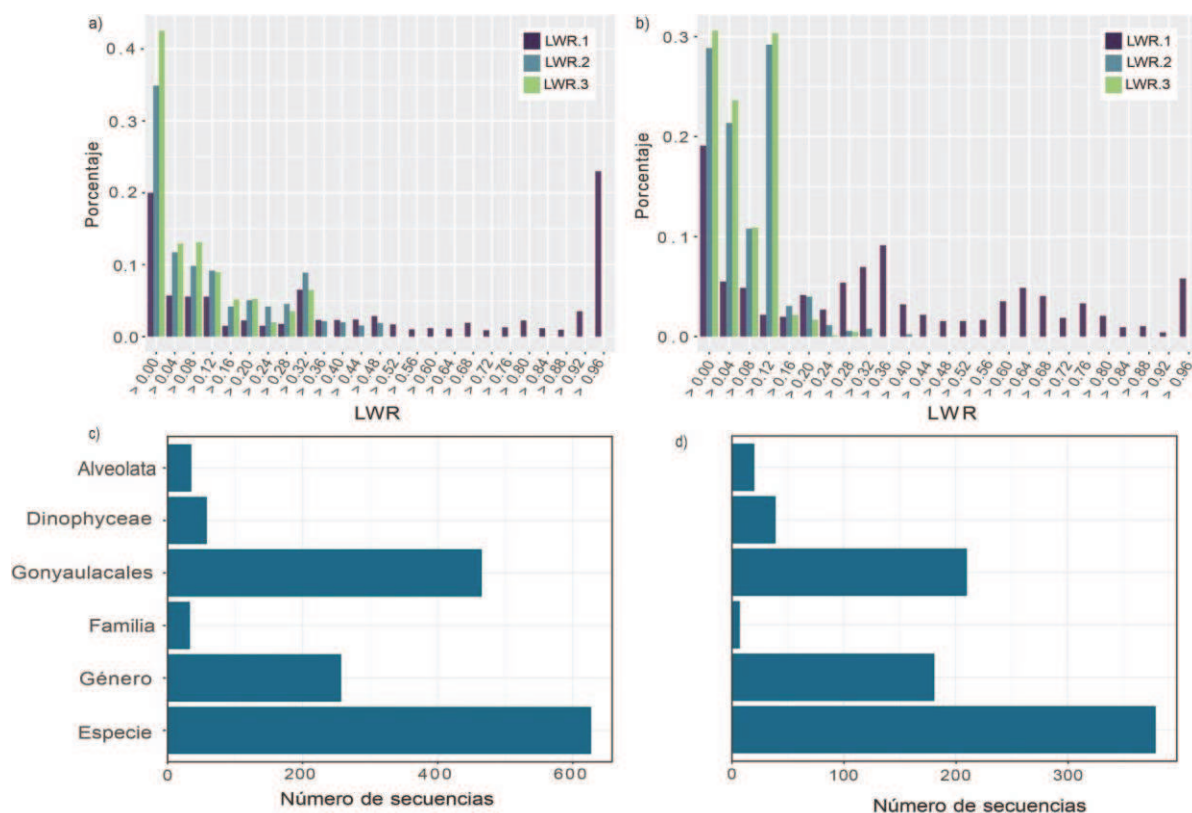


Figura 14. Histogramas de los valores LWR de los tres primeros posicionamientos más probables (violeta: primera ubicación; azul: segunda ubicación; verde: tercera ubicación) de cada una de las secuencias de Gonyaulacales (a) descargadas de EukBank y (b) las secuencias luego de la reasignación filogenética en el árbol de referencia. Número de secuencias asignadas a cada nivel taxonómico a partir del software Gappa de cada conjunto de datos: (c) la totalidad de las secuencias descargadas de EukBank y (d) las secuencias después de su reasignación. Cada barra representa la cantidad de secuencias que lograron ser clasificadas hasta ese nivel específico.

Luego de calcular los valores de EDPL de cada conjunto de secuencias, se observó que en ambos casos las ubicaciones de la mayoría de las secuencias fueron muy cercanas, con EPDL <0,06 (Figura 15). Por un lado, de las 1475 secuencias totales de EukBank, la distancia esperada entre las ubicaciones de colocación tiene una media de 0,009, que es muy baja en comparación con la longitud media de las ramas del árbol (0,08). Esto indica que, en promedio, la distribución de la colocación de una secuencia se extiende a lo largo de las ramas vecinas del árbol. Para el 21% de estas secuencias, el valor de EDPL fue igual a 0, lo que indica que en todos los casos, esas secuencias se posicionaron en la misma rama, confirmado también con el número aproximado de secuencias con LWR >0,9. Por otra parte, para las 836 secuencias de EukBank reasignadas, el valor medio de EDPL fue superior, de 0,01, mientras que el máximo valor fue a

igual a 0,18 correspondiente a una secuencia que se clasificó como Alveolata. Para 607 de estas secuencias, la EDPL fue $<0,01$, y para 221 secuencias, varió entre 0,01 y 0,1.

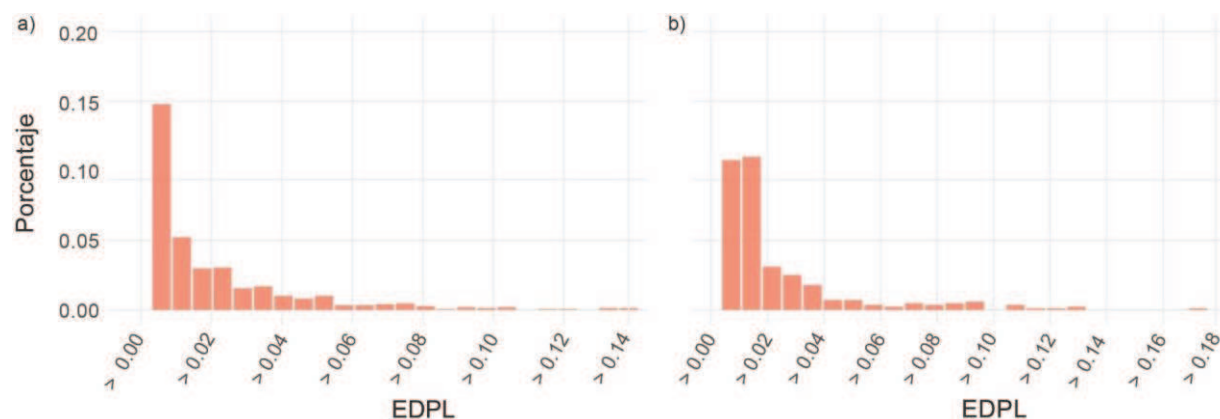


Figura 15. Distancias (en términos de longitud de rama del árbol) entre las ubicaciones de colocación de cada una de las secuencias de consulta (a) sin filtrar y (b) filtradas.

BLAST

De las 1475 secuencias descargadas de EukBank, 1460 (98,9%) se clasificaron con un porcentaje de identidad entre 72 y 100% con las secuencias de referencia (Figura 16a). Dentro de este grupo, 224 secuencias no pudieron asignarse más allá de los niveles taxonómicos Eukaryota y Dinophyceae, mientras que 14 coincidieron con secuencias de referencia pertenecientes al grupo externo. Por otro lado, 777 secuencias se clasificaron en géneros o especies pertenecientes al orden Gonyaulacales, y 445 en otros órdenes (Figura 16c). Dentro de las secuencias asignadas como Gonyaulacales, 53 fueron clasificadas hasta el nivel de especies, distribuidas en 17 géneros, siendo *Alexandrium* el género representado por el mayor número de especies y secuencias (Figura 16e).

Luego de la etapa de reasignación filogenética de las secuencias de EukBank, la totalidad de las secuencias se clasificaron taxonómicamente a alguna de las secuencias del alineamiento de referencia construido, con un porcentaje de identidad entre 71,8 y 100% (Figura 16b). De las 836 secuencias clasificadas, 7 sólo pudieron asignarse a los niveles Eukaryota o Dinophyceae; 168 fueron asignadas a otros órdenes (Peridinales, Dinophysiales y Prorocentrales); 23 coincidieron con secuencias del grupo externo; y 638 se clasificaron dentro del orden Gonyaulacales (Figura 16d), distribuyéndose en 9 géneros y 20 especies diferentes (Figura 16f). Sin embargo, se observó que el 49% de las secuencias reasignadas tuvieron entre 88 y 100% de similitud con la misma secuencia de referencia de *Alexandrium margalefii* (JQ616827).

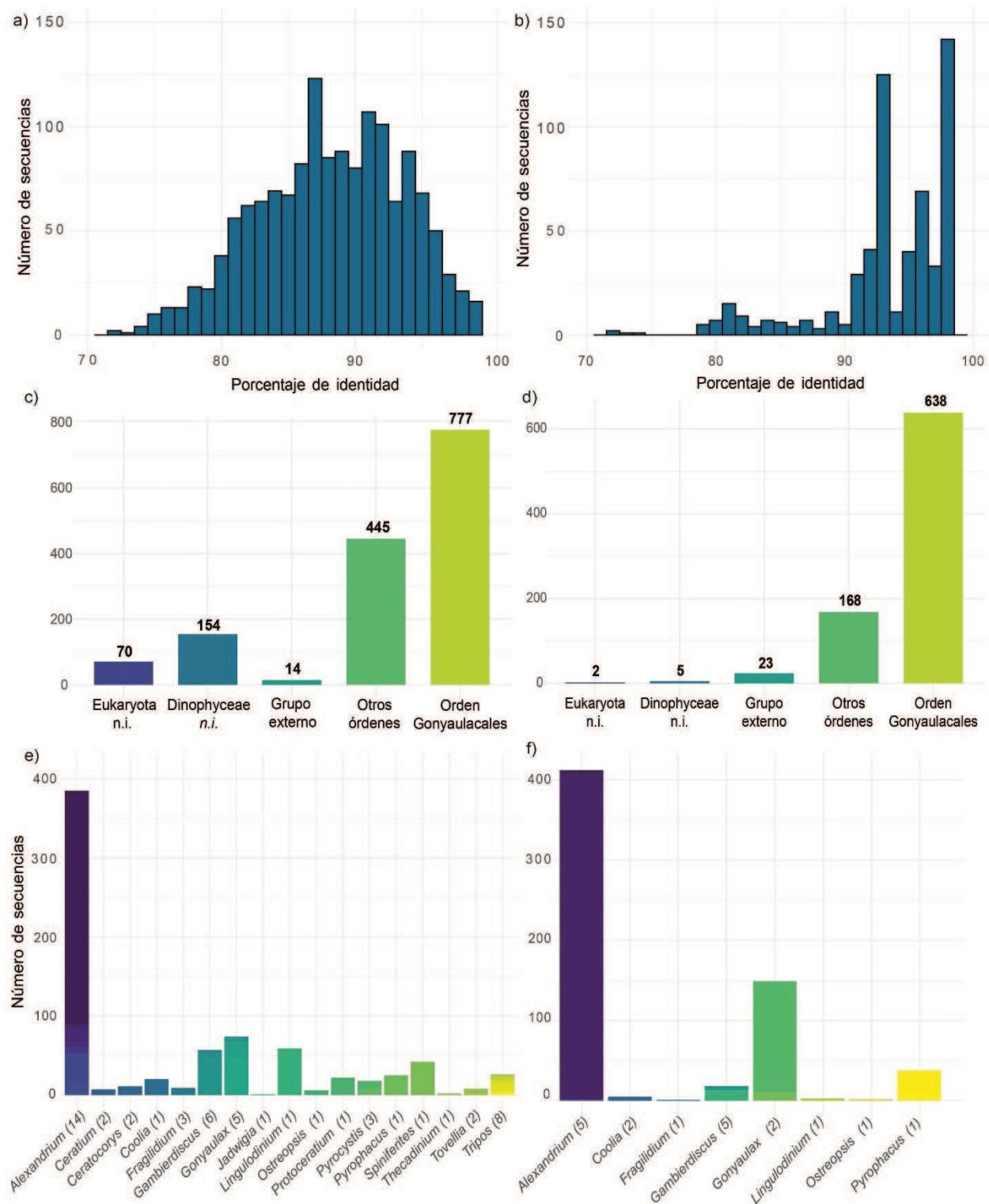


Figura 16. Clasificación de secuencias por BLAST. Distribución de los porcentajes de identidad de: (a) la totalidad de las secuencias de Gonyaulacales descargadas de Eukbank y (b) las secuencias de EukBank luego de la reasignación filogenética. Número de secuencias de Gonyaulacales de: (c) EukBank totales y (d) reasignadas, clasificadas en otros grupos y dentro del orden Gonyaulacales. Número de secuencias asignadas taxonómicamente a

cada género dentro del orden Gonyaulacales correspondientes (e) a la totalidad de las secuencias de EukBank y (f) a las secuencias reasignadas filogenéticamente. Entre paréntesis se detalla el número de especies. n.i: no identificadas.

Al comparar ambos conjuntos de datos, se observa una clara reducción en la diversidad de géneros asignados. El número de géneros es casi el doble antes de la reasignación, evidenciando que este proceso concentra las secuencias en un menor número de géneros y especies de referencia.

DECIPHER

El algoritmo IDTAXA del paquete DECIPHER en el software R, tiene como objetivo asignar taxonómicamente con precisión a la mayor cantidad posible de secuencias desconocidas, y se evita clasificar secuencias que pertenecen a grupos taxonómicos que no están representados en los datos de entrenamiento o referencia. Se observó una mejora significativa en la asignación taxonómica al aplicar IDTAXA antes y después de la reasignación de secuencias de EukBank con EPA-ng. Las secuencias clasificadas como *unclassified_Root* (no asignadas a ningún nivel taxonómico) disminuyeron notablemente, pasando de aproximadamente el 50% al 25% entre las secuencias sin reasignar (Figura 17a) y las reasignadas por filogenia (Figura 17b). Además, se registró un aumento en la proporción de secuencias clasificadas hasta el nivel de género después de la etapa de reasignación (Figura 17b).

Al focalizar en las secuencias asignadas a nivel de especie, se observó un aumento en la cantidad de secuencias clasificadas luego de la reasignación por filogenia. No obstante, el número total de especies identificadas disminuyó de 40 a 36 al comparar la totalidad de las secuencias de EukBank (Figura 17c) con aquellas reasignadas filogenéticamente como Gonyaulacales (Figura 17d). Cabe destacar que, en ambos casos, las especies se distribuyeron dentro de los mismos 14 géneros.

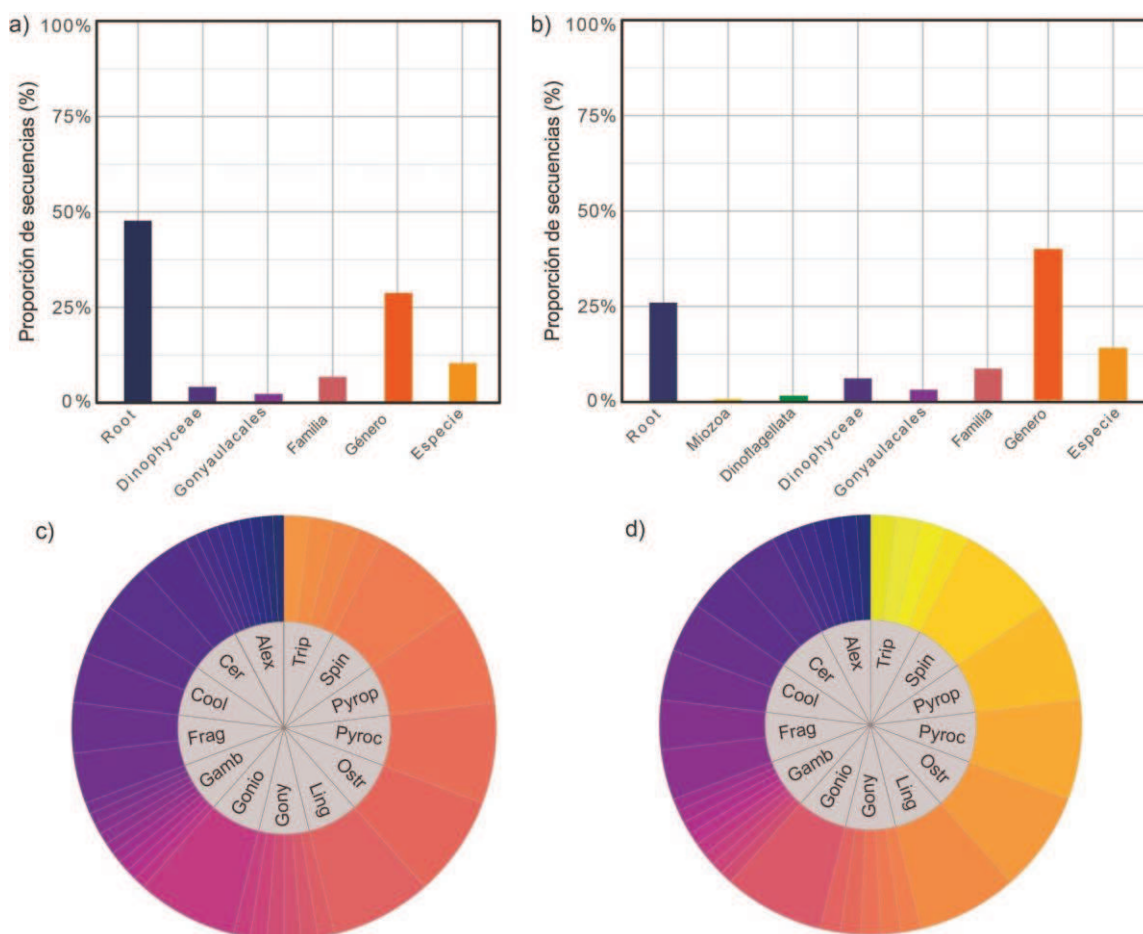


Figura 17. Proporción de secuencias asignadas a los diferentes niveles taxonómicos con el algoritmo IDTAXA de USEARCH correspondiente a cada set de datos: (a) totalidad de las secuencias descargadas de EukBank y (b) secuencias obtenidas luego de la reasignación por filogenia. Géneros y número de especies a las que fueron asignadas las secuencias de EukBank (c) no filtradas y (d) filtradas. Alex: *Alexandrium*; Cer: *Ceratium*; Cool: *Coolia*; Frag: *Fragilidium*; Gamb: *Gambierdiscus*; Gonio: *Goniodoma*; Gony: *Gonyaulax*; Ling: *Lingulodinium*; Ostr: *Ostreopsis*; Pyroc: *Pyrocystis*; Pyrop: *Pyrophacus*; Spin: *Spinifera*; Trip: *Tripos*.

USEARCH

El último método utilizado para clasificar ambos conjuntos de secuencias de Gonyaulacales de EukBank fue a partir del algoritmo SINTAX implementado dentro del programa USEARCH. En este caso, la mayoría de las secuencias se asignaron a niveles taxonómicos bajos como género y/o especie, representando el 62% de las secuencias descargadas de EukBank (Figura 18a) y el 85% de las secuencias luego del paso de reasignación con EPA-ng (Figura 1b). La clasificación de este último conjunto de datos fue más eficiente ya que se logran clasificar casi el doble de secuencias hasta el nivel de especie y las secuencias que sólo llegaron a clasificarse como Dinophyceae, disminuyó del 20% al 5% del total.

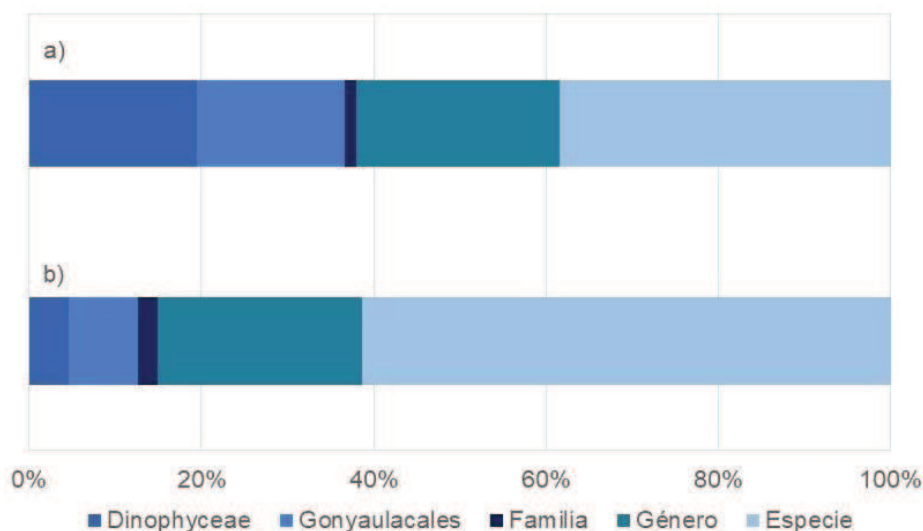


Figura 18. Número de secuencias de Gonyaulacales (a) no filtradas y (b) filtradas asignadas en cada nivel taxonómico con el algoritmo SINTAX de USEARCH. Cada barra representa el número de secuencias clasificadas hasta ese nivel específico.

DISCUSIÓN

En este Capítulo, se construyó un árbol filogenético de referencia para el grupo Dinophyceae, con la representación de los seis órdenes principales. Este árbol se destaca por ser el primero en incluir un número elevado de secuencias (627 en total) y por abarcar una diversidad filogenética amplia, a diferencia de estudios previos centrados únicamente en órdenes o clados particulares (Kim et al. 2003; Bachvaroff et al. 2014; Ndhlovu et al. 2017). Con este árbol fue posible asignar taxonómicamente secuencias desconocidas de la base de datos EukBank, para lo cual se evaluaron cuatro métodos bioinformáticos: tres basados en la comparación con una base de datos de referencia y uno de posicionamiento filogenético. Los resultados muestran que los métodos filogenéticos ofrecen ventajas claras en términos de resolución y precisión para la clasificación de secuencias desconocidas (aún no asignadas taxonómicamente), especialmente en grupos complejos como los dinoflagelados. Además, se generó el árbol de referencia específico para el orden Gonyaulacales, a fin de resolver aspectos filogenéticos del grupo al cual pertenece *Ceratium*, objeto de estudio de esta tesis, y de mejorar la clasificación de las secuencias correspondientes a este orden. Aunque existen estudios filogenéticos aplicados a otros microorganismos invasores, como *Didymosphenia geminata* (Jaramillo et al. 2015; Jones et al. 2019), este Capítulo representa uno de los primeros trabajos en avanzar con un árbol filogenético de referencia para el orden Gonyaulacales. Esto permite una identificación y clasificación más precisa de las especies de este grupo mediante herramientas

moleculares. En este sentido, los árboles construidos constituyen una línea de base para futuras aplicaciones, como la detección de potenciales especies invasoras, lo cual constituye el primer paso para su monitoreo y posterior manejo.

Las secuencias de Dinophyceae pudieron clasificarse a nivel de género y/o especie con todos los métodos empleados, siendo el método de posicionamiento filogenético el que mostró el mejor desempeño. Éste permitió asignar el 44% de las secuencias ambientales hasta los niveles de género y/o especie. En cambio, los métodos basados en similitud nucleotídica lograron porcentajes muy bajos (< 2%). En el caso de las secuencias de Gonyaulacales, la clasificación fue notablemente más eficiente tanto utilizando el método de posicionamiento filogenético como los de comparación nucleotídica. Este mejor desempeño probablemente se deba al enriquecimiento del árbol filogenético con secuencias específicas de Gonyaulacales, lo que aumentó la representatividad de especies y, en consecuencia, mejoró la precisión en la asignación taxonómica.

En el árbol de Dinophyceae construido, los órdenes Gonyaulacales, Suessiales, Prorocentrales y Dinophysiales constituyeron grupos monofiléticos, mientras Peridinales y Gymnodinales formaron grupos parafiléticos y polifiléticos, lo que también se observó en estudios anteriores (Kremp et al. 2005; Saldarriaga et al. 2004; Zhang et al. 2007). Hasta el momento, las filogenias publicadas de dinoflagelados se centraron únicamente en órdenes o clados particulares (Murray et al. 2009; Orr et al. 2012; Raho et al. 2013; Gottschling et al. 2019). Sumado a esto, aún no existe un consenso sobre el verdadero posicionamiento filogenético de los diferentes grupos dentro de los dinoflagelados y los linajes hermanos. Esto puede deberse a que las interrelaciones entre los principales subgrupos cambian de acuerdo al marcador o marcadores moleculares utilizados para inferir la filogenia (Saldarriaga et al. 2004; Hoppenrath & Leander 2010). Por esta razón, la clasificación taxonómica y las relaciones filogenéticas dentro de los dinoflagelados han cambiado numerosas veces a lo largo del tiempo, al igual que las relaciones con los grupos que se encuentran estrechamente relacionados con ellos.

Uno de los grupos más controversiales en cuanto a su posicionamiento filogenético es Noctilucales, representado por una secuencia de la especie *Noctiluca scintillans* en el árbol de referencia construido. En dicho árbol, esta secuencia se posiciona en el grupo externo, siendo la más estrechamente relacionada al clado de Dinophyceae. Este posicionamiento filogenético ha sido observado en otros estudios que también utilizaron filogenias basadas en el gen 18S y genes ribosomales concatenados (Murray et al. 2005; Gottschling et al. 2019), así como en filogenias basadas en multiproteínas (Janouskovec et al. 2016). Sin embargo, en otros análisis, Noctilucales se ha clasificado dentro de Dinophyceae, formando parte de los órdenes Peridinales (Orr et al. 2012) o Gymnodinales (Price & Bhattacharya 2017). Otro grupo en el cual no existe un consenso en su clasificación y posicionamiento filogenético es Syndiniales. En algunos estudios, Syndiniales fue definido como uno de los dos linajes principales dentro de los dinoflagelados

(Bachvaroff et al. 2014; Hoppenrath & Leander 2010; Okamoto et al. 2012). En otros casos, aparece como grupo basal de Dinophyceae (Gottschling et al. 2019), tal como se observa en este árbol de referencia, donde aparece como grupo hermano del clado conformado por las secuencias de Perkinsea y Apicomplexa.

A diferencia de los grupos mencionados anteriormente, en los que aún no existe consenso sobre su posicionamiento filogenético, hay clados cuyo lugar en el árbol evolutivo está más resuelto. Un ejemplo es la clase Perkinsea, que se encuentra estrechamente relacionada con los dinoflagelados, pero no forma parte de este grupo (Saldarriaga et al. 2003; Itoiz et al. 2022). Filogenéticamente, Perkinsea se ubica próxima a Syndiniales y a la familia Oxyrrhinaceae (Fensome et al. 1999; Bachvaroff et al. 2014). Asimismo, el grupo Apicomplexa se ha mostrado estrechamente relacionado con Perkinsea en la mayoría de las filogenias (Siddall et al. 1997; Bråte et al. 2010; Gottschling et al. 2019), lo cual también se refleja en el árbol filogenético construido, donde ambos aparecen como grupos hermanos.

El árbol filogenético de Dinophyceae se construyó con secuencias de referencia de genes concatenados obtenidas de la bibliografía y fue enriquecido con secuencias del gen 18S obtenidas de las bases de datos. La filogenia construida en base a múltiples genes concatenados ofrece varias ventajas en comparación con la filogenia basada en un único gen, ya que al incluir varios genes se obtiene una mayor cantidad de información genética, lo que, muchas veces, permite construir árboles filogenéticos más precisos y robustos (Bachvaroff et al. 2011; Holt et al. 2023). En otros casos, hay resultados que muestran que tanto las filogenias de ADN ribosomal (con los genes 18S, ITS, 28S) como las de múltiples genes resuelven los límites de las especies igualmente bien, pero las filogenias multigen proporcionan evidencia más sólida de la relación filogenética entre las especies (Ott et al. 2022), lo que genera que aumente la confiabilidad en la filogenia inferida.

La mayoría de las secuencias ambientales fueron asignadas a los órdenes Peridinales y Gymnodinales mediante distintos métodos de clasificación, basándose en el alineamiento y en el árbol filogenético de referencia de Dinophyceae. También se clasificaron secuencias en los órdenes restantes: Prorocentrales, Gonyaulacales, Suessiales y Dinophysiales.

El método de posicionamiento filogenético fue caracterizado en trabajos anteriores por ser más preciso al momento de identificar secuencias (Matsen et al. 2010; Berger et al. 2011; Barbera et al. 2018), al igual que lo observado en los resultados de este Capítulo con las secuencias de Dinophyceae. En lugar de depender de la similitud contrastando con una base de datos, identifica lecturas basándose en un árbol filogenético de referencia. De este modo, permite incorporar información sobre la historia evolutiva de los grupos bajo estudio (Czech et al. 2022). Aproximadamente la mitad del total de secuencias de Dinophyceae fueron asignadas hasta los niveles de género y/o especie, evidenciando el buen desempeño de este método, tal como se observó en trabajos anteriores (Mahé et al. 2017; Gottschling et al. 2019; Ewers et al. 2023). Llamativamente, solo una pequeña proporción de las secuencias asignadas al nivel de orden o inferiores

cayeron en el clado de los Gonyaulacales. Esto probablemente se deba a los escasos muestreos de este grupo, especialmente considerando que una gran parte de sus especies habitan en agua dulce, un ambiente mucho menos estudiado en comparación con el medio marino. Por otra parte, los valores bajos del parámetro LWR para la mayoría de las secuencias clasificadas indican una cierta incertidumbre en su ubicación precisa, ya que ramas cercanas también podrían representar opciones probables para su posicionamiento. Esto fue evaluado adicionalmente utilizando el estadístico EDPL (distancias entre las ubicaciones de las secuencias *query* en el árbol filogenético). Los resultados del EDPL confirmaron que las secuencias se posicionaron en ramas cercanas, y siempre cayeron dentro del clado o grupo esperado, lo que sugiere que fueron correctamente clasificadas a nivel filogenético.

Por otra parte, los métodos tradicionales basados en la comparación nucleotídica solo lograron clasificar las secuencias ambientales de EukBank a niveles superiores, como Dinophyceae o Eukaryota. Utilizando USEARCH, la mayoría de las secuencias que fueron asignadas hasta el nivel de orden pertenecieron casi en su totalidad a Gymnodiniales. En cambio, con DECIPHER, solo el 2% de las secuencias fueron clasificadas a nivel de orden o inferiores. Específicamente, las secuencias asignadas a nivel de especie correspondieron a los órdenes Gymnodiniales, Peridinales, Gonyaulacales y Suessiales. Esto ocurre porque ambos clasificadores dependen enormemente del set de datos utilizado como base de datos de referencia (Hung et al. 2022). La clasificación mediante BLAST fue descartada ya que generó un sesgo hacia dos secuencias particulares de la base de datos de referencia, pertenecientes a los géneros *Dinophysis* y *Scrippsiella*.

Los métodos de comparación de secuencias *query* con bases de datos de referencia son rápidos y funcionan razonablemente bien cuando las lecturas son lo suficientemente similares a las secuencias de referencia, es decir, cuando hay representatividad de las secuencias a clasificar en la base de datos de referencia a contrastar (Czech et al. 2018). Por lo tanto, la ineficiencia en la asignación por estos métodos puede deberse a ausencias puntuales de especies en el conjunto de datos de entrenamiento (Murali et al. 2018), sumado a una alta divergencia en las secuencias a clasificar y/o presencia de secuencias novedosas que aún no tienen representación en las bases de datos de referencia.

El árbol de referencia del orden Gonyaulacales se construyó utilizando las mismas secuencias de genes concatenados que se emplearon para el grupo Dinophyceae, incorporando además secuencias del gen 18S de Gonyaulacales descargadas de la base de datos PR². Este orden constituye un clado monofilético compuesto por especies marinas y de agua dulce, siendo *Ceratium* uno de los géneros dulceacuícolas más reconocidos y ampliamente distribuidos a nivel global (Macedo et al. 2021). Inicialmente, *Ceratium* incluía tanto especies marinas como de agua dulce, pero la evidencia morfológica y molecular respaldó la restricción del nombre *Ceratium* a las especies de agua dulce (Gómez et al. 2010) y la adopción de *Triplos* para las especies marinas (Gómez 2013). Esta división también se refleja en la filogenia, donde los géneros

Tripes y *Ceratium* forman dos clados hermanos bien diferenciados, con un alto valor de *bootstrap* (>90; Logares et al. 2007; Accattatis et al. 2020).

En el árbol construido, puede observarse que la familia *Tovelliaceae* es la primera en divergir del clado principal de Gonyaulacales y forma un clado monofilético, un patrón que también se ha reportado en otras filogenias, donde las especies de esta familia no se clasificaron dentro de este orden (Pandeirada et al. 2019; Chacón & Gottschling 2020; Tillmann et al. 2021).

Los dos clados con mayor número de secuencias corresponden a los géneros *Alexandrium* y *Gambierdiscus*. Este último, forma un clado monofilético estrechamente relacionado al género *Fukuyoa*, que fue separado de *Gambierdiscus* en 2015 y ahora incluye tres especies (Gómez et al. 2015), entre ellas *Fukuyoa yasumotoi*, presente en el árbol filogenético construido. Ambos géneros permanecen estrechamente relacionados formando grupos hermanos, lo cual también se observó en filogenias anteriores (Leung et al. 2018; Hoppenrath et al. 2019; Gottschling et al. 2020).

Por otro lado, el género *Alexandrium* forma un clado de 179 secuencias compuesto también por otros dos géneros marinos: *Ostreopsis* y *Coolia*, que al pertenecer a la familia *Ostreopsidaceae*, en la mayoría de las filogenias forman un clado monofilético (Accoroni et al. 2016; Boisnoir et al. 2022). Las especies de *Alexandrium* quedan divididas en tres clados: el más grande, compuesto mayormente por las especies *A. tamarense* y *A. catenella*; otro formado por las secuencias de la familia *Ostreopsidaceae* junto con otras ocho especies de *Alexandrium*; y por último un clado formado principalmente por las especies *A. ostenfeldii* y *A. minutum*.

A partir de este árbol y de su alineamiento de referencia, se asignaron taxonómicamente dos conjuntos de datos basados en secuencias de la base de datos EukBank pertenecientes al grupo Gonyaulacales utilizando los mismos métodos de clasificación que para Dinophyceae. En este caso, la mayoría de secuencias se asignaron a la familia *Pyrocystaceae*, específicamente al género *Alexandrium*. Este género incluye una gran diversidad de especies que se distribuyen en ambientes marinos a nivel global (Hallegraeff et al. 1993; Anderson et al. 2012) y actualmente 32 especies diferentes son aceptadas taxonómicamente (Mertens et al. 2020). La principal diferencia entre la clasificación de la totalidad de las secuencias descargadas de EukBank y la realizada tras la reasignación filogenética radicó en el número de secuencias asignadas a niveles taxonómicos más bajos, como género y especie. Por ejemplo, en el caso de USEARCH, el número de secuencias *query* clasificadas a nivel de especie aumentó casi el doble al utilizar las secuencias reasignadas, siendo este el método que logró la mayor proporción de asignaciones a nivel de especie, con un 61% del total clasificado. En cambio, con el método de posicionamiento filogenético se obtuvieron resultados muy similares para ambos conjuntos de datos, clasificándose en aproximadamente los mismos porcentajes dentro de cada nivel taxonómico, cerca de la mitad del total en el nivel de especie. El paquete de R DECIPHER no resultó adecuado para clasificar este tipo de secuencias ya que en su

mayoría se ubicaron como *Unclassified_Root*, tanto las secuencias originales descargadas de EukBank como las reasignadas por filogenia. Esto significa que dichas secuencias fueron asignadas en la "raíz" del árbol taxonómico, el nivel más alto posible en el árbol filogenético, lo que impidió su asignación a un taxón específico en la base de datos de referencia utilizada para la clasificación. Algo similar ocurrió con BLAST, donde las secuencias clasificadas únicamente como Eukaryota o Dinophyceae presentaron porcentajes de identidad muy altos (entre el 70-100%) con secuencias de referencia que también estaban asignadas a esos mismos niveles taxonómicos. La mayoría de las secuencias de EukBank sin reasignar, se clasificaron en diferentes géneros y/o especies; mientras que las secuencias reasignadas filogenéticamente repitieron el patrón del grupo Dinophyceae, asignándose la mitad a una única secuencia de referencia de *Alexandrium margalefii*; igualmente coincidente al resto de los métodos que clasificaron un gran porcentaje de secuencias en este género.

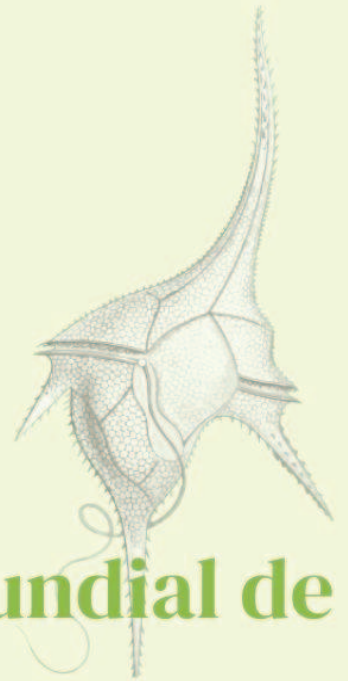
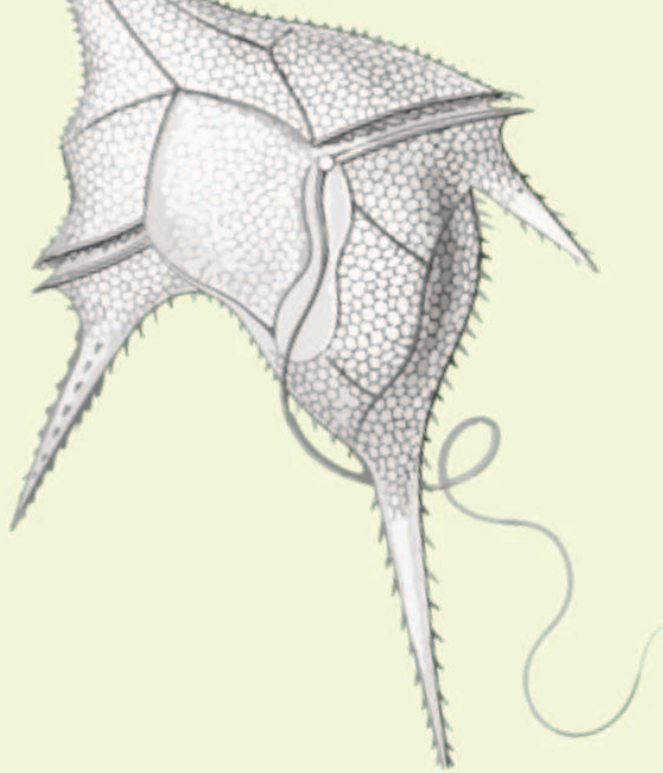
En definitiva, para la clasificación de secuencias ambientales, se observó que los métodos de posicionamiento filogenético son los más eficientes ya que permiten comparar de manera más integral, tomando en cuenta la historia evolutiva, y analizan en simultáneo las relaciones filogenéticas de todas las secuencias de referencia. Los métodos para clasificar secuencias ambientales basados en su composición nucleotídica dependen de la similitud entre las secuencias desconocidas y las de referencia, por lo que requieren bases de datos altamente representativas de todos los clados del grupo en estudio. En el caso de las secuencias de Gonyaulacales, USEARCH mostró una alta eficiencia en la asignación taxonómica en comparación con BLAST y DECIPHER. Esta diferencia podría estar relacionada con características particulares del algoritmo, que le permite identificar patrones taxonómicos específicos dentro de las secuencias, así como su sensibilidad a la variabilidad genética entre ellas.

Desde un punto de vista evolutivo, la eficiencia de los métodos más sensibles a la variabilidad genética sugiere que las secuencias de Gonyaulacales presentan un alto grado de divergencia, lo cual esté posiblemente reflejando una historia evolutiva con eventos recientes de diversificación. La necesidad de métodos que consideren la historia filogenética resalta también la existencia de linajes bien diferenciados, con patrones de conservación y variabilidad que no siempre se reflejan en la similitud nucleotídica. Sumado a esto, el gen ribosomal 18S podría tener ciertas limitaciones para evaluar eventos eco-evolutivos. En este sentido, este marcador no reflejaría con precisión la evolución funcional del clado, ya que no permite discriminar especies con nichos ecológicos distintos, como los marinos y los de agua dulce.

El presente Capítulo presentó los primeros árboles filogenéticos de referencia para los grupos Dinophyceae y Gonyaulacales, contruidos a partir de una recopilación exhaustiva de secuencias y la conformación de una base de datos robusta, sometidas a múltiples etapas de filtrado y curado. Además, se exploraron diversas metodologías de clasificación taxonómica de secuencias con el fin de comparar su

eficiencia, tanto en Dinophyceae como en Gonyaulacales, utilizando dos conjuntos de datos diferentes para este último grupo.

Capítulo 2



**Distribución mundial de
Ceratium y análisis de sus
preferencias ambientales**



Este Capítulo forma parte de la publicación: Accattatis, V., Milano, M., da Silva, R. D., Huber, P., Metz, S., Calado, A., Craveiro, S., Forastier, M., Piccini, C., de Souza Cardoso, L., Devercelli, M. (2024). *Mapping the global distribution and predicting the potential expansion of Ceratium (Dinophyceae): development of an interactive platform. La misma se encuentra en proceso de revisión en la revista Biological Invasions.*

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, la globalización ha incrementado la conectividad entre regiones de todo el mundo, disminuyendo la importancia de las distancias y las barreras geográficas. Una consecuencia significativa de este aumento en la conectividad es el mayor transporte de especies, ya sea de manera intencional o accidental, hacia nuevos ambientes donde pueden volverse invasoras (Meyerson & Mooney, 2007; Keller et al. 2011). En las áreas introducidas, algunas de estas especies encuentran nichos con condiciones similares a las de su área nativa, pero carecen de depredadores, parásitos o competidores naturales (Sakai et al. 2001; Torchin et al. 2003), lo que favorece su supervivencia y proliferación. La introducción de estos organismos impone diferentes impactos en los ecosistemas (Pejchar & Mooney 2009; Pysek et al. 2020) y, en ciertas ocasiones, conduce a la pérdida de biodiversidad, lo que es una de las mayores preocupaciones respecto a las invasiones biológicas (Mollot et al. 2017). Se necesita un conocimiento integrado, confiable y, en la medida de lo posible, actualizado de las distribuciones geográficas de las especies invasoras para predecir su potencial de propagación y proporcionar información para el desarrollo de estrategias de manejo (Ricciardi et al. 2000).

En este sentido, los conjuntos de datos relativos a la introducción de especies a lo largo de períodos prolongados ofrecen valiosas perspectivas sobre patrones históricos y prospectivos, lo que ayuda a tomar decisiones informadas para la gestión de la conservación (van Kleunen et al. 2015; Seebens et al. 2017). Estas bases de datos no sólo proporcionan información valiosa para mejorar los enfoques de control y gestión de las especies invasoras (Molnar et al. 2008), sino que también permiten la identificación oportuna de los cambios en su distribución, esencial para la aplicación de medidas proactivas.

En lo que respecta a los ambientes acuáticos, existe gran cantidad de información sobre peces, moluscos y crustáceos invasores (Thomsen et al. 2014; Jones et al. 2021). Sin embargo, en el caso de los microorganismos, la gran mayoría de los estudios se han desarrollado en ambientes marinos, y su introducción en sistemas de agua dulce, como el caso de *Ceratium* y otras especies, ha atraído más recientemente la atención tanto de ecólogos como de la sociedad (Bothwell & Taylor 2014; Abelando et al. 2020).

Dentro del género *Ceratium*, las dos especies de agua dulce más registradas a nivel mundial, *Ceratium furcoides* y *Ceratium hirundinella* constituyen organismos conspicuos, fáciles de identificar, aunque presentan una considerable variabilidad morfológica (Calado & Larsen 1997). Esto a menudo ha llevado a identificaciones erróneas, e incluso a confundir una especie con la otra. *C. hirundinella* se identifica típicamente por la base en forma de campana de la epiteca, mientras que la epiteca de *C. furcoides* es predominantemente cóncava. En caso de duda, se recomienda examinar las placas del cuerno apical; la placa 4' de *C. hirundinella* se extiende hasta la placa poral en la punta del cuerno, mientras que *C. furcoides* tiene la placa 4' corta y triangular (Figura 1; Moestrup & Calado 2018). Sin embargo, esto no siempre es fácil de identificar bajo el microscopio óptico, y es necesario procesar la muestra para poder corroborarlo bajo el microscopio electrónico.

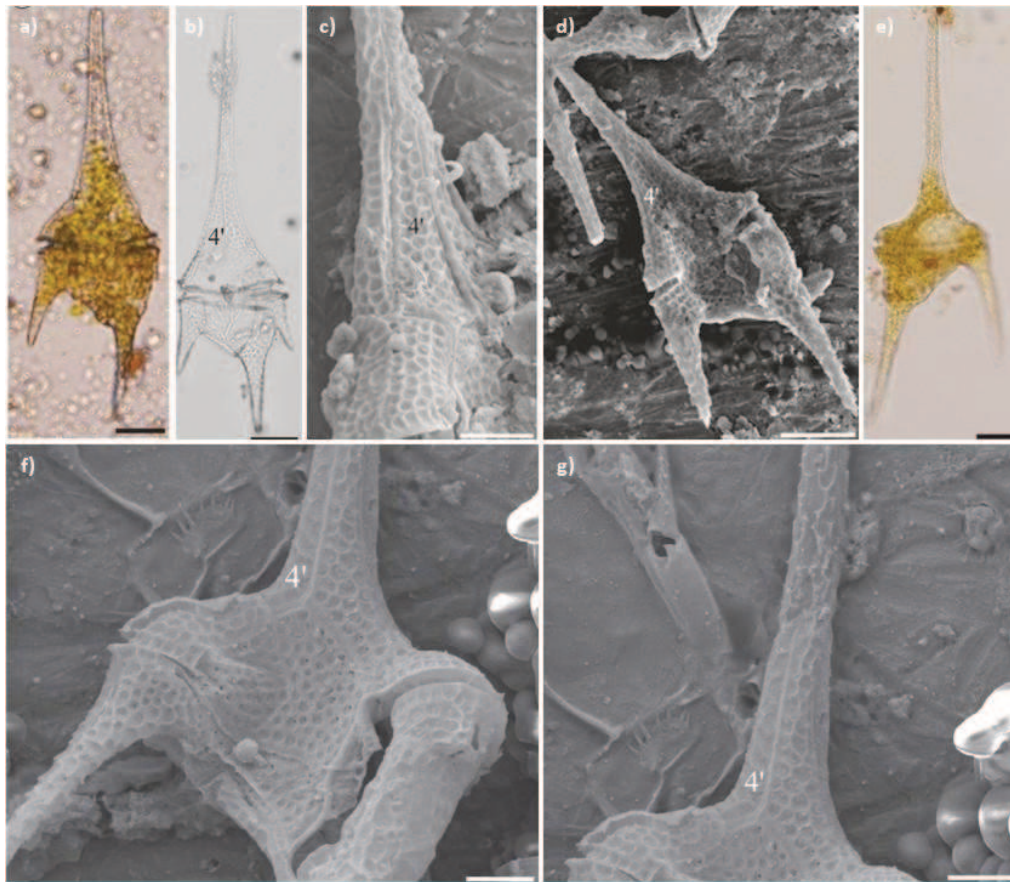


Figura 1. Diferencias morfológicas entre especies de *Ceratium*: (a-b) *Ceratium furcoides* y (e) de *C. hirundinella* tomadas con microscopio óptico. Imágenes de microscopio electrónico de barrido para observar en detalle la 4' placa de (c-d) *C. furcoides* y de (f-g) *C. hirundinella*. Barras de escala: (c, f-g) 10 μm y (a-b, d-e) 20 μm . Figura adaptada de Cavalcante et al. (2013).

En cuanto a las preferencias ecológicas, ambas especies toleran una amplia gama de condiciones ambientales, pero prefieren una alta disponibilidad de nutrientes, entornos con baja turbulencia, temperaturas entre 15 y 25 °C y un pH superior a 8 (Lindstrom 1992; Cavalcante et al. 2016). Aunque se han registrado algunas especies del género en ambientes oligotróficos (Malashenkov et al. 2021; Rodríguez-López et al. 2021; Correa et al. 2022), generalmente se encuentran en sistemas eutróficos (Cassie 1978; Rott et al. 2008; Oterino & Martínez 2016; Munawar et al. 2017; Haroon et al. 2020; Bustamante Gil et al. 2021), a menudo co-ocurriendo con cianobacterias (Silva et al. 2019; Kruk et al. 2021).

A fin de sistematizar la información recopilada, se desarrolló una plataforma web interactiva que permite visualizar la distribución mundial de las especies de *Ceratium*. Esta plataforma es colaborativa y cuenta con un formulario para la adición continua de registros de *Ceratium*. De este modo, la base de datos se enriquece y actualiza progresivamente, llenando potenciales vacíos en el mapa y proporcionando información más detallada sobre las condiciones ambientales en las que aparece este género invasor.

El objetivo principal de este Capítulo fue explorar la distribución mundial de las especies de *Ceratium* y las principales características de los ambientes en los que se desarrollan. Esto se realizó mediante la recopilación de los registros bibliográficos existentes de las especies de *Ceratium* a nivel global junto con registros inéditos obtenidos a partir de muestreos de campo. Con ellos, se construyó una base de datos que incluyó las coordenadas geográficas e información ambiental asociada, y se analizó la distribución de las distintas especies y sus preferencias ambientales.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Construcción de la base de datos

Se realizó una extensa búsqueda bibliográfica de registros globales de *Ceratium* publicados hasta el año 2023. Esta revisión se llevó a cabo utilizando Scopus (<https://www.scopus.com>) y Google Scholar (<https://scholar.google.com>), chequeando también los estudios citados en las publicaciones obtenidas. Se empleó una variedad de palabras clave específicas: Dinophyceae, Dinoflagellates, Dinoflagelados (en español y portugués), Gonyaulacales, *Ceratium*, *Ceratium furcoides* y *Ceratium hirundinella*. Una vez finalizada la búsqueda en la bibliografía y literatura, se incorporaron a la base de datos registros inéditos de *Ceratium* aportados por diferentes grupos de investigación (Tabla A2).

Además de los registros, se sumaron otros datos asociados como: coordenadas de los lugares donde se encontró *Ceratium*, país, fecha de ocurrencia, referencia bibliográfica o colector/a, nombre de la especie encontrada, nombre y tipo de ambiente, y variables ambientales (área, altitud, profundidad, origen, estado trófico, temperatura, transparencia, clorofila-a, fósforo total, nitrato, conductividad y pH. Por último, se incluyeron observaciones relevantes sobre las características morfológicas y ecológicas de las especies,

como el número de espinas, densidad, etc. En los casos donde no estaba disponible un valor específico de alguna variable, se colocó "NA".

Para abordar el problema de la identificación errónea de especies de *Ceratium*, se añadió una columna a la base de datos llamada "Identificación de la especie" con las opciones "confirmada" y "no confirmada" para los casos en los que existían dudas sobre la identificación correcta a nivel de especie. El criterio de clasificación en alguna de las dos categorías se basó en la presencia de fotografías, descripciones taxonómicas o la participación de coautores expertos en el campo de estudio. Esto brindó evidencia contundente en el estudio detallado de la especie que confirmó su asignación taxonómica.

2. Análisis de distribución global

La base de datos se utilizó para recuperar los registros temporales y la distribución geográfica de *Ceratium* de acuerdo con los registros bibliográficos. Las preferencias ecológicas se analizaron según las variables ambientales asociadas a cada registro. Se excluyeron las publicaciones que no informaban datos ambientales. Los análisis se realizaron a nivel de género y de especie. Solo se utilizaron los registros confirmados de ambas especies. Los gráficos y figuras se construyeron en RStudio utilizando el paquete ggplot2 (Wickham 2016).

3. Desarrollo de la plataforma web

Se desarrolló una plataforma web denominada “*Ceratium* Tracker” ([Ceratium Tracker](#)), para visualizar en un mapa mundial los registros de especies de *Ceratium* junto con la información ambiental asociada disponible. Este sitio web permite la actualización constante por parte de los usuarios, quienes pueden agregar nuevos registros a través de un formulario en línea. El proceso incluye una validación de datos para prevenir duplicaciones y errores (Figura 2). La plataforma integra la base de datos previamente descrita, que contiene información sobre los registros de *Ceratium*, su localización geográfica y variables ambientales. Los datos pueden ser filtrados y visualizados según el tipo de ambiente, estado trófico, años de ocurrencia de *Ceratium* y especies identificadas. Además, una pestaña adicional permite acceder a la tabla con los datos en bruto para facilitar análisis más detallados.

Se utilizó Shiny app para la creación de la plataforma, utilizando el paquete Shiny (Chang et al. 2015) en el lenguaje de programación R. Con este paquete, es posible crear interfaces de usuario interactivas que responden a la entrada del usuario y generan resultados dinámicos basados en los datos, además de realizar análisis en el entorno de desarrollo integrado RStudio (Rstudio Team 2022).

Se utilizó KoboToolbox para crear un formulario a través del cual se pueden añadir nuevos registros de *Ceratium* a la plataforma. Estos nuevos registros pueden ser datos inéditos o publicados que aún no se han incorporado en la base de datos. KoboToolbox es una plataforma de código abierto utilizada para la

recopilación, gestión y análisis de datos en el campo. Permite a los usuarios diseñar formularios personalizados de recolección de datos, que se almacenan de forma segura en la nube.

Para evitar la carga de datos erróneos, los nuevos registros pasan por una etapa de aprobación o desaprobación supervisada. Los datos nuevos que se cargan son visibles en la plataforma web en una capa independiente, hasta su aprobación. El formulario de KoboToolbox se encuentra disponible a través del enlace [Formulario registros](#). Para actualizar la plataforma con nuevos registros, un código escrito en el lenguaje R interactúa con la API de KoboToolbox para recuperar los datos cargados a través del formulario. Los datos recuperados se someten a un proceso ETC (Extracción, Transformación y Carga) donde se limpian, normalizan y eliminan duplicados mediante la comparación de los valores de las variables “Cita”, “Sitio de estudio” y “Registro de *Ceratium*”.

Los scripts de R utilizados para la creación de la plataforma web y posteriores análisis se encuentran disponibles en GitHub: [scripts_github](#)

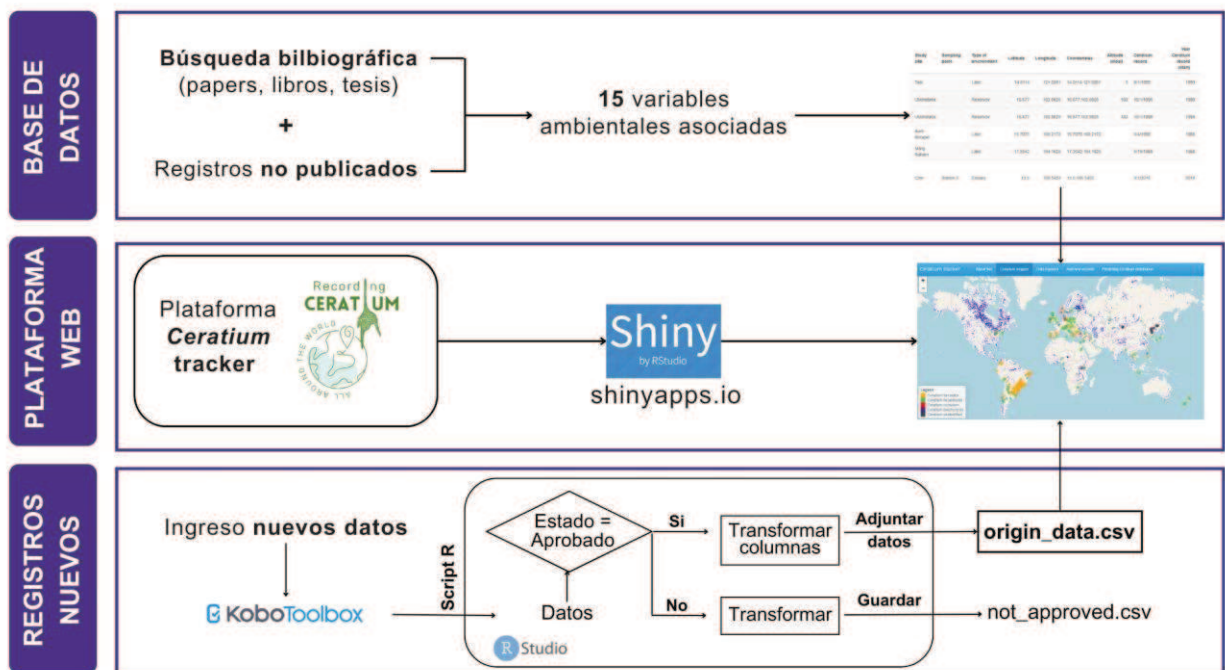


Figura 2. Diagrama ilustrando la construcción de la base de datos, la creación de la plataforma web y el procesamiento para la incorporación de nuevos registros de *Ceratium*.

RESULTADOS

Un total de 245 artículos, libros y tesis (Tabla A2) fueron recopilados, los cuales permitieron reportar a *Ceratium* en 60 países diferentes alrededor del mundo, sumando un total de 677 registros. También se incluyeron 42 nuevos registros de Argentina, Portugal y China. Como resultado, la base de datos quedó conformada por 719 registros de seis continentes en diferentes proporciones (Figura 3a). Sudamérica y Europa presentaron el mayor número de registros, con 308 (42,8%) y 249 (34,6%), respectivamente. Además, se encontraron 86 (12%) registros en Asia, 31 (4,3%) en Oceanía, 23 (3,2%) en África y 22 (3,1%) en América del Norte (Figura 3b).

En cuanto a la distribución global de cada especie, *C. furcoides* predominó en Sudamérica, especialmente en Brasil, constituyendo el 66,2% de todos los registros del continente. Esta especie también mostró una amplia distribución en Europa, junto con *C. hirundinella*, con el 34,9% y el 77,1% del total de registros respectivamente. *C. hirundinella* también tuvo una amplia distribución en África y Oceanía, y registros concentrados mayormente en el suroeste de Sudamérica. Los registros de *C. cornutum* se limitaron a Europa y el sur de Argentina, mientras que el único registro confirmado de *C. brachyceros* provino de Tanzania (Figura 3a).

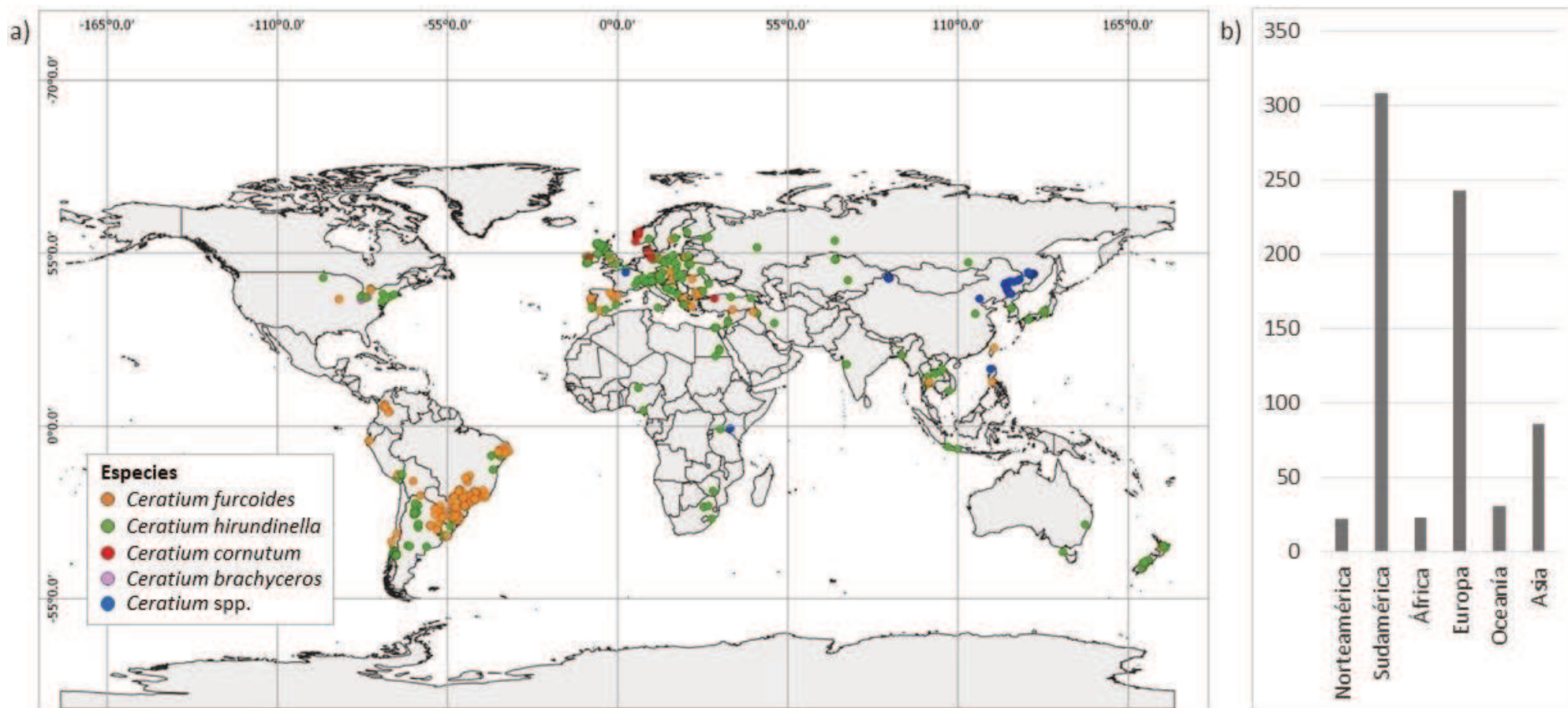


Figura 3. (a) Mapa de ocurrencias de diferentes especies del género *Ceratium*, elaborado a partir de una revisión bibliográfica y la incorporación de registros inéditos proporcionados por otros grupos de investigación. (b) Número de registros clasificados por continente.

Desde 1881 hasta el año 2000, se encontró aproximadamente un registro de *Ceratium* por año, y luego del cambio de siglo, el número de registros aumentó notablemente (Figura 4). En este sentido, el primer registro confirmado de *Ceratium hirundinella* fue en Dinamarca en el año 1880 (Bergh 1881); mientras que el de *Ceratium furcoides* data de 1912 en el lago Telaga Warna, Indonesia (Wołoszyńska 1912) (Figura 5a). El primer registro encontrado para África fue del año 1904, pero el mayor número de registros de *C. hirundinella* en este continente comenzaron a aparecer a partir de 1990. En Sudamérica, en cambio, el registro más antiguo se encontró en los lagos patagónicos de Argentina, identificando a *Ceratium cornutum* y *C. hirundinella* (Thomasson 1963). Finalmente, los registros de América del Norte se concentraron principalmente en el período 1992-2008 (Figura 5a). Sin embargo, el registro más antiguo se remonta a 1946 en el embalse de Conowingo, Estados Unidos, donde se encontró la especie *C. hirundinella* (Thompson 1947).

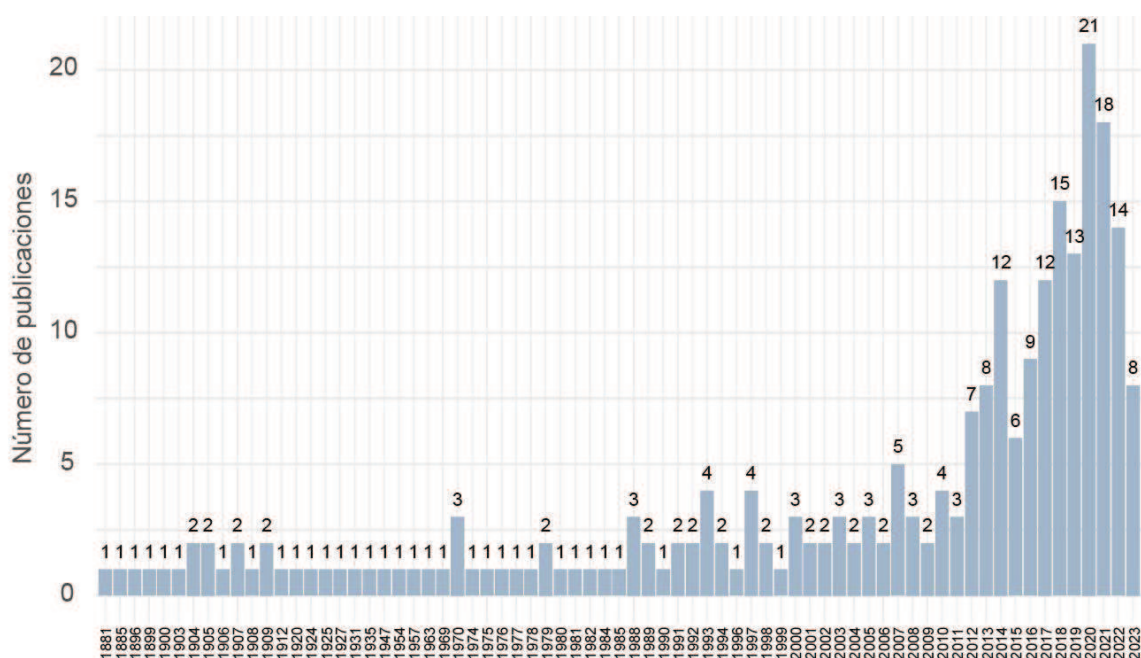


Figura 4. Número de trabajos publicados entre 1880 y 2023 con registros de especies de *Ceratium*.

La plataforma web “*Ceratium* tracker” presenta seis pestañas principales (Figura 5b). La primera incluye una introducción sobre su funcionamiento; la segunda muestra un mapa interactivo con los registros, que pueden visualizarse completos o filtrarse por especie, tipo de ambiente, estado trófico, confirmación del registro o años de ocurrencia. La pestaña “Data explorer” contiene la base de datos completa con información detallada de cada registro. En la cuarta pestaña se ofrece un formulario para incorporar nuevos registros, acompañado de una guía explicativa. Finalmente, la última pestaña presenta mapas de distribución potencial de *C. furcoides* y *C. hirundinella* en Sudamérica.

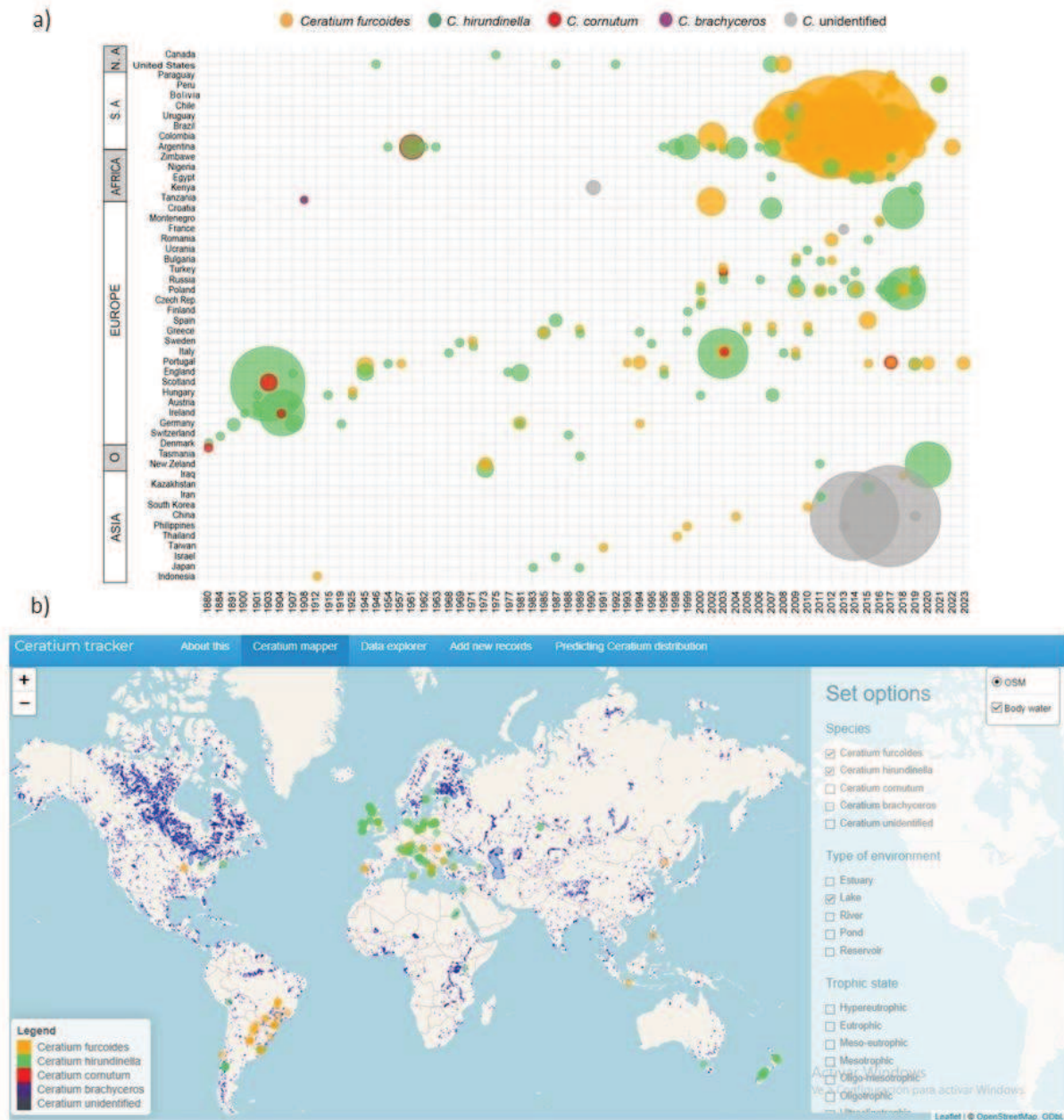


Figura 5. (a) Registros globales de especies del género *Ceratium* entre 1880 y 2023 en todo el mundo. El tamaño de las burbujas representa la cantidad total de registros publicados por año, mientras que los colores indican diferentes especies. Los registros provienen de todos los continentes: América del Norte (N.A), América del Sur (S.A.), África, Europa, Oceanía (O.), Asia. (b) Visualización de la plataforma web "*Ceratium* tracker" ([CeratiumTracker](https://ceratiumtracker.org/)) al filtrar la información por especies (*C. furcoides* y *C. hirundinella*), tipo de ambiente (lagunas) e identificación taxonómica (confirmada).

Del total de registros, el 88,37% con identificación taxonómica confirmada correspondieron a las especies *Ceratium furcoides* y *C. hirundinella* (Figura 6). En general, estas especies emergieron como las representantes exclusivas del género en sus respectivos ambientes, excepto en algunos casos donde coexisten en el mismo ambiente o aparecen junto a *C. cornutum*. Esta última especie se encontró en seis instancias más y *C. brachyceros* apareció en solo una ocasión con identificación taxonómica confirmada. Se encontraron registros de especies no clasificadas de *Ceratium*, sumando un total de 51. Estos podrían corresponder a las especies mencionadas anteriormente u otras diferentes.

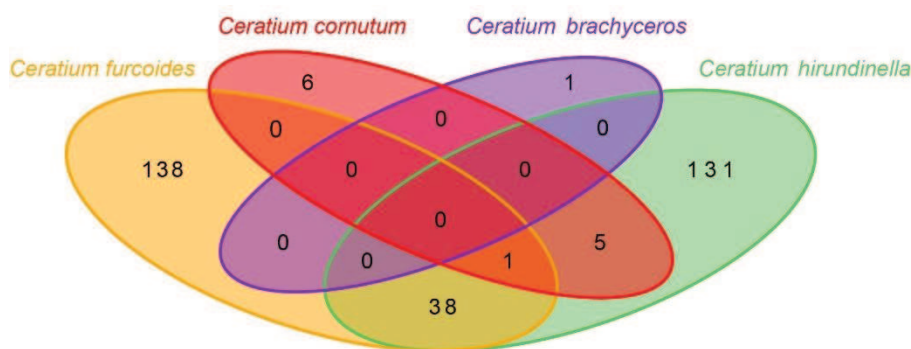


Figura 6. Número de sitios donde se registraron especies de *Ceratium* (total de sitios: 320). Los valores de intersección corresponden al número de sitios donde coexisten especies, utilizando solo registros con identificación taxonómica confirmada.

Las especies de *Ceratium* fueron halladas en una gran variedad de ambientes, incluidos estuarios, lagos, estanques, embalses y ríos (Figura 7a). A nivel global, las especies más frecuentes se encontraron predominantemente en lagos (*C. hirundinella*) y embalses (*C. furcoides*). Los registros en ríos se distribuyeron en cinco de los seis continentes, con Sudamérica teniendo el mayor número. En Europa y Asia, la gran mayoría de las observaciones de estas especies se realizaron en lagunas. Solo se registraron cinco ocurrencias de *Ceratium* en estuarios de Tailandia y Rusia.

Con respecto al estado trófico, las especies del género *Ceratium* se registraron en ambientes que variaron desde ultraoligotróficos hasta hipereutróficos (Figura 7b), predominando en ambientes eutróficos. *C. furcoides* y *C. hirundinella* se encontraron principalmente en ambientes eutróficos y mesotróficos, mientras que *C. cornutum* se limitó a ambientes oligotróficos y a un único registro en un ambiente mesoeutrófico.

Se observó una clara diferencia en la distribución de *Ceratium* entre continentes según el estado trófico. Tanto en Sudamérica como en Europa hubo registros en todos los estados tróficos estudiados,

mientras que en América del Norte y África solo se presentaron en ambientes eutróficos e hipereutróficos. En Oceanía, se encontraron registros en ambientes oligotróficos, eutróficos e hipereutróficos.

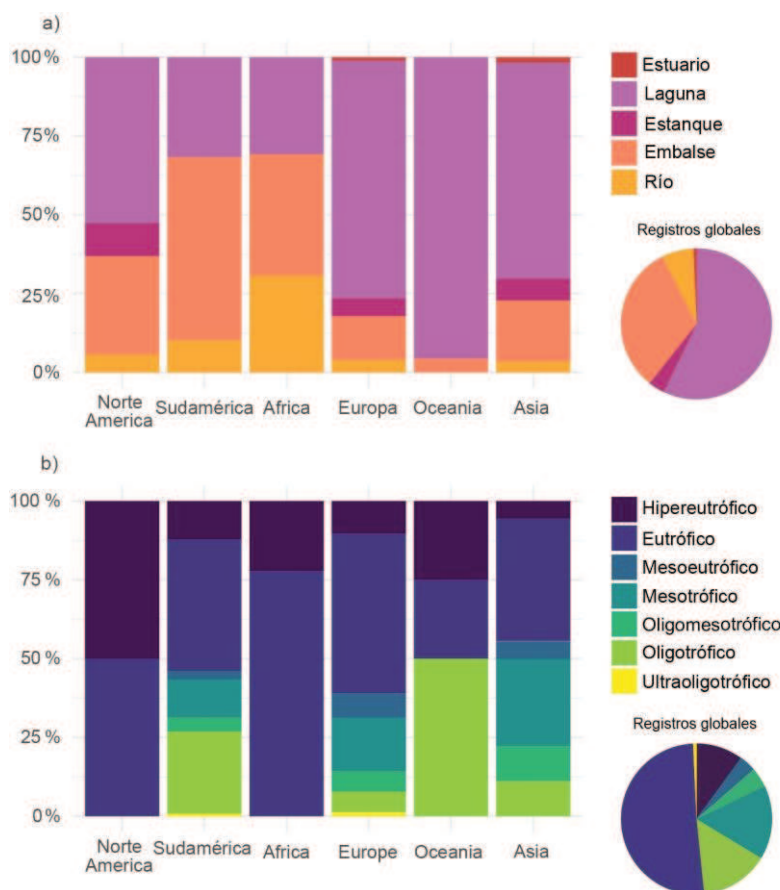


Figura 7. (a) Abundancia relativa de registros de *Ceratium* en distintos tipos de ambientes acuáticos, donde cada barra representa el número total de registros por continente (América del Norte: n=19, América del Sur: n=167, África: n=13, Europa: n=174, Oceanía: n=23, Asia: n=57); y gráfico de torta con los registros de *Ceratium* según el tipo de ambiente a nivel global. (b) Abundancia relativa de registros de *Ceratium* en diferentes estados tróficos, donde cada barra representa el número total de registros por continente (América del Norte: n=4, América del Sur: n=115, África: n=9, Europa: n=77, Oceanía: n=4, Asia: n=18); y gráfico de torta con los registros de *Ceratium* según el estado trófico a nivel global.

El 60% de los registros encontrados presentaba datos de temperatura asociados, constituyendo la variable cuantitativa más completa dentro de la base de datos (Tabla 1). Los valores promedio de temperatura del agua durante la ocurrencia de especies de *Ceratium* tuvieron un rango amplio, desde 6°C hasta 34°C, con un valor promedio de 21°C. Para las especies más frecuentes, *C. furcoides* presentó un rango global de 9°C a 29.9°C (Figura 8a), encontrándose a temperaturas más altas en Sudamérica (Figura

8b). Por otro lado, *C. hirundinella* presentó un rango de 6°C a 33°C (Figura 8a), encontrándose en todo el mundo en un rango de temperaturas más amplio que *C. furcoides* y a una temperatura promedio más baja de 18.4°C.

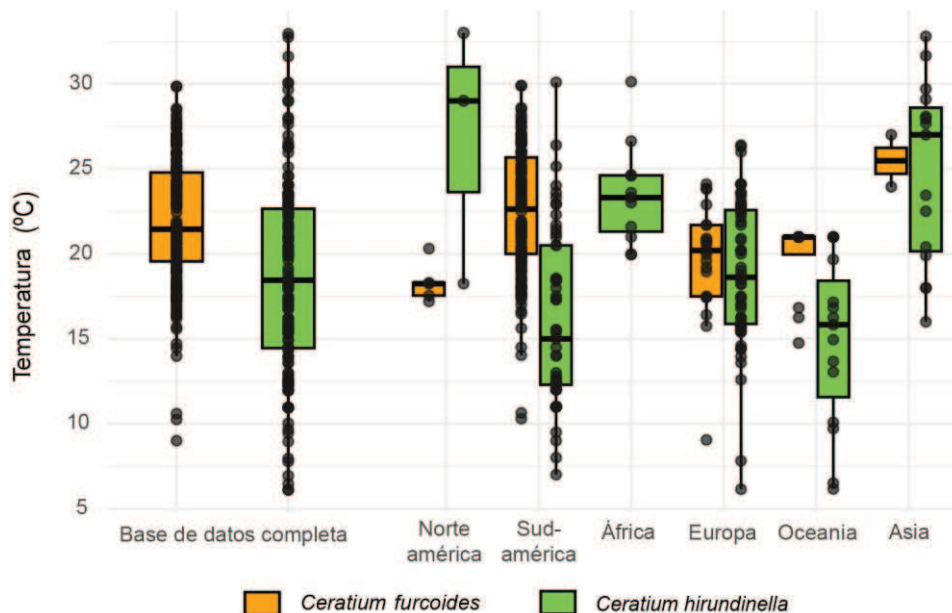


Figura 8. Temperaturas del agua en las que se encontraron registros de *Ceratium furcoides* (n=183) y *C. hirundinella* (n=102) (a) a nivel global y (b) por continente. Solo se utilizaron registros con identificación taxonómica confirmada.

Los valores de conductividad a nivel mundial variaron desde un mínimo de 10 $\mu\text{S cm}^{-1}$ hasta un máximo de 19605 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Tabla 1). Sin embargo, la mayoría de los ambientes donde se encontró *Ceratium* presentaron valores de conductividad entre 50 y 1000 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Más específicamente, *C. furcoides* se encontró mayormente en ambientes con niveles de conductividad más bajos, con un promedio de 282,8 $\mu\text{S cm}^{-1}$, mientras que *C. hirundinella* se registró en ambientes con niveles de conductividad más altos, con un promedio de 418.3 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

En términos de nutrientes, *Ceratium* se encontró predominantemente en ambientes caracterizados por valores de fósforo total que variaron de 0,5 a 1403 $\mu\text{g l}^{-1}$ y concentraciones de nitrato inferiores a 800 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Tabla 1).

De los 713 registros totales, únicamente 246 presentaron asociados datos de clorofila-a. La mayoría de los ambientes donde estuvo presente *Ceratium* mostraron valores de clorofila-a por debajo de los 100 $\mu\text{g l}^{-1}$ (Tabla 1). También se encontraron numerosos registros con valores de clorofila-a más altos, alcanzando un valor máximo de $4,24 \times 10^6$ $\mu\text{g l}^{-1}$ en un ambiente de Sudáfrica, como resultado de una floración de *Ceratium*.

Table 1. Estadísticas de las variables ambientales (media, máximo, mínimo, desviación estándar: DE) asociadas al género *Ceratium* en su conjunto (n=498), y en particular para *C. furcoides* (n=307), y *C. hirundinella* (n=245), derivadas de la base de datos construida. Para *C. furcoides* y *C. hirundinella* sólo se utilizaron registros con identificación taxonómica confirmada. Temp media del agua: temperatura media del agua, Secchi: profundidad del disco Secchi, Chl-a: clorofila-a, FT: fósforo total, Cond: conductividad. Estos valores se calcularon a partir de la información ambiental disponible en la pestaña “Data Explorer” de la plataforma web “*Ceratium Tracker*” ([Ceratium Tracker](#)).

		Temp media del agua (°C)	Secchi (m)	Chl-a (µg l ⁻¹)	FT (µg l ⁻¹)	Nitrato (µg l ⁻¹)	pH	Cond (µS cm ⁻¹)
Género <i>Ceratium</i>	Media	21,4	2,3	2,2 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁴	517,6	7,8	352,3
	Max	34,3	16	4,2 x 10 ⁶	2,2 x 10 ⁶	9800	10,4	1,9 x 10 ⁴
	Min	6,2	0,1	3 x 10 ⁻⁴	2,5	0,5	5,8	10
	DE	5,3	2,8	2,7 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵	1073	0,75	1223,68
<i>Ceratium furcoides</i>	Media	21,9	1,8	2785	105,4	498,7	7,6	285,8
	Max	29,9	16	123195	1080	6470	10,4	1,9 x 10 ⁴
	Min	9	0,1	0,6	4,7	0,5	5,8	10
	DE	3,9	2,2	13700	163,4	854,8	0,8	1544,3
<i>Ceratium hirundinella</i>	Media	18,4	2,8	1014	79,7	381	8,1	418,3
	Max	33	10,8	37215	676,8	9800	9,4	5380
	Min	6,2	0,2	3 x 10 ⁻⁴	2,5	0,5	7	55
	DE	5,2	2,4	5992,7	114,7	1247,4	0,5	642,3

DISCUSIÓN

En este Capítulo se realizó por primera vez un mapeo de la distribución global del género de agua dulce *Ceratium*, integrando esta información con variables ambientales y con características morfológicas de los individuos y ecológicas para cada registro. Esta información en conjunto permite analizar patrones espaciales y ecológicos relevantes que contribuyen a una mejor comprensión del comportamiento invasor del género y sus potenciales impactos. Como aporte singular de este trabajo, se construyó además la primera plataforma web interactiva dedicada exclusivamente a sistematizar dicha distribución geográfica. La plataforma integra registros publicados e inéditos, abarcando aproximadamente 140 años, desde 1880 hasta 2023, y ofrece la posibilidad de ser actualizada mediante la incorporación de nuevos datos o registros faltantes. Aunque la base de datos compilada proporciona un volumen significativo de información sobre

Ceratium, aún quedan numerosos registros por incluir. El género fue descrito por primera vez por Franz von Paula Schrank en 1798 (Schrank 1798), lo que evidencia documentación previa sobre su existencia. Además, *Ceratium hirundinella* tiene como basónimo *Bursaria hirundinella*, descrito por O.F. Müller en 1773, lo que sugiere que su historia taxonómica podría remontarse aún más atrás en el pasado. Este hecho refleja los numerosos cambios de nomenclatura que las especies de este género han experimentado a lo largo del tiempo antes de llegar a los nombres taxonómicamente aceptados en la actualidad (Calado y Larsen 1997).

Determinar el origen exacto de *Ceratium* sigue siendo un desafío. Los primeros registros históricos conocidos, correspondientes a *Bursaria hirundinella*, fueron observados en Dinamarca (Müller 1773), y posteriormente, el género *Ceratium* fue descrito en ambientes de Baviera, Alemania. Por ello, se ha planteado la creencia común de que su origen es europeo (Macedo et al. 2021a); sin embargo, aún no existen evidencias concluyentes al respecto. En el presente Capítulo, se identificó que el primer registro de *C. hirundinella* corresponde justamente a Dinamarca en el año 1880, mientras que el de *C. furcoides* se remonta a Indonesia en 1912. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de revisar críticamente las suposiciones sobre su origen y dispersión histórica. No obstante, también es posible que *C. furcoides* no haya sido reconocido como tal en registros más antiguos, y que se lo haya confundido con *C. hirundinella* debido a su similitud morfológica, lo cual podría haber enmascarado su presencia temprana en Europa. En la actualidad, *Ceratium* ha experimentado una expansión significativa, extendiéndose a zonas más allá de su supuesta área de distribución nativa y evidenciando un cambio de nicho. Por este motivo, puede encontrarse en diferentes regiones de todo el mundo donde se la considera una especie invasora (ver citas en Rojas-Castillo et al. 2023).

En las últimas décadas, el interés por las invasiones biológicas ha crecido considerablemente debido al impacto de estas especies en los ecosistemas y a los costos sociales y económicos asociados (Simberloff et al. 2013; Diagne et al. 2021; IPBES 2023; Peller & Altermatt 2024). En este contexto, las bases de datos de especies invasoras se han consolidado como recursos valiosos para comprender los complejos patrones y procesos asociados a estas invasiones y sus efectos en los ecosistemas. Además, desempeñan un papel fundamental al captar patrones locales de especies exóticas y proporcionar información clave sobre la distribución de organismos invasores (Fuentes et al. 2013). En los últimos años, se han desarrollado listas de control (Pagad et al. 2018) y bases de datos internacionales (por ejemplo, [IUCN GISD](#)) que recopilan especies exóticas invasoras de diferentes países del mundo. Sin embargo, para algunos grupos importantes de organismos, en particular muchos invertebrados y microorganismos, los datos sobre la distribución de especies invasoras aún son muy limitados (Havel et al. 2015; Thakur et al. 2019), y también existen sesgos regionales en términos de disponibilidad de datos asociados con el nivel socioeconómico y el desarrollo (Pyšek et al. 2008; Nuñez & Pauchard 2010). Los resultados sobre la distribución global de *Ceratium*,

obtenidos a partir de la base de datos desarrollada en esta tesis, son especialmente relevantes dado que la mayoría de las bases de datos internacionales sobre especies exóticas invasoras no incluyen organismos unicelulares de agua dulce o presentan escasos registros de estos grupos. Este vacío de información resulta especialmente significativo si se considera la creciente evidencia sobre el rol ecológico y la capacidad invasora de los microorganismos acuáticos, como ya fue señalado por Litchman (2010) hace más de una década. A esto se suma que las bases existentes, cuando incluyen registros de microorganismos, rara vez contemplan de manera integrada la complejidad de variables ambientales, morfológicas y ecológicas asociadas a las especies, como en este estudio para el caso de *Ceratium*. En este contexto, la plataforma *Ceratium* Tracker representa una herramienta innovadora y necesaria, ya que permite sistematizar y actualizar continuamente los registros de este género a escala global por parte de los usuarios. Su carácter dinámico y colaborativo evita que se torne obsoleta y contribuye activamente al monitoreo y gestión de la expansión de estas especies invasoras en ecosistemas dulceacuícolas.

Actualmente, las especies de *Ceratium* presentan una distribución global. Algunos autores han relacionado la rápida expansión de *Ceratium furcoides* con su capacidad para adaptar rápidamente su nicho climático natural tras ser introducido en nuevas áreas (Macedo et al. 2021b). En la base de datos creada para este Capítulo, se registra un gran número de lagunas naturales dentro de la presunta distribución nativa de *Ceratium*. Sin embargo, la notable plasticidad de estos organismos para adaptarse a nuevos ambientes, junto con sus diversas estrategias adaptativas, ha resultado en su elevada frecuencia y densas poblaciones en múltiples ambientes y regiones donde son considerados exóticos. Numerosos estudios han demostrado el alto potencial de dispersión de las especies de *Ceratium* (Meichtry et al. 2016; Silva et al. 2024). Por ejemplo, Severiano et al. (2022) documentaron 30 nuevas apariciones en un período de cuatro años en el noreste de Brasil. La dispersión de estos dinoflagelados también puede estar favorecida por el transporte de sus quistes de resistencia a través de aves, insectos acuáticos o el agua de lastre del transporte marítimo (Pollinger et al. 1993; Kristiansen 1996; Mac Donagh et al. 2005). Estas estrategias les permiten colonizar nuevos hábitats y expandir sus áreas de distribución.

A nivel mundial, Sudamérica ha sido la región con el mayor aumento en los registros publicados de *Ceratium* en las últimas décadas, y una de las regiones donde estas especies se consideran invasoras. El primer registro de *C. hirundinella* data del año 1954 en el sur de Argentina (Thomasson 1963), mientras que el establecimiento de *C. furcoides* ocurrió más recientemente, inicialmente invadiendo áreas desocupadas y, posteriormente, reemplazando a *C. hirundinella* (Boltovskoy et al. 2013; Salusso & Moraña 2014).

Los resultados revelaron que la mayoría de los registros de *Ceratium* a nivel mundial provienen de embalses y lagunas, una preferencia ampliamente documentada en estudios previos (Wu & Chou 1998; Daga et al. 2017; Sendra et al. 2022; Rojas Castillo et al. 2023). Particularmente, los embalses no sólo

actúan como fuentes cercanas de propágulos para cuerpos de agua no invadidos, sino que también modifican el hábitat, incrementando su vulnerabilidad a las invasiones (Havel et al. 2015). Por otro lado, las lagunas registradas en esta base de datos presentan características climáticas, morfométricas, hidrológicas y tróficas diversas, lo que sugiere la existencia de diferentes ecotipos dentro de las especies de *Ceratium*. En contraste, se observó que los registros en ríos son considerablemente menores. Las condiciones propias de estos ambientes, como el flujo constante, la turbulencia y su menor profundidad, resultan menos favorables para el establecimiento de especies de *Ceratium*, que prefieren hábitats más estables y térmicamente estratificados (Olrik 1994).

En cuanto al estado trófico, se observó que la presencia de *C. furcoides* generalmente se asocia a ambientes eutróficos e hipereutróficos (Matsumura-Tundisi et al. 2010; Teneva et al. 2014; Lemke et al. 2017), mientras que *C. hirundinella* también se ha registrado en numerosos ambientes oligotróficos (Thomasson 1963; Hansen & Flaim 2007; Rodríguez-López et al. 2021), y se ha documentado previamente que esta especie puede sobrevivir con concentraciones más bajas de nutrientes (Reynolds 1984). Sin embargo, *C. hirundinella* se ha encontrado en ambientes de todos los niveles tróficos, lo que sugiere que este género exhibe una considerable plasticidad, posiblemente fuera de los límites de su nicho fundamental en su hábitat nativo (Macedo et al. 2021b). En este sentido, se observó que tanto *C. hirundinella* como *C. furcoides* fueron registrados en ambientes con concentraciones medias de nitrato y fósforo total muy similares, con valores ligeramente más altos para *C. furcoides*.

Para las especies de *Ceratium*, la temperatura desempeña un papel fundamental en su distribución y crecimiento. Estudios previos han señalado que las altas temperaturas son significativas para el inicio de una floración, pero no esenciales para su mantenimiento (Cavalcante et al. 2016; Meichtry de Zaburlín et al. 2016), y que incluso las bajas temperaturas no impedirían su persistencia (Pacheco et al. 2021). Como se observó en los resultados de toda la base de datos, las especies de *Ceratium* se encontraron en mayor densidad dentro del rango de 15 a 30°C (Harris et al. 1979; Van Ginkel et al. 2001; Butterwick et al. 2005; Silva et al. 2018). Esto también puede estar relacionado con la temperatura óptima para la división celular, que está limitada tanto por temperaturas muy altas como muy bajas (Meichtry de Zaburlín et al. 2016). En cuanto a las dos especies más frecuentes, nuestros resultados mostraron que la temperatura media asociada a la presencia de *C. furcoides* era superior a la de *C. hirundinella*, como se ha señalado en otras comparaciones (Çelekli & Özpınar 2021). Sin embargo, este patrón puede invertirse en determinados continentes, como Europa o América del Norte, donde *C. hirundinella* mostró una mayor tolerancia térmica que *C. furcoides* (6 a 33°C y 9 a 30°C, respectivamente).

Finalmente, con respecto a la conductividad, se ha reportado previamente que estas especies toleran un amplio rango de conductividad y contenido de nutrientes (Cavalcante et al. 2016). En este caso, la visión

general de la base de datos indica que *C. furcoides* se encuentra en un rango más amplio en comparación con *C. hirundinella* (Noges et al. 2011).

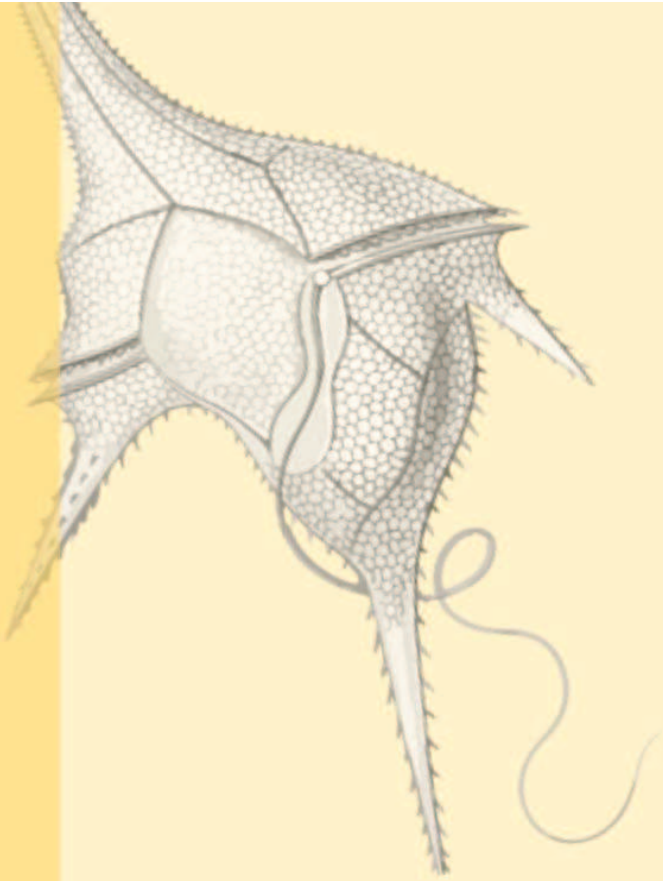
La notable capacidad invasora de las especies de *Ceratium*, que habitan desde sistemas oligotróficos hasta altamente eutróficos, y su presencia en ambientes que van desde aguas frías hasta cálidas tropicales, permite que estos dinoflagelados se distribuyan por una gran diversidad de ambientes a nivel global. En este contexto, contar con herramientas como la plataforma web desarrollada en este Capítulo resulta fundamental, ya que permite un monitoreo continuo y actualizado de la distribución y expansión de estas especies invasoras. Además, facilita el análisis de tendencias a largo plazo, ayudando a identificar patrones en la aparición y dispersión de estos organismos. En el caso particular de *Ceratium*, es necesario realizar más estudios para documentarlo en una mayor diversidad de ambientes, así como completar con información faltante, con el fin de completar los vacíos geográficos. Esto permitirá una mejor comprensión del origen, la ecología y las preferencias ambientales de estas especies.

Toda la información recabada en este Capítulo, junto con los datos que se incorporen en el futuro para llenar los vacíos de conocimiento, proporciona una base sólida para la gestión y el control de especies invasoras. La identificación de patrones de distribución y expansión de *Ceratium* no solo contribuye a comprender su dinámica ecológica, sino que también permite anticipar su impacto en diferentes ecosistemas. Estos datos resultan esenciales para el desarrollo de estrategias de manejo basadas en evidencia, como la implementación de programas de monitoreo temprano, la regulación del transporte de agua de lastre y la mitigación de condiciones ambientales que favorecen su proliferación. En este sentido, la integración de herramientas como modelos de distribución potencial y bases de datos actualizadas facilita la toma de decisiones, lo que constituye un factor clave para la conservación de la biodiversidad local y la protección de los ecosistemas frente a los efectos negativos de estas especies invasoras.



Capítulo 3

Filogenia y diversidad de las poblaciones de *Ceratium* a nivel global



INTRODUCCIÓN

Tal como se detalló en el Capítulo 1 de esta tesis, el género *Ceratium* forma parte del complejo grupo de los dinoflagelados (Hackett et al. 2004; Lin 2011), el cual se destaca por ser evolutivamente diverso y monofilético, con un extenso registro fósil que se remonta a varios cientos de millones de años (Graham & Wilcox 2000). Perteneció al orden Gonyaulacales junto con otros géneros ampliamente distribuidos como *Alexandrium*, *Gonyaulax* o *Fragilidium* (Moestrup & Calado 2018), y está incluido en la familia *Ceratiaceae* junto con el género *Triplos*.

La información filogenética disponible sobre *Ceratium* es limitada. El único antecedente acerca de estudios filogenéticos específicos de este género fue desarrollado por este grupo de (Accattatis et al. 2020). En el resto de la bibliografía, *Ceratium* solo ha sido incluido en filogenias generales dentro del grupo *Dinophyceae*, como uno de los representantes más conocidos del orden Gonyaulacales y la familia Ceratiaceae (Saldarriaga et al. 2004; Zhang et al. 2005; Gottschling et al. 2019).

En cuanto a su diversidad, tanto las especies dulceacuícolas de *Ceratium* como su contraparte marina *Triplos*, presentan una notable variabilidad genética y morfológica. Entre las características morfológicas, la forma y el número de sus prolongaciones celulares o "cuernos", muestra especialmente una amplia variabilidad fenotípica, probablemente influenciada por factores ambientales (Gómez 2021; Pradhan et al. 2023). Este hecho dificulta la delimitación de especies únicamente basándose en la morfología. Por ello, su identificación taxonómica idealmente debe complementarse con estudios moleculares y enfoques integrales, como ya se ha observado en otros grupos de microorganismos (Das et al. 2014; Sinniger et al. 2016).

En un estudio previo se ha documentado la presencia de variantes no idénticas del gen 18S ARNr en organismos del género *Ceratium* provenientes de ambientes hidrológicamente conectados, lo que sugiere un grado de estructuración genética no esperado a escalas locales (Accattatis et al. 2020). En este trabajo, las diferencias observadas entre secuencias podrían ser indicativas de una elevada diversidad nucleotídica dentro de poblaciones locales, aunque éste no haya sido un aspecto considerado en esa investigación. Este tipo de diferenciación genética ha sido respaldada por investigaciones en otros géneros de dinoflagelados (Chen et al. 2019; Lee & Park 2020). Sin embargo, los estudios moleculares centrados específicamente en *Ceratium* siguen siendo escasos. Hasta el momento, solo se ha publicado un trabajo realizado por el grupo de investigación de esta tesis, en el que se reportó la primera secuencia del género proveniente de Sudamérica (MK567886), correspondiente a un fragmento de aproximadamente 500 pb del gen 18S ARNr. A este registro se sumaron dos secuencias más cortas del mismo gen, obtenidas mediante secuenciación Illumina MiSeq: una del cauce principal del río Paraná y otra de una laguna de su llanura aluvial. A diferencia de *Ceratium*, el género marino *Triplos* cuenta con estudios genéticos recientes que han comenzado a explorar su diversidad molecular (Huang et al. 2024; Li & Chen 2025).

Además, estudios en *Tripes* han revelado altos niveles de variabilidad genética, con múltiples secuencias distintas en un mismo individuo correspondientes a la región V4 del gen 18S ARN, conocidas como haplotipos. En estos casos, se ha observado que cada célula presenta un haplotipo dominante acompañado de varios haplotipos menores, y que incluso diferentes especies de *Tripes* pueden compartir haplotipos (Huang et al. 2024). En comparación con otros protistas, los dinoflagelados tienden a poseer un alto número de copias de este gen, una característica que varía considerablemente entre especies y que está influenciada por factores como el tamaño celular (Hou 2008; Martin et al. 2022). Esto podría explicarse por la tendencia de los dinoflagelados a duplicar numerosos genes e incluso regiones genómicas completas (Lin 2011).

Los análisis de agrupamiento basados en la similitud nucleotídica como los análisis de redes se han convertido en herramientas valiosas para interpretar distancias entre variantes genéticas dentro de un mismo organismo o entre organismos diferentes. Estos análisis permiten visualizar relaciones filogenéticas y realizar inferencias sobre la biogeografía y la historia evolutiva de las poblaciones (Leigh & Bryant 2015). En el caso de los dinoflagelados marinos, se han llevado a cabo estudios en géneros como *Ostreopsis*, donde se han utilizado redes para esquematizar haplotipos junto con sus orígenes geográficos (Penna et al. 2014; Teschima et al. 2019; Lee & Park 2020).

El objetivo de este Capítulo fue analizar la diversidad de secuencias del gen 18S de poblaciones de *Ceratium* en ecosistemas de Sudamérica y del mundo mediante herramientas genéticas. Para ello se construyó un árbol de referencia del género *Ceratium* utilizando dos métodos filogenéticos: máxima verosimilitud e inferencia bayesiana, a partir de secuencias correspondientes a la región V4 del gen 18S ARNr. Además, se construyeron redes para visualizar las similitudes y diferencias entre las secuencias del gen 18S recopiladas en este Capítulo. De esta forma, se aplicó la metodología de redes de haplotipos TCS para examinar el agrupamiento de las secuencias de diferentes orígenes geográficos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Filogenia de *Ceratium*

Construcción de base de datos

La base de datos estuvo integrada por secuencias de distintas fuentes: GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), “European Nucleotide Archive” (ENA; <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home>), la plataforma Mgnify (<https://www.ebi.ac.uk/metagenomics/about>) y del repositorio de metabarcodes EukBank, que forma parte de la iniciativa UniEuk (<https://unieuk.net/project/>).

A partir de la base de datos GenBank se descargaron todas las secuencias disponibles del género *Ceratium* pertenecientes al gen 18S ARNr, sumando un total de 15 secuencias. Además, se incluyeron cuatro secuencias para conformar el grupo externo: *Tripes furca* (AJ276699), *Tripes longipes* (DQ388462), *Tripes paradoxides* (FJ402965) y *Tripes kofoidii* (FJ402963).

Se realizó una extensa búsqueda bibliográfica de proyectos de secuenciación masiva enfocados en protistas acuáticos de agua dulce realizados con la plataforma Illumina MiSeq. En una primera instancia, se identificaron 11 trabajos que cumplieran con estas condiciones. A partir de los identificadores de bioproyecto asociados a estos trabajos, se descargaron las secuencias crudas en la base de datos ENA de cada uno. De los 11 proyectos iniciales, uno proveniente de Corea del Sur no disponía de información pública para su descarga, lo que redujo el número final de proyectos analizados a 10. Se analizaron las secuencias de cada proyecto por separado a partir de un pipeline que consiste de los siguientes pasos:

- Eliminación de *primers* a partir del software cutadapt v4.9 (Martin 2011).
- Chequeo de calidad de las secuencias con DADA2 (Callahan et al. 2016).
- Cortado y filtrado de secuencias por calidad con DADA2.
- Eliminación de quimeras con DADA2.
- Asignación taxonómica de las secuencias a partir de la base de datos PR² (Protist Ribosomal Reference; Guillou et al. 2012) a partir del software BLAST (Camacho et al. 2009).

Luego de correr el pipeline de DADA2, se obtuvieron las tablas de taxonomía y se analizaron para extraer las secuencias de *Ceratium* presentes. Aquellos proyectos que no contaban con secuencias de este género, fueron descartados para su inclusión en la base de datos (Tabla 1). Además, para garantizar la calidad y consistencia de los datos, se estableció como criterio incluir únicamente secuencias mayores a 400 pb en la base de datos en desarrollo.

Posteriormente, se analizaron las secuencias de los cinco proyectos restantes, y se eliminaron los trabajos de Lentendu et al. (2019) y Cruaud et al. (2019), ya que sus secuencias eran cortas (200 pb) comparado con el resto de las secuencias. Las secuencias de *Ceratium* de los tres proyectos finales fueron incorporadas a la base de datos.

También se incorporaron las secuencias de *Ceratium* disponibles en Mgnify, una plataforma que analiza la diversidad y el potencial funcional del microbioma a partir de muestras ambientales. Se seleccionaron únicamente proyectos con organismos eucariotas de agua dulce, secuenciados mediante Illumina Miseq. Este filtro inicial arrojó 20 proyectos, de los cuales se descartaron 12 tras consultar con la base de datos ENA y verificar, a partir de la descripción del estudio, que no estaban orientados a la secuenciación de eucariotas y/o protistas. Se generó una lista con los identificadores (IDs) de cada proyecto seleccionado y, mediante una línea de comando (ver Anexo sección A3), se descargó la información correspondiente utilizando el paquete mg-toolkit (v.0.10.4) de Python. Este procedimiento se llevó a cabo

en el clúster Pirayú, donde se almacenó la información descargada para su posterior análisis. Para extraer exclusivamente las secuencias de *Ceratium* de cada uno de los 8 proyectos restantes, se concatenaron en un único archivo las secuencias de todas las muestras disponibles, y luego se realizó la asignación taxonómica con BLAST utilizando la base de datos de PR² que presenta secuencias del gen 18S ARNr

La base de datos quedó conformada únicamente por proyectos que aportaban secuencias de eucariotas de la región V4 del gen 18S ARNr. Fueron eliminados todos aquellos que no cumplían con estas condiciones, incluyendo los que contenían secuencias de otras regiones del gen 18S. De los cuatro proyectos restantes, uno contenía secuencias de eucariotas correspondientes a la región V6 a V8 del gen 18S ARNr, lo que también llevó a su exclusión, ya que el análisis se limitó a secuencias de la región V4. Finalmente, se seleccionaron los tres proyectos restantes (Tabla 1) para su inclusión en la base de datos de *Ceratium*.

Además de las secuencias recuperadas de la bibliografía y de la plataforma Mgnify, se incorporaron a la base de datos en construcción 6 secuencias de EukBank clasificadas como *Ceratium*.

Finalmente, se incorporaron secuencias inéditas provenientes de Brasil y Colombia, lo que permitió ampliar significativamente la representación geográfica en la base de datos y los análisis filogenéticos. Entre ellas, se destacan 2 secuencias de *C. furcoides* de Colombia, con una longitud aproximada de 1100 pb, obtenidas en el embalse La Regadera, ubicado a más de 3000 m s.n.m. en Bogotá. Estas secuencias aportaron información valiosa sobre poblaciones presentes en ambientes de alta montaña, hasta ahora subrepresentados en estudios previos. Por otra parte, las secuencias de Brasil se dividieron en dos grupos: 249 secuencias del embalse Broa de *C. furcoides* y *C. hirundinella*; y 46 secuencias originarias de diferentes lagunas y otros embalses dentro del Estado de Sao Paulo, pertenecientes a las especies: *C. furcoides*, *C. hirundinella* y a especies de *Ceratium* sin identificar (*Ceratium* sp.).

Tabla 1. Información sobre los proyectos seleccionados de la plataforma MGnify y de la bibliografía que fueron analizados con el pipeline de DADA2. Seqs: secuencias; BD: base de datos.

Bioproyecto ID	Ambiente	País	Referencia	Largo promedio de seqs (pb)	Número de seqs de <i>Ceratium</i>	Inclusión en la BD
PRJEB26716	Lagunas de llanura aluvial	Brasil	Lentendu et al. 2019	200	4	Si
PRJEB23471	Río Paraná	Argentina	Arroyo et al. 2018	-	0	No
PRJNA422037	Río Araguaia	Brasil	Machado et al. 2019a	-	0	No
PRJNA486319	Río Saint-Charles	Canadá	Cruaud et al. 2019	200	2	Si
PRJEB34585	Bavarian lakes	Alemania	Gottschling et al. 2020	200	29	Si
PRJEB24415	Lago Baikal	Rusia	Annenkova et al. 2020	-	0	No
PRJNA434596	Natural Tunnel State Park	Estados Unidos	Cahoon et al. 2018	480	1	Si
PRJEB2409	Parque Nacional Sierra de Guadarrama	España	Velasco-González et al. 2019	-	0	No
PRJEB36925	Lago Garda	Italia	Salmaso et al. 2020	480	7	Si
PRJNA657482	Lago Baikal	Rusia	David et al. 2021	-	0	No
PRJNA386242	Río Dongjiang	China	Mgnify	417	1116	Si
PRJNA343068	Sedimento de isla Phra Thong y la costa de Cuddalore	India y Tailandia	Mgnify	155	5	Si
PRJNA306428	Sedimento de una mina de oro en San Luis	Argentina	Mgnify	270	2	Si

Clustering de secuencias cortas

Para evitar secuencias repetidas, se realizó un *clustering* al 100% de identidad sobre las secuencias cortas correspondientes a la región V4 del gen 18S ARNr, utilizando la opción *-cluster_fast* del software USEARCH v.11 (Edgar 2010) (líneas de comando en Anexo sección A3). En una primera etapa, el clustering se aplicó de manera individual sobre cada proyecto seleccionado de la bibliografía, conservando únicamente las secuencias únicas de cada uno. Posteriormente, todas las secuencias obtenidas —provenientes de la bibliografía, de la base de datos MGnify y de material inédito aportado por distintos grupos de investigación— fueron integradas en un único archivo y sometidas a un clustering general, garantizando así la eliminación de redundancias en la base de datos final.

Alineamiento de secuencias

La totalidad de las secuencias de la base de datos de *Ceratium* se dividieron en dos grupos:

- Un conjunto de 22 secuencias largas del gen 18S ARNr (≥ 1100 pb), compuesto por 15 secuencias de *Ceratium* y 4 de *Tripes* obtenidas de GenBank, además de 2 secuencias inéditas de Colombia;
- Un total de 666 secuencias cortas correspondientes a la región V4 del gen 18S ARNr (400-500 pb), recuperadas de la plataforma Mgnify, publicaciones científicas, el proyecto internacional EukBank, y otras secuencias inéditas de Brasil.

En primer lugar, se alinearon las secuencias largas del gen 18S ARNr de *Ceratium* junto con las de *Tripes*, estas últimas seleccionadas como grupo externo. El alineamiento se realizó con el software MAFFT utilizando el algoritmo G-INS-i, que aplica el enfoque global de Needleman-Wunsch para alinear la región completa, y se incluyeron los parámetros *--reorder* y *--maxiterate 1000*.

Posteriormente, se incorporaron las secuencias cortas correspondientes a la región V4 al alineamiento previamente construido, utilizando la opción *--addfragm* del software MAFFT junto con los parámetros *--thread 20* y *--keeplength*. La opción *--addfragm* permite añadir fragmentos de secuencias a un alineamiento existente sin modificar su estructura general. De esta forma, se obtuvo un alineamiento compuesto por todas las secuencias incluidas en la base de datos de *Ceratium*.

A continuación, se realizó un nuevo filtrado utilizando el software Geneious. Durante esta etapa se eliminaron las secuencias que: (i) correspondían a regiones distintas de la V4 del gen 18S ARNr (por ejemplo, V1 o V2); (ii) presentaban una longitud inferior a 400 pb; (iii) contenían regiones con baja coincidencia de bases en relación con el resto del alineamiento; o (iv) incluían *gaps* excesivamente largos. Como resultado, el alineamiento final quedó conformado por un total de 349 secuencias.

Reconstrucción de la filogenia

A partir del alineamiento final obtenido en la sección anterior, se procedió a la construcción del árbol filogenético. Se utilizó el método de máxima verosimilitud implementado en el software RAxML-ng v.1.2.0 (Kozlov et al. 2019) con el modelo evolutivo GTR+G+I, previamente seleccionado en el programa modeltest-ng v0.1.5 (<https://github.com/ddarriba/modeltest>), y con los parámetros: `--all --seed 4321 --bs-trees 1000`. Este árbol mostró la presencia de ramas largas dentro de los clados, por lo que se realizó una inspección manual y se eliminaron tanto estas ramas como los clados con bajo soporte estadístico. Se generaron múltiples árboles utilizando el método de máxima verosimilitud implementado en RAxML-ng v.1.2.0, empleando los mismos parámetros utilizados previamente. Durante este proceso, se observó que la mayoría de los clados principales se mantenían consistentes entre las diferentes versiones. En función de estos resultados, se seleccionaron todas las secuencias completas del gen 18S ARNr disponibles en GenBank, junto con aquellas pertenecientes a clados internos bien soportados (altos valores de *bootstrap*) cuya inclusión no alteraba la topología general del árbol. En total, se seleccionaron 56 secuencias, con las cuales se construyó el árbol de referencia que permitió delimitar los clados con mayor precisión. Adicionalmente, se generó un segundo árbol filogenético de referencia a partir del mismo alineamiento, utilizando la opción `-abayes` del software IQ-TREE2 (Minh et al. 2020) y el modelo evolutivo GTR+G. Esta opción corresponde al test de soporte bayesiano aproximado, que no constituye un análisis bayesiano completo, pero ofrece una estimación rápida del soporte de los nodos basada en una aproximación bayesiana. A diferencia de los métodos tradicionales de Monte Carlo vía cadenas de Markov (MCMC), esta técnica calcula los valores de soporte bayesiano de forma eficiente, sin la necesidad de realizar un análisis exhaustivo.

Los árboles resultantes fueron visualizados y editados en la página Interactive Tree of Life (<http://itol.embl.de>).

2. Cálculo de estadísticos por clado

Para caracterizar y comparar los clados del árbol filogenético de *Ceratium* (excluyendo el grupo externo), se calcularon diversos estadísticos. Esto permitió un análisis detallado de cada clado y facilitó su comparación. Utilizando el software Geneious v.2025.0.2, se obtuvieron los valores promedio correspondientes a cada clado:

- **Largo de secuencias:** a partir del número de pares de bases (pb) de las secuencias;
- **Porcentaje de similitud de secuencias:** similitud nucleotídica entre dos secuencias específicas dentro de un alineamiento. La comparación es de a pares y el estadístico identifica qué clados o poblaciones tienen mayor o menor variabilidad genética;

- **Porcentaje de posiciones idénticas (PI):** mide el porcentaje de posiciones en el alineamiento donde todas las secuencias tienen el mismo nucleótido;
- **Porcentaje de Guanina-Citosina (GC):** se refiere a la proporción de bases guanina (G) y citosina (C) en una secuencia de ADN con respecto al total de nucleótidos. Debido a que las bases G y C forman tres enlaces de hidrógeno, mientras que la adenina y timina forman solo dos, un contenido G-C más alto puede conferir mayor estabilidad térmica al ADN.

Por otra parte, se calcularon las distancias genéticas intra-clado a partir del paquete “ape” en Rstudio. Se excluyeron las regiones no comunes del alineamiento final para comparar todas las secuencias con el mismo largo.

Las distancias filogenéticas entre todas las secuencias se calcularon mediante comparaciones por pares, utilizando como base el árbol filogenético final. Para ello, se generó una matriz de distancias filogenéticas empleando la función *cophenetic.phylo* del paquete “ape” en RStudio. Posteriormente, se extrajeron submatrices específicas para cada clado a partir de la matriz completa, las cuales fueron guardadas como matrices independientes. A partir de estas submatrices, se obtuvo la diagonal superior para calcular el promedio de distancias filogenéticas intra-clado. Finalmente, con los paquetes “ggplot2” y “gridExtra” en RStudio, se generaron diagramas de caja por clado, los cuales se combinaron en un único gráfico para facilitar las comparaciones entre clados.

3. Diversidad genética del gen 18S de las especies de *Ceratium*

Para analizar la estructura poblacional del género *Ceratium*, se utilizaron 212 secuencias de *C. furcoides* y 133 de *C. hirundinella*, también utilizadas para construir el árbol filogenético y la red de haplotipos (Tabla A3, Anexo sección A3). La diversidad genética de cada especie se evaluó mediante el número de secuencias (N), los sitios segregantes (S) y la diversidad nucleotídica (π), utilizando el software DnaSP versión 6 (Rozas et al. 2017). Los sitios segregantes (S) corresponden a posiciones en el alineamiento donde se observan diferencias entre secuencias; y la diversidad nucleotídica (π) indica el promedio de diferencias por sitio entre todas las secuencias analizadas. También se realizó el análisis de varianza molecular (AMOVA) para examinar la estructura genética jerárquica de las poblaciones, agrupando las secuencias de *Ceratium* por clado mediante el software Arlequin versión 3.5, con 10.000 permutaciones. Este análisis permite evaluar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones: a mayor diferencia genética entre ellas, mayor será el porcentaje de variación explicado a nivel poblacional y menor la variabilidad genética entre los individuos dentro de cada población. La diferenciación genética entre las poblaciones de *C. furcoides* y *C. hirundinella* se estimó utilizando el índice *Fst* de pares poblacionales calculado mediante el uso de Arlequin versión 3.5 (Excoffer & Lischer 2010), y sus

significancias se calcularon realizando 10.000 permutaciones. Para inferir procesos demográficos, se realizaron las pruebas de Tajima D y Fu *F_s* con DnaSP versión 6 (Rozas et al. 2017).

4. Distribución de secuencias del gen 18S de *Ceratium*

A partir del alineamiento de las secuencias de *Ceratium*, se aplicó la metodología de red de haplotipos para el análisis de las secuencias del gen 18S. Esta herramienta permite visualizar las relaciones genealógicas a distintos niveles y realizar inferencias generales sobre la biogeografía y la historia evolutiva de las poblaciones. En este caso, se construyeron mediante el algoritmo de Templeton, Crandall y Sing (TCS) (Clement et al. 2000) implementado en el software PopART v1.754 (Leigh & Bryant 2015). El método TCS estima las relaciones filogenéticas entre secuencias con base en una probabilidad estadística de parsimonia, es decir, asume que las mutaciones más frecuentes y las conexiones más cortas son más probables. Se seleccionó la red TCS ya que contempla relaciones evolutivas recientes y presenta un alto nivel de confianza en las conexiones.

Se utilizó el alineamiento final en formato Nexus con todas las secuencias, excluyendo aquellas correspondientes al grupo externo. Posteriormente, se recortó el alineamiento para eliminar la mayor cantidad posible de *gaps* y asegurar que todas las secuencias tuvieran aproximadamente la misma longitud.

RESULTADOS

1. Filogenia de *Ceratium*

*Base de datos de secuencias del gen 18S ARNr del género *Ceratium**

La base de datos quedó conformada por un total de 1478 secuencias pertenecientes a distintas especies del género *Ceratium*. De este total, 17 correspondieron a secuencias largas del gen 18S ARNr (>1100 pb), de las cuales 15 fueron descargadas de la base de datos GenBank y 2 fueron inéditas, obtenidas en el embalse La Regadera (Colombia). Las 1461 secuencias restantes correspondieron a fragmentos cortos ($\approx$ 400 pb) de la región V4 del mismo gen, recuperados de diversas fuentes: 43 provenientes de proyectos de secuenciación masiva disponibles en la bibliografía, 1123 descargadas desde la plataforma Mgnify, y 295 inéditas enviadas por grupos de investigación de Brasil y Colombia.

Clustering de secuencias cortas

El clustering al 100% de las 1116 secuencias de *Ceratium* pertenecientes al proyecto PRJNA386242 dio como resultado 522 secuencias únicas.

El archivo final con todas las secuencias cortas de la región V4 del gen 18S ARNr contó con 695 secuencias y luego del proceso final de clustering al 100%, se obtuvieron 666 secuencias. Cabe destacar

que no se incluyeron en este proceso las secuencias cortas de los proyectos que ya habían sido procesadas como ASVs.

Alineamiento de secuencias

Luego de las distintas etapas y metodologías de filtrado, el alineamiento final quedó conformado por un total de 349 secuencias, a partir del cual se construyó el árbol filogenético. El alineamiento completo abarcó una longitud total de 1862 posiciones.

Reconstrucción de la filogenia

A partir del alineamiento final, que incluyó 349 secuencias, se construyó un árbol filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud (Figura 1), con el objetivo principal de caracterizar ecológicamente las secuencias analizadas. El árbol completo puede visualizarse en mayor detalle en el siguiente enlace: <https://itol.embl.de/export/19012224019762791733141880>). En términos generales, se identificaron nueve clados, estructurados principalmente según el origen geográfico y/o la especie. Los clados más basales incluyeron secuencias provenientes de Europa (Cer-3) y América del Norte (Cer-1 y Cer-2), particularmente de Estados Unidos. Específicamente, en el clado Cer-2 también se ubicaron las dos secuencias de Colombia, lo que sugiere una mayor similitud genética con las secuencias europeas que con las sudamericanas. Por otro lado, el clado Cer-7, que abarcó casi la totalidad de las secuencias de China, mostró una elevada diversidad y se encontró estrechamente relacionado con el clado Cer-6, compuesto por secuencias de Brasil y Argentina.

Las secuencias de origen sudamericano fueron las que presentaron mayor diversificación, distribuyéndose en cinco clados diferentes. No se observó una segregación geográfica clara entre las secuencias provenientes de ambientes de Argentina y Brasil, ya que en la mayoría de los clados éstas aparecieron mezcladas. En cuanto a las especies, de los cinco clados sudamericanos, dos estuvieron conformados exclusivamente por secuencias de *C. hirundinella* (Cer-4 y Cer-5), uno agrupó únicamente secuencias de *C. furcoides* (Cer-6), y otro (Cer-9) incluyó secuencias de ambas especies, todas originarias de Brasil.

En su mayoría, las secuencias de *C. furcoides* se ubicaron en clados más derivados, con excepción de las secuencias provenientes de Colombia, que se agruparon en un clado basal (Cer-2). Por otro lado, las de *C. hirundinella* se concentraron principalmente en los clados basales (Cer-1 a Cer-5). No obstante, varias secuencias de esta especie originarias del embalse Broa (Brasil) se agruparon en el clado Cer-9, junto con secuencias de *C. furcoides* provenientes del mismo ambiente.

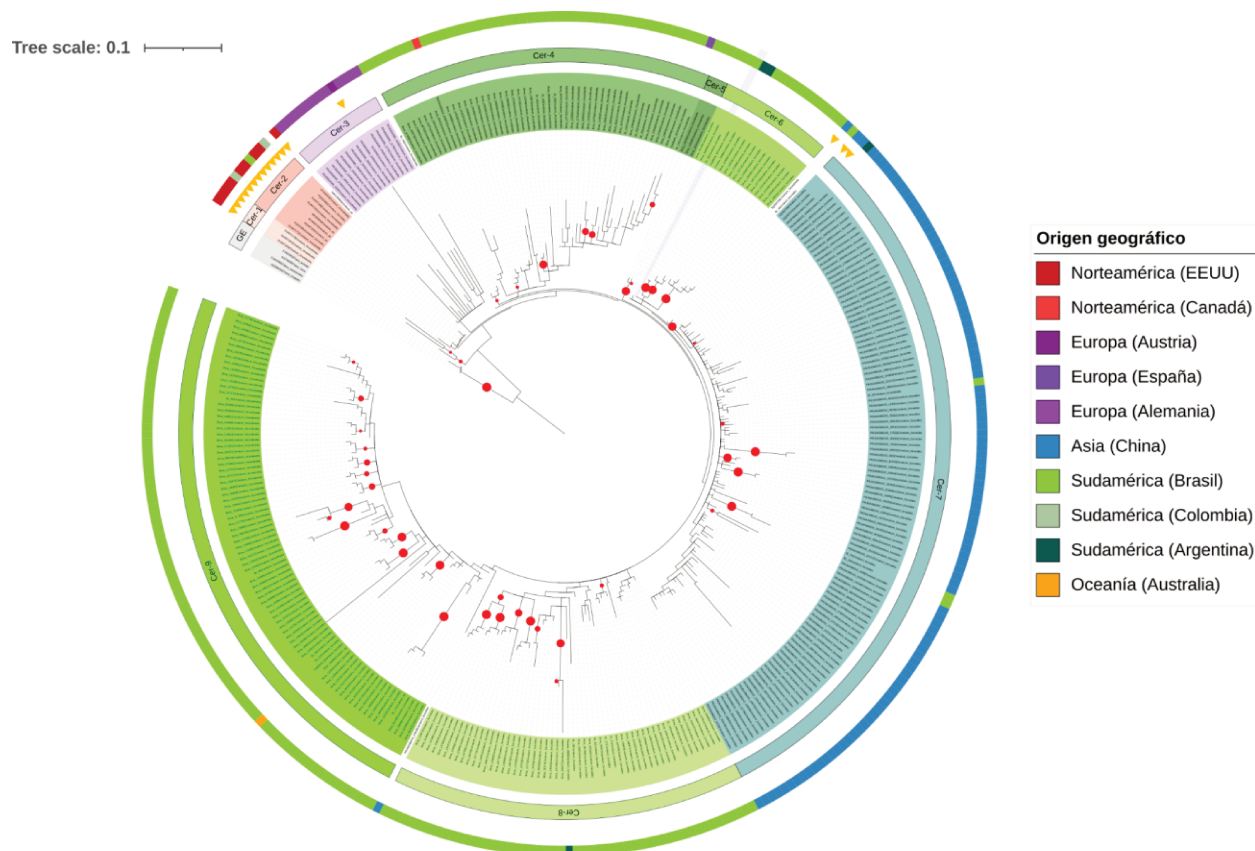


Figura 1. Árbol filogenético del género *Ceratium* inferido mediante máxima verosimilitud, basado en un alineamiento combinado de secuencias completas del gen 18S ARNr y secuencias parciales correspondientes a la región V4. Cada secuencia está coloreada según el clado al que pertenece, identificado en el anillo más interno y coincidente con los colores utilizados en las Figuras 1 y 2. Las secuencias en blanco no pertenecen a ninguno de los clados presentes. Los triángulos amarillos indican secuencias largas, mientras que los círculos rojos señalan nodos con valores de *bootstrap* superiores a 60. El anillo más externo representa el origen geográfico de cada secuencia, codificado según la leyenda de la derecha. El árbol puede visualizarse con mayor detalle en

<https://itol.embl.de/export/19012224019762791733141880>

En base al árbol filogenético previamente construido, se seleccionaron secuencias representativas de cada uno de los 9 clados, priorizando aquellas que formaban subclados con alto soporte estadístico (>70). Además, se incorporaron las secuencias del grupo externo, y se construyó un árbol filogenético de referencia para el género *Ceratium* utilizando el método de máxima verosimilitud, con un total de 56 secuencias (Figura 2). La topología y la estructuración de los clados fueron consistentes con las del árbol original (Figura 1). Los clados Cer-1 y Cer-2 incluyeron secuencias de *C. hirundinella* provenientes de Norteamérica, junto con dos secuencias de *C. furcoides* de Colombia. En tanto, el clado Cer-3 estuvo compuesto exclusivamente por secuencias europeas de *C. hirundinella*. Las secuencias asiáticas de *C. furcoides* se agruparon completamente en el clado Cer-7, que también incluyó una secuencia de referencia

proveniente de un arroyo del tramo medio del río Paraná, Argentina (MK567886). Esta secuencia mostró un 100% de identidad con las secuencias asiáticas de referencia JQ639758 y JQ639757, lo que podría explicar su ubicación filogenética.

En cuanto a las secuencias sudamericanas, estas se distribuyeron entre los clados Cer-4, Cer-5, Cer-6, Cer-8 y Cer-9. Dentro de estos, las secuencias brasileñas de *C. hirundinella* se concentraron en los clados Cer-4 y Cer-5, mientras que las de *C. furcoides* formaron los clados Cer-6, Cer-8 y Cer-9. En particular, el clado Cer-6 incluyó dos secuencias provenientes del río Paraná (Argentina): una del cauce principal y otra de una laguna cercana ubicada en la llanura aluvial, mientras que el resto correspondió a muestras del embalse Broa (Brasil). Por su parte, los clados Cer-8 y Cer-9 estuvieron compuestos exclusivamente por secuencias provenientes de Brasil, mayoritariamente de *C. furcoides*. No obstante, en el árbol expandido, el clado Cer-9 también incluyó algunas secuencias de *C. hirundinella*; sin embargo, estas no fueron incorporadas en el árbol reducido debido al bajo soporte estadístico obtenido para dichas secuencias.

En términos generales, los valores de soporte estadístico (*bootstrap*) obtenidos para el árbol filogenético de referencia no fueron elevados (Figura 2). No obstante, la estructura de los clados se mantuvo consistente en todas las versiones del árbol construidas, lo que respalda la robustez y solidez de la clasificación obtenida.

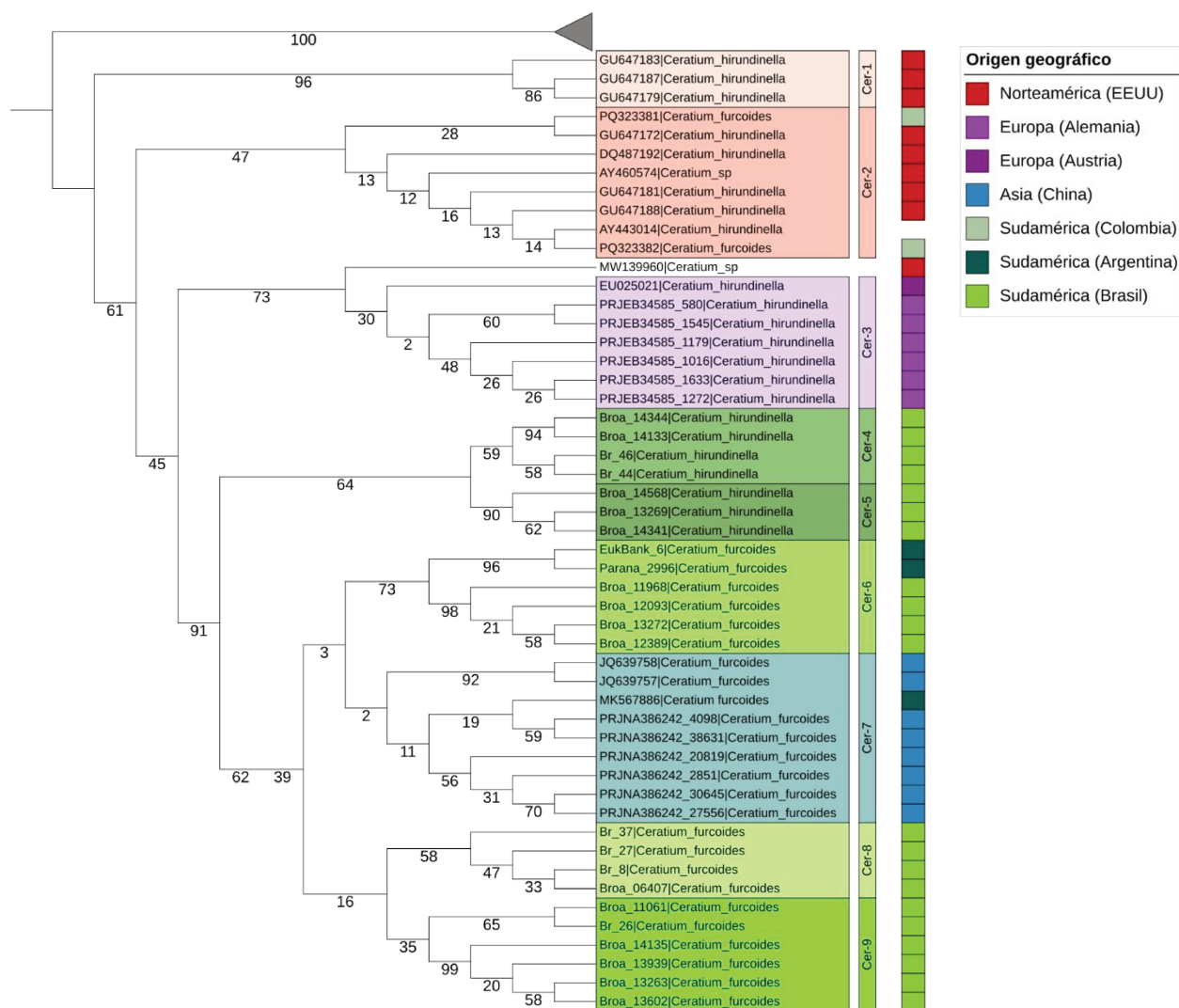


Figura 2. Árbol filogenético del género *Ceratium* inferido mediante el método de máxima verosimilitud a partir de un alineamiento formado por secuencias completas del gen 18S ARNr y secuencias cortas correspondientes a la región V4 del mismo gen (1862 posiciones). El análisis se realizó en el software RAxML con 1000 repeticiones de *bootstrap*. Los valores en los nodos internos indican el soporte estadístico (*bootstrap*). Los colores de las ramas corresponden a los clados definidos, tal como se indica en la barra lateral derecha. La barra más externa representa el origen geográfico de cada secuencia, codificado según la leyenda. La secuencia en blanco corresponde a un cultivo. El clado del grupo externo está colapsado y se indica en color gris.

Paralelamente, el segundo árbol de referencia construido utilizando inferencia bayesiana con las mismas secuencias (Figura 3), mostró una topología muy similar a la del árbol construido con RAxML,

logrando delimitar los mismos nueve clados. No obstante, se observaron algunas diferencias en los clados menos basales: Cer-6, Cer-7, Cer-8 y Cer-9.

En el árbol elaborado mediante el análisis de máxima verosimilitud, los clados Cer-6 y Cer-7 formaron un mismo clado, mientras que Cer-8 y Cer-9 se agruparon en un clado independiente. En cambio, en el árbol obtenido por inferencia bayesiana, Cer-6 se posicionó como un clado separado, y Cer-7, Cer-8 y Cer-9 se agruparon en un único clado. Además, las secuencias de referencia de China (JQ639758 y JQ639757), que en el árbol obtenido por máxima verosimilitud se ubicaron dentro de Cer-7, en el árbol resultante de la inferencia bayesiana se agruparon junto con clado Cer-6, formando un clado propio. Una notable mejora de este último árbol (Figura 3) fue el incremento considerable de los valores de soporte estadístico, lo que aportó mayor confianza a las relaciones filogenéticas observadas.

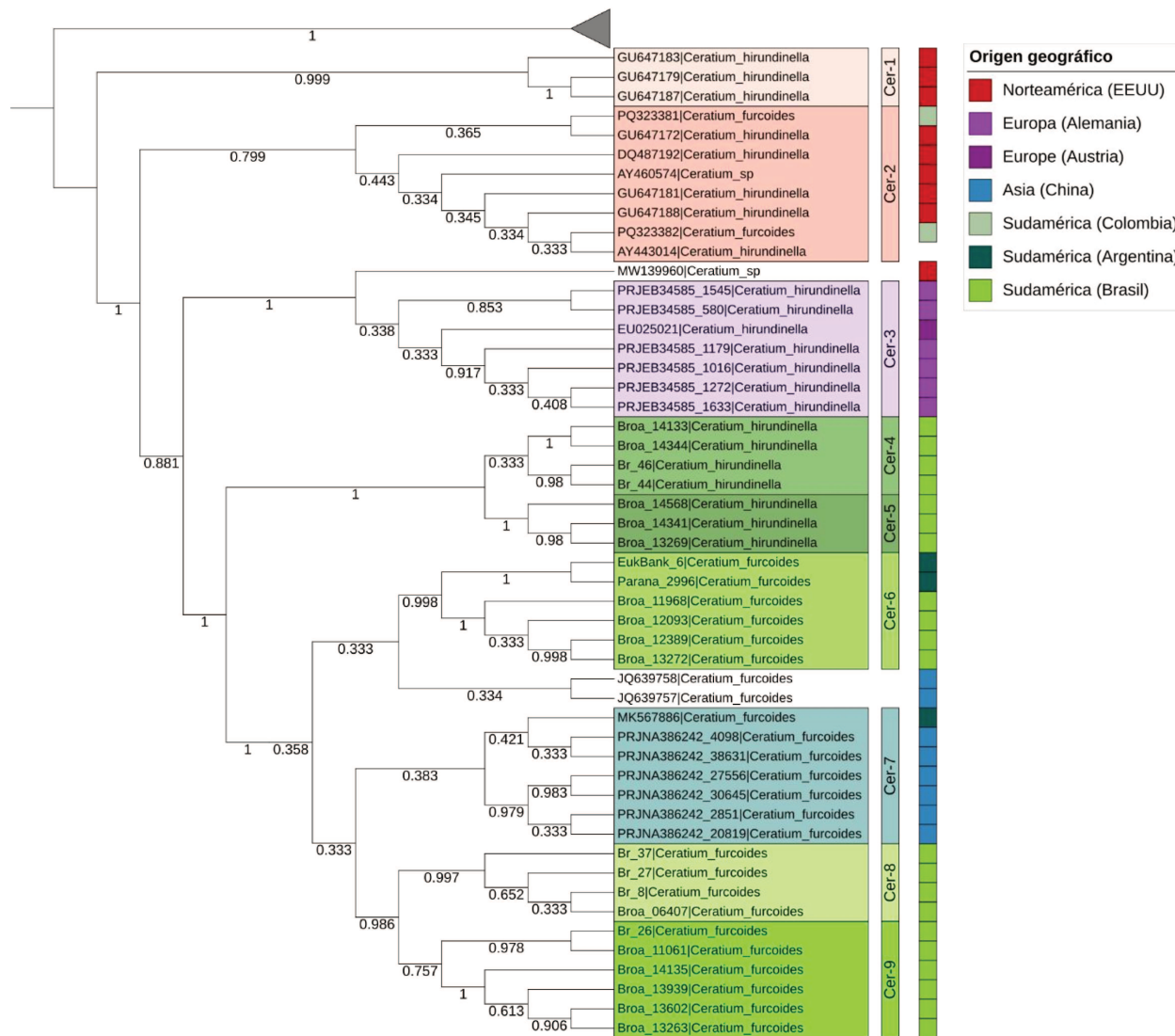


Figura 3. Árbol filogenético del género *Ceratium* inferido a partir de un alineamiento de 1862 posiciones que combina secuencias completas del gen 18S ARNr y secuencias parciales de su región V4. El árbol fue construido en el software IQTREE2 utilizando una aproximación bayesiana. Los valores en los nodos internos indican probabilidades posteriores. Los colores de las secuencias representan los distintos clados identificados, según lo indicado en la barra lateral derecha. La barra más externa indica el origen geográfico de cada secuencia, codificado según la leyenda correspondiente. La secuencia en blanco corresponde a un cultivo. El clado del grupo externo fue colapsado y está representado en color gris.

2. Análisis por clados

Se observó una amplia variabilidad en los valores de los estadísticos calculados por clado (Tabla 3). En primer lugar, se evidenció una marcada diferencia en el número de secuencias que componían cada clado, con valores que oscilaron desde 3 secuencias en los clados Cer-1 y Cer-5, hasta 108 secuencias en el clado más grande proveniente de China, Cer-7. Esta diferencia también se reflejó en el largo promedio de las secuencias. Los clados Cer-1 y Cer-2 presentaron las secuencias más largas del árbol, ya que en ellos se concentraron la mayoría de las secuencias de referencia descargadas de GenBank. Por otro lado, el clado Cer-3 tuvo el menor largo promedio de secuencias, compuesto por secuencias del proyecto PRJEB34585 pertenecientes a diferentes lagunas de Alemania, con una longitud aproximada de 300 pb. Los clados restantes estuvieron conformados casi exclusivamente por secuencias cortas de la región V4, y mostraron un largo promedio de entre 400 y 500 pb.

Tabla 3. Valores de los estadísticos calculados para cada clado dentro del árbol filogenético del género *Ceratium*.

GC: Porcentaje de guanina-citosina.

Clado	Número de secuencias	Proporción de especies	Largo promedio (pb)	Similitud entre secuencias (%)	Sitios idénticos (%)	GC (%)	Distancia filogenética
Cer-1	3	<i>C. hirundinella</i> (100%)	1533	92,7	90,1	45,5	0,113
Cer-2	9	<i>C. hirundinella</i> (45%); <i>C. sp.</i> (33%); <i>C. furcoides</i> (22%)	1400	99	96,2	44	0,013
Cer-3	14	<i>C. hirundinella</i> (100%)	293	94	69,5	39,6	0,128
Cer-4	50	<i>C. hirundinella</i> (100%)	412	96,2	75,5	42,6	0,108
Cer-5	3	<i>C. hirundinella</i> (100%)	419	99,7	99,5	42,7	0,008
Cer-6	17	<i>C. furcoides</i> (100%)	412	98,1	95,5	43,4	0,048
Cer-7	108	<i>C. furcoides</i> (99%); <i>C. hirundinella</i> (1%)	467	98,3	89,3	43,3	0,047
Cer-8	53	<i>C. furcoides</i> (98%); <i>C. hirundinella</i> (2%)	411	95,4	62,9	43,2	0,098
Cer-9	83	<i>C. hirundinella</i> (61%); <i>C. sp.</i> (2%); <i>C. furcoides</i> (37%)	415	96,5	71,4	43	0,10

Los valores promedio de similitud entre secuencias dentro de cada clado oscilaron entre 92,7% y 99,7%. El clado Cer-1 presentó la menor similitud (92,7%), a pesar de estar compuesto únicamente por secuencias de *C. hirundinella* provenientes de un mismo sitio (Mirror Lake, Estados Unidos) y de incluir tres secuencias largas de referencia. En contraste, el clado Cer-2 mostró una alta similitud promedio del 99%, aun cuando incluyó secuencias de *C. furcoides* provenientes de Colombia y de *C. hirundinella* originarias de distintos ambientes de Norteamérica, reflejando una baja divergencia genética a pesar de la amplia distancia geográfica. Por otro lado, clados como Cer-8 y Cer-9, integrados casi exclusivamente por secuencias de Brasil y con presencia de ambas especies, registraron similitudes relativamente bajas (95,4% y 96,5%, respectivamente). En conjunto, estos resultados evidencian la notable variabilidad genética dentro del género *Ceratium*, independientemente de que los clados estén integrados por una sola especie o por una mezcla de ambas.

Los clados Cer-2 (96,2%), Cer-5 (99,5%) y Cer-6 (95,5%) presentaron porcentajes de sitios idénticos (SI) notablemente altos, lo que sugiere un posible origen evolutivo común reciente o un bajo nivel de diversificación genética. De estos tres clados, únicamente Cer-2 estuvo compuesto por diferentes especies de *Ceratium*. En particular, el clado Cer-5, integrado por solo tres secuencias de *C. hirundinella*, registró el valor más elevado, lo que refuerza la hipótesis de un linaje altamente conservado genéticamente. Por otro lado, los clados Cer-1 (90,1%) y Cer-7 (89,3%) mostraron valores intermedios de SI, lo que refleja una mayor variación genética en comparación con los clados previamente mencionados. Cabe destacar que

Cer-1 está compuesto exclusivamente por secuencias de *C. hirundinella*, mientras que Cer-7 incluye mayoritariamente secuencias de *C. furcoides*. En el caso del clado Cer-4, el porcentaje de SI fue de 75,5%, junto con un elevado número de secuencias de *C. hirundinella* (n=50), lo que indica una diversidad genética considerable dentro del grupo. Por su parte, el clado Cer-7, además de tener un porcentaje relativamente alto (89,3%) de SI, contiene un número elevado de secuencias (n=108), lo que podría indicar una variación genética moderada en regiones específicas. Finalmente, los clados Cer-3 (69,5%), Cer-8 (62,9%) y Cer-9 (71,4%) registraron los valores más bajos de SI, evidenciando una mayor variabilidad genética. En el caso de Cer-9, esta diversidad podría explicarse por la coexistencia de ambas especies de *Ceratium* en Brasil. Sin embargo, Cer-3 está compuesto únicamente por secuencias de *C. hirundinella*, y Cer-8 por una mayoría de secuencias de *C. furcoides* (98%), lo que sugiere la posible existencia de subpoblaciones genéticamente diferenciadas dentro de cada clado.

Los valores más altos del porcentaje de Guanina-Citosina (GC) se registraron en los clados Cer-1 y Cer-2, lo cual coincidió con su posición basal en el árbol filogenético y con la naturaleza más conservada de sus secuencias. Sin embargo, este resultado también está influenciado por el largo de las secuencias, ya que las más largas tienden a incrementar este porcentaje. Por otro lado, entre los clados con secuencias de longitudes similares, desde el Cer-4 hasta el Cer-9, los valores de porcentaje de GC oscilaron entre 42,6% y 43,4%, lo que indicó una composición nucleotídica de GC similar entre estos grupos.

Los valores de las distancias filogenéticas fueron muy variables entre los diferentes clados analizados (Figura 4). El valor promedio más alto (0,128) se registró en el clado europeo Cer-3, formado por 14 secuencias de *C. hirundinella* provenientes de distintas lagunas de Alemania. En cambio, valor promedio más bajo (0,008) correspondió al clado Cer-5, compuesto por tres secuencias de *C. hirundinella* del embalse Broa, en Brasil. En contraste, los clados Cer-4, Cer-7, Cer-8, y Cer-9 presentaron una mayor dispersión en los valores de distancia filogenética, con medianas más elevadas y rangos intercuartiles más amplios. Esta mayor variabilidad sugiere una diversidad genética interna más alta, posiblemente asociada a una historia evolutiva más compleja o a la presencia de subgrupos genéticamente diferenciados. Tal es el caso del clado Cer-9, integrado por secuencias de ambas especies de *Ceratium*. Los clados Cer-7 y Cer-8 están compuestos casi en su totalidad (98-99%) por secuencias de *C. furcoides*: Cer-7 incluye, en su mayoría, secuencias provenientes del río Dongjiang (China), mientras que Cer-8 está formado mayormente por secuencias del embalse Broa (Brasil). Finalmente, se observaron valores atípicos en varios clados, especialmente en Cer-7, Cer-8, y Cer-9, lo que indica la existencia de secuencias que se desvían significativamente del promedio del grupo. Estos valores atípicos podrían reflejar eventos de divergencia genética, aunque también podrían deberse a la inclusión de secuencias anómalas o a posibles errores en el proceso de secuenciación.

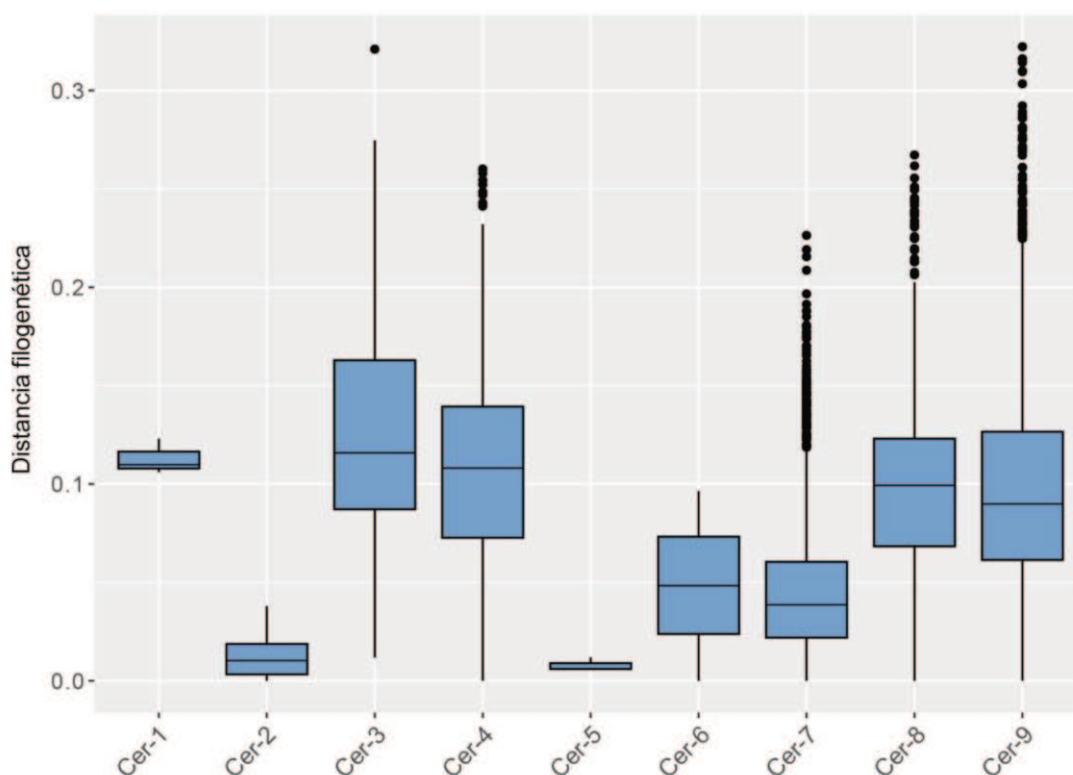


Figura 4. Distribución de la distancia filogenética para los diferentes clados que conforman el árbol filogenético de *Ceratium* (Cer-1 a Cer-9). Los puntos representan valores atípicos que exceden este rango.

3. Diversidad genética de las especies de *Ceratium*

A partir de las 345 secuencias parciales del gen 18S ARNr se calcularon diferentes estadísticos para evaluar la diversidad genética del género *Ceratium* (Tabla 4). En particular, *C. hirundinella* mostró una mayor diversidad nucleotídica ($\pi = 0,03871$) en comparación con *C. furcoides* ($\pi = 0,01884$), lo que sugiere una distribución más equilibrada de las mutaciones dentro de su población. En cambio, la menor diversidad nucleotídica observada en *C. furcoides* indica que las mutaciones son poco frecuentes y de baja frecuencia. Por otro lado, *C. furcoides* mostró un mayor número de sitios segregantes ($S = 138$) que *C. hirundinella* ($S = 74$), lo que sugiere una mayor diferenciación entre sus secuencias.

Con respecto a los estadísticos que se utilizan para analizar la diversidad de poblaciones y la detección de eventos demográficos históricos, se observó que *C. furcoides* presentó valores negativos para ambos estadísticos. Esto indicaría un exceso de polimorfismos de baja frecuencia en comparación con lo esperado bajo equilibrio neutro (Tajima's $D = -2,67$) y un exceso de haplotipos o secuencias raras (Fu's $F_s = -112,643$), lo cual es una señal fuerte de expansión poblacional reciente. Para *C. hirundinella*, los valores negativos de Tajima's $D (-2,28)$ y Fu's $F_s (-15,63)$ indican un patrón similar al de *C. furcoides*, pero con

una intensidad menor. Los resultados sugieren que la población de *C. hirundinella* también ha experimentado una expansión reciente, aunque menos pronunciada que la de *C. furcoides*.

Tabla 4. Resumen de estadísticos de diversidad genética y demográficos de las especies de *Ceratium*. N: Número de secuencias, π : diversidad de nucleótidos, S: número de sitios segregantes, D: D de Tajima, Fs: Fs de Fu.

Especie	N	π	S	D	Fs
<i>C. furcoides</i>	212	0,01884	138	-2,6687	-112,643
<i>C. hirundinella</i>	133	0,03871	74	-2,27865	-15,633
Total	345	0,04435	65	-2,358	-75,063

4. Distribución de secuencias de *Ceratium*

La red construida estuvo constituida por 345 secuencias del género *Ceratium*, con un largo total de 450 posiciones. Se evidenció una alta variabilidad dentro del género *Ceratium* (Figura 5), como ya se había observado previamente en el árbol filogenético. Además, se identificaron posibles secuencias intermedias no muestreadas, representadas en la Figura 5 como puntos negros. Sumado a esto, se observó la misma tendencia previamente descrita en los árboles filogenéticos: las secuencias de las dos especies, *C. hirundinella* y *C. furcoides*, se agruparon entre sí, ocupando regiones claramente separadas dentro de la red. Se identificaron tres nodos centrales bien definidos que agrupan secuencias de diferentes orígenes geográficos: dos de *C. hirundinella* (H9 y H30) y uno de *C. furcoides* (H75), este último conformado con el mayor número de secuencias (Figura 5). En *C. hirundinella*, uno de los nodos presentó secuencias predominantemente de Europa (Austria y Alemania) y de Canadá, y a su vez, se encontró relacionado con nodos periféricos mayormente originarios de Alemania. El otro nodo de *C. hirundinella* agrupa secuencias mayoritariamente de Brasil pero también de otros países como Colombia, Estados Unidos y Canadá. En el caso de *C. furcoides*, se observó un único nodo central, compuesto principalmente por secuencias asiáticas y sudamericanas, relacionado a su vez con secuencias o grupos de secuencias provenientes del embalse Broa (Brasil) o del río Dongjiang (China).

De los 75 nodos identificados en la red, 12 se encontraron conformados exclusivamente por secuencias de *C. hirundinella* provenientes de Europa. 27 nodos agruparon secuencias de *C. furcoides* de China, y de estos, sólo dos (H31 y H75) también presentaron secuencias de Brasil, Argentina y Australia. A su vez, las secuencias de Brasil se dividieron en 33 nodos diferentes, y dentro de ellos 16 agruparon secuencias de *C. hirundinella* y 17 de *C. furcoides*.

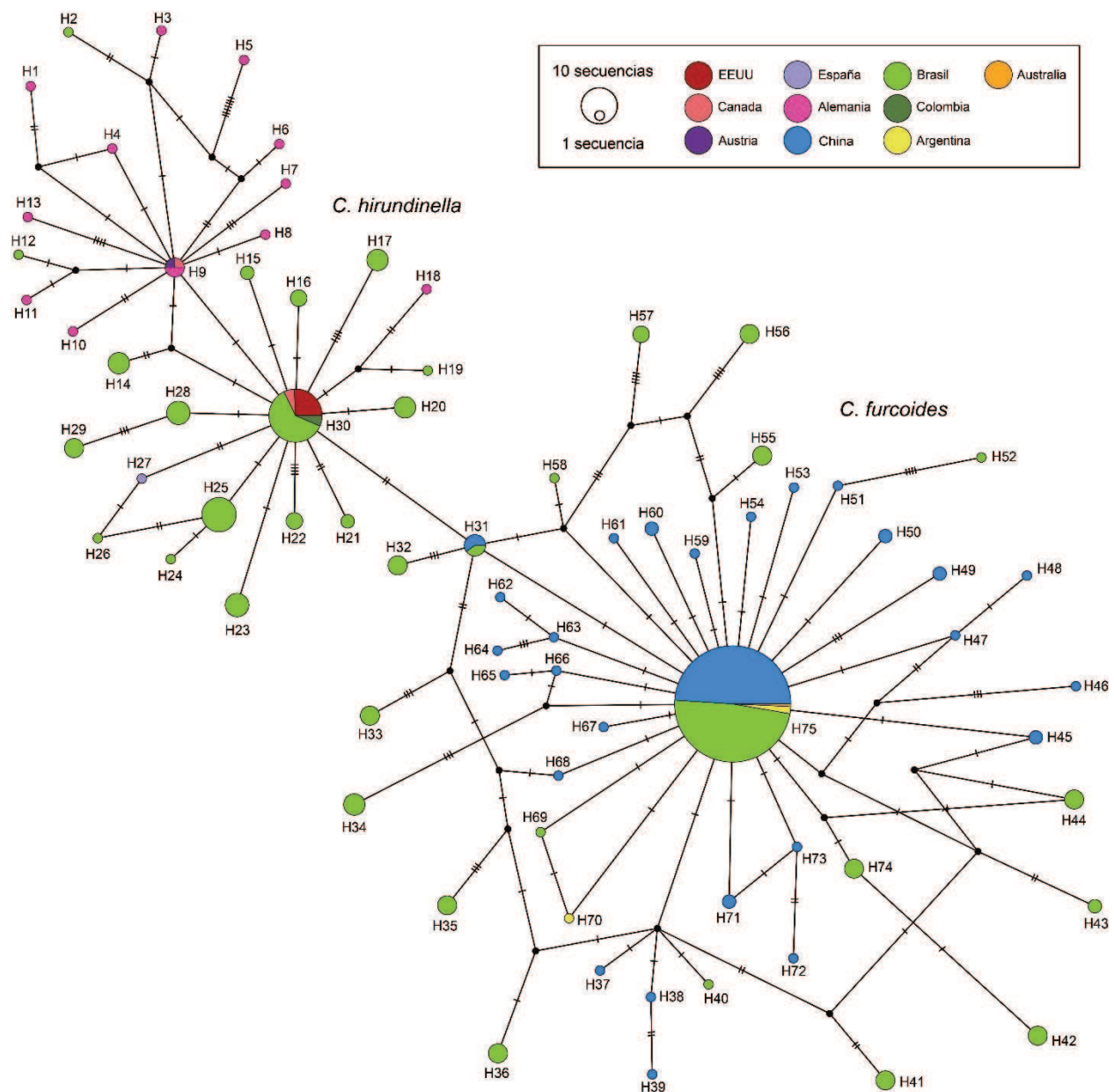


Figura 5. Red de haplotipos TCS (Templeton, Crandall y Sing; Clement et al. 2000) generada con secuencias del gen 18S ARNr del género *Ceratium*. Los círculos representan una secuencia o agrupamientos de secuencias, su tamaño es proporcional al número de secuencias que agrupan. Las líneas conectan nodos que difieren por un paso mutacional, mientras que las marcas transversales en las líneas indican pasos mutacionales adicionales entre nodos de secuencias. Los puntos negros indican posibles secuencias no muestreadas en este análisis.

5. Diferencias entre clados del árbol filogenético

Al considerar los clados que conforman el árbol filogenético de *Ceratium* (Figura 3), los análisis jerárquicos de AMOVA basados en un fragmento de la región nuclear 18S revelaron que la mayor parte de la variación (57,87%) se debe a diferencias entre clados, mientras que la variación dentro de un mismo clado) fue menor (42,13%; Tabla 5).

Los valores de *Fst* entre pares de clados oscilaron entre 0,04 y 0,813, considerando únicamente aquellos con un valor de $p < 0,05$ (Figura 6). La mayor diferenciación se observó entre el clado Cer-7, compuesto casi exclusivamente por secuencias de *C. furcoides* originarias de China, y Cer-5, formado por tres secuencias de *C. hirundinella* del embalse Broa en Brasil. Además, Cer-7 presentó los valores de *Fst* más altos en comparación con los demás clados, con un rango de 0,617 a 0,813, lo que indica que es el clado más diferenciado. Por otra parte, los clados Cer-4 y Cer-8, a pesar de estar distantes en el árbol filogenético y estar compuestos por secuencias de *C. hirundinella* y *C. furcoides* respectivamente, presentaron el menor valor de *Fst*. Ambos clados presentan secuencias de embalses de Brasil.

Tabla 5. Resultados del análisis de la variación molecular (AMOVA) entre los clados presentes en el árbol filogenético de *Ceratium* en función del porcentaje de divergencia de secuencias. g.l.: grados de libertad, SC: suma de cuadrados.

Fuente de variación	g.l.	SC	Componentes de la varianza	% de variación	Índice de fijación <i>Fst</i>
Entre clados	8	15908,678	59,40645	57,87	0,57871*
Dentro de los clados	325	14054,918	43,2459	42,13	
Total	333	29963,596	102,2459		

* $p < 0,05$

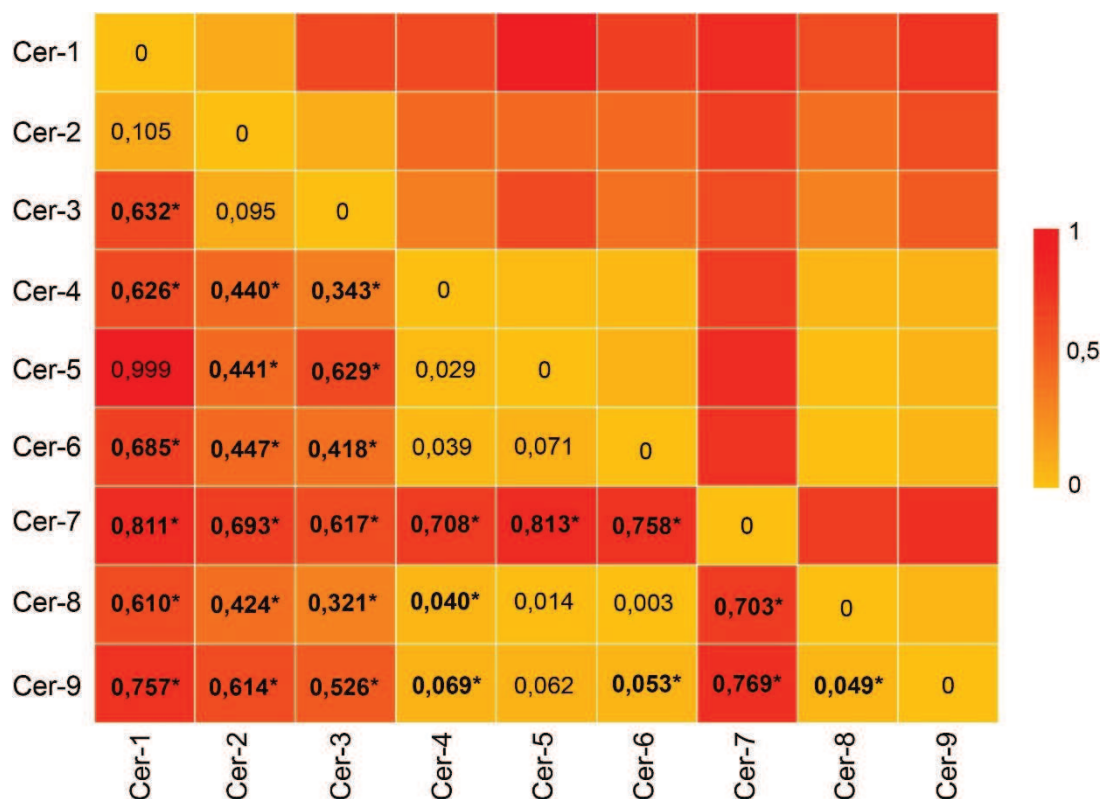


Figura 6. Estimaciones pareadas del índice de fijación (F_{st}) entre los diferentes clados de *Ceratium* definidos en el árbol de referencia (Figura 3). Valores de F_{st} cercanos a 0 indican una baja diferenciación genética entre clados, mientras que valores cercanos a 1 reflejan una alta diferenciación genética. Los valores marcados con asterisco (*) representan diferencias significativas ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

En esta tesis, se presenta por primera vez un árbol de referencia del género *Ceratium* con representación amplia y diversa, en el que se distinguen nueve clados claramente diferenciados, así como la distribución global de diferentes secuencias parciales de *C. furcoides* y *C. hirundinella* obtenidas por análisis bioinformáticos. Esta información adquiere particular relevancia debido al uso de secuencias provenientes de diferentes regiones a nivel mundial, combinando datos de la bibliografía, bases de datos públicas y secuencias inéditas aportadas por grupos de investigación en distintos países de Sudamérica. Hasta el momento, solo se había documentado un árbol de referencia del género, basado en un número limitado de secuencias y áreas geográficas (Accattatis et al. 2020). En este contexto, los resultados de este Capítulo constituyen un avance significativo y un primer acercamiento a la comprensión de la diversidad genética y la estructura filogenética del género *Ceratium* a nivel global.

Diversos estudios han demostrado que *Ceratium* forma un clado monofilético dentro del orden Gonyaulacales, independientemente del marcador genético empleado para la reconstrucción filogenética (Saldarriaga et al. 2004; Gottschling et al. 2019; Accattatis et al. 2020). El linaje de agua dulce aparece claramente separado del grupo externo formado por el género marino *Triplos*, con un alto soporte estadístico (Saldarriaga et al. 2004; Gómez et al. 2010; Gottschling et al. 2020). Esta evidencia sugiere que la transición hacia ambientes dulceacuícolas podría no haber sido un evento reciente (Logares et al. 2007). A esta hipótesis se suman diferencias morfológicas y biológicas, como la presencia de seis placas en el cingulo en especies dulceacuícolas frente a cinco en las marinas, y la capacidad exclusiva de las primeras para formar quistes de resistencia. Además, datos fósiles refuerzan la posibilidad de una colonización temprana de ambientes de agua dulce, dado que las especies actuales comparten rasgos con fósiles marinos del Cretácico (Wall & Evitt 1975).

En la filogenia de *Ceratium* reconstruida en este Capítulo (Figura 3), los clados muestran una clara estructuración según su origen geográfico. Sin embargo, existen excepciones, como la secuencia de *C. furcoides* proveniente de una laguna en la llanura aluvial del río Paraná (MK567886), que se encuentra estrechamente relacionada con un clado de origen asiático. Esta misma relación ya había sido reportada por Accattatis et al. (2020), aunque en un árbol filogenético basado en un número más limitado de secuencias. Una posible explicación para este patrón es que las poblaciones de *C. furcoides* que habitan actualmente en la llanura del tramo medio del río Paraná hayan sido introducidas previamente a través del agua de lastre de embarcaciones provenientes de Asia, un mecanismo ya documentado para otras especies invasoras como *Limnoperna fortunei* (Pastorino et al. 1993; Oliveira et al. 2015; Zhang et al. 2022). En el caso de la única secuencia procedente de Oceanía (EukBank_5), que se agrupa dentro del clado Cer-9 junto con secuencias de Brasil, la relación es menos clara, dado que no ha sido observada en filogenias previas y no se dispone de otras secuencias provenientes de este continente. Este hallazgo también pone de manifiesto los vacíos existentes en la información genética de *Ceratium* en varias regiones del mundo.

Las especies de *Ceratium* se distribuyen de forma diferenciada entre los nueve clados identificados en el árbol filogenético. No obstante, de manera general, las secuencias de *C. hirundinella* se agrupan en los clados Cer-1 a Cer-5, mientras que *C. furcoides* predomina en los clados restantes. Algunos clados están compuestos exclusivamente por una de las dos especies, como Cer-3 (*C. hirundinella*) y Cer-6 (*C. furcoides*); sin embargo, en otros clados ambas especies aparecen juntas en distintas proporciones. Tal es el caso de Cer-9, compuesto en un 61% por *C. hirundinella* y en un 37% por *C. furcoides*, todas provenientes de ambientes de Brasil, en su mayoría del embalse Broa. Esta coexistencia podría explicarse por procesos de hibridación entre ambas especies en ambientes compartidos, o bien por una divergencia evolutiva reciente, lo que implicaría la presencia de haplotipos ancestrales no segregados completamente entre los linajes.

Por otro lado, existen continentes que no se encuentran representados o están subrepresentados en las bases de datos, como es el caso de África, región para la cual no se han encontrado secuencias de *Ceratium* en la bibliografía ni en los repositorios públicos. Esta falta de representatividad plantea un desafío para realizar especulaciones más concluyentes. Contar con una representación más equilibrada de todas las regiones del mundo permitiría dilucidar con mayor precisión las relaciones filogenéticas entre las distintas áreas geográficas.

La filogenia y los análisis de diversidad genética evidencian una alta variabilidad dentro del género *Ceratium*. Se observa una marcada heterogeneidad genética entre los distintos clados, lo que sugiere que, mientras algunos presentan una estructura genética relativamente conservada, otros exhiben una mayor diversidad y complejidad evolutiva. La notable variabilidad genética en este género de dinoflagelados ya ha sido reportada previamente y podría estar relacionada con la capacidad de las especies de *Ceratium* para habitar ambientes con características climáticas, morfométricas, geológicas, hidrológicas y tróficas muy diversas (Cavalcante et al. 2016). Esta amplitud ecológica favorecería no solo la diferenciación genética y la estructuración de poblaciones a lo largo de gradientes ambientales y geográficos, sino que también podría reflejar la existencia de ecotipos adaptados a diversas condiciones ambientales, los cuales exhiben una alta variabilidad morfológica tanto intra como interpoblacional (Salmaso 2003). La presencia de múltiples variantes o ecotipos dentro de una especie ya ha sido propuesta para otras especies invasoras (Piccini et al. 2011), como una posible consecuencia de su capacidad para tolerar amplios rangos de temperatura y otras condiciones ambientales, tal como ocurre en géneros como *Ceratium*. Además, se ha sugerido que copias del ARN mensajero podrían reinsertarse en el genoma, contribuyendo aún más a esta variabilidad genética (Slamovits & Keeling 2008; Hou & Lin 2009; Van Dolah et al. 2009). En el caso de *Ceratium*, aún no se ha documentado la presencia de múltiples ASVs dentro de una misma célula, lo que sí se observó en su contraparte marina, el género *Tripos* (Huang et al. 2024). No obstante, la presencia de múltiples secuencias del mismo gen en muestras individuales, y los índices de diversidad genética obtenidos en este Capítulo, podrían sugerir una estructuración genética similar.

En este Capítulo se obtuvieron resultados que evidencian un alto grado de variabilidad tanto intraespecífica e interespecífica dentro del género *Ceratium*. No obstante, aún persisten interrogantes respecto a la posible existencia de procesos de especiación críptica y a la amplitud real de su variabilidad morfológica (Gottschling et al. 2020), lo que resalta la necesidad de continuar investigando en profundidad la diversidad genética y fenotípica de este grupo.

El análisis de la red de haplotipos utilizada para observar los agrupamientos de las diferentes secuencias de *Ceratium*, evidenció una clara diferenciación entre *C. furcoides* y *C. hirundinella*. En ambos casos, los nodos centrales agrupan secuencias de numerosos países, lo que sugiere posibles patrones de conectividad entre las regiones donde fueron detectadas. A pesar de su amplia distribución mundial, *C.*

furcoides presentó una menor diversidad nucleotídica en comparación a *C. hirundinella*. En este sentido, las secuencias de *C. furcoides* se agruparon en un nodo central conectado con varios nodos menores mediante pocos pasos mutacionales, lo que indicaría una expansión demográfica reciente desde un grupo de secuencias ancestrales. La expansión de esta especie parecería estar impulsada por secuencias provenientes de China, Argentina y Brasil, probablemente reflejando el intenso intercambio comercial entre estos países (Abelando et al. 2020; Fernandes et al. 2021). Este comercio incluye el transporte marítimo y fluvial, una vía reconocida de dispersión biológica, ya que las especies de microorganismos pueden ser transportadas a grandes distancias en el agua de lastre de los barcos. A pesar de que existe una reglamentación nacional (Ley N.º 27.011) que establece los procedimientos para la gestión y el control del agua de lastre de los buques, si ésta no es tratada adecuadamente mediante sistemas reglamentados (físicos, químicos o biológicos), si el tratamiento es deficiente, o si el intercambio se realiza demasiado cerca del curso fluvial, los microorganismos exóticos pueden sobrevivir y ser liberados en los puertos de destino. En tales condiciones, especies como *Ceratium* tienen el potencial de colonizar nuevos ambientes si las condiciones ecológicas son favorables. Esta misma vía de dispersión también podría explicar la estrecha relación observada entre las secuencias de Argentina y China, un patrón que también se evidencia en el árbol filogenético construido. En contraste, *C. hirundinella* mostró una mayor diversidad nucleotídica, compatible con una población más diversa o fragmentada y sin señales claras de expansión reciente. En su caso, se observó una mayor dispersión de los nodos presentes en la red, lo que sugiere una estructura poblacional más compleja. En Europa, las secuencias más ancestrales provendrían de Austria, Alemania y Canadá (nodo H9), mientras que en Sudamérica la dispersión geográfica parecería partir del nodo H30. A su vez, se observó que un mismo nodo puede estar compuesto por secuencias pertenecientes a clados distantes en el árbol. Por ejemplo, el nodo H25 agrupa secuencias de los clados Cer-4 y Cer-9, aunque todas corresponden a *C. hirundinella* del embalse Broa en Brasil. Además, el valor de *Fst* entre estos clados es significativamente bajo, lo que indica una escasa diferenciación genética entre ellos. Estos dos clados comparten numerosos nodos, como el H20, H23, H28, entre otros.

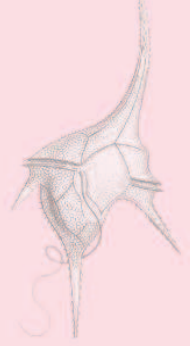
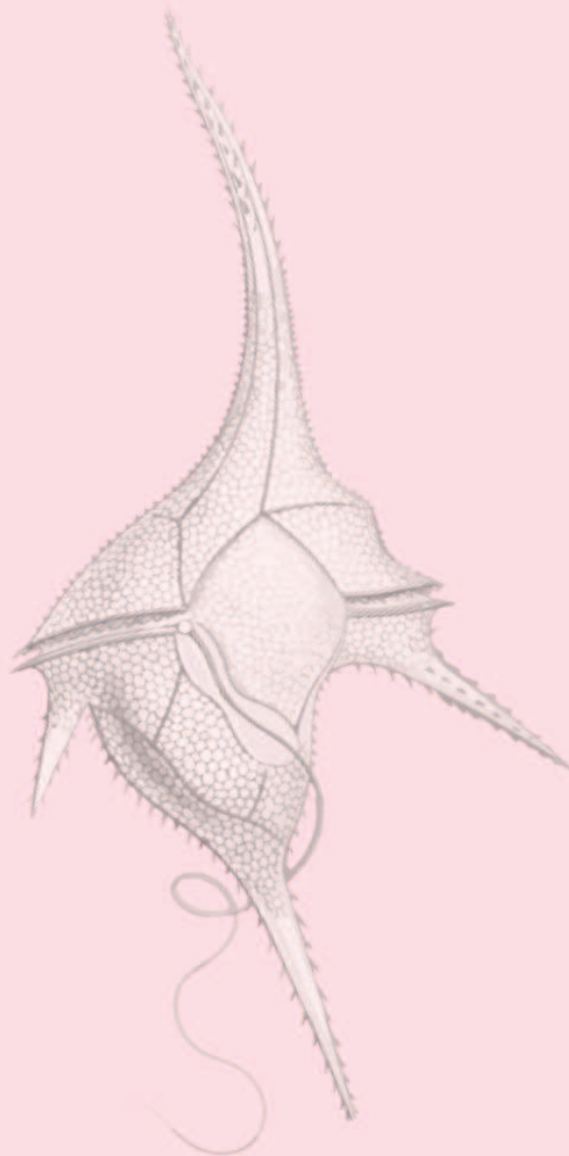
En conclusión, la estructura radial observada en la sección de la red de *C. furcoides* podría ser indicativa de un evento de expansión reciente, en el que un grupo de secuencias dio origen a múltiples secuencias derivadas. Por otro lado, la porción de la red correspondiente a *C. hirundinella* mostró una estructura más compleja y menos radial, lo que sugiere poblaciones históricamente más aisladas o una diversificación más antigua. Este patrón coincide con el origen de muchas de las secuencias de esta especie presentes en la red, provenientes de Europa, región que se considera parte de la distribución nativa de este género (Macedo et al. 2021). Ambas especies están experimentando actualmente un proceso de expansión, aunque los resultados indican que este proceso es menos pronunciado en la población de *C. hirundinella*. Esto podría deberse a diferencias en su capacidad de dispersión, en las condiciones ambientales de los sitios

muestreados o en la historia invasiva de cada especie. Además, la presencia de secuencias no muestreadas, especialmente en *C. furcoides*, sugiere que la diversidad genética podría estar subestimada, o bien que se requerirían metodologías complementarias o la utilización de otros genes para evaluar con mayor precisión la diversidad. La aparición de numerosas secuencias no muestreadas, podría indicar secuencias presentes en regiones geográficas no incluidas en este estudio, o porque pudieron haber existido en el pasado y haberse extinguido, dejando únicamente las secuencias derivadas al extremo de la red (Lukoschek et al. 2011).

Los resultados obtenidos en este Capítulo no concuerdan con la perspectiva planteada en ciertos estudios (Finlay 2002; Finlay & Fenchel 2004) que sostienen que los microorganismos eucariotas carecen de biogeografía. Por el contrario, cada vez más investigaciones evidencian que las especies de microeucariotas podrían estar limitadas por barreras geográficas y, en consecuencia, presentar una notable diversidad genética (Penna et al. 2008; Leaw et al. 2016; Reimer et al. 2017). En este contexto, el género *Ceratium* constituye un claro ejemplo. Los análisis filogeográficos sugieren que su diversidad genética está influenciada por barreras geográficas y adaptaciones locales, lo que ha llevado a divergencias significativas entre linajes. Además, su capacidad para habitar una amplia variedad de ambientes, desde hábitats marinos hasta aguas dulces, refleja una notable plasticidad ecológica. En conjunto, estos hallazgos refuerzan la idea de que los microorganismos eucariotas no están ampliamente distribuidos sin restricciones, sino que su evolución y diversificación pueden estar moldeadas por procesos biogeográficos.

Capítulo 4

Ensamblaje de comunidades con dominancia de la especie invasora *Ceratium furcoides*



Este Capítulo forma parte de la publicación: Kruk, C., Piccini, C., Devercelli, M., Nogueira, L., Accattatis, V., Sampognaro, L., Segura, A. M. (2021). A trait-based approach predicting community assembly and dominance of microbial invasive species. Oikos, 130(4), 571-586.

INTRODUCCIÓN

La comunidad fitoplanctónica constituye la base de las redes tróficas acuáticas, desempeñando un rol central en la producción primaria y en el ciclo de nutrientes. Su composición y dinámica están fuertemente influenciadas por las características del ecosistema que habitan (Reynolds 2006). En ambientes naturales como las lagunas de la llanura aluvial, los pulsos de inundación y la conectividad hidrológica promueven una alta heterogeneidad espacial y temporal, favoreciendo la coexistencia de múltiples especies. En contraste, los embalses artificiales presentan condiciones más estables y previsibles, con menores fluctuaciones hidrológicas y una menor diversidad estructural, lo que puede derivar en ensambles fitoplanctónicos menos diversos y más dominados por unas pocas especies oportunistas.

En el marco de la problemática que ocasionan las especies invasoras, resulta relevante comprender los mecanismos subyacentes al ensamblaje de comunidades, la susceptibilidad de una comunidad biológica a las invasiones y los efectos sobre la comunidad residente (Arim et al. 2006; Mac Dougall et al. 2009). En términos generales, los procesos estabilizadores basados en nichos, el papel de las diferencias en el *fitness*, los procesos de dispersión y la estocasticidad resultan claves para entender la organización y dinámica de las comunidades (Leibold & McPeck 2006; HilleRisLambers et al. 2012).

Los procesos estabilizadores de nicho hacen referencia a las diferencias ecológicas que favorecen la coexistencia de especies disminuyendo la competencia, por ejemplo, a través de la partición de recursos (Hutchinson & MacArthur 1959; HilleRisLambers et al. 2012). El *fitness* (o aptitud, en español) es la contribución de un grupo de organismos a la siguiente generación que resulta de la capacidad de sobrevivir, crecer y reproducirse en condiciones ambientales particulares (McGill et al. 2006; Litchman & Klausmeier 2008). Las diferencias en el *fitness* relativo son útiles para predecir el resultado de la competencia en ausencia de procesos estabilizadores de nicho y determinar el éxito y efecto de las invasiones (Mac Dougall et al. 2009).

Por otro lado, la teoría neutral enfatiza el rol de la dispersión y asume que las diferencias en el *fitness* relativo son menos relevantes (Hubbell 2001). Sin embargo, la estructura de la comunidad puede reflejar tanto diferencias de nicho como similitud en el *fitness* (Tilman 2004; Adler et al. 2007). La hipótesis de neutralidad emergente propone que pueden formarse agrupaciones autoorganizadas de organismos similares debido a la competencia, basándose en dos formas alternativas de coexistencia: ser lo

suficientemente diferentes o ser lo suficientemente similares (Scheffer & van Ness 2006; Vergnon et al. 2009; Segura et al. 2011).

Por lo tanto, la estimación del nicho y del *fitness* permitiría avanzar en la comprensión del ensamblaje comunitario y de los mecanismos que facilitan las invasiones, lo cual requiere de tener algunas consideraciones para su cálculo. Un indicador del *fitness* es la capacidad de reducir la disponibilidad de recursos la cual es posible medir con la *R* de Tilman (R^* , Tilman et al. 1982). Existen antecedentes en el uso de R^* para predecir el resultado de invasiones de especies en condiciones homogéneas cuando un solo nutriente es limitante (Tilman et al. 1986; Huisman et al. 1999). También se ha ampliado el uso de esta métrica a comunidades naturales multiespecies basándose en un enfoque de rasgos funcionales (Segura et al. 2012; Dutkiewicz et al. 2020). La ventaja que posee la agrupación de especies en base a sus rasgos funcionales reside en que permite resumir las respuestas de especies y predecir su distribución y abundancia (Reynolds et al. 2002).

Los rasgos funcionales son características fisiológicas, morfológicas y conductuales medibles de los organismos que pueden ser utilizadas para predecir el nicho de especies y estimar el *fitness* (Naeem & Wright 2003; Violle et al. 2007). Son útiles cuando se aplican para evaluar especies invasoras que interactúan con una comunidad compuesta por muchas especies residentes (McGill et al. 2006). Algunos rasgos morfológicos resultan fáciles de medir y son capaces de reflejar el *fitness* de los organismos y su respuesta a las condiciones ambientales, resumiendo información fisiológica y demográfica (Reynolds 2006; Litchman & Klausmeier 2008; Padisák et al. 2009). Esto permite medir parámetros para elaborar modelos al asumir una respuesta coherente de los miembros de un grupo funcional (Mutshinda et al. 2016). No obstante, dentro de los grupos funcionales existe una variabilidad interna en la fisiología y ecología de las especies. Analizar el efecto de tal variabilidad intra-grupo puede ayudar a entender los procesos de invasión.

Kruk et al. (2010) desarrolló una propuesta de grupos funcionales basados en morfología (GFBM) del fitoplancton, en la que las especies se agrupan en uno de siete GFBM según sus rasgos morfológicos. Los GFBM presentan especies que se agrupan teniendo en cuenta su fisiología, ecología, susceptibilidad al pastoreo, respuestas térmicas, dinámica a lo largo de la sucesión y dominancia y que habitan en condiciones ambientales específicas similares (Kruk et al. 2010; Kruk & Segura 2012; Reynolds et al. 2014; Segura et al. 2018; Machado et al. 2019b; Pineda et al. 2022; Vanderley et al. 2022; Stela et al. 2024). Los GFBM corresponden en realidad a grupos autoorganizados de especies similares, cada uno de ellos con un nicho definido. Dentro del nicho de cada GFBM, las diferencias intra-grupo en fisiología y ecología fueron instrumentales para explicar la estructura de la comunidad (Segura et al. 2011). El enfoque de GFBM resume las respuestas ecológicas de los organismos ayudando a definir el nicho y estimar la aptitud tanto de las especies invasoras como de las residentes (Kruk et al. 2011; Reynolds et al. 2014).

Ceratium forma parte del GFBM V. Este grupo funcional comprende dinoflagelados unicelulares de tamaño mediano a grande que suelen ser abundantes en ecosistemas de agua dulce meso-eutróficos templados (Reynolds et al. 2002; Kruk et al. 2010). Como ya se mencionó previamente, *Ceratium* es capaz de producir floraciones que además alternan con cianobacterias también formadoras de floraciones, particularmente *Microcystis* spp. que se clasifica en el GFBM VII. Esta alternancia entre *Ceratium* y *Microcystis* ocurre principalmente en climas cálidos y templados cuando los ambientes presentan condiciones eutróficas (Rangel et al. 2016).

El objetivo de este Capítulo fue analizar los procesos que intervienen en la dominancia de *Ceratium furcoides* dentro del ensamblaje comunitario, a partir de paradigmas de neutralidad y nicho. Para ello, se analizaron las condiciones que posibilitan la dominancia de la especie invasora *C. furcoides*, utilizando enfoques basados en rasgos y bajo el supuesto de que cada grupo funcional agrupa especies con nichos similares. Se compararon los rasgos y el *fitness* de *C. furcoides* con especies del mismo GFBM (V, con nicho similar) con las que se encontraba conviviendo, y con especies de un GFBM diferente pertenecientes al complejo de cianobacterias *Microcystis aeruginosa* (VII, con nicho diferente). Se empleó la información de muestreos de campo de dos ecosistemas acuáticos contrastantes. También se exploraron los cambios en los rasgos y el *fitness* a lo largo de gradientes ambientales y los efectos sobre la riqueza de la comunidad de fitoplancton.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Área de estudio

Se evaluaron las comunidades del fitoplancton del embalse de Salto Grande y de una laguna de llanura de inundación, la laguna Miní (Figura 1, Tabla 1). Salto Grande es un embalse de agua dulce eutrófico en el río Uruguay. El embalse tiene un tiempo de residencia del agua entre 10 y 30 días, y un área de 783 ha (O'Farrell et al. 2012; Kruk et al. 2017; Martínez de la Escalera et al. 2017). Las muestras se tomaron bimensualmente en seis ocasiones (enero 2013–marzo 2014), incluyendo sitios litorales y de aguas abiertas (n = 12). La laguna Miní es parte de la llanura de inundación del río Paraná, está permanentemente conectada al río con un tiempo de residencia del agua entre 1 y 10 días, y modulada por pulsos hidrológicos y sedimentológicos del sistema fluvial (Mayora et al. 2013, 2016). Los muestreos se realizaron aproximadamente cada quince días desde noviembre de 2009 hasta diciembre de 2010, y de enero a diciembre de 2012 (n = 38).



Figura 1. Ubicación de los sitios de muestreo y los ecosistemas estudiados: Embalse de Salto Grande en el río Uruguay y la laguna Miní en la llanura aluvial del río Paraná.

En cada muestreo, se midió la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), la profundidad (m) y la conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$). La transparencia del agua se estimó con disco de Secchi (SD; m). Se tomaron muestras cualitativas para el análisis de fitoplancton con una red de plancton de malla de $25\ \mu\text{m}$ y se fijaron con formaldehído de carbonato al 4%. Las muestras de fitoplancton para conteo se tomaron con botellas y se fijaron con lugol acidificado (1%). Las muestras de agua superficial filtradas (filtro de fibra de vidrio GF/F Millipore) y no filtradas se congelaron ($-20\ ^{\circ}\text{C}$) para análisis de nutrientes.

Dado que el zooplancton ejerce una presión de pastoreo sobre el fitoplancton, se tomaron muestras de la comunidad zooplanctónica con el objetivo de evaluar su contribución a las pérdidas por depredación. Para ello, se filtraron entre 10 y 20 litros de agua para el embalse y entre 60 y 100 litros para la laguna, utilizando una red de malla de $50\ \mu\text{m}$. El conteo se realizó según el protocolo descrito por Paggi & José de Paggi (1974). En el caso de la laguna Miní, parte de los conteos de fitoplancton fueron realizados por Matías Barreda (2015) y los conteos de zooplancton fueron realizados por Florencia Rojas Molina.

Tabla 1. Características de los ambientes estudiados en el presente Capítulo. GFBM: Grupos funcionales basados en la morfología.

	Embalse Salto Grande	Laguna Miní
Coordenadas geográficas	31°12' S, 57°59' O	31°38' S, 60°42' O
Área (km ²)	783	186
Profundidad (m)	10,6 (7–14)	2,3 (0,5–5,7)
Temperatura (°C)	22,2 (14,2–33,6)	21,5 (11,1–29,5)
Secchi (m)	0,55 (0,4–0,9)	0,5 (0,09–1,5)
Fósforo total (µg l ⁻¹)	52,4 (29,4–77,9)	77,1 (7,2–250,3)
Nitrógeno total (µg l ⁻¹)	910 (510–1380)	384,8 (31,3–1007)
Biovolumen total de fitoplancton (mm ³ l ⁻¹)	350 (0,16–2173)	1,10 (0,052–11,5)
Biovolumen de <i>Ceratium furcoides</i> (mm ³ l ⁻¹)	16 (0–102)	0,63 (0–10,9)
Biovolumen de otros miembros del GFBM V (mm ³ l ⁻¹)	0,01 (0,22–1,25)	0,23 (0,0057–0,97)
Porcentaje del biovolumen de <i>Ceratium furcoides</i> en GFBM V (%)	71,1 (0–99,9)	27,4 (0–99,1)

2. Mediciones y clasificación de organismos del fitoplancton en GFBM

Las especies de zooplancton fueron clasificadas en rotíferos, cladóceros y copépodos. El fitoplancton (organismos/ml) fue cuantificado utilizando cámaras de sedimentación (Utermöhl 1958), a varias magnificaciones (10–1000 ×) hasta alcanzar al menos 100 organismos de las especies más frecuentes (Lund et al. 1958). Se midieron las siguientes dimensiones de los organismos: longitud del eje apical y transapical, diámetro total, longitud de los cuernos y dimensión lineal máxima (DLM, µm). El volumen individual (V, µm³) y el área superficial (S, µm⁻¹) fueron calculados de acuerdo a Hillebrand et al. (1999). La presencia de flagelos, aerótopos y mucílago fue registrada para cada organismo. Basado en sus rasgos morfológicos individuales, cada organismo fue clasificado en uno de siete grupos funcionales basados en la morfología (GFBM: I–VII) (Kruk et al. 2010; Kruk & Segura 2012).

Las morfoespecies de *Microcystis* fueron combinadas en un solo complejo de *Microcystis aeruginosa* (MAC) de acuerdo a Harke et al. (2016) y clasificadas como GFBM VII. El biovolumen (mm³/l) fue utilizado como una métrica de biomasa y fue calculado multiplicando el volumen individual de cada organismo por su abundancia; se calculó el biovolumen total de fitoplancton y el de cada uno de los GFBM. La riqueza de especies fue estimada en cada muestra después de identificar todos los organismos hasta el nivel de especie, cuando fue posible. Para evaluar la relación entre el biovolumen de *Ceratium furcoides* y

la riqueza total de fitoplancton, se utilizó la correlación de Spearman (ρ), prueba no paramétrica que no requiere distribución normal de los datos.

3. Cálculo de curvas de rendimiento térmico y estimación del *fitness*

Los cálculos de las curvas de rendimiento y la estimación del *fitness* fueron realizados por Carla Kruk y Ángel Segura. Para ello, se utilizó información bibliográfica de experimentos controlados diseñados para cuantificar las tasas de crecimiento poblacional de *C. furcoides* ($n = 13$, Butterwick et al. 2005) y representantes del GFBM V como función de la temperatura ($n = 89$) (Kruk et al. 2021, material suplementario: [oik13129-sup-0001-AppendixS1.xls](#)). La curva de rendimiento térmico (CRT) para la tasa de crecimiento ($\mu_{\max}$) de los representantes del GFBM VII fue obtenida de Kruk et al. (2017). Para *C. furcoides* y representantes de GFBM V, se ajustó una CRT para $\mu_{\max}$ utilizando la ecuación de Sharpe–Schoolfield (Schoolfield et al. 1981):

$$\mu_{\max} = \frac{c + e^{-\left[\frac{Ea}{k}\left(\frac{1}{Tc} - \frac{1}{T}\right)\right]}}{1 + e^{-\left[\frac{Eh}{k}\left(\frac{1}{Th} - \frac{1}{T}\right)\right]}}$$

donde k es la constante de Boltzmann ($8,6 \times 10^{-4}$ eV K⁻¹), T es la temperatura en Kelvin, Ea es la energía de activación y Eh es la energía de desactivación a altas temperaturas. Th representa la temperatura a la cual la mitad de las enzimas están activas y la otra mitad se encuentra inhibida por altas temperaturas, y Tc es una temperatura de estandarización ($Tc = 15^\circ\text{C}$). La función en RStudio se obtuvo de <https://github.com/padpadpadpad/TeamPhytoplankton/blob/master/R/schoolfield.high.R>. Para comparar la distribución de temperaturas óptimas de GFBM V con el valor óptimo estimado para *Ceratium furcoides*, se utilizó una prueba t unilateral.

Se utilizó como indicador del *fitness* la capacidad de captar recursos del entorno como un proxy de la competencia interespecífica (R^* , Tilman et al. 1982, Segura et al. 2012) para lo cual se asumió un modelo de quimiostato (Anexo sección A4). Se utilizó la ecuación de Monod (modelo matemático empírico para estimar el crecimiento de microorganismos) para obtener los valores de crecimiento y se estimó el indicador del *fitness*, R^* :

$$R^* = \frac{km}{\mu_{\max}(T) - m}$$

donde k es la constante de media saturación del crecimiento, m es la mortalidad, $\mu_{\max}$ es la tasa de crecimiento máxima a una temperatura T (Anexo Sección A4).

El indicador del *fitness* (R^*), se estimó para *C. furcoides*, para GFBM V excluyendo las especies de *Ceratium* y para las especies del complejo *Microcystis aeruginosa* (MAC) dentro de GFBM VII. Se analizaron los cambios en R^* bajo: 1) condiciones ambientales locales para *C. furcoides* y GFBM V, y 2) gradientes ambientales más amplios de temperatura, presión de pastoreo y tiempo de residencia, con el objetivo de comprender el *fitness* relativo en diferentes ambientes, incluyendo GFBM VII representado por MAC.

En definitiva, para la estimación de R^* se combinaron respuestas fisiológicas y ecológicas de los organismos ($\mu_{\max}$, k , s) junto con características de los ambientes: profundidad del ecosistema (z), las pérdidas por depredación (CCR ; cálculo detallado en Anexos sección A4) y la tasa de recambio del agua (f , flushing). Los parámetros fisiológicos se obtuvieron de una revisión de literatura (es decir, curva de rendimiento térmico: TPC, para la tasa de crecimiento máxima Segura et al. 2018, material suplementario), y condiciones ambientales medidas en los sitios muestreados (Tabla 1). Más detalles sobre estos cálculos pueden encontrarse en el Anexo Sección A4.

Para comparar las variables morfológicas (volumen individual, dimensión lineal máxima, relación superficie/volumen), fisiológicas (tasas de crecimiento, *fitness*) y ecológicas (biovolumen, riqueza total de fitoplancton) entre *Ceratium furcoides* y otras especies o a lo largo del tiempo, se utilizaron pruebas de razón de verosimilitud (*Likelihood Ratio Tests*, LRT). Esta prueba compara la bondad de ajuste de dos modelos (Kruk et al. 2017). Las pérdidas de *C. furcoides* y los organismos del complejo MAC debido a la depredación o el hundimiento se consideraron despreciables y se fijaron en cero (Tabla A4.1). *C. furcoides* puede nadar activamente en la columna de agua, mientras que los organismos del complejo MAC son flotantes y su gran tamaño les permite evitar la depredación (referencias en Tabla A4.1).

RESULTADOS

1. *Ceratium furcoides* y otras especies flageladas del fitoplancton

Ceratium furcoides fue registrado en 32 de las 50 muestras totales. Siempre se encontró cohabitando con especies de GFBM V incluyendo Cryptophyta (es decir, *Cryptomonas erosa*), Dinoflagellata (es decir, *Peridinium* sp.), Euglenophyta (es decir, *Euglena* sp.), Chlorophyta (*Tetraselmis* sp.) y Chrysophyta (*Synura uvella*). Salto Grande se caracterizó por alta biomasa total de fitoplancton y baja riqueza. Presentó

14 especies de GFBM V y un máximo de 7 de ellas co-ocurrieron en una muestra. En la dinámica temporal de Salto Grande, *C. furcoides* pasó de dominancia total a ausencia con una contribución relativa promedio del 36% al biovolumen total de fitoplancton. La laguna Miní tuvo menor biomasa total y mayor riqueza. Aquí, *C. furcoides* co-ocurió con varias especies de GFBM V (número total = 52) y su contribución a GFBM V tuvo valores promedio más bajos que en Salto Grande. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la riqueza total de fitoplancton asociadas a la presencia o ausencia de *C. furcoides* (Salto Grande: LRT (razón de verosimilitud) promedio = 1,34, $p = 0,25$, Miní: LRT promedio = 1,11, $p = 0,29$). Por el contrario, se observó una relación negativa entre el biovolumen de *C. furcoides* y la riqueza total de fitoplancton en Salto Grande (correlación de Spearman $\rho = -0,59$, $p < 0,05$) (Figura 2).

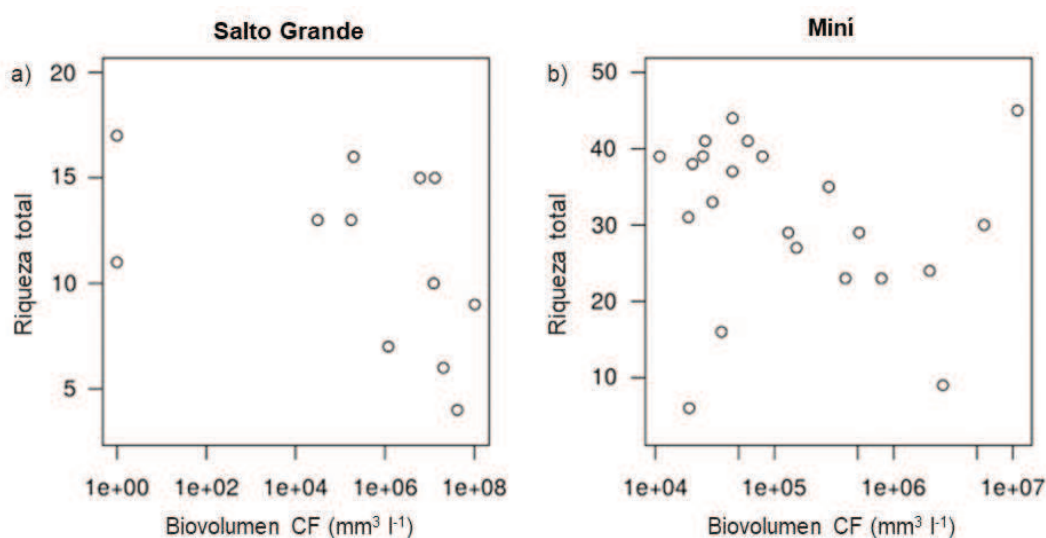


Figura 2. Relación entre la riqueza de la comunidad fitoplanctónica y el biovolumen de *Ceratium furcoides* (CF), en (a) el embalse de Salto Grande y (b) la laguna Miní.

2. Rasgos funcionales de especies dentro del mismo grupo: *C. furcoides* y otras especies de GFBM V

Ceratium furcoides presentó diferencias significativas en términos de morfología, tasas de crecimiento y curvas de respuesta térmica cuando se comparó con otros representantes de GFBM V. Las otras especies que se clasificaron dentro del grupo GFBM V fueron: *Chlamydomonas alpina*, *Chlamydomonas globosa*, *Chlamydomonas intermedia*, *Chlamydomonas subcaudata*, *Chroomonas baltica*, *Cryptomonas erosa*, *Cryptomonas marssonii*, *Cryptomonas ovata*, *Euglena gracilis*, *Glaseria mira* y *Peridinium cinctum*.

C. furcoides tuvo un mayor volumen individual (Salto Grande: LRT = 145,6, $p < 0.001$; Miní: LRT = 21,99, $p < 0,001$) y una dimensión lineal máxima (LRT = 665,2, $p < 0,001$), junto con una menor relación superficie/volumen (LRT = 467,7, $p < 0,001$) que las otras especies observadas de GFBM V (Figura 3). *C. furcoides* alcanzó tasas de crecimiento máximas más bajas que otras especies de GFBM V (LRT = 38,78, $p < 0,001$), con un valor promedio de 0,11 día⁻¹ y un máximo de 0,26 día⁻¹, mientras que otras especies de GFBM V tuvieron un promedio de 0.68 día⁻¹ y un máximo de 3,3 día⁻¹ (Figura A4.1). De manera similar, *C. furcoides* y los individuos de GFBM V presentaron diferentes curvas de respuesta térmica y diferentes temperaturas óptimas para el crecimiento (Figura 4). La prueba t unilateral mostró que la distribución de temperaturas óptimas de GFBM V fue menor que el valor estimado para *C. furcoides* ($t = -1,94$; $p < 0,05$, $df = 8$) con temperaturas óptimas significativamente más bajas para los representantes de GFBM V.

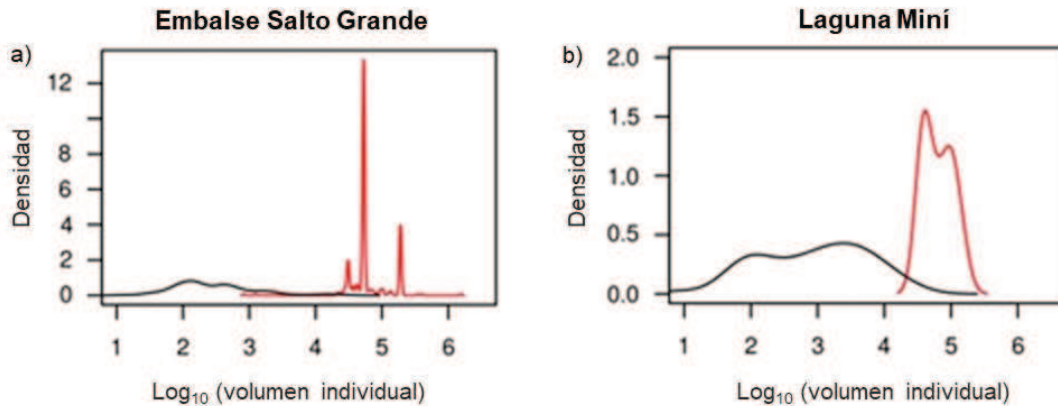


Figura 3. Gráficas de densidad que muestran la distribución del volumen individual (V; μm^3) de *Ceratium furcoides* (línea roja) y otras especies de GFBM V excluyendo *C. furcoides* (línea negra); registrado para todas las muestras (a) del embalse de Salto Grande, y aquellas de (b) la laguna Miní.

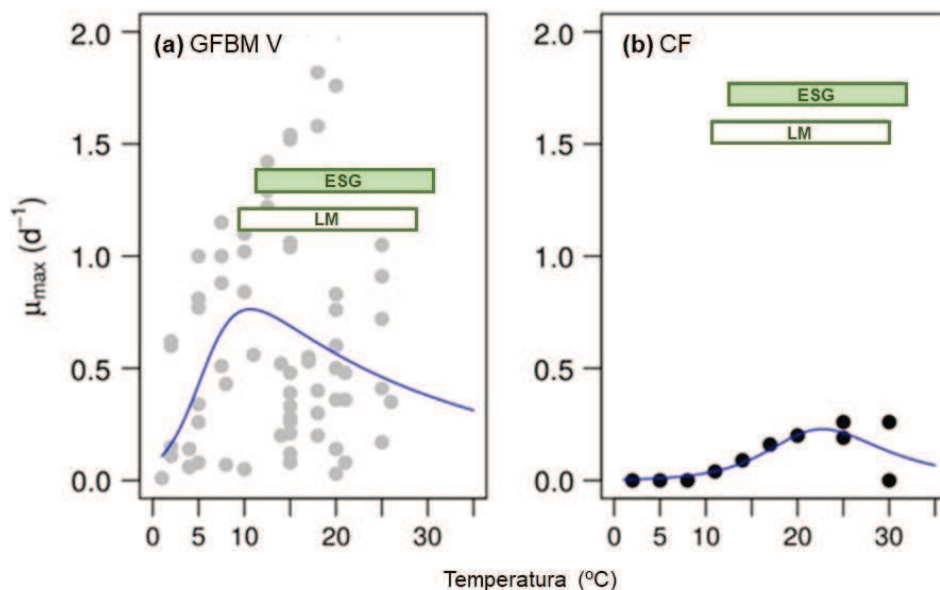


Figura 4. Curvas de respuesta térmica de la tasa máxima de crecimiento para las especies de GFBM V, (a) excluyendo *Ceratium* spp. ($n = 9$ especies), y (b) para *Ceratium furcoides* solo (CF). Se incluyen los rangos de temperatura del agua del Embalse de Salto Grande (ESG) y la laguna Miní (LM) para fines comparativos.

3. Fitness de especies dentro del mismo grupo: *C. furcoides* y otras especies del GFBM V

Los valores de R^* de *Ceratium furcoides* variaron a lo largo del año, con un R^* más bajo ($\text{LRT} = 191,40$, $p < 0,0001$) y un biovolumen más alto ($\text{LRT} = 26,42$, $p < 0,0001$) durante el verano y lo opuesto en invierno. Considerando todas las muestras. Se estimaron proporciones $R^*_{\text{CF}} / R^*_{\text{GFBMV}}$ más bajas cuando *C. furcoides* fue dominante, mientras que se obtuvieron valores más altos de esta proporción cuando otras especies de GFBM V fueron dominantes (Figura 5a). La presión de pastoreo difirió entre las muestras dominadas por *C. furcoides* y aquellas dominadas por otros representantes de GFBM V (Figura 5b).

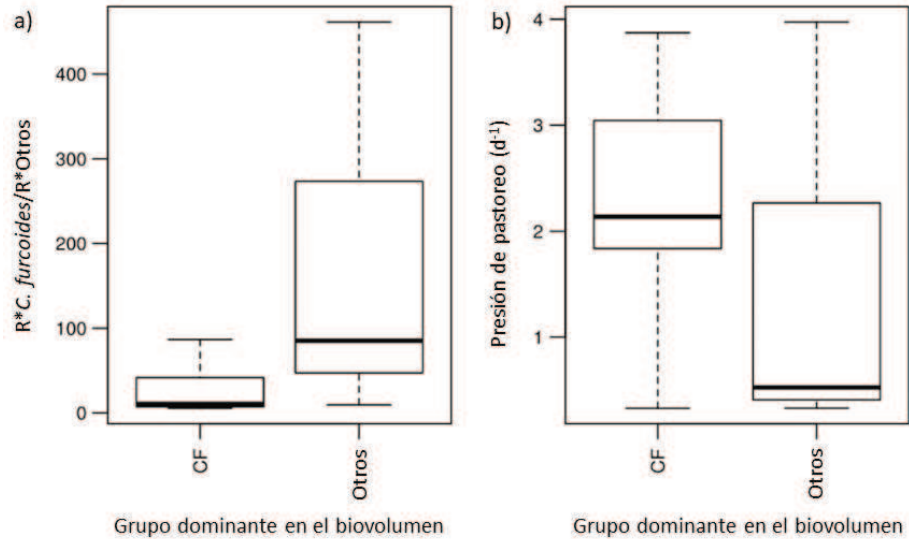


Figura 5. Diagrama de cajas (medias, rangos y valores atípicos) que muestra la razón entre los valores de R^* ($mmol PO_4$) de *Ceratium furcoides* (CF) y otras especies del MBFG V, (a) como un indicador de la probabilidad de dominancia de *C. furcoides* (un R^* más bajo predice mayor abundancia o biovolumen en campo), y (b) la presión de pastoreo observada. En todos los casos, las estimaciones corresponden a los 12 sitios muestreados en el embalse de Salto Grande, clasificados según si estaban dominados por *Ceratium furcoides* (CF) o por otras especies del MBFG V (Otros).

La respuesta modelada de R^* a los gradientes ambientales mostró que, a bajas tasas de renovación del agua ($0,02-0,007 \text{ día}^{-1}$), cuando el tiempo de residencia del agua supera los 50 días, *C. furcoides* supera en desempeño a sus homólogos del GFBM V (Figura 6). Cuando la tasa de renovación del agua es intermedia ($\sim 0,02 \text{ día}^{-1}$), se produce un cambio en la jerarquía competitiva entre *C. furcoides* y GFBM V. Mientras que *C. furcoides* no es afectado por la depredación por pastoreo, GFBM V es altamente susceptible, incapaz de lidiar con mortalidades por pastoreo de zooplancton superiores a $\sim 0,4 \text{ día}^{-1}$. El aumento en el tiempo de residencia (disminución en las tasas de renovación de agua) y en la presión de pastoreo del zooplancton lleva a *C. furcoides* a superar a los representantes de GFBM V, lo que predice su dominio en ambientes lénticos sujetos a una presión de pastoreo del zooplancton moderada a alta.

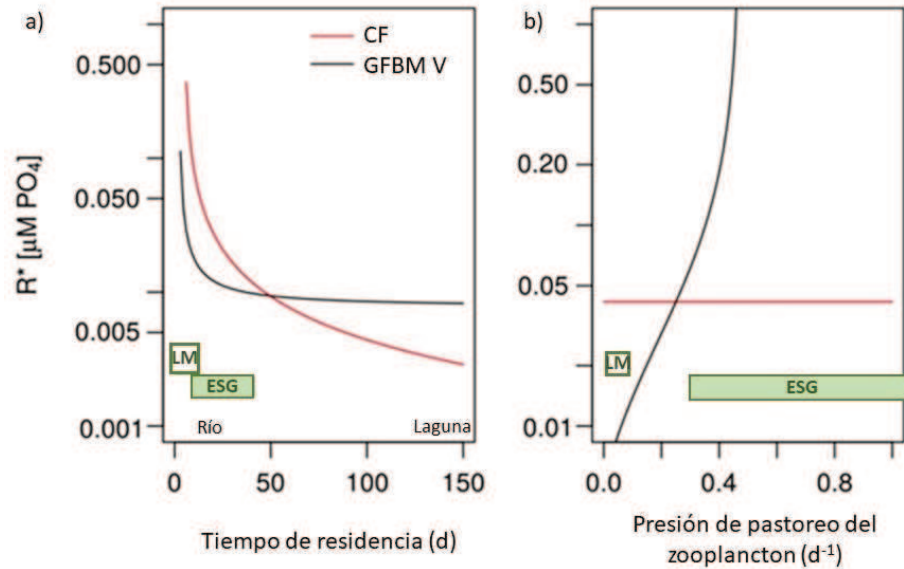


Figura 6. Curvas de respuesta de R^* (fitness) para *Ceratium furcoides* (CF, línea roja) y para GFBM V excluyendo especies de *Ceratium* (línea negra), (a) a lo largo de gradientes de tiempo de residencia del agua (con una presión de pastoreo del zooplancton fija de 0,1 para GFBM V y 0 para CF) y (b) de presión de pastoreo del zooplancton (tiempo de residencia del agua = 50 días, tasa de renovación = 0,02 día⁻¹), con temperatura = 20 °C y profundidad = 10 m. Se incluyen los rangos de tiempo de residencia del agua y de presión de pastoreo del zooplancton del embalse de Salto Grande (ESG) y de la laguna Mini (LM) para fines comparativos.

4. Fitness de especies de diferente grupo: GFBM V y VII

Se observó una alternancia en la dominancia de especies de GFBM V y VII en el embalse de Salto Grande, siendo las formas coloniales del complejo *Microcystis aeruginosa* (MAC) el principal representante de GFBM VII.

Se observaron diferentes respuestas en términos de R^* en ambientes que diferían en tasas de renovación del agua y pastoreo del zooplancton. La respuesta del fitness a la variación de temperatura no fue lineal (Figura 7). A una alta tasa de renovación del agua (similar a un río, 0,07 día⁻¹), los miembros de GFBM V siempre superaron (menor R^*) a *C. furcoides* y MAC. A tasas de descarga intermedias (0,05 día⁻¹) y bajas (0,01 día⁻¹), los grupos más exitosos cambiaron con la temperatura: GFBM V a baja, *C. furcoides* a intermedia y MAC a temperaturas superiores a 30 °C. En ecosistemas con bajas tasas de renovación del agua (ambientes lénticos), *C. furcoides* presentó el mayor fitness (baja R^*) y fue el mejor competidor a temperaturas intermedias (15 a ~20 °C). A baja presión de zooplancton (0,01 día⁻¹), los representantes de GFBM V siempre fueron los mejores competidores. A una presión de zooplancton intermedia (0,2 día⁻¹), el GFBM V mostró un mayor fitness por debajo de los 15 °C, a temperaturas intermedias (15–30 °C) *C. furcoides* tuvo un R^* más bajo y, finalmente, a temperaturas superiores a 30 °C,

el MAC fue un mejor competidor. A la presión de zooplancton simulada más alta ($0,6 \text{ día}^{-1}$), el MAC y *C. furcoides* fueron los grupos con mayor *fitness*, alternando su dominio competitivo en función de la temperatura. A temperaturas más bajas ($< 12 \text{ °C}$) y más altas ($> 27 \text{ °C}$), el MAC tuvo mayor *fitness*, mientras que a una temperatura intermedia ($15\text{--}27 \text{ °C}$) *C. furcoides* superó a todos los grupos.

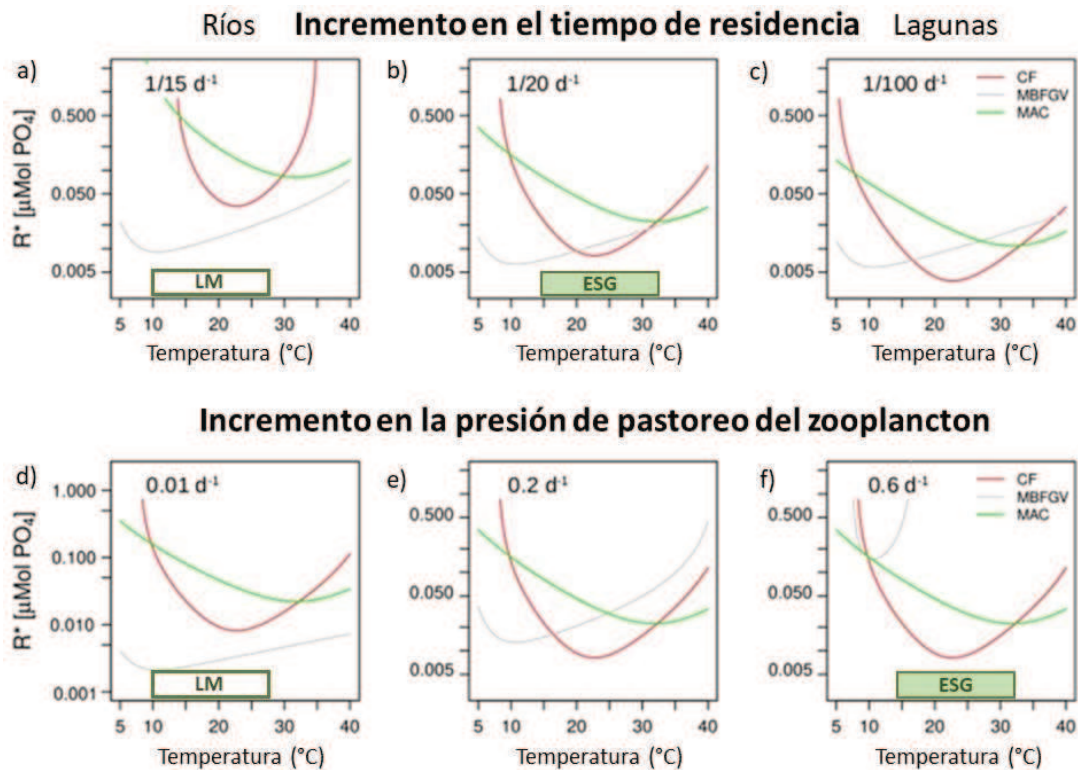


Figura 7. Curvas de respuesta térmica del *fitness* para GFBM V excluyendo especies de *Ceratium* (línea gris), *Ceratium furcoides* (CF, línea roja) y el complejo *Microcystis aeruginosa* (MAC, línea verde, GFBM VII) a lo largo de gradientes de tiempo de renovación del agua ((a) $1/15 \text{ día}^{-1}$, (b) $1/20 \text{ día}^{-1}$, (c) $1/100 \text{ día}^{-1}$) y de presión de pastoreo del zooplancton ((d) $0,01 \text{ día}^{-1}$, (e) $0,2 \text{ día}^{-1}$, (f) $0,6 \text{ día}^{-1}$). GFBM VII y *C. furcoides* no presentaron pérdidas por acción del zooplancton. El aumento del tiempo de residencia del agua (menor tasas de renovación del agua) y el incremento de la presión de pastoreo del zooplancton favorecen la capacidad competitiva de *C. furcoides* y MAC sobre GFBM V, prediciendo la dominancia de MAC a temperaturas más altas y de CF a temperaturas intermedias. La profundidad fue de 10 m, el pastoreo del zooplancton fue de $0,2 \text{ día}^{-1}$ en el gradiente de renovación y la tasa de renovación fue de $1/50 \text{ día}^{-1}$ en el gradiente de pastoreo. Se incluyen los rangos de tiempo de residencia y presión de pastoreo del zooplancton del embalse de Salto Grande (ESG) y en la laguna Miní (LM) para fines comparativos.

DISCUSIÓN

En el presente Capítulo se evaluaron los mecanismos que impulsan la competencia y dominancia de la especie invasora *Ceratium furcoides* a lo largo de un rango de condiciones ambientales, utilizando un enfoque basado en rasgos funcionales para clasificar las especies en grupos funcionales basados en la morfología (GFBM). Los resultados obtenidos en este Capítulo representan un aporte relevante para la comprensión de la dinámica de *C. furcoides* en sistemas acuáticos no nativos y su interacción con otras especies fitoplanctónicas, en especial con otros representantes del GFBM V y con el complejo *Microcystis aeruginosa*. A diferencia de estudios, este trabajo abordó de manera integrada variables morfológicas, fisiológicas y ecológicas, así como las interacciones entre especies bajo diferentes condiciones ambientales. Esta aproximación permitió interpretar con mayor profundidad los factores que favorecen el éxito invasor de *C. furcoides*, y comprender cómo su presencia puede modificar la estructura y funcionamiento de la comunidad fitoplanctónica. Estudios previos también han abordado la coexistencia entre *Ceratium* y *Microcystis* (Bordet et al. 2017; Grigorszky et al. 2019; da Silva et al. 2025), sin embargo, este Capítulo presenta un enfoque novedoso utilizando rasgos funcionales para hacer un análisis de la invasión en dos tipos de ambientes contrastantes.

El GFBM V está compuesto por flagelados fotosintéticos unicelulares de tamaño mediano a grande, con pérdidas moderadas por hundimiento, tolerancia a condiciones de nutrientes y luz de bajas a moderadas, y una susceptibilidad variable al pastoreo (Kruk et al. 2010). La variabilidad interna del grupo funcional al que pertenece *Ceratium* refleja la tolerancia de este organismo a un rango amplio de condiciones, aunque con distinta capacidad competitiva.

Dentro del grupo, *C. furcoides* mostró una combinación particular de rasgos, presentando el mayor volumen, la máxima dimensión lineal y la menor relación superficie/volumen. La combinación distintiva de rasgos de *Ceratium*, en ecosistemas eutróficos con altos tiempos de residencia, temperaturas intermedias (entre 20 y 30 °C) y presión de pastoreo moderada, se traduce en un mayor *fitness* relativo (R^*) y dominancia. En contraste, en condiciones de menor tiempo de residencia del agua, su capacidad competitiva se ve limitada. Esta compensación entre susceptibilidad al pastoreo, tasa de crecimiento y respuesta térmica proporciona un marco formal para modelar la invasión de *C. furcoides*, lo que resulta congruente también con resultados de campo (Santos Wisniewski et al. 2007; Matsumura-Tundisi et al. 2010; Silva et al. 2012; Sommer et al. 2012; Cavalcante et al. 2016; Bordet et al. 2017).

El gran volumen celular de *C. furcoides* está asociado a tasas de crecimiento lentas, como se ha observado en otras especies de fitoplancton (Edwards et al. 2012). Esto implica una mayor sensibilidad a la pérdida de biomasa causada por la renovación del agua, ya que las pérdidas por hundimiento o pastoreo no son relevantes. En consecuencia, el aumento del flujo de agua redujo el *fitness* de *C. furcoides*, impidiendo su dominancia tras la invasión y desplazando la composición de la comunidad hacia otras

especies del GFBM V. En este caso, los quistes de resistencia de *C. furcoides* no fueron evaluados, pero sería oportuno tener en consideración esta estrategia de dormancia ya que podría representar un proceso relevante de pérdida de la columna de agua, como así también para el proceso de invasión.

Los organismos fitoplanctónicos de gran tamaño como *Ceratium* son afectados en menor medida por el pastoreo del zooplancton (Hart & Wragg 2009; Marañón 2015). En *Ceratium furcoides*, la presencia de estructuras orgánicas externas (placas de celulosa), cuernos y una alta plasticidad morfológica actúan como mecanismos protectores frente al pastoreo (Pollinger 1988; Bertolo et al. 2010). Bajo presión de pastoreo media a alta, *C. furcoides* superó competitivamente a otras especies del GFBM V, más susceptibles al consumo por zooplancton (Colina et al. 2015). Finalmente, su gran tamaño, relación superficie-volumen intermedia y la presencia de flagelos le confieren un elevado grado de movilidad vertical en la columna de agua, evitando así las pérdidas por hundimiento (Whittington et al. 2000; Clegg et al. 2004; Tabla A4.1). Este conjunto de características morfológicas, fisiológicas y ecológicas podría estar asociado, al menos en parte, con lo que predice la *Enemy Release Hypothesis* (Keane & Crawley 2002), según la cual las especies invasoras pueden prosperar en nuevos ambientes al escapar del control de sus reguladores biológicos naturales (depredadores, parásitos y parasitoides). En este contexto, la baja susceptibilidad de *C. furcoides* al pastoreo en ecosistemas invadidos podría deberse tanto a su morfología como al hecho de que los depredadores locales no están adaptados a consumirlo eficientemente, lo que le confiere una ventaja competitiva frente al fitoplancton nativo.

El óptimo térmico de *C. furcoides* resultó superior al de los demás representantes del GFBM V, lo que sugiere que su capacidad de invasión podría incrementarse frente a representantes de este grupo en situaciones de aumento de la temperatura media del agua como los que podría inducir el cambio climático, especialmente en embalses artificiales, como ya fue observado en estudios de campo (Bustamante Gil et al. 2012; Crossetti et al. 2019). La combinación de rasgos de *C. furcoides* resultó en valores positivos de R^* en todas las condiciones muestreadas en Salto Grande, con un flujo de agua variable y un amplio rango de temperaturas que osciló entre 14,2 y 28,7°C. Sin embargo, *C. furcoides* no siempre fue dominante: su contribución relativa respecto al GFBM V varió a lo largo del período de estudio de manera no lineal, pero predecible, lo que sugiere que las condiciones ambientales de algunas regiones podrían favorecer la coexistencia, mientras que las de otras podrían promover o dificultar la invasión de esta especie (Figura 7).

La relación entre valores más bajos de R^* y la dominancia de *C. furcoides* en comparación con otros representantes del GFBM V respalda las predicciones teóricas. Sin embargo, no se obtuvieron relaciones continuas claras entre la abundancia o el biovolumen y el *fitness* relativo de *C. furcoides* basada en R^* .

Cuando una especie invasora presenta un nicho similar al de las especies residentes como ocurre con las que pertenecen al mismo grupo funcional, pero su *fitness* es mayor, su presencia puede tener un impacto negativo en la comunidad local, excluyendo a aquellas especies con menor *fitness* (Mac Dougall

et al. 2009). En este Capítulo, observamos que *C. furcoides* coexistió con otras especies de su grupo funcional (mismo nicho) y tuvo un leve efecto negativo sobre la riqueza total de fitoplancton. El efecto negativo de *C. furcoides* sobre el GFBM V fue más evidente en el embalse de Salto Grande durante el verano, bajo condiciones de alta residencia del agua y temperaturas elevadas, donde las diferencias en el *fitness* favorecieron ampliamente a *C. furcoides*. Estos resultados coinciden con estudios previos que indican efectos negativos de la abundancia de *C. furcoides* sobre la diversidad fitoplanctónica (Almanza et al. 2016; Crossetti et al. 2019).

Por otro lado, no se observó un efecto marcado de *C. furcoides* sobre la comunidad fitoplanctónica en la laguna Miní, sometida a tasas de renovación relativas más altas que las del embalse de Salto Grande, donde el *fitness* de *C. furcoides* fue menor y los mecanismos de dispersión podrían ser importantes. Los individuos de *C. furcoides* observados en la laguna Miní podrían provenir de grandes embalses artificiales del río Paraná ubicados aguas arriba. Las altas tasas de renovación de agua en la laguna Miní limitan el crecimiento local de *C. furcoides* e impiden que ejerza un impacto negativo sobre la comunidad nativa. Asimismo, el elevado grado de interacción entre las especies nativas actúa como un mecanismo de resistencia, atenuando los efectos de la invasión (Howeth 2017) y favoreciendo un aumento en la riqueza total de fitoplancton (Devercelli et al. 2014; Mayora et al. 2016). El análisis de los procesos de invasión incluyendo explícitamente los efectos de las interacciones permitiría determinar la contribución relativa de la dispersión frente a los efectos locales. Esto podría ser incorporado a un modelo espacial explícito de dispersión mediante la incorporación de un término de migración lo cual no fue realizado en esta ocasión.

Los resultados obtenidos indican que, una vez que *C. furcoides* llega a un ecosistema, probablemente logre dominar exitosamente en condiciones de bajas tasas de renovación y temperaturas del agua moderadas (entre 20 y 30 °C). En el caso de los embalses, cuando este tipo de ambientes artificiales se establecen representan nichos vacíos adecuados para especies invasoras como *C. furcoides* (Johnson et al. 2008, Bates et al. 2013, Havel et al. 2015). En los embalses, *C. furcoides* podría acumular biomasa, excluir a las especies residentes, formar “bancos de quistes” y luego dispersarse aguas abajo, como se ha observado previamente (Mertens et al. 2012, Acosta et al. 2015, Kinnunen et al. 2016). Se deduce que esto es lo que podría ocurrir en la Cuenca del Plata, a partir de los resultados obtenidos en este Capítulo. Por ejemplo, en un escenario de aumento de la temperatura en embalses del río Paraná, es posible que *Ceratium* se vuelva dominante frente a otras especies del grupo GFBM V, debido a su alta tolerancia térmica, que alcanza los 30 °C. *Ceratium furcoides* y las especies del complejo *Microcystis aeruginosa* (MAC) que pertenecen a diferentes GFBM (V y VII, respectivamente), se espera que sus nichos se diferencien. Sin embargo, *C. furcoides* y MAC tienen numerosos rasgos en común, incluyendo: gran tamaño, baja tasa de crecimiento, resistencia al pastoreo y migración vertical (Reynolds 2006). Ambos GFBM coexistieron en el embalse de Salto Grande, produciendo floraciones. Las diferencias en las curvas de respuesta térmica surgieron como

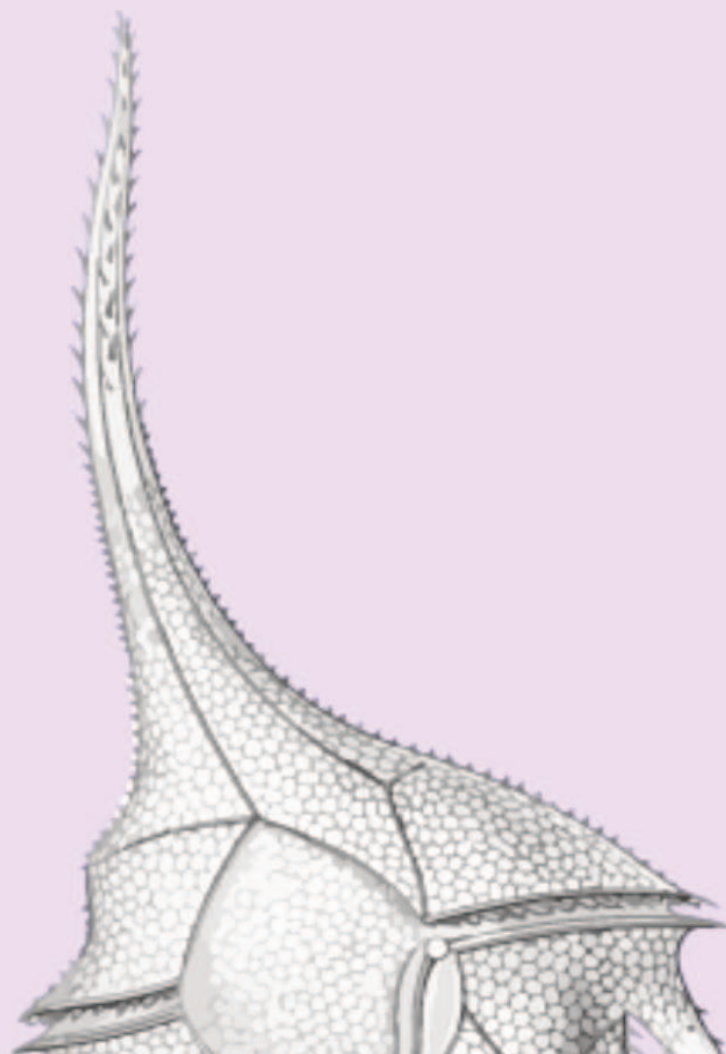
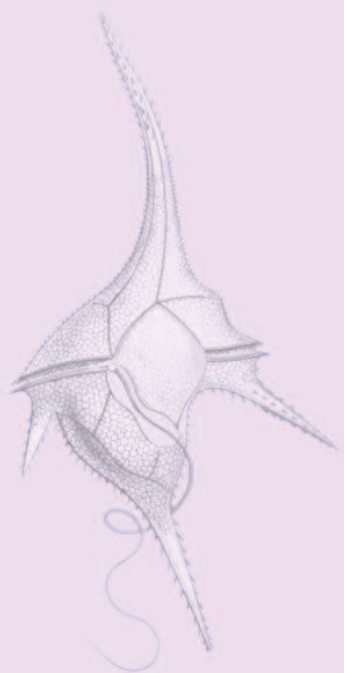
el principal factor que determinó su desempeño, evidenciando un rango de temperaturas (25–30 °C) en el que un *fitness* relativo similar favoreció la coexistencia, y otros rangos donde se esperaría exclusión competitiva (con MAC dominando a temperaturas más altas y *C. furcoides* a temperaturas más bajas). La sucesión estacional de MAC y especies de *Ceratium* ha sido documentada en lagos templados profundos del hemisferio norte (Reynolds et al. 2002; Hu & Xiao 2012), mientras que en lagos subtropicales la temperatura suele mantenerse en un rango donde las diferencias de *fitness* relativo son menores. En estos ambientes, la coexistencia entre grupos del GFBM se estabiliza mediante la partición espacial del nicho, basada en el uso vertical de la columna de agua. En este contexto, las poblaciones de MAC forman floraciones que se acumulan en la superficie del agua, limitando la penetración de la luz y la disponibilidad de nutrientes (Reynolds 1976); mientras que los organismos de *Ceratium* controlan su posición en el agua, con abundancia máximas en aguas profundas (Bordet et al. 2017). Además, las adaptaciones de *Ceratium*: alimentación mixotrófica y fagotrófica, capacidad de almacenar nutrientes en exceso y constantes de semisaturación relativamente bajas para fosfato (Cembella et al. 1984; Hansen & Calado 1999; Baek et al. 2008), le permiten crecer en condiciones de escasos nutrientes y luz (Taylor 1982; Droop 1983). Esto pone en evidencia que el modelo GFBM refleja adecuadamente la partición de nicho entre grupos, basada en rasgos morfológicos.

El marco conceptual presentado en este Capítulo permitió formular predicciones formales sobre la competencia en comunidades naturales con alta diversidad. El *fitness* (R^*) de las especies dentro de cada grupo funcional fue estimada en base a rasgos individuales, aplicando enfoques de campo y de modelado, y fue utilizada para evaluar los mecanismos que impulsan el ensamblaje comunitario. La variabilidad de rasgos del grupo funcional V resultó en la dominancia de *C. furcoides* dentro de un cierto rango de condiciones ambientales. Se espera que *C. furcoides* se desarrolle exitosamente y cause efectos potencialmente negativos en ambientes eutróficos con bajo recambio de agua, presión de pastoreo moderada a alta y temperaturas entre 20 y 30°C, condiciones típicas de embalses eutróficos durante el verano en latitudes subtropicales. Temperaturas más altas resultarían en la dominancia de cianobacterias del GFBM VII, mientras que temperaturas más bajas y mayores tasas de recambio favorecerían a otros miembros del GFBM V. El análisis de los procesos de invasión incorporando explícitamente los efectos de dispersión en red, junto con el análisis de rasgos fenotípicos contemporáneos y patrones filogenéticos (Martiny et al. 2015, Tromas et al. 2018) utilizando el presente marco conceptual, podría ayudar a comprender mejor las presiones selectivas e incrementar la capacidad predictiva futura.

En conjunto, los resultados también constituyen herramientas valiosas para el manejo y la gestión de ecosistemas acuáticos. La identificación de los rasgos funcionales asociados al éxito invasor, junto con el marco predictivo construido en base a condiciones ambientales clave, permite anticipar escenarios de dominancia de determinadas especies, así como evaluar el riesgo ecológico asociado a su expansión. En

este sentido, la aplicación de este enfoque integrador en sistemas como ríos regulados, lagunas urbanas o embalses eutróficos podría contribuir al desarrollo de estrategias de alerta temprana y planificación de acciones de mitigación. Esto resulta especialmente relevante en el contexto actual de calentamiento global, donde el aumento de la temperatura y la intensificación de fenómenos climáticos extremos tienden a favorecer condiciones ambientales que amplifican el riesgo de floraciones nocivas y la propagación de especies invasoras en cuerpos de agua dulce.

Predicción de la distribución potencial de *Ceratium* en Sudamérica



Capítulo 5



*Este Capítulo forma parte de la publicación: Accattatis, V., Milano, M., da Silva, R. D., Huber, P., Metz, S., Calado, A., Craveiro, S., Forastier, M., Piccini, C., de Souza Cardoso, L., Devercelli, M. (2024). Mapping the global distribution and predicting the potential expansion of Ceratium (Dinophyceae): development of an interactive platform. La misma se encuentra en revisión en la revista *Biological Invasions*.*

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la distribución de especies invasoras puede ofrecer información valiosa para predecir patrones y tendencias futuras. Los modelos de distribución de especies (SDMs, por sus siglas en inglés) se utilizan ampliamente en ecología, biogeografía y biología de la conservación para estimar las relaciones entre las variables ambientales y los datos de ocurrencia de especies y hacer predicciones de cómo varían sus distribuciones en el espacio y el tiempo (Ryo et al. 2021). Estos modelos ayudan a identificar las áreas geográficas susceptibles a la invasión o sitios potencialmente adecuados tanto en su rango nativo como en nuevas áreas, y en diferentes escalas temporales (Macêdo et al. 2021b). La flexibilidad de los enfoques SDM permite una amplia gama de aplicaciones, incluidas evaluaciones sobre los impactos ecológicos del cambio climático y el uso del suelo en las invasiones biológicas (Xin et al. 2024).

En el ámbito de la biología de invasiones, los modelos de distribución de especies se han vuelto herramientas clave, aplicándose cada vez más para prever el riesgo de invasión (Bradley et al. 2010; Jiménez-Valverde 2012; Kramer et al. 2017) y optimizar estrategias de control (Giljohann et al. 2011; Tulloch et al. 2014). La aplicación de estos modelos en organismos invasores como *Ceratium* es especialmente útil, ya que la prevención de su establecimiento y propagación depende en gran medida de una detección temprana (Macedo et al. 2021).

Desde las primeras aplicaciones de estos modelos a inicios de la década de 1980 (Box 1981; Booth et al. 2014; Booth 2018), los SDMs han evolucionado significativamente, pasando de enfoques estadísticos básicos, como las regresiones logísticas, a metodologías más sofisticadas que incorporan principios y algoritmos de aprendizaje automático (Phillips et al. 2006; Elith & Leathwick 2009). Paralelamente, se ha trabajado en mejorar la accesibilidad de estos modelos, optimizando los procesos de construcción y análisis mediante diversas herramientas de software. Entre estas mejoras destacan las interfaces gráficas de usuario (Phillips et al. 2006; de Souza Muñoz et al. 2011; Kass et al. 2018) y plataformas de programación (Angelov 2019). Gracias a estos avances, los SDM se han consolidado como una herramienta clave en el modelado

ecológico (Araújo et al. 2019).

Los SDMs pueden generar predicciones a partir de distintos conjuntos de datos de entrada; sin embargo, esto implica el riesgo de una confianza excesiva en la idoneidad resultante de los mapas, por lo que es fundamental tener en consideración diversas estrategias como buenas prácticas para su ejecución. Guisan et al. (2017) sugirieron un protocolo de cinco pasos para minimizar problemas metodológicos (conceptualización, preparación de datos, calibración del modelo, evaluación y predicción), mientras que Zurell et al. (2020) desarrollaron el esquema “ODMAP” (*overview, data, model, assessment and prediction*) para garantizar la transparencia y reproducibilidad.

Tras la construcción de la base de datos presentada en el Capítulo 2 de esta tesis, se observó que Sudamérica ha registrado el mayor número de ocurrencias en los últimos años, lo que evidencia una rápida expansión de *Ceratium* en la región. En función de esta tendencia, se emplearon los datos de Sudamérica junto con los registros moleculares del Capítulo 3 para desarrollar modelos de distribución potencial de la especie. Los análisis se centraron en *C. furcoides* y *C. hirundinella*, las especies más reportadas en el continente y con patrones de expansión temporal diferenciados. Estudios previos han utilizado modelos de distribución de especies para *C. furcoides*; por ejemplo, Meichtry de Zaburlín et al. (2016) aplicaron estos modelos para identificar áreas susceptibles a su invasión en Sudamérica con registros hasta el año 2015, y en Macêdo et al. (2021b) los emplearon para predecir su posible expansión a nivel global. Sin embargo, aún se desconoce cómo es la distribución potencial conjunta de ambas especies en el continente, lo que representa una brecha importante en el conocimiento sobre la expansión de dinoflagelados invasores en ecosistemas de agua dulce. Además, los registros compilados en esta tesis abarcan un rango temporal más amplio y actualizado que los utilizados en estudios anteriores, lo que permite mejorar la precisión de los modelos. La incorporación de *C. hirundinella* y el uso combinado de datos espaciales y temporales constituyen una contribución original y relevante para anticipar áreas de riesgo de invasión en Sudamérica.

Por todo lo mencionado anteriormente, el objetivo de este Capítulo fue predecir la distribución potencial de *C. furcoides* y *C. hirundinella* en ambientes dulceacuícolas de Sudamérica mediante la aplicación de modelos de distribución de especies (SDMs).

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelos de distribución potencial

Los modelos de distribución de especies se desarrollaron utilizando un algoritmo de máxima entropía disponible en el software MaxEnt versión 3.4.3 (Phillips et al. 2006, 2017; Phillips & Dudík 2008), realizando un modelo para *C. furcoides* y otro para *C. hirundinella*. Este algoritmo modela las especies

analizando la relación entre las ocurrencias de su presencia confirmada y las características ambientales de esa región, para luego extrapolar a áreas con condiciones ambientales similares (Vogler et al. 2013; Beltramino et al. 2015). Se utilizaron como datos de presencia los registros de *C. furcoides* ($n = 234$) y *C. hirundinella* ($n = 80$) en Sudamérica que incluyeron información de observaciones con microscopio y registro de datos moleculares, recopilados en los Capítulos 2 y 3 (Figura 1).



Figura 1. Mapa con los registros de *Ceratium furcoides* y *C. hirundinella* utilizados como datos de presencia para algoritmo de máxima entropía.

Los datos ambientales se obtuvieron de WorldClim (<http://www.worldclim.org>) con una resolución espacial de 30 segundos de arco ($\sim 1 \text{ km}^2$). WorldClim proporciona datos climáticos basados en estaciones meteorológicas que abarcan el período 1950–2000 (Fick & Hijmans 2017). En total, WorldClim proporcionó 19 variables bioclimáticas (Tabla 1). Para evitar posibles correlaciones entre las variables que pudieran afectar la precisión de las predicciones, se evaluó la multicolinealidad utilizando el factor de inflación de la varianza (VIF), calculado en RStudio con el paquete *usdm* (Naimi 2015). Se seleccionaron

las variables con un valor de VIF inferior a 10, lo que resultó en la retención de un total de diez variables para predecir la distribución potencial de las especies de *Ceratium* en Sudamérica (Tabla 1). Con el paquete *ENMeval* (Muscarella et al. 2014; Kass et al. 2021) en RStudio, se calcularon los puntos de fondo (*background points*) a partir del número de ocurrencias. Dado que el número de registros de ocurrencia era superior a 100 en ambas especies, se generaron modelos en MaxEnt para cada una con la configuración predeterminada para el multiplicador de regularización ($rm = 1$), los puntos de fondo ($n = 10.000$) y las clases de entidad (Morales et al. 2017).

Tabla 1. Códigos y nombres de las variables ambientales utilizadas para los modelos de distribución de *Ceratium* descargadas de la plataforma WorldClim (<http://www.worldclim.org>). Las variables retenidas para la realización de los modelos, después de ejecutar el factor de inflación de la varianza (VIF), se encuentran marcadas con asterisco (*).

Código	Variables bioclimáticas
BIO1	Temperatura media anual (°C)
BIO2*	Rango diurno medio de temperatura (°C)
BIO3*	Isotermalidad (BIO2/BIO7) (x100)
BIO4	Estacionalidad de la temperatura
BIO5*	Temperatura máxima del mes más cálido (°C)
BIO6	Temperatura mínima del mes más frío (°C)
BIO7	Rango anual de temperatura (°C)
BIO8*	Temperatura media del trimestre más húmedo (°C)
BIO9*	Temperatura media del trimestre más seco (°C)
BIO10	Temperatura media del cuarto más cálido (°C)
BIO11	Temperatura media del cuarto más frío (°C)
BIO12	Precipitación anual (mm)
BIO13*	Precipitación del mes más lluvioso (mm)
BIO14*	Precipitación del mes más seco (mm)
BIO15*	Estacionalidad de las precipitaciones
BIO16	Precipitación del trimestre más húmedo (mm)
BIO17	Precipitación del trimestre más seco (mm)
BIO18*	Precipitación del trimestre más cálido (mm)
BIO19*	Precipitación del trimestre más frío (mm)

El 70% de las ocurrencias de cada especie se seleccionaron aleatoriamente y se utilizaron en el modelo de entrenamiento, mientras que el 30% restante se empleó en el modelo de prueba. Se eligió la salida logística, la cual devuelve valores continuos con una probabilidad estimada de presencia entre 0 (sin probabilidad de presencia de la especie) y 1 (alta probabilidad de presencia). Para evaluar el modelo resultante, se utilizó el área bajo la curva (AUC) de la característica operativa del receptor (análisis de curvas ROC; Fielding & Bell 1997). El AUC es una medida independiente del umbral que varía entre 0.5 (sin capacidad predictiva) y 1 (predicción perfecta) (Sweets 1988), considerándose que valores superiores a 0.8 suelen indicar un buen desempeño (Loo et al. 2007; Meichtry de Zaburlín et al. 2016).

La contribución relativa de las variables y su importancia en el desarrollo de los modelos se evaluaron mediante la prueba de Jackknife y a través de las curvas de respuesta obtenidas en MaxEnt. Se generaron tres tipos de modelos: modelos con todas las variables excepto una, modelos que incluyen solo una variable y un modelo con todas las variables. Las variables consideradas más importantes para el desarrollo del modelo fueron aquellas cuya exclusión redujo la ganancia de entrenamiento, mientras que las variables que mostraron ganancia fueron aquellas en las que el modelo se desarrolló con una única variable. Los modelos fueron procesados en el software QGIS, versión 3.34.5 (QGIS Development Team 2024).

RESULTADOS

El AUC de prueba promedio, utilizado para evaluar el resultado de los modelos, fue de 0,9 ($\pm 0,025$) para *C. hirundinella* y de 0,903 ($\pm 0,013$) para *C. furcoides*; lo que corrobora un poder de predicción de ambos modelos por su cercanía a 1. Las áreas más susceptibles de ser habitadas por *C. hirundinella* se concentraron principalmente en el centro-norte de Argentina, el sur de Chile, el centro-este de Brasil, la costa sur de Perú y las Islas Galápagos (Fig. 2a). En contraste, las regiones más susceptibles a la invasión de *C. furcoides* se ubicaron predominantemente en la región costera de Brasil, mayormente en el sur; Uruguay, el centro-este de Argentina, el noroeste de Chile, la costa de Ecuador y el norte de Colombia (Fig. 2b).

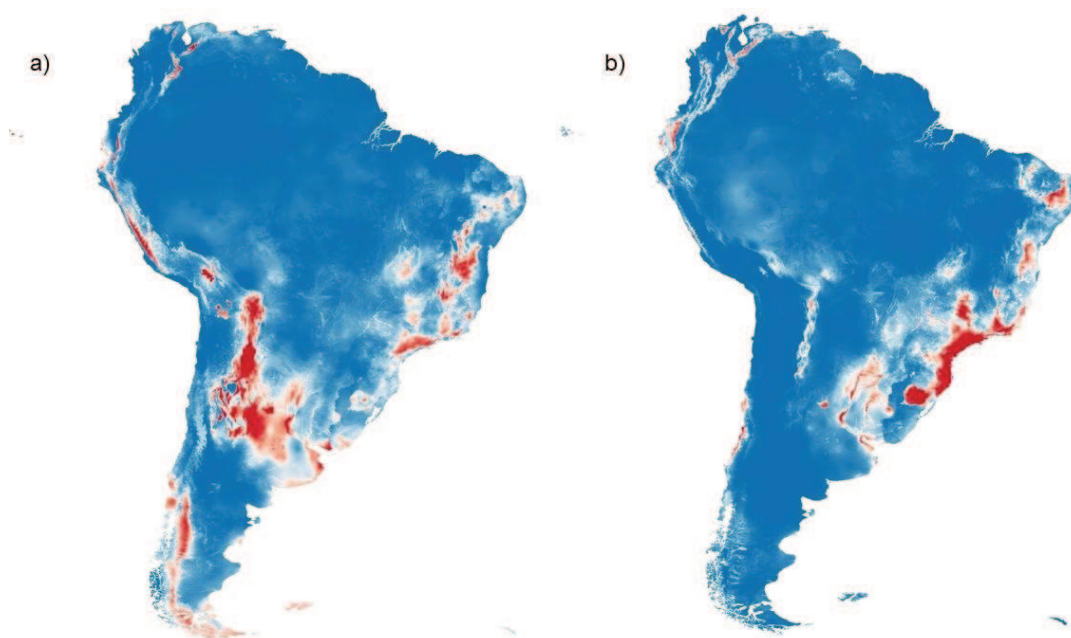


Figura 2. Distribución potencial de (a) *Ceratium hirundinella* y (b) *C. furcoides* en América del Sur según el algoritmo de máxima entropía. Las áreas azules indican regiones de baja susceptibilidad, mientras que las áreas coloreadas entre el rosa y el rojo indican regiones con una susceptibilidad creciente a la invasión de *Ceratium*.

La variable que más contribuyó al desarrollo de los modelos MaxEnt (indicada por la contribución porcentual, la importancia de la permutación y la prueba jackknife) para *C. furcoides* fue la temperatura media del trimestre más seco (36,2%), seguida de la temperatura diurna media (27%). En contraste, los modelos de *C. hirundinella* fueron influenciados principalmente por la temperatura media del trimestre más seco (49,6%) (Tabla 2). La variable que más redujo la ganancia del modelo cuando se omitió, según la prueba Jackknife, fueron la temperatura diurna media tanto para *C. furcoides* y como para *C. hirundinella* (Figura 3).

Tabla 2. Contribución porcentual e importancia de la permutación de cada variable ambiental en el desarrollo de modelos MaxEnt para *C. furcoides* y *C. hirundinella*.

Variable	<i>Ceratium furcoides</i>		<i>Ceratium hirundinella</i>	
	Percent contribution	Permutation importance	Percent contribution	Permutation importance
BIO_2	27	25,8	16,3	26
BIO_3	3,1	1,1	2,7	0
BIO_5	4,7	0,6	4,2	19,1
BIO_8	10,6	11,2	0,2	0,3
BIO_9	36,2	36,1	49,6	0
BIO_13	9,7	6	2,6	19,5
BIO_14	0,5	3,8	2,1	8,7
BIO_15	0,7	5,1	6,6	16,1
BIO_18	2,3	2,8	9,5	10,3
BIO_19	5,2	7,5	6,3	0

A partir de las curvas de respuesta resultantes (Figura 4), se observó que los rangos de temperatura óptimos para *C. furcoides* tuvieron lugar entre los 7 a 10 °C para BIO2, a ~25 °C para BIO5 y alrededor de 18 °C para BIO8; mientras que para *C. hirundinella* ocurrieron a ~12 °C para BIO2, a 24 °C para BIO5 y alrededor de 15 °C para BIO8. En el caso de las precipitaciones, los rangos óptimos para *C. furcoides* estuvieron entre 200 mm para BIO13 y ~800 mm para BIO18; mientras que para *C. hirundinella* estos valores oscilaron entre 175 mm para BIO13 y entre 250-500 mm para BIO18.

La variable que mostró la mayor disminución en la ganancia del modelo cuando se omitió del análisis fue el rango diurno medio de temperatura (BIO2) en ambas especies, lo que indica que esta variable tiene un alto poder explicativo en la distribución potencial de *C. furcoides* y *C. hirundinella* en Sudamérica.

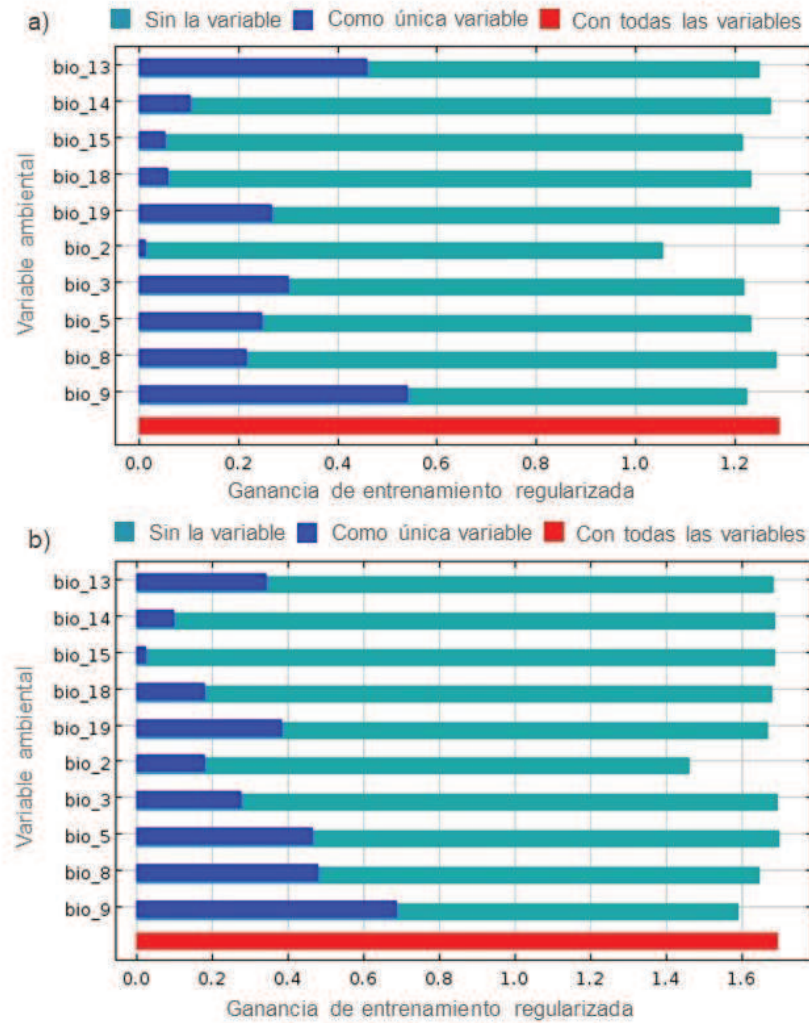


Figura 3. Pruebas Jackknife para evaluar la importancia relativa de las variables ambientales utilizando la ganancia de entrenamiento regularizada para (a) *Ceratium hirundinella* y (b) *C. furcoides*. Para los códigos, consultar Tabla 1.

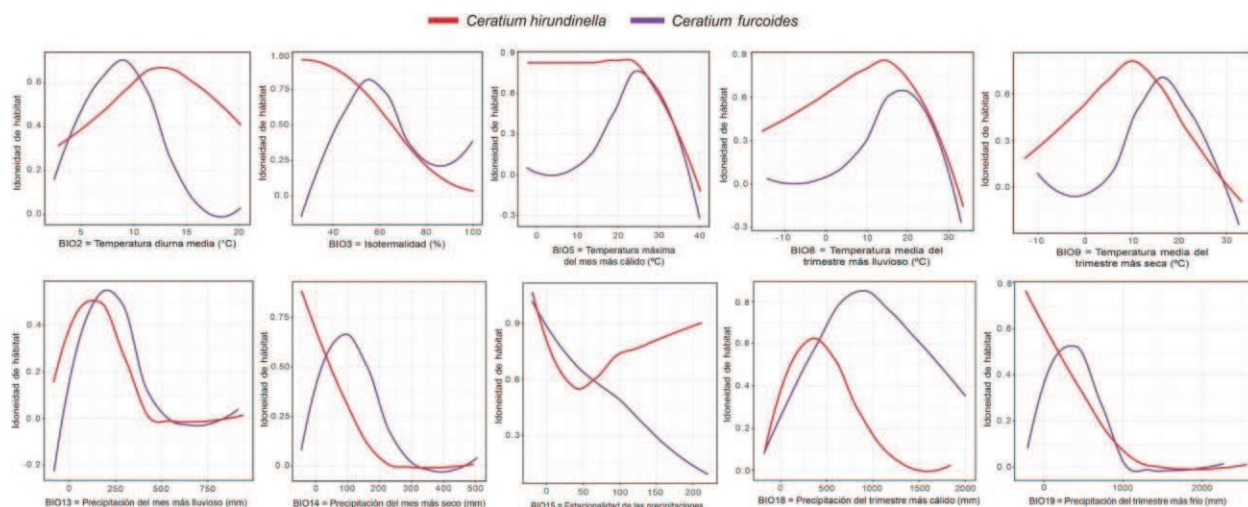


Figura 4. Curvas de respuesta de las variables ambientales utilizadas para predecir la distribución de *Ceratium furcoides* y *C. hirundinella*.

DISCUSIÓN

En este Capítulo se utilizaron las coordenadas geográficas de los registros de *Ceratium* recopilados de la bibliografía y registros propios (Capítulo 2), junto con otros obtenidos durante la construcción de la base de datos de secuencias (Capítulo 3), para modelar la distribución potencial de *C. furcoides* y *C. hirundinella* en Sudamérica. Los mapas resultantes indican que las áreas más susceptibles a la invasión de estas especies se localizan principalmente en Argentina, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Brasil. Si bien ambos modelos muestran patrones de expansión en distintas direcciones, también se observan zonas de solapamiento de ambas especies. *Ceratium hirundinella* podría expandirse potencialmente hacia el sur, centro y norte de Argentina, el sur de Chile, la costa de Uruguay y de Perú, el centro de Paraguay y Bolivia, el centro-este de Brasil, y algunas regiones de Colombia y Venezuela. Por su parte, *Ceratium furcoides* podría expandirse hacia el centro-este de Argentina, el centro-oeste de Chile, parte de Uruguay, la costa sur y el centro-este de Brasil, así como también hacia la costa de Ecuador y Venezuela.

En estudios previos, las proyecciones futuras a partir del algoritmo de máxima entropía realizados a nivel mundial, revelaron que Sudamérica es una de las regiones más susceptibles a la invasión de *C. furcoides* (Macêdo et al. 2021a). Esta vulnerabilidad es particularmente evidente en el sureste de Brasil y el noreste de Argentina (Meichtry de Zaburlín et al. 2016; Silva et al. 2024), tal como se observó en los resultados de este Capítulo. Sin embargo, es posible que este patrón pueda deberse al aumento de los esfuerzos de muestreo o al mayor número de estudios realizados en estas áreas, reforzando los problemas causados por *Ceratium*. Para poder aclarar si esto refleja un sesgo o si estas regiones son realmente más

susceptibles a la invasión de *Ceratium*, se necesitaría poder realizar análisis con una base de datos equilibrada en la que haya muestreos que abarquen la mayor cantidad de cuencas y ambientes acuáticos posibles de Sudamérica.

En cuanto a las variables ambientales las proyecciones de los modelos de distribución potencial para Sudamérica revelaron que la temperatura jugó un papel clave en la determinación de la distribución de las especies de *Ceratium*, como se evidenció previamente en el análisis de la base de datos del Capítulo 2. Se ha observado que el calentamiento global y las alteraciones del régimen hidrológico son factores de estrés primarios impulsados por el cambio climático (Reid et al. 2019; Rogers et al. 2020), lo que provoca aumentos exponenciales del déficit de presión de vapor y a evapotranspiración, factores estrechamente asociados a las condiciones de sequía (McVicar et al. 2012; Grossiord et al. 2020). Se prevé que las sequías favorezcan a los organismos mixotróficos facultativos (Costa et al. 2016; 2019) al reducir el volumen de agua y la transparencia, lo que limita la disponibilidad de luz para la fotosíntesis. La disminución de los niveles de agua también puede provocar eutrofización y mayores concentraciones de nutrientes (Reid et al. 2019), condiciones que con frecuencia promueven la proliferación de especies de *Ceratium* (Silva et al. 2024).

Por otra parte, trabajos previos han demostrado que la dispersión de especies invasoras, incluidas las del género *Ceratium*, suele seguir un patrón de dos fases: primero, la especie invade nuevos ambientes mediante “dispersión por saltos”, expandiendo su presencia a través de grandes distancias geográficas. En segundo lugar, su expansión tiende a estabilizarse, atravesando un área menor, probablemente colonizando internamente, a través de “anillos concéntricos”, donde las especies invasoras se propagan a través de cuencas geográficamente cercanas aumentando drásticamente su densidad (Wilson et al. 2009; Moreira et al. 2015; Silva et al. 2018; Pacheco et al. 2021; Severiano et al. 2022; Silva et al. 2024a). Estos hallazgos se alinean con los de Cavalcante et al. (2013), quienes propusieron una dispersión radial como el patrón de distribución primario para *C. furcoides* en América del Sur. La tendencia a aumentar rápidamente su rango al principio de su expansión es consistente con estudios en otros lugares que han demostrado el comportamiento “agresivo” de *Ceratium* (Cavalcante et al. 2016; Rojas-Castillo et al. 2023). Probablemente la etapa de expansión en estos organismos ocurra entre las regiones más australes de América del Sur o en nuevas áreas y países donde no se han realizado investigaciones. Hasta la fecha, solo se han realizado unos pocos estudios relacionados con los patrones de dispersión de este género, como los del noreste y sur de Brasil (Severiano et al. 2022; Silva et al. 2024a).

Dado que la expansión de las especies de *Ceratium* aún se encuentra en un proceso dinámico, la comprensión de los patrones de dispersión de estas especies en América del Sur sigue siendo limitada. Los modelos de distribución pueden predecir la distribución potencial de las especies invasoras al evaluar la idoneidad ambiental más allá de su rango actual. Esta información ayuda a identificar áreas en riesgo de

invasión y priorizar los recursos para los esfuerzos de monitoreo y gestión. Sin embargo, la aplicación de los modelos de distribución de especies a organismos invasores, requiere de ciertas precauciones. Lo más importante es que los SDM deben imaginarse como modelos dinámicos para abordar la aparente contradicción entre el equilibrio nicho-ambiente y la naturaleza dinámica de las invasiones (Hui & Richardson 2017). Como se detalla en Hui (2023), este enfoque de SDM dinámico puede utilizar los mismos tipos de datos de entrada (puntos de ocurrencia y predictores ambientales), pero requiere una comprensión profunda de la biología, la ecología y los sesgos de observación regional de las especies invasoras.

CONCLUSIONES FINALES

Motivada por la creciente expansión del dinoflagelado invasor *Ceratium* en ambientes dulceacuícolas y la falta de estudios integrales sobre su diversidad y ecología, en la presente tesis se propuso aportar conocimiento clave sobre este género de microorganismos. Para ello, se abordaron de manera conjunta distintos aspectos relacionados con su expansión geográfica tanto en Sudamérica como a nivel global. Se emplearon herramientas moleculares, filogenéticas, ecológicas y de modelización para analizar los principales factores que intervienen en la expansión de *Ceratium* en la región.

Esta tesis contribuyó de manera significativa a la construcción de una filogenia de referencia para el grupo Dinophyceae, en la cual estuvieron representados todos sus órdenes principales. Además, a partir de este árbol, se elaboró la primera filogenia disponible para el orden Gonyaulacales. La construcción de árboles filogenéticos de referencia a partir de genes concatenados y secuencias cortas permitió evaluar con mayor precisión las relaciones evolutivas, y fue fundamental para validar y comparar distintos métodos de clasificación de secuencias ambientales. Una de las principales dificultades que surgieron luego de la construcción de los árboles fue la clasificación taxonómica de las secuencias. Esto se debe a la gran controversia en la bibliografía respecto a la división y el número de órdenes y familias, así como al posicionamiento de las especies dentro de ellos. Incluso, existen especies, géneros o familias que aún no han sido asignados a ningún nivel taxonómico superior. Por este motivo, resulta necesario reconstruir otras filogenias dentro de este grupo, utilizando diferentes marcadores moleculares y genomas completos, con el fin de dilucidar con mayor precisión las relaciones evolutivas entre los distintos organismos.

Con respecto a los métodos bioinformáticos para la clasificación de secuencias desconocidas, el de posicionamiento filogenético mostró el mejor desempeño cuando se utilizó el árbol de Dinophyceae. En el caso específico de Gonyaulacales, cuyo árbol fue enriquecido con una gran cantidad de secuencias cortas de este grupo, todos los métodos (excepto por BLAST) fueron eficientes, logrando clasificar más del 60% de las secuencias ambientales a nivel de género y/o especie.

Por otra parte, la construcción de una base de datos global de registros de *Ceratium* y su visualización en una plataforma web permitió, por primera vez, un análisis integral y actualizado de la distribución mundial conocida de las especies de este género. Actualmente se cuenta con registros en todos los continentes, aunque existe un cierto desbalance, siendo Sudamérica y Europa las regiones más representadas. Para el estudio de invasiones biológicas a nivel global, resulta ideal contar con información geográficamente equilibrada de la presencia/ausencia que incluya tanto regiones nativas como áreas invadidas. Sin embargo, en el caso de *Ceratium*, aún persisten importantes vacíos de información en regiones como África, Oceanía y Norteamérica. Al tratarse de una herramienta de acceso abierto y actualizable, la plataforma permitirá llenar progresivamente dichos vacíos mediante la incorporación de

nuevos datos por parte de otros grupos de investigación o instituciones. Esto facilitará futuras investigaciones y contribuirá al monitoreo de la expansión de este género en diferentes regiones del mundo.

La reconstrucción de la filogenia del género *Ceratium*, a partir de secuencias del gen 18S de bases de datos públicas y de secuencias cortas inéditas, resultó en un árbol filogenético con nueve clados bien definidos que exhiben patrones geográficos. Sin embargo, para dilucidar con mayor precisión la filogeografía y la variabilidad dentro del género *Ceratium* (el cual, al pertenecer al grupo de los dinoflagelados, presenta numerosas copias del gen 18S) sería conveniente complementar estos análisis con filogenias basadas en otros genes o, idealmente, mediante la secuenciación de genomas completos. Una alternativa prometedora es el uso de la tecnología Nanopore, que permite la obtención de secuencias largas de ADN en tiempo real.

Se observó que la variabilidad dentro del género *Ceratium* fue considerablemente alta, respaldada tanto por la filogenia construida como por los estadísticos calculados, los cuales resaltaron la heterogeneidad entre los diferentes clados, independientemente del número de secuencias que los conforman. También se analizó la distribución de las secuencias del gen 18S en las diferentes regiones del mundo, destacándose una clara diferenciación entre las dos especies de *Ceratium*: mientras que *C. hirundinella* presentó una población más fragmentada y sin señales evidentes de expansión reciente, *C. furcoides* mostró, a partir de la estructura de la red generada con el algoritmo TCS, una expansión demográfica reciente desde un grupo de secuencias ancestrales. Además de la secuenciación de genomas, como se mencionó anteriormente, el aislamiento de células individuales de *Ceratium* y la posterior secuenciación del gen 18S, permitirían obtener una estimación más precisa de la diversidad existente, al identificar las diferentes copias de este gen presentes en un mismo organismo. De esta forma, sería posible construir redes de haplotipos para cada célula aislada, e incluso una red común que permita identificar los haplotipos compartidos entre distintos organismos y/o especies.

La introducción de microorganismos acuáticos invasores, como las especies del género *Ceratium*, puede alterar profundamente las comunidades locales de fitoplancton. Estos organismos, al establecerse en nuevos ambientes, compiten con las especies nativas por recursos como la luz, los nutrientes y el espacio, modificando las redes tróficas y la estructura de la comunidad. Los resultados obtenidos en la presente tesis permitieron analizar las consecuencias de la invasión de *Ceratium furcoides* y predecir tanto su dominancia como su alternancia con especies de cianobacterias productoras de floraciones. Este dinoflagelado invasor, al prosperar en ambientes eutróficos caracterizados por bajo recambio de agua, presión de pastoreo moderada a alta y temperaturas entre 20 y 30 °C (condiciones típicas de embalses eutróficos durante el verano en latitudes subtropicales), puede desplazar a especies nativas, reducir la biodiversidad y favorecer la aparición de eventos de floraciones nocivas. Por otro lado, temperaturas más elevadas favorecerían la dominancia de cianobacterias que ocupan un nicho diferente al de *C. furcoides*, mientras que temperaturas

más bajas y menor tiempo de residencia del agua beneficiarían a otras especies con nicho similar al de *Ceratium*.

Para el estudio de las invasiones biológicas los modelos de distribución de especies permiten identificar áreas vulnerables a la invasión, predecir rutas de expansión y evaluar el riesgo de invasión bajo diferentes escenarios ambientales presentes y futuros. Al integrar datos de presencia con información climática, edáfica o hidrológica, estos modelos ayudan a entender los factores que limitan o facilitan la dispersión de estas especies. En base a estos modelos, se han logrado identificar las regiones con mayor susceptibilidad a la invasión de *C. hirundinella* y *C. furcoides*. Los resultados sugieren que *C. hirundinella*: tendería a expandirse hacia el centro-norte y sur de Argentina, así como hacia sectores de la costa brasileña, mientras que *C. furcoides* mostraría una mayor probabilidad de colonización en la costa de Uruguay y el sureste de Brasil. Las predicciones obtenidas, junto con la plataforma de distribución actual de especies, constituyen herramientas clave para orientar estrategias de monitoreo y manejo temprano en las áreas más vulnerables, con el objetivo de mitigar los impactos ecológicos y proteger la biodiversidad de los ecosistemas nativos. Además, resultaría particularmente interesante repetir estos análisis considerando escenarios futuros de cambio climático, ya que las modificaciones en las variables ambientales como temperatura y disponibilidad de agua podrían repercutir significativamente en la expansión de las especies de *Ceratium*, alterando su distribución potencial y aumentando su capacidad de colonizar nuevos ambientes.

En conjunto, esta tesis aporta al conocimiento de la filogenia, distribución y ecología de *Ceratium* y de los dinoflagelados de agua dulce, un grupo aún poco explorado en comparación con sus contrapartes marinas. A través de un enfoque integrador que combina herramientas filogenéticas y bioinformáticas, bases de datos georreferenciadas, análisis ecológicos y modelos de distribución de especies, este trabajo busca contribuir a la comprensión de los procesos que moldean la diversidad y la expansión de estas especies, en un contexto de creciente preocupación por su rol como invasores y su impacto en los ecosistemas acuáticos continentales.

En tiempos marcados por transformaciones ambientales aceleradas y crecientes presiones antrópicas sobre los ecosistemas, el papel de la ciencia y las investigaciones adquiere una relevancia aún más central. Esta tesis no solo abordó preguntas específicas, sino que también aportó herramientas útiles para anticipar escenarios futuros y actuar con responsabilidad sobre el presente. En este contexto, los resultados obtenidos invitan a reflexionar sobre la necesidad de implementar acciones coordinadas entre distintas jurisdicciones, tanto a nivel provincial como entre países limítrofes, ya que se trata de especies microscópicas que no reconocen fronteras políticas y pueden dispersarse fácilmente a través de cuerpos de agua conectados o rutas de navegación. Para avanzar en un manejo efectivo y en estrategias de alerta temprana, resulta fundamental articular el conocimiento generado con las autoridades de gestión, promoviendo instancias de vinculación concretas como convenios con organismos gubernamentales, capacitaciones técnicas, talleres

participativos y el fortalecimiento de herramientas ya desarrolladas, como la plataforma web *Ceratium tracker*. Estas acciones permitirían no solo mitigar la problemática asociada a su expansión, sino también consolidar un puente entre ciencia, ciudadanía y toma de decisiones.

La generación y el análisis de datos en contextos de incertidumbre, la apertura de plataformas colaborativas y la integración de diversas escalas de observación, desde la genética hasta la geográfica, muestran cómo la investigación puede aportar y sumar sus capacidades frente a los desafíos ambientales.

Desafíos y perspectivas futuras

A lo largo del desarrollo de esta tesis, se presentaron múltiples desafíos que, en diversas etapas, llevaron a replantear el rumbo del trabajo y, en algunos casos, incluso a reformular la manera de alcanzar los objetivos propuestos. Estos obstáculos no se limitaron únicamente a cuestiones metodológicas (como las dificultades de trabajar con *Ceratium* a nivel molecular, dadas su complejidad celular y la escasa información disponible en la bibliografía), sino que también incluyeron dificultades logísticas. Además, se atravesaron momentos de incertidumbre personal que pusieron a prueba la capacidad de resiliencia y adaptación. Sin embargo, cada uno de estos desafíos resultó ser también una oportunidad de aprendizaje, fortaleciendo no solo el proceso de investigación, sino también de crecimiento profesional y humano de quien llevó adelante esta tesis.

Uno de los más significativos fue el contexto de la pandemia por COVID-19, que interrumpió cronogramas, dificultó el acceso a laboratorios e instalaciones de investigación, y limitó la posibilidad de trabajo presencial con colegas y equipos de investigación. Sin embargo, también impulsó nuevas formas de colaboración remota y revalorizó la importancia de las redes científicas.

El objeto de estudio elegido también presentó desafíos significativos para el desarrollo de esta tesis. Los dinoflagelados de agua dulce, y en particular el género *Ceratium*, conforman un grupo taxonómicamente complejo, poco explorado en ambientes continentales y con importantes vacíos en las bases de datos moleculares. De hecho, desde el inicio del presente trabajo (incluso desde la tesina de grado) no se han incorporado nuevas secuencias de este género en la base de datos NCBI, lo que pone en evidencia la escasa atención que ha recibido o las dificultades metodológicas que implica su estudio. Lejos de convertirse en un obstáculo, esta limitación fue un motor que impulsó la exploración de enfoques alternativos y estrategias complementarias.

A pesar de estas dificultades, el desarrollo de esta tesis se vio profundamente enriquecido por numerosas experiencias de intercambio académico y por los vínculos generados a lo largo del camino de

esta carrera doctoral. El trabajo propició la colaboración con diversos grupos de investigación, tanto nacionales como internacionales, y la participación en estancias y viajes que ampliaron los horizontes científicos y personales involucrados. Estos espacios de formación, diálogo y trabajo conjunto fueron clave para construir una mirada crítica y enriquecida sobre los problemas abordados.

Luego de finalizar esta tesis, se abren diversas perspectivas futuras que podrían seguir aportando al conocimiento del género *Ceratium*. Una de ellas (aún pendiente) es el cultivo de organismos de este género, lo cual representaría un avance significativo. Contar con cultivos permitiría, entre otras cosas, disponer de un número suficiente de células para la extracción de ADN y la aplicación de técnicas moleculares, evitando el aislamiento de células bajo microscopio y reduciendo considerablemente el riesgo de contaminación. Por otra parte, una línea de trabajo igualmente prometedora sería la secuenciación de transcriptomas, con el objetivo de identificar qué genes se encuentran activos bajo determinadas condiciones ambientales. Este enfoque permitiría explorar aspectos funcionales aún poco conocidos de *Ceratium*, como la posible presencia de genes asociados a la producción de toxinas que no necesariamente se expresan en todas las circunstancias. Esta es una pregunta que aún permanece sin respuesta y cuya resolución podría aportar información clave tanto para la ecología de este grupo como para la evaluación de sus posibles impactos en los ecosistemas donde se establece. Lo cierto es que todavía hay muchos aspectos por investigar: desde su reproducción, la formación de quistes de resistencia y su fisiología, hasta aspectos de la dinámica ecológica de sus especies. *Ceratium* continúa siendo un grupo fascinante e intrigante que plantea numerosos desafíos y oportunidades para la investigación futura.

El trabajo desarrollado a lo largo de estos años no culmina con la presente tesis; por el contrario, constituye un punto de partida para futuras investigaciones, colaboraciones y la construcción de conocimientos situados y comprometidos con su contexto. La experiencia adquirida permitió comprender que la producción científica no se construye de manera individual, sino mediante el diálogo constante con otras personas, miradas y trayectorias que enriquecen el proceso y le otorgan mayor profundidad y significado.

BIBLIOGRAFÍA

- Abelando, M., Bobinac, M. & Fiore, J. C. (2020). Assessment of the efficiency of controls to prevent biological invasions at the San Lorenzo Port, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(7), 420. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08359-2>
- Accattatis, V., Piccini, C., Huber, P., Metz, S., Rueda, E. & Devercelli, M. (2020). Identifying invaders: the case of *Ceratium furcoides* (Gonyaulacales, Dinophyceae) in South America. *Journal of Phycology*, 56(5), 1362-1366. <https://doi.org/10.1111/jpy.13015>
- Accoroni, S., Romagnoli, T., Penna, A., Capellacci, S., Ciminiello, P., Dell'Aversano, C., Tartaglione, L., Abboud-Abi Saab, M., Giussani, V., Asnaghi, V., Chiantore, M. & Totti, C. (2016). *Ostreopsis fattorussoi* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic *Ostreopsis* species from the eastern Mediterranean Sea. *Journal of Phycology*, 52, 1064-1084. <https://doi.org/10.1111/jpy.12464>
- Adl, S. M., Simpson, A. G., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C. L., Smirnov, A. & Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of eukaryotic microbiology*, 59(5), 429-514. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x>
- Adler, P. B., HilleRisLambers, J. & Levine, J. M. (2007). A niche for neutrality. *Ecology letters*, 10(2), 95-104. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00996.x>
- Almanza, V., Bicudo, C. E. D. M., Parra, O. & Urrutia, R. (2016). Características morfológicas y limnológicas de las floraciones de *Ceratium furcoides* (Dinophyta) en un lago somero de Chile Central. *Limnetica*, 35(1), 253-268. <https://doi.org/10.23818/limn.35.21>
- Anderson, E. P., Jenkins, C. N., Heilpern, S., Maldonado-Ocampo, J. A., Carvajal-Vallejos, F. M., Encalada, A. C., Rivadeneira, J. F., Hidalgo, M., Cañas, C. M., Ortega, H., Salcedo, N., Maldonado, M. & Tedesco, P. A. (2018). Fragmentation of Andes-to-Amazon connectivity by hydropower dams. *Science advances*, 4(1), eaao1642. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao1642>
- Angelov, B. (2019). *Review of species distribution modeling open-source software*. ResearchGate.
- Annenkova, N. V., Hansen, G. & Rengefors, K. (2020). Closely related dinoflagellate species in vastly different habitats—an example of a marine–freshwater transition. *European Journal of Phycology*, 55(4), 478-489. <https://doi.org/10.1080/09670262.2020.1750057>
- Annenkova, N. V., Hansen, G., Moestrup, Ø. & Rengefors, K. (2015). Recent radiation in a marine and freshwater dinoflagellate species flock. *The ISME Journal*, 9(8), 1821-1834. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.267>

- Antunes, J. T., Leão, P. N. & Vasconcelos, V. M. (2015). *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Frontiers in Microbiology*, 6, 473. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00473>
- Araújo, M. B., Anderson, R. P., Márcia Barbosa, A., Beale, C. M., Dormann, C. F., Early, R., Garcia, R. A., Guisan, A., Maiorano, L., Naimi, B., O'Hara, R. B., Zimmermann, N. E. & Rahbek, C. (2019). Standards for distribution models in biodiversity assessments. *Science advances*, 5(1), eaat4858. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat4858>
- Arim, M., Abades, S. R., Neill, P. E., Lima, M. & Marquet, P. A. (2006). Spread dynamics of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(2), 374-378. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504272102>
- Arroyo, A. S., López-Escardó, D., Kim, E., Ruiz-Trillo, I. & Najle, S. R. (2018). Novel diversity of deeply branching Holomycota and unicellular holozoans revealed by metabarcoding in Middle Paraná River, Argentina. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 99. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00099>
- Bachvaroff, T. R., Gornik, S. G., Concepcion, G. T., Waller, R. F., Mendez, G. S., Lippmeier, J. C. & Delwiche, C. F. (2014). Dinoflagellate phylogeny revisited: Using ribosomal proteins to resolve deep branching dinoflagellate clades. *Molecular phylogenetics and evolution*, 70, 314-322. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.007>
- Bachvaroff, T. R., Handy, S. M., Place, A. R. & Delwiche, C. F. (2011). Alveolate phylogeny inferred using concatenated ribosomal proteins. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(3), 223-233. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2011.00555.x>
- Baek, S. H., Shimode, S., Han, M. S. & Kikuchi, T. (2008). Growth of dinoflagellates, *Ceratium furca* and *Ceratium fusus* in Sagami Bay, Japan: the role of nutrients. *Harmful algae*, 7(6), 729-739. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.02.007>
- Bailey, S. A. (2015). An overview of thirty years of research on ballast water as a vector for aquatic invasive species to freshwater and marine environments. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 18(3), 261-268. <https://doi.org/10.1080/14634988.2015.1027129>
- Bálint, M., Pfenninger, M., Grossart, H. P., Taberlet, P., Vellend, M., Leibold, M. A., Englund, G. & Bowler, D. (2018). Environmental DNA time series in ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(12), 945-957. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.09.003>
- Barbera, P., Kozlov, A. M., Czech, L., Morel, B., Darriba, D., Flouri, T. & Stamatakis, A. (2019). EPA-ng: massively parallel evolutionary placement of genetic sequences. *Systematic biology*, 68(2), 365-369. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy054>
- Barnes, M. A. & Turner, C. R. (2015). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation genetics*, 17, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0775-4>

- Barreda, M. (2015). *Invasión del dinoflagelado Ceratium en una laguna de la llanura aluvial del río Paraná* (Tesis de licenciatura en Saneamiento Ambiental, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral).
- Bates, A. E., McKelvie, C. M., Sorte, C. J., Morley, S. A., Jones, N. A., Mondon, J. A., Bird, T. J. & Quinn, G. (2013). Geographical range, heat tolerance and invasion success in aquatic species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1772), 20131958. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1958>
- Bazán, R., Larrosa, N., Cossavella, A., Monarde, F., Oviedo Zabala, S., Rodríguez, A. & Busso, F. (2007). Mortandad de peces en el embalse Los Molinos asociados a florecimientos de *Ceratium hirundinella*. Instituto Superior de Investigación y Servicios de Recursos Hídricos, UNC. Dirección Provincial de Agua y Saneamiento. Aguas Cordobesas S.A.
- Bellard, C., Thuiller, W., Leroy, B., Genovesi, P., Bakkenes, M. & Courchamp, F. (2013). Will climate change promote future invasions?. *Global change biology*, 19(12), 3740-3748. <https://doi.org/10.1111/gcb.12344>
- Bellard, C., Leroy, B., Thuiller, W., Rysman, J. F. & Courchamp, F. (2016). Major drivers of invasion risks throughout the world. *Ecosphere*, 7(3), e01241. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1241>
- Bellard, C., Jeschke, J. M., Leroy, B. & Mace, G. M. (2018). Insights from modeling studies on how climate change affects invasive alien species geography. *Ecology and evolution*, 8(11), 5688-5700. <https://doi.org/10.1002/ece3.4098>
- Beltramino, A.A., Vogler, R.E., Gutiérrez Gregoric, D.E. & Rumi, A. (2015). Impact of climate change on the distribution of a giant land snail from South America: predicting future trends for setting conservation priorities on native malacofauna. *Climatic Change*, 131: 621-633. <http://dx.doi.org/10.1007/s10584-015-1405-3>
- Bertolo, A., Lacroix, G., Lescher-Moutoué, F. & Hjelm, J. (2010). Relationship between fish and the number of horns in *Ceratium hirundinella* (Dinophyceae): a food-web-mediated effect on algal morphology?. *Journal of Phycology*, 46(1), 33-40. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00775.x>
- Blackburn, T. M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J. T., Duncan, R. P., Jarošík, V., Wilson, J. & Richardson, D. M. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in ecology & evolution*, 26(7), 333-339. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>
- Blackburn, T. M., Bellard, C. & Ricciardi, A. (2019). Alien versus native species as drivers of recent extinctions. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(4), 203-207. <https://doi.org/10.1002/fee.2020>
- Boisnoir, A., Bilien, G., Lemée, R. & Chomérat, N. (2022). First insights on the diversity of the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae, Gonyaulacales) in Guadeloupe Island, with emphasis on the phylogenetic

- position of *O. heptagona*. *European Journal of Protistology*, 83, 125875. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2022.125875>
- Boltovskoy, A. (1999). Contribution to the knowledge of Dinoflagellates in the Argentine Republic (in Spanish). Facultad de Ciencias Naturales y Museo (Tesis doctoral). Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina, p. 119.
- Boltovskoy, A. (2005). *Ceratium hirundinella* Schrank: Un dinoflagelado invasor en lagos y embalses. Simposio en XXX Jornadas Argentinas de Botánica. Noviembre (6).
- Boltovskoy, A., Echenique, R. O. & Guerrero, J. M. (2013). Sucesivas invasiones de especies de *Ceratium* (Dinophyceae) en Sudamérica: un proceso que lleva dos décadas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 48, 27.
- Boltovskoy, D., Correa, N., Bordet, F., Leites, V. & Cataldo, D. (2013). Toxic *Microcystis* (cyanobacteria) inhibit recruitment of the bloom-enhancing invasive bivalve *Limnoperna fortunei*. *Freshwater Biology*, 58(9), 1968-1981. <https://doi.org/10.1111/fwb.12184>
- Booth, T. H. (2018). Species distribution modelling tools and databases to assist managing forests under climate change. *Forest Ecology and Management*, 430, 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.08.019>
- Booth, T. H., Nix, H. A., Busby, J. R. & Hutchinson, M. F. (2014). BIOCLIM: the first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current MAXENT studies. *Diversity and distributions*, 20(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/ddi.12144>
- Bordet, F., Fontanarrosa, M. S. & O'Farrell, I. (2017). Influence of light and mixing regime on bloom-forming phytoplankton in a subtropical reservoir. *River Research and Applications*, 33(8), 1315-1326. <https://doi.org/10.1002/rra.3189>
- Bothwell, M. L., Taylor, B. W. & Kilroy, C. (2014). The Didymo story: the role of low dissolved phosphorus in the formation of *Didymosphenia geminata* blooms. *Diatom research*, 29(3), 229-236. <https://doi.org/10.1080/0269249X.2014.889041>
- Bourel, M. & Segura, A. M. (2018). Multiclass classification methods in ecology. *Ecological Indicators*, 85, 1012-1021. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.11.031>
- Box, E. O. (1981). *Macroclimate and plant forms: An introduction to predictive modeling in phytogeography*. Junk.
- Bradley, B. A., Wilcove, D. S. & Oppenheimer, M. (2010). Climate change increases risk of plant invasion in the Eastern United States. *Biological Invasions*, 12, 1855-1872. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9597-y>

- Burns, N. M. & Rosa, F. (1980). In situ measurement of the settling velocity of organic carbon particles and 10 species of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 25(5), 855-864. <https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0855>
- Bustamante Gil, C., Ramírez Restrepo, J. J., Boltovskoy, A. & Vallejo, A. (2012). Spatial and temporal change characterization of *Ceratium furcoides* (Dinophyta) in the equatorial reservoir Riogrande II, Colombia. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 24, 207-219. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X2012005000039>
- Bustamante Gil, C., Boltovskoy, A., Rengefors, K., Tavera Sierra, R. L., Amat García, E. C. & Ramírez Restrepo, J. J. (2021). Checklist, new records, and taxonomic annotations of freshwater thecate dinoflagellate (Dinophyceae) in Colombia. *Phytotaxa*, 509(2), 135-167. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.509.2.1>
- Butterwick, C., Heaney, S. I. & Talling, J. F. (2005). Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance. *Freshwater Biology*, 50(2), 291-300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2004.01317.x>
- Cahoon, A. B., Huffman, A. G., Krager, M. M. & Crowell, R. M. (2018). A meta-barcoding census of freshwater planktonic protists in Appalachia–Natural Tunnel State Park, Virginia, USA. *Metabarcoding and Metagenomics*, 2, e26939. <https://doi.org/10.3897/mbmg.2.26939>
- Calado, A. J. & Larsen, J. (1997). On the identity of the type species of the genus *Ceratium* Schrank (Dinophyceae), with notes on *C. hirundinella*. *Phycologia*, 36(6), 500-505. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-36-6-500.1>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A. & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature methods*, 13(7), 581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K. & Madden, T. L. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC bioinformatics*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
- Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez, J. M. & Gabaldón, T. (2009). trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. *Bioinformatics*, 25(15), 1972-1973. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp348>
- Carlton, J. T. (2009). Deep invasion ecology and the assembly of communities in historical time. In: Rilov, G. & Crooks, J (Eds.), *Marine Bioinvasions: Ecology, Conservation and Management Perspectives* (pp. 13-56). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Carty, S. (1993). Contribution to the dinoflagellate flora of Ohio. *The Ohio Journal of Science*, 93, 5. <http://hdl.handle.net/1811/23584>

- Casas-Monroy, O., Roy, S. & Rochon, A. (2011). Ballast sediment-mediated transport of non-indigenous species of dinoflagellates on the East Coast of Canada. *Aquatic Invasions*, 6(3), 231-248. <https://doi.org/10.3391/ai.2011.6.3.01>
- Cassie, V. (1978). Seasonal changes in phytoplankton densities in four North Island lakes, 1973–74. *New Zealand journal of marine and freshwater research*, 12(2), 153-166. <https://doi.org/10.1080/00288330.1978.9515736>
- Cavalcante, K.P., Zanotelli, J.C., Müller, C.C., Scherer, K.D., Frizzo, J.K., Ludwig, T. A. V. & de Souza Cardoso, L. (2013). First record of expansive *Ceratium* Schrank, 1793 species (*Dinophyceae*) in Southern Brazil, with notes on their dispersive patterns in Brazilian environments. *Check List*, 9, 862-866. <https://doi.org/10.15560/9.4.862>
- Cavalcante, K. P., Cardoso, L. D. S., Sussella, R. & Becker, V. (2016). Towards a comprehension of *Ceratium* (Dinophyceae) invasion in Brazilian freshwaters: autecology of *C. furcoides* in subtropical reservoirs. *Hydrobiologia*, 771, 265-280. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2638-x>
- Cavalcante, K. P., Becker, V. & Cardoso, L. D. S. (2018). A proxy for estimating the cell volume of *Ceratium furcoides* (Dinophyceae): basis for monitoring Brazilian reservoirs. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 23(2), 168-171. <https://doi.org/10.1111/lre.12211>
- Celekli, A. & Özpinar, G. (2021). Ecological assessment of Burç Reservoir's surface water (Turkey) using phytoplankton metrics and multivariate approach. *Turkish Journal of Botany*, 45(5), 522-539. <https://doi.org/10.3906/bot-2106-8>
- Cembella, A. D., Antia, N. J., Harrison, P. J. & Rhee, G. Y. (1984). The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: a multidisciplinary perspective: part 2. *Critical Reviews in Microbiology*, 11(1), 13-81. <https://doi.org/10.3109/10408418409105902>
- Chacón, J. & Gottschling, M. (2020). Dawn of the dinophytes: A first attempt to date origin and diversification of harmful algae. *Harmful algae*, 97, 101871. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101871>
- Chang, W., Cheng, J., Allaire, J., Xie, Y. & McPherson, J. (2015). Package ‘shiny’ v0.11.1 (Version 0.11.1). CRAN. <http://shiny.rstudio.com>
- Chen, T., Xiao, J., Liu, Y., Song, S. & Li, C. (2019). Distribution and genetic diversity of the parasitic dinoflagellate *Amoebophrya* in coastal waters of China. *Harmful Algae*, 89, 101633. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101633>
- Chinain, M., Faust, M. A. & Pauillac, S. (1999). Morphology and molecular analyses of three toxic species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae): *G. pacificus*, sp. nov., *G. australes*, sp. nov., and *G. polynesiensis*, sp. nov. *Journal of Phycology*, 35(6), 1282-1296. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3561282.x>

- Clegg, M. R., Maberly, S. C. & Jones, R. I. (2004). Chemosensory behavioural response of freshwater phytoplanktonic flagellates. *Plant, Cell & Environment*, 27(1), 123-135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2478.2004.01138.x>
- Clement, M., Posada, D. C. & Crandall, K. A. (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9(10), 1657-1659. <https://doi.org/10.1046/j.1657-1659>
- Colina, M., Calliari, D., Carballo, C. & Kruk, C. (2016). A trait-based approach to summarize zooplankton–phytoplankton interactions in freshwaters. *Hydrobiologia*, 767, 221-233. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2503-y>
- Corrêa, R. F., Macêdo, R. L., Fonseca, K. N., Thiago, M. G. R., Miranda, V. B. D. S., Orsi, M. L., da Guia Mello Portugal, S. & Branco, C. W. C. (2022). First report of the invasive *Ceratium furcoides* (dinoflagellate) in Paracambi Reservoir, Rio de Janeiro: Risks to the world's largest domestic water treatment plant. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, 27(2), e12400. <https://doi.org/10.1111/lre.12400>
- Costa, M. R. A., Attayde, J. L. & Becker, V. (2016). Effects of water level reduction on the dynamics of phytoplankton functional groups in tropical semi-arid shallow lakes. *Hydrobiologia*, 778, 75-89. <https://doi.org/10.1007/s10750-015-2593-6>
- Costa, M. R., Menezes, R. F., Sarmiento, H., Attayde, J. L., Sternberg, L. D. S. & Becker, V. (2019). Extreme drought favors potential mixotrophic organisms in tropical semi-arid reservoirs. *Hydrobiologia*, 831: 43-54. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3583-2>
- Crossetti, L. O., Bicudo, D. D. C., Bini, L. M., Dala-Corte, R. B., Ferragut, C. & de Mattos Bicudo, C. E. (2019). Phytoplankton species interactions and invasion by *Ceratium furcoides* are influenced by extreme drought and water-hyacinth removal in a shallow tropical reservoir. *Hydrobiologia*, 831, 71-85. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3607-y>
- Cruaud, P., Vigneron, A., Fradette, M. S., Dorea, C. C., Culley, A. I., Rodriguez, M. J. & Charette, S. J. (2019). Annual protist community dynamics in a freshwater ecosystem undergoing contrasted climatic conditions: The Saint-Charles River (Canada). *Frontiers in Microbiology*, 10, 2359. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02359>
- Czech, L., Barbera, P. & Stamatakis, A. (2020). Genesis and Gappa: processing, analyzing and visualizing phylogenetic (placement) data. *Bioinformatics*, 36(10), 3263-3265. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa070>
- Czech, L., Stamatakis, A., Dunthorn, M. & Barbera, P. (2022). Metagenomic analysis using phylogenetic placement—a review of the first decade. *Frontiers in Bioinformatics*, 2, 871393. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2022.871393>

- da Silva, R. D., Crossetti, L. O., da Rosa, L. M. & Cardoso, L. D. S. (2025). *Ceratium furcoides* (Dinophyceae) and *Microcystis* spp.(Cyanophyceae) segregation patterns are ruled by nutrient availability and meteorological shifts in a subtropical region. *Hydrobiologia*, 852(7), 1717-1742. <https://doi.org/10.1007/s10750-024-05771-4>
- Daga, I. C. & Pierotto, M. J. (2014). Variaciones espaciales y temporales de organismos autótrofos en el embalse La Quebrada (Córdoba, Argentina). *Arnaldoa*, 21(1).
- Das, S., Dash, H. R., Mangwani, N., Chakraborty, J. & Kumari, S. (2014). Understanding molecular identification and polyphasic taxonomic approaches for genetic relatedness and phylogenetic relationships of microorganisms. *Journal of microbiological methods*, 103, 80-100. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.05.013>
- David, G. M., Moreira, D., Reboul, G., Annenkova, N. V., Galindo, L. J., Bertolino, P., López-Archilla, A. I., Jardillier, L. & López-García, P. (2021). Environmental drivers of plankton protist communities along latitudinal and vertical gradients in the oldest and deepest freshwater lake. *Environmental Microbiology*, 23(3), 1436-1451. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15346>
- de la Escalera, G. M., Kruk, C., Segura, A. M., Nogueira, L., Alcántara, I. & Piccini, C. (2017). Dynamics of toxic genotypes of *Microcystis aeruginosa* complex (MAC) through a wide freshwater to marine environmental gradient. *Harmful Algae*, 62, 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.11.012>
- De Souza Muñoz, M. E., De Giovanni, R., de Siqueira, M. F., Sutton, T., Brewer, P., Pereira, R. S., Lange Canhos, D. A. & Canhos, V. P. (2011). openModeller: a generic approach to species' potential distribution modelling. *GeoInformatica*, 15, 111-135. <https://doi.org/10.1007/s10707-009-0090-7>
- De Vargas, C., Audic, S., Henry, N., Decelle, J., Mahé, F., Logares, R., Lara, E., Berney, C., Le Bescot, N., Probert, I., Carmichael, M., Poulain, J., Romac, S., ... & Velayoudon, D. (2015). Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science*, 348(6237), 1261605. <https://doi.org/10.1126/science.1261605>
- Devercelli, M., Zalocar, Y., Forastier, M. & Meichtry Zaburlin, N. R. (2014). Phytoplankton of the Paraná River basin. *Advances in Limnology*, 65, 39–65
- Di Bella, J. M., Bao, Y., Gloor, G. B., Burton, J. P. & Reid, G. (2013). High throughput sequencing methods and analysis for microbiome research. *Journal of microbiological methods*, 95(3), 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.08.011>
- Diagne, C., Leroy, B., Vaissière, A. C., Gozlan, R. E., Roiz, D., Jarić, I., Salles, J. M., Bradshaw, C. J. A. & Courchamp, F. (2021). High and rising economic costs of biological invasions worldwide. *Nature*, 592(7855), 571-576. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03405-6>
- Doblin, M. A., Coyne, K. J., Rinta-Kanto, J. M., Wilhelm, S. W. & Dobbs, F. C. (2007). Dynamics and short-term survival of toxic cyanobacteria species in ballast water from NOBOB vessels transiting

- the Great Lakes—implications for HAB invasions. *Harmful Algae*, 6(4), 519-530. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.05.007>
- Drake, L. A., Doblin, M. A. & Dobbs, F. C. (2007). Potential microbial bioinvasions via ships' ballast water, sediment, and biofilm. *Marine pollution bulletin*, 55(7-9), 333-341. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.11.007>
- Droop, M. R. (1983). 25 years of algal growth kinetics: A personal view. *Botanica Marina*, 26(2), 99–112. <https://doi.org/10.1515/botm.1983.26.3.99>
- Dutkiewicz, S., Cermenio, P., Jahn, O., Follows, M. J., Hickman, A. E., Taniguchi, D. A. & Ward, B. A. (2020). Dimensions of marine phytoplankton diversity. *Biogeosciences*, 17(3), 609-634. <https://doi.org/10.5194/bg-17-609-2020>
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19), 2460-2461. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>
- Edgar, R. C. (2016). SINTAX: a simple non-Bayesian taxonomy classifier for 16S and ITS sequences. <https://doi.org/10.1101/074161>
- Edwards, K. F., Thomas, M. K., Klausmeier, C. A. & Litchman, E. (2012). Allometric scaling and taxonomic variation in nutrient utilization traits and maximum growth rate of phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 57(2), 554-566. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.2.0554>
- Elferink, S., Neuhaus, S., Wohlrab, S., Toebe, K., Voss, D., Gottschling, M., Lundholm, N., Krock, B., Koch, B. P., Zielinski, O., Cembella, A. & John, U. (2017). Molecular diversity patterns among various phytoplankton size-fractions in West Greenland in late summer. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 121, 54-69. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.11.002>
- Elith, J. & Leathwick, J. R. (2009). Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 40(1), 677-697. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120159>
- Eppley, R. W., Holmes, R. W. & Strickland, J. D. (1967). Sinking rates of marine phytoplankton measured with a fluorometer. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1(2), 191-208. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(67\)90014-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(67)90014-7)
- Essl, F., Dullinger, S., Genovesi, P., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., Katsanevakis, S., Kühn, I., Lenzner, B., Pauchard, A., Pyšek, P., Rabitsch, W., Richardson, D. M., Seebens, H., van Kleunen, M., van der Putten, W. H., Vilà, M. & Bacher, S. (2019). A conceptual framework for range-expanding species that track human-induced environmental change. *BioScience*, 69(11), 908-919. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz101>

- Ewerts, H. E., Swanepoel, A. & Du Preez, H. H. (2013). Efficacy of conventional drinking water treatment processes in removing problem-causing phytoplankton and associated organic compounds. *Water Sa*, 39(5), 739-750. <https://doi.org/10.4314/wsa.v39i5.19>
- Excoffier, L. & Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Eyo, V. O., Ekpo, P. B., Andem, A. B. & Okorafor, K. A. (2013). Ecology and diversity of phytoplankton in the great Kwa River, Cross River State, Nigeria. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1(2), 1-7.
- Fernandes, L., Moura, L., de Castro, M. C. T. & Fernandes, F. (2021). Temporal trends of the bioinvasion risk through ballast water: a case study in the Maranhão harbor (Brazil). *Biological Invasions*, 23(11), 3457-3469. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02590-9>
- Fick, S.E. & Hijmans, R.J. (2017). WorldClim 2: new 1 km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37, 4302-4315. <https://doi.org/10.1002/joc.5086>
- Fielding, A.H. & Bell, J. (1997). A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*, 24, 38-49. <https://doi.org/10.1017/S0376892997000088>
- Finlay, B. J. (2002). Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science*, 296(5570), 1061-1063. <https://doi.org/10.1126/science.1070710>
- Finlay, B. J. & Fenchel, T. (2004). Cosmopolitan metapopulations of free-living microbial eukaryotes. *Protist*, 155(2), 237-244. <https://doi.org/10.1078/143446104774199619>
- Fuentes, N., Pauchard, A., Sánchez, P., Esquivel, J. & Marticorena, A. (2013). A new comprehensive database of alien plant species in Chile based on herbarium records. *Biological Invasions*, 15, 847-858. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0334-6>
- Fulton III, R. S. & Paerl, H. W. (1987). Effects of colonial morphology on zooplankton utilization of algal resources during blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) blooms. *Limnology and Oceanography*, 32(3), 634-644. <https://doi.org/10.4319/lo.1987.32.3.0634>
- Gallardo, B., Clavero, M., Sánchez, M. I. & Vilà, M. (2016). Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Global change biology*, 22(1), 151-163. <https://doi.org/10.1111/gcb.13004>
- Gao, Y., Chen, Y., Xiong, W., Li, S. & Zhan, A. (2019). Distribution patterns of dinoflagellate communities along the Songhua River. *PeerJ*, 7, e6733. <https://doi.org/10.7717/peerj.6733>
- Garrett, M. J., Puchlutegui, C., Selwood, A. I. & Wolny, J. L. (2014). Identification of the harmful dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* recovered from a ballast tank of a globally traveled ship in

- Port Tampa Bay, Florida, USA. *Harmful Algae*, 39, 202-209. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.07.014>
- Giljohann, K. M., Hauser, C. E., Williams, N. S. & Moore, J. L. (2011). Optimizing invasive species control across space: willow invasion management in the Australian Alps. *Journal of Applied Ecology*, 48(5), 1286-1294. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02016.x>
- Gómez, F., Moreira, D. & López-García, P. (2010). *Neoceratium* gen. nov., a new genus for all marine species currently assigned to *Ceratium* (Dinophyceae). *Protist*, 161(1), 35-54. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2009.06.004>
- Gómez, F. (2013). Reinstatement of the dinoflagellate genus *Tripes* to replace *Neoceratium*, marine species of *Ceratium* (Dinophyceae, Alveolata). *Cicimar Oceánides*, 28(1), 1-22. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v28i1.119>
- Gómez, F. (2021). Speciation and infrageneric classification in the planktonic dinoflagellate *Tripes* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Current Chinese Science*, 1(3), 346-372. <https://doi.org/10.2174/2210298101999210101231020>
- Gottschling, M., Chacón, J., Žerdoner Čalasan, A., Neuhaus, S., Kretschmann, J., Stibor, H. & John, U. (2019). Phylogenetic placement of environmental sequences using taxonomically reliable databases helps to rigorously assess dinophyte biodiversity in Bavarian lakes (Germany). *Freshwater Biology*, 65(2), 193-208. <https://doi.org/10.1111/fwb.13413>
- Gottschling, M., Czech, L., Mahé, F., Adl, S. & Dunthorn, M. (2020). The windblown: possible explanations for dinophyte DNA in forest soils. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 68(1), e12833. <https://doi.org/10.1111/jeu.12833>
- Graham, L. E. & Wilcox, L. W. (2000) *Algae*. Prentice Hall Publishing.
- Grant, S. R., Bienfang, P. K. & Laws, E. A. (2013). Steady-state bioassay approach applied to phosphorus-limited continuous cultures: A growth study of the marine chlorophyte *Dunaliella salina*. *Limnology and oceanography*, 58(1), 314-324. <https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.1.0314>
- Grigorszky, I., Kiss, K. T., Szabó, L. J., Dévai, G., Nagy, S. A., Somlyai, I., ... & Ács, É. (2019). Drivers of the *Ceratium hirundinella* and *Microcystis aeruginosa* coexistence in a drinking water reservoir. *Limnetica*, 38(1), 41-53. <https://doi.org/10.23818/limn.38.11>
- Grossiord, C., Buckley, T. N., Cernusak, L. A., Novick, K. A., Poulter, B., Siegwolf, R. T., Sperry, J. S. & McDowell, N. G. (2020). Plant responses to rising vapor pressure deficit. *New phytologist*, 226(6), 1550-1566. <https://doi.org/10.1111/nph.16485>
- Guillou, L., Bachar, D., Audic, S., Bass, D., Berney, C., Bittner, L., Boutte, C., Burgaud, G., de Vargas, C., Decelle, J., del Campo, J., Dolan, J. R., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Holzmann, M., Kooistra, W., Lara, E., Le Bescot, N., Logares, R., Mahé, F., Massana, R., Montresor, M., Morard, R., Not, F.,

- Pawlowski, J., Probert, I., Sauvadet, A. L., Siano, R., Stoeck, T., Vulot, D., Zimmermann, P. & Christen, R. (2012). The Protist Ribosomal Reference database (PR2): a catalog of unicellular eukaryote small sub-unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic acids research*, 41(D1), D597-D604. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1160>
- Guisan, A., Thuiller, W. & Zimmermann, N. E. (2017). *Habitat suitability and distribution models: With applications in R*. Cambridge University Press. <http://dx.doi.org/10.1017/9781139028271>
- Hackett, J. D., Anderson, D. M., Erdner, D. L. & Bhattacharya, D. (2004). Dinoflagellates: a remarkable evolutionary experiment. *American journal of botany*, 91(10), 1523-1534. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1523>
- Hansen, P. J. & Calado, A. J. (1999). Phagotrophic mechanisms and prey selection in free-living dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(4), 382-389. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1999.tb04617.x>
- Hansen, G. & Flaim, G. (2007). Dinoflagellates of the Trentino province, Italy. *Journal of Limnology*, 66(2), 107-141. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2007.107>
- Harke, M. J., Steffen, M. M., Gobler, C. J., Otten, T. G., Wilhelm, S. W., Wood, S. A. & Paerl, H. W. (2016). A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. *Harmful algae*, 54, 4-20. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.12.007>
- Haroon, A. M., Tahoun, U. M., Sabae, S. A. & Hamza, W. T. (2020). Research article biological characterization of water in damietta branch of the Nile River, Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(7), 861-882. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.861.882>
- Harris, G. P., Heaney, S. I. & Talling, J. F. (1979). Physiological and environmental constraints in the ecology of the planktonic dinoflagellate *Ceratium hirundinella*. *Freshwater Biology*, 9(5), 413-428. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1979.tb01526.x>
- Hart, R. C. & Wragg, P. D. (2009). Recent blooms of the dinoflagellate *Ceratium* in Albert Falls Dam (KZN): History, causes, spatial features and impacts on a reservoir ecosystem and its zooplankton. *Water SA*, 35(4). <https://doi.org/10.4314/wsa.v35i4.76807>
- Havel, J. E., Kovalenko, K. E., Thomaz, S. M., Amalfitano, S. & Kats, L. B. (2015). Aquatic invasive species: challenges for the future. *Hydrobiologia*, 750, 147-170. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2166-0>
- Hillebrand, H., Dürselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U. & Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology*, 35(2), 403-424. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x>

- HilleRisLambers, J., Adler, P. B., Harpole, W. S., Levine, J. M. & Mayfield, M. M. (2012). Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 43(1), 227-248. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110411-160411>
- Holt, C. C., Hehenberger, E., Tikhonenkov, D. V., Jacko-Reynolds, V. K., Okamoto, N., Cooney, E. C., Irwin, N. A. T. & Keeling, P. J. (2023). Multiple parallel origins of parasitic Marine Alveolates. *Nature Communications*, 14(1), 7049. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42807-0>
- Hoppenrath, M. & Leander, B. S. (2010). Dinoflagellate phylogeny as inferred from heat shock protein 90 and ribosomal gene sequences. *PloS one*, 5(10), e13220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013220>
- Hoppenrath, M., Kretzschmar, A. L., Kaufmann, M. J. & Murray, S. A. (2019). Morphological and molecular phylogenetic identification and record verification of *Gambierdiscus excentricus* (Dinophyceae) from Madeira Island (NE Atlantic Ocean). *Marine Biodiversity Records*, 12, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s41200-019-0175-4>
- Hou, Y. (2008). Isolation and characterization of proliferating cell nuclear antigen and the small subunit ribosomal RNA genes in dinoflagellates: Insights into dinoflagellate genome evolution. Tesis doctoral. University of Connecticut, Estados Unidos.
- Hou, Y. & Lin, S. (2009). Distinct gene number-genome size relationships for eukaryotes and non-eukaryotes: gene content estimation for dinoflagellate genomes. *PloS one*, 4(9), e6978. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006978>
- Howe, C. J., Nisbet, R. E. R. & Barbrook, A. C. (2008). The remarkable chloroplast genome of dinoflagellates. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1035-1045. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm292>
- Howeth, J. G. (2017). Native species dispersal reduces community invasibility by increasing species richness and biotic resistance. *Journal of Animal Ecology*, 86(6), 1380-1393. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12733>
- Hu, R. & Xiao, L. (2012). Functional classification of phytoplankton assemblages in reservoirs of Guangdong Province, South China. In B. Han & Z. Liu (Eds.), *Tropical and subtropical reservoir limnology in China*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2007-7_4
- Huang, X., Li, Y., Du, H. & Chen, N. (2024). Comparative assessment of the intragenomic variations of dinoflagellate *Tripos* species through single-cell sequencing. *Marine Pollution Bulletin*, 206, 116690. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116690>
- Hubbell, S. P. (2001). *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography* (Monographs in Population Biology). Princeton University Press.
- Hui, C. & Richardson, D. M. (2017). *Invasion dynamics*. Oxford University Press.

- Hui, C. (2023). The dos and don'ts for predicting invasion dynamics with species distribution models. *Biological Invasions*, 25, 947-953. <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02976-3>
- Huisman, J., Jonker, R. R., Zonneveld, C. & Weissing, F. J. (1999). Competition for light between phytoplankton species: experimental tests of mechanistic theory. *Ecology*, 80(1), 211-222. <https://doi.org/10.1890/0012-9658>
- Huse, S. M., Dethlefsen, L., Huber, J. A., Welch, D. M., Relman, D. A. & Sogin, M. L. (2008). Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS genetics*, 4(11), e1000255. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000255>
- Hutchinson, G. E. & MacArthur, R. H. (1959). A theoretical ecological model of size distributions among species of animals. *The American Naturalist*, 93(869), 117-125. <https://doi.org/10.1086/282063>
- Hyun, B., Shin, K., Jang, M. C., Jang, P. G., Lee, W. J., Park, C. & Choi, K. H. (2015). Potential invasions of phytoplankton in ship ballast water at South Korean ports. *Marine and Freshwater Research*, 67(12), 1906-1917. <https://doi.org/10.1071/MF15170>
- Hyun, B., Baek, S. H., Shin, K. & Choi, K. H. (2017). Assessment of phytoplankton invasion risks in the ballast water of international ships in different growth conditions. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 20(4), 423-434. <https://doi.org/10.1080/14634988.2017.1406273>
- IPBES. (2023). *Summary for policymakers of the thematic assessment report on invasive alien species and their control of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services*. In Roy, H. E., Pauchard, A., Stoett, P., Renard Truong, T., Bacher, S., Galil, B. S., Hulme, P. E., Ikeda, T., Sankaran, K. V., McGeoch, M. A., Meyerson, L. A., Nuñez, M. A., Ordonez, A., Rahlaio, S. J., Schwindt, E., Seebens, H., Sheppard, A. W. & Vandvik, V. (Eds.), *IPBES Secretariat* (pp. 1–56). IPBES.
- Itoiz, S., Metz, S., Derelle, E., Reñé, A., Garcés, E., Bass, D., Soudant, P. & Chambouvet, A. (2022). Emerging parasitic protists: the case of Perkinsea. *Frontiers in Microbiology*, 12, 735815. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.735815>
- Jaramillo, A., Osman, D., Caputo, L. & Cardenas, L. (2015). Molecular evidence of a *Didymosphenia geminata* (Bacillariophyceae) invasion in Chilean freshwater systems. *Harmful Algae*, 49, 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.09.004>
- Jones, L. R., Manrique, J. M., Uyua, N. M. & Whitton, B. A. (2019). Genetic analysis of the invasive alga *Didymosphenia geminata* in Southern Argentina: Evidence of a Pleistocene origin of local lineages. *Scientific Reports*, 9(1), 18706. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55155-1>
- Jiménez-Valverde, A. (2012). Insights into the area under the receiver operating characteristic curve (AUC) as a discrimination measure in species distribution modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 498-507. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00683.x>

- Johnson, P. T., Olden, J. D. & Vander Zanden, M. J. (2008). Dam invaders: impoundments facilitate biological invasions into freshwaters. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(7), 357-363. <https://doi.org/10.1890/070156>
- Jones, P. E., Tummers, J. S., Galib, S.M., Woodford, D. J., Hume, J. B., Silva, L. G., Braga, R. R., Garcia de Leaniz, C., Vitule, J. R. S., Herder, J. E. & Lucas, M. C. (2021). The use of barriers to limit the spread of aquatic invasive animal species: A global review. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 611631. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.611631>
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K., Von Haeseler, A., & Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods*, 14(6), 587-589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>
- Kass, J. M., Vilela, B., Aiello-Lammens, M. E., Muscarella, R., Merow, C., & Anderson, R. P. (2018). Wallace: A flexible platform for reproducible modeling of species niches and distributions built for community expansion. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(6), 1151–1156. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12945>
- Kass, J. M., Muscarella, R., Galante, P. J., Bohl, C. L., Pinilla-Buitrago, G. E., Boria, R. A., Soley-Guardia, M. & Anderson, R. P. (2021). ENMeval 2.0: Redesigned for customizable and reproducible modeling of species' niches and distributions. *Methods in Ecology and Evolution*, 12, 1602-1608. [1602-1608. https://doi.org/10.1111/2041-210X.13628](https://doi.org/10.1111/2041-210X.13628)
- Katoh, K. & Standley, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), 772-780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Katsiapi, M., Moustaka-Gouni, M., Vardaka, E. & Kormas, K. A. (2013). Different phytoplankton descriptors show asynchronous changes in a shallow urban lake (L. Kastoria, Greece) after sewage diversion. *Fundamental and Applied Limnology*, 182(3), 219-30. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2013/0362>
- Keane, R. M. & Crawley, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(4), 164-170.
- Keck, F., Vasselon, V., Rimet, F., Bouchez, A. & Kahlert, M. (2018). Boosting DNA metabarcoding for biomonitoring with phylogenetic estimation of operational taxonomic units' ecological profiles. *Molecular Ecology Resources*, 18(6), 1299-1309. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12919>
- Keeling, P. J. (2010). The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1541), 729-748. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0103>

- Keller, R. P., Drake, J. M., Drew, M. B. & Lodge, D. M. (2011). Linking environmental conditions and ship movements to estimate invasive species transport across the global shipping network. *Diversity and Distributions*, 17(1), 93-102. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00696.x>
- Kilroy, C. & Unwin, M. (2011). The arrival and spread of the bloom-forming, freshwater diatom, *Didymosphenia geminata*, in New Zealand. *Aquatic invasions*, 6(3), 249-262. <https://doi.org/10.3391/ai.2011.6.3.02>
- Kim, S. H., Kim, K. Y., Kim, C. H., Lee, W. S., Chang, M. & Lee, J. H. (2004). Phylogenetic analysis of harmful algal bloom (HAB)-causing dinoflagellates along the Korean coasts, based on SSU rRNA gene. *Journal of microbiology and biotechnology*, 14(5), 959-966.
- Kinnunen, M., Dechesne, A., Proctor, C., Hammes, F., Johnson, D., Quintela-Baluja, M., Graham, D., Daffonchio, D., Fodelianakis, S., Hahn, N., Boon, N. & Smets, B. F. (2016). A conceptual framework for invasion in microbial communities. *The ISME Journal*, 10(12), 2773-2779. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.75>
- Kozlov, A. M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B. & Stamatakis, A. (2019). RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics*, 35(21), 4453-4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kramer, A. M., Annis, G., Wittmann, M. E., Chadderton, W. L., Rutherford, E. S., Lodge, D. M., Mason, L., Beletsky, D., Riseng, C. & Drake, J. M. (2017). Suitability of Laurentian Great Lakes for invasive species based on global species distribution models and local habitat. *Ecosphere*, 8(7), e01883. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1883>
- Kraus, R. (2023). Ballast Water Management in Ports: Monitoring, Early Warning and Response Measures to Prevent Biodiversity Loss and Risks to Human Health. *Journal of marine science and engineering*, 11(11), 2144. <https://doi.org/10.3390/jmse11112144>
- Kretschmann, J., Čalasan, A. Ž. & Gottschling, M. (2018). Molecular phylogenetics of dinophytes harboring diatoms as endosymbionts (Kryptoperidiniaceae, Peridiniales), with evolutionary interpretations and a focus on the identity of *Durinskia oculata* from Prague. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 118, 392-402. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.10.011>
- Kristiansen, J. (1996). Dispersal of freshwater algae—a review. *Hydrobiologia*, 336, 151-157. <https://doi.org/10.1007/BF00010829>
- Kruk, C., Huszar, V. L., Peeters, E. T., Bonilla, S., Costa, L., Lüring, M., Reynolds, C. & Scheffer, M. (2010). A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology*, 55(3), 614-627. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02298.x>

- Kruk, C., Peeters, E. T., Van Nes, E. H., Huszar, V. D. M., Costa, L. S. & Scheffer, M. (2011). Phytoplankton community composition can be predicted best in terms of morphological groups. *Limnology and Oceanography*, 56(1), 110-118. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.1.0110>
- Kruk, C. & Segura, A. M. (2012). The habitat template of phytoplankton morphology-based functional groups. In Salmaso, N., Naselli-Flores, L., Cerasino, L., Flaim, G., Tolotti, M., Padisák, J. (Eds.), *Phytoplankton responses to human impacts at different scales* (pp. 191–202). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5790-5_15
- Kruk, C., Segura, A. M., Nogueira, L., Alcántara, I., Calliari, D., de la Escalera, G. M., Carballo, C., Cabrera, C., Sarthou, F., Scavone, P. & Piccini, C. (2017). A multilevel trait-based approach to the ecological performance of *Microcystis aeruginosa* complex from headwaters to the ocean. *Harmful algae*, 70, 23-36. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.10.004>
- Kruk, C., Piccini, C., Devercelli, M., Nogueira, L., Accattatis, V., Sampognaro, L., & Segura, A. M. (2021). A trait-based approach predicting community assembly and dominance of microbial invasive species. *Oikos*, 130(4), 571-586. <https://doi.org/10.1111/oik.07694>
- Ladrera, R., Goma, J. & Prat, N. (2018). Effects of *Didymosphenia geminata* massive growth on stream communities: Smaller organisms and simplified food web structure. *PLoS One*, 13(3), e0193545. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193545>
- Laws, E. A., Pei, S., Bienfang, P., Grant, S. & Sunda, W. G. (2011). Phosphate-limited growth of *Pavlova lutheri* (Prymnesiophyceae) in continuous culture: determination of growth-rate-limiting substrate concentrations with a sensitive bioassay procedure. *Journal of Phycology*, 47(5), 1089-1097. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01040.x>
- Leaw, C. P., Lim, P. T., Cheng, K. W., Ng, B. K. & Usup, G. (2010). Morphology and molecular characterization of a new species of thecate benthic dinoflagellate, *Coolia malayensis* sp. nov. (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 46(1), 162-171. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00778.x>
- Leaw, C. P., Tan, T. H., Lim, H. C., Teng, S. T., Yong, H. L., Smith, K. F., Rhodes, L., Wolf, M., Holland, W. C., Vandersea, M. W., Litaker, R. W., Tester, P. A., Gu, H., Usup, G. & Lim, P. T. (2016). New scenario for speciation in the benthic dinoflagellate genus *Coolia* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 55, 137-149. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.010>
- Lebet, K., Tesson, S. V., Kritzberg, E. S., Tomas, C. & Rengefors, K. (2015). Phylogeography of the freshwater raphidophyte *Gonyostomum semen* confirms a recent expansion in northern Europe by a single haplotype. *Journal of Phycology*, 51(4), 768-781. <https://doi.org/10.1111/jpy.12317>
- Lee, B. & Park, M. G. (2020). Distribution and genetic diversity of the toxic benthic dinoflagellate genus *Ostreopsis* in Korea. *Harmful Algae*, 96, 101820. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101820>

- Leibold, M. A. & McPeck, M. A. (2006). Coexistence of the niche and neutral perspectives in community ecology. *Ecology*, 87(6), 1399-1410. <https://doi.org/10.1890/0012-9658>
- Leigh, J. W., Bryant, D. & Nakagawa, S. (2015). POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology & Evolution*, 6(9). <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>
- Lemke, M. J., Paver, S. F., Dungey, K. E., Velho, L. F. M., Kent, A. D., Rodrigues, L. C., Kellerhals, D. M. & Randle, M. R. (2017). Diversity and succession of pelagic microorganism communities in a newly restored Illinois River floodplain lake. *Hydrobiologia*, 804, 35-58. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3327-8>
- Lentendu, G., Buosi, P. R. B., Cabral, A. F., Trevizan Segóvia, B., Ramos Meira, B., Lansac-Tôha, F. M., Machado Velho, L. F., Ritter, C. D. & Dunthorn, M. (2019). Protist biodiversity and biogeography in lakes from four Brazilian river–floodplain systems. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(4), 592-599. <https://doi.org/10.1111/jeu.12703>
- Letunic, I. & Bork, P. (2019). Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic acids research*, 47(W1), W256-W259. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz239>
- Leung, P. T., Yan, M., Lam, V. T., Yiu, S. K., Chen, C. Y., Murray, J. S., Harwoodc, T., Rhodesc, L. L., Lam, P. & Wai, T. C. (2018). Phylogeny, morphology and toxicity of benthic dinoflagellates of the genus *Fukuyoa* (Goniodomataceae, Dinophyceae) from a subtropical reef ecosystem in the South China Sea. *Harmful Algae*, 74, 78-97. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.03.003>
- Li, Z., Mertens, K. N., Gottschling, M., Gu, H., Söhner, S., Price, A. M., Marret, F., Pospelova, V., Smith, K. F., Carbonell-Moore, C., Nézan, E., Bilien, G. & Shin, H. H. (2020). Taxonomy and molecular phylogenetics of Ensiculiferaceae, fam. nov. (Peridinales, Dinophyceae), with consideration of their life-history. *Protist*, 171(5), 125759. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2020.125759>
- Lin, S. (2011). Genomic understanding of dinoflagellates. *Research in microbiology*, 162(6), 551-569. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.04.006>
- Li, Y. & Chen, N. (2025). Optimization and evaluation of 18S rDNA V4-based metabarcoding analysis of *Tripes* species. *Journal of Applied Phycology*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03428-2>
- Lindström, K. (1992). *Ceratium* in Lake Erken: vertical distribution, migration and form variation. *Nordic Journal of Botany*, 12(5), 541-556. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1992.tb01833.x>
- Litchman, E. & Klausmeier, C. A. (2008). Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 39(1), 615-639. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173549>
- Litchman, E. (2010). Invisible invaders: non-pathogenic invasive microbes in aquatic and terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 13(12), 1560-1572. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01544.x>

- Liu, Z., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L. & Knight, R. (2008). Accurate taxonomy assignments from 16S rRNA sequences produced by highly parallel pyrosequencers. *Nucleic acids research*, 36(18), e120-e120. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn491>
- Logares, R., Shalchian-Tabrizi, K., Boltovskoy, A. & Rengefors, K. (2007). Extensive dinoflagellate phylogenies indicate infrequent marine–freshwater transitions. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45(3), 887-903. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.08.005>
- Loo, S. E., Nally, R. M. & Lake, P. S. (2007). Forecasting New Zealand mudsnail invasion range: model comparisons using native and invaded ranges. *Ecological applications*, 17(1), 181-189. <https://doi.org/10.1890/1051-0761>
- Lukoschek, V., Osterhage, J. L., Karns, D. R., Murphy, J. C. & Voris, H. K. (2011). Phylogeography of the Mekong mud snake (*Enhydryis subtaeniata*): the biogeographic importance of dynamic river drainages and fluctuating sea levels for semiaquatic taxa in Indochina. *Ecology and Evolution*, 1(3), 330-342. <https://doi.org/10.1002/ece3.29>
- Lund, J. W. G., Kipling, C. & Le Cren, E. D. (1958). The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia*, 11, 143-170. <https://doi.org/10.1007/BF00007865>
- Mac Donagh, M. E., Casco, M. A. & Claps, M. C. (2005). Colonization of a neotropical reservoir (Córdoba, Argentina) by *Ceratium hirundinella* (O. F. Müller) Bergh. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 41(4), 291–299. <https://doi.org/10.1051/limn/2005026>
- MacDougall, A. S., Gilbert, B. & Levine, J. M. (2009). Plant invasions and the niche. *Journal of Ecology*, 97(4), 609-615. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01514.x>
- Macêdo, R. L., Franco, A. C. S., Russo, P., Collart, T., Mammola, S., Jeppesen, E., Castelo Branco, C. W., Neves dos Santos, L. & Rocha, O. (2021a). Climate and landscape changes enhance the global spread of a bloom-forming dinoflagellate related to fish kills and water quality deterioration. *Ecological Indicators*, 133, 108408. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108408>
- Macêdo, R. L., Russo, P., Corrêa, R. F., Rocha, O., dos Santos, L. N. & Branco, C. W. (2021b). The drifting dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925: fundamental niche shift during global invasion. *Hydrobiologia*, 848, 2105-2117. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04495-5>
- Machado, K. B., Targueta, C. P., Antunes, A. M., Soares, T. N., Telles, M. P. D. C., Logares, R., Galli Vieira, L., Huszar, V. & Nabout, J. C. (2019a). Diversity patterns of planktonic microeukaryote communities in tropical floodplain lakes based on 18S rDNA gene sequences. *Journal of Plankton Research*, 41(3), 241-256. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbz019>

- Machado, K. B., Vieira, L. C. G. & Nabout, J. C. (2019b). Predicting the dynamics of taxonomic and functional phytoplankton compositions in different global warming scenarios. *Hydrobiologia*, 830, 115-134. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3858-7>
- Malashenkov, D. V., Dashkova, V., Zhakupova, K., Vorobjev, I. A. & Barteneva, N. S. (2021). Comparative analysis of freshwater phytoplankton communities in two lakes of Burabay National Park using morphological and molecular approaches. *Scientific Reports*, 11(1), 16130. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95223-z>
- Marañón, E. (2015). Cell size as a key determinant of phytoplankton metabolism and community structure. *Annual review of marine science*, 7(1), 241-264. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015955>
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal*, 17(1), 10-12. <https://doi.org/10.14806/EJ.17.1.200>
- Martin, J. L., Santi, I., Pitta, P., John, U. & Gypens, N. (2022). Towards quantitative metabarcoding of eukaryotic plankton: an approach to improve 18S rRNA gene copy number bias. *Metabarcoding and Metagenomics*, 6, 245–259. <https://doi.org/10.3897/mbmg.6.85794>
- Martiny, J. B., Jones, S. E., Lennon, J. T. & Martiny, A. C. (2015). Microbiomes in light of traits: a phylogenetic perspective. *Science*, 350(6261), aac9323. <https://doi.org/10.1126/science.aac9323>
- Masure, E., Dejax, J. & De Ploëg, G. (2013). Blowin' in the wind... 100 Ma old multi-staged dinoflagellate with sexual fusion trapped in amber: Marine–freshwater transition. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 388, 128-144. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2013.08.008>
- Matsumura-Tundisi, T., Tundisi, J. G., Luzia, A. P. & Degani, R. M. (2010). Occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 bloom at the Billings Reservoir, São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70, 825-829. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842010000400013>
- Mayora, G., Devercelli, M. & Giri, F. (2013). Spatial variability of chlorophyll-a and abiotic variables in a river–floodplain system during different hydrological phases. *Hydrobiologia*, 717, 51-63. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1566-x>
- Mayora, G., Devercelli, M. & Frau, D. (2016). Spatial variability of chromophoric dissolved organic matter in a large floodplain river: control factors and relations with phytoplankton during a low water period. *Ecohydrology*, 9(3), 487-497. <https://doi.org/10.1002/eco.1651>
- McGill, B. J., Enquist, B. J., Weiher, E. & Westoby, M. (2006). Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in ecology & evolution*, 21(4), 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>
- McVicar, T. R., Roderick, M. L., Donohue, R. J., Li, L. T., Van Niel, T. G., Thomas, A., Grieser, J., Jhajharia, D., Himri, Y., Mahowald, N. M., Mescherskaya, A. V., Kruger, A. C., Rehman, S. &

- Dinpashoh, Y. (2012). Global review and synthesis of trends in observed terrestrial near-surface wind speeds: Implications for evaporation. *Journal of Hydrology*, 416, 182-205. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.10.024>
- Medinger, R., Nolte, V., Pandey, R. V., Jost, S., Ottenwälder, B., Schlötterer, C. & Boenigk, J. (2010). Diversity in a hidden world: potential and limitation of next-generation sequencing for surveys of molecular diversity of eukaryotic microorganisms. *Molecular ecology*, 19, 32-40. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04478.x>
- Meichtry de Zaburlín, N., Vogler, R. E., Molina, M. J. & Llano, V. M. (2016). Potential distribution of the invasive freshwater dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans (Dinophyta) in South America. *Journal of Phycology*, 52(2), 200-208. <https://doi.org/10.1111/jpy.12382>
- Mertens, K. N., Rengefors, K., Moestrup, Ø. & Ellegaard, M. (2012). A review of recent freshwater dinoflagellate cysts: taxonomy, phylogeny, ecology and palaeocology. *Phycologia*, 51(6), 612-619. <https://doi.org/10.2216/11-89.1>
- Meyerson, L. A. & Mooney, H. A. (2007). Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(4), 199-208. <https://doi.org/10.1890/1540-9295>
- Minh, B. Q., Schmidt, H. A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M. D., Von Haeseler, A. & Lanfear, R. (2020). IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era. *Molecular biology and evolution*, 37(5), 1530-1534. <https://doi.org/10.1093/molbev/msaa015>
- Moestrup, Ø. & Calado, A. J. (2018). *Süßwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 6-Freshwater Flora of Central Europe, Vol. 6: Dinophyceae* (Vol. 6). Springer-Verlag.
- Mollot, G., Pantel, J. H. & Romanuk, T. N. (2017). The effects of invasive species on the decline in species richness: a global meta-analysis. In Bohan, D. A., Dumbrell, A. J. & Massol, F (Eds.), *Advances in ecological research* (pp. 61-83). Academic Press.
- Molnar, J. L., Gamboa, R. L., Revenga, C. & Spalding, M. D. (2008). Assessing the global threat of invasive species to marine biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(9), 485-492. <https://doi.org/10.1890/070064>
- Morales, N. S., Fernández, I. C. & Baca-González, V. (2017). MaxEnt's parameter configuration and small samples: are we paying attention to recommendations? A systematic review. *PeerJ*, 5, e3093. <https://doi.org/10.7717/peerj.3093>
- Moreira, R. A., Rocha, O., Santos, R. M., Laudares-Silva, R., Dias, E. S. & Eskinazi-Sant'Anna, E. M. (2015). First record of *Ceratium furcoides* (Dinophyta), an invasive species, in a temporary high-altitude lake in the Iron Quadrangle (MG, Southeast Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, 75, 98-103. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.08013>

- Moss, B., Kosten, S., Meerhoff, M., Battarbee, R. W., Jeppesen, E., Mazzeo, N., Havens, K., Lacerot, G., Liu, Z., De Meester, L., Paerl, H. & Scheffer, M. (2011). Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland waters*, 1(2), 101-105. <https://doi.org/10.5268/IW-1.2.359>
- Munawar, M., Fitzpatrick, M., Niblock, H., Kling, H., Rozon, R. & Lorimer, J. (2017). Phytoplankton ecology of a culturally eutrophic embayment: Hamilton Harbour, Lake Ontario. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 20(3), 201-213. <https://doi.org/10.1080/14634988.2017.1307678>
- Murali, A., Bhargava, A. & Wright, E. S. (2018). IDTAXA: a novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome*, 6, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0521-5>
- Murray, S., Jørgensen, M. F., Ho, S. Y., Patterson, D. J. & Jermini, L. S. (2005). Improving the analysis of dinoflagellate phylogeny based on rDNA. *Protist*, 156(3), 269-286. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2005.05.003>
- Murray, S., Ip, C. L. C., Moore, R., Nagahama, Y. & Fukuyo, Y. (2009). Are prorocentroid dinoflagellates monophyletic? A study of 25 species based on nuclear and mitochondrial genes. *Protist*, 160(2), 245-264. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2008.12.004>
- Muscarella, R., Galante, P. J., Soley-Guardia, M., Boria, R. A., Kass, J. M., Uriarte, M. & Anderson, R. P. (2014). ENM eval: An R package for conducting spatially independent evaluations and estimating optimal model complexity for Maxent ecological niche models. *Methods in ecology and evolution* 5, 1198-1205. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12261>
- Mutshinda, C. M., Finkel, Z. V., Widdicombe, C. E. & Irwin, A. J. (2016). Ecological equivalence of species within phytoplankton functional groups. *Functional Ecology*, 30(10), 1714-1722. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12641>
- Naeem, S. & Wright, J. P. (2003). Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology letters*, 6(6), 567-579. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00471.x>
- Naimi, B. (2015). *usdm: Uncertainty analysis for species distribution models* (R package version 1, pp. 1–12). <https://cran.r-project.org/package=usdm>
- Ndhlovu, A., Dhar, N., Garg, N., Xuma, T., Pitcher, G. C., Sym, S. D. & Durand, P. M. (2017). A red tide forming dinoflagellate *Prorocentrum triestinum*: identification, phylogeny and impacts on St Helena Bay, South Africa. *Phycologia*, 56(6), 649-665. <https://doi.org/10.2216/16-114.1>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A. & Minh, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 32(1), 268-274. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu300>

- Nicholls, K. H., Kennedy, W. & Hammett, C. (1980). A fish-kill in Heart Lake, Ontario, associated with the collapse of a massive population of *Ceratium hirundinella* (Dinophyceae). *Freshwater Biology*, 10(6), 553-561. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1980.tb01231.x>
- Noges, P., Noges, T., Ghiani, M., Sena, F., Fresner, R., Friedl, M. & Mildner, J. (2011). Increased nutrient loading and rapid changes in phytoplankton expected with climate change in stratified South European lakes: sensitivity of lakes with different trophic state and catchment properties. *Hydrobiologia*, 667, 255-270. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0649-9>
- Nunez, M. A. & Pauchard, A. (2010). Biological invasions in developing and developed countries: does one model fit all?. *Biological invasions*, 12, 707-714. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9517-1>
- O'Farrell, I., Bordet, F. & Chaparro, G. (2012). Bloom forming cyanobacterial complexes co-occurring in a subtropical large reservoir: validation of dominant eco-strategies. In: Salmaso, N., Naselli-Flores, L., Cerasino, L., Flaim, G., Tolotti, M. & Padisák, J. (Eds.), *Phytoplankton responses to human impacts at different scales. Developments in Hydrobiology* (pp. 175-190). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5790-5_14
- Oldach, D. W., Delwiche, C. F., Jakobsen, K. S., Tengs, T., Brown, E. G., Kempton, J. W., Schaefer, E. F., Bowers, H. A., Glasgow, H. B., Burkholder, J. M., Steidinger, K. A. & Rublee, P. A. (2000). Heteroduplex mobility assay-guided sequence discovery: elucidation of the small subunit (18S) rDNA sequences of *Pfiesteria piscicida* and related dinoflagellates from complex algal culture and environmental sample DNA pools. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(8), 4303-4308. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.8.4303>
- Oliveira, M. D., Campos, M. C., Paolucci, E. M., Mansur, M. C. & Hamilton, S. K. (2015). Colonization and spread of *Limnoperna fortunei* in South America. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, 333-355. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13494-9_19
- Olrik, K. (1994). *Phytoplankton ecology: Determining factors for the distribution of phytoplankton in freshwaters and the sea*. Danish Environmental Protection Agency.
- Orr, R. J., Murray, S. A., Stüken, A., Rhodes, L. & Jakobsen, K. S. (2012). When naked became armored: an eight-gene phylogeny reveals monophyletic origin of theca in dinoflagellates. *PloS one*, 7(11), e50004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050004>
- Oterino, A. G. & de Munain Martínez, I. L. (2015). Biodiversidad microscópica en el embalse de La Grajera (Logroño). *Zubía*, (33), 129-210.
- Ott, B. M., Litaker, R. W., Holland, W. C. & Delwiche, C. F. (2022). Using RDNA sequences to define dinoflagellate species. *PLoS One*, 17(2), e0264143. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264143>

- Pacheco, J. P., Iglesias Frizzera, C., Goyenola, G., Teixeira de-Mello, F., Fosalba, C., Baattrup-Pedersen, A., Meerhoff, M. & Jeppesen, E. (2021). Invasion of *Ceratium furcoides* in subtropical lakes in Uruguay: Environmental drivers and fish kill record during its bloom. *Biological Invasions*, 23(11), 3597-3612. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02600-w>
- Padisak, J. (1997). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv Für Hydrobiologie Supplementband Monographische Beitrage*, 107(4), 563-593.
- Padisák, J., Crossetti, L. O. & Naselli-Flores, L. (2009). Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, 621, 1-19. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9645-0>
- Paerl, H. W. & Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1, 27–37. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>
- Pagad, S., Genovesi, P., Carnevali, L., Schigel, D. & McGeoch, M. A. (2018). Introducing the global register of introduced and invasive species. *Scientific data*, 5(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.202>
- Pages, H., Aboyoun, P., Gentleman, R., DebRoy, S., Pages, M. H., DataImport, D. ... & XStringSet-io, R. (2013). Package ‘Biostrings’. *Bioconductor*, 18129.
- Paggi, J. C. & José de Paggi, S. J. (1974). Primeros estudios sobre el zooplancton de las aguas lólicas del Paraná medio. *Physis*, 33, 91–114.
- Pandeirada, M. S., Craveiro, S. C., Daugbjerg, N., Moestrup, Ø. & Calado, A. J. (2017). Studies on woloszynskioid dinoflagellates VIII: life cycle, resting cyst morphology and phylogeny of *Tovellia rinoi* sp. nov. (Dinophyceae). *Phycologia*, 56(5), 533-548. <https://doi.org/10.2216/17-5.1>
- Paradis, E., Blomberg, S., Bolker, B., Brown, J., Claude, J., Cuong, H. S., ... & Didier, G. (2019). Package ‘ape’. *Analyses of phylogenetics and evolution, version*, 2(4), 47.
- Pearman, J. K., Thomson-Laing, G., Thompson, L., Waters, S., Vandergoes, M. J., Howarth, J. D., Duggan, I. C., Hogg, I. D. & Wood, S. A. (2022). Human access and deterministic processes play a major role in structuring planktonic and sedimentary bacterial and eukaryotic communities in lakes. *PeerJ*, 10, e14378. <https://doi.org/10.7717/peerj.14378>
- Pejchar, L. & Mooney, H. A. (2009). Invasive species, ecosystem services and human well-being. *Trends in ecology & evolution*, 24(9), 497-504. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.03.016>
- Peller, T. & Altermatt, F. (2024). Invasive species drive cross-ecosystem effects worldwide. *Nature Ecology & Evolution*, 8(6), 1087-1097. <https://doi.org/10.1038/s41559-024-02380-1>

- Penna, A., Battocchi, C., Capellacci, S., Fraga, S., Aligizaki, K., Lemée, R. & Vernesi, C. (2014). Mitochondrial, but not rDNA, genes fail to discriminate dinoflagellate species in the genus *Ostreopsis*. *Harmful Algae*, 40, 40-50. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.10.004>
- Penna, A., Fraga, S., Masó, M., Giacobbe, M. G., Bravo, I., Garcés, E., Vila, M., Bertozzini, E., Andreoni, F., Lugliè, A. & Vernesi, C. (2008). Phylogenetic relationships among the Mediterranean *Alexandrium* (Dinophyceae) species based on sequences of 5.8 S gene and Internal Transcript Spacers of the rRNA operon. *European Journal of Phycology*, 43(2), 163-178. <https://doi.org/10.1080/09670260701783730>
- Phillips, S.J., Anderson, R.P. & Schapire, R. E. (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological modelling*, 190, 231-259. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>
- Phillips, S. J. & Dudík, M. (2008). Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, 31, 161-175. <https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x>
- Phillips, S. J., Anderson, R. P., Dudík, M., Schapire, R. E. & Blair, M. E. (2017). Opening the black box: An open-source release of Maxent. *Ecography*, 40, 887-893. <https://doi.org/10.1111/ecog.03049>
- Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., González-Piana, M., Giani, A., Figueredo, C. C., Vidal, L., Kruk, C. & Bonilla, S. (2011). Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes. *Harmful Algae*, 10(6), 644-653. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.04.016>
- Pineda, A., Bortolini, J. C. & Rodrigues, L. C. (2022). Effects of space and environment on phytoplankton distribution in subtropical reservoirs depend on functional features of the species. *Aquatic Sciences*, 84(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s00027-021-00837-0>
- Pollingher, U. (1988). Freshwater armored dinoflagellates: growth, reproduction strategies, and population dynamics. In: Sandgren, C. D (Ed.), *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton* (pp. 134-174). Cambridge University Press.
- Pollingher, U., Bürgi, H. R. & Ambühl, H. (1993). The cysts of *Ceratium hirundinella*: their dynamics and role within a eutrophic (Lake Sempach, Switzerland). *Aquatic sciences*, 55, 10-18. <https://doi.org/10.1007/BF00877255>
- Pradhan, S. P., Nayak, S., Sharma, S. N., Nayak, P., Muduli, N. & Patnaik, L. (2023). Diversity of *Ceratium* Schrank (Dinophyceae) species in the surface waters of Dhamra, Odisha, Eastern India. *Journal of Environmental Biology*, 44(6), 784-794. <http://doi.org/10.22438/jeb/44/6/5141>
- Pyšek, P., Hulme, P. E., Simberloff, D., Bacher, S., Blackburn, T. M., Carlton, J. T., Dawson, W., Essl, F., Foxcroft, L. C., Genovesi, P., Jeschke, J. M., Kühn, I., Liebhold, A. M., Mandrak, N. E., Meyerson, L. A., Pauchard, A., Pergl, J., Roy, H. E., Seebens, H., van Kleunen, M., Vilà, M., Wingfield, M. J.

- & Richardson, D. M. (2020). Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews*, 95(6), 1511-1534. <https://doi.org/10.1111/brv.12627>
- Qasim, S. Z., Bhattathiri, P. M. A. & Devassy, V. P. (1973). Growth kinetics and nutrient requirements of two tropical marine phytoplankters. *Marine Biology*, 21(4), 299-304. <https://doi.org/10.1007/BF00381086>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J. & Glockner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Raho, N., Rodríguez, F., Reguera, B. & Marín, I. (2013). Are the mitochondrial cox1 and cob genes suitable markers for species of *Dinophysis* Ehrenberg?. *Harmful Algae*, 28, 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.05.012>
- Rangel, L. M., Soares, M. C. S., Paiva, R. & Silva, L. H. S. (2016). Morphology-based functional groups as effective indicators of phytoplankton dynamics in a tropical cyanobacteria-dominated transitional river–reservoir system. *Ecological Indicators*, 64, 217-227. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.041>
- Reid, A. J., Carlson, A. K., Creed, I. F., Eliason, E. J., Gell, P. A., Johnson, P. T. J., Kidd, K. A., MacCormack, T. J., Olden, J. D., Ormerod, S. J., Smol, J. P., Taylor, W. W., Tockner, K., Vermaire, J. C., Dudgeon, D. & Cooke, S. J. (2019). Emerging threats and persistent conservation challenges for freshwater biodiversity. *Biological Reviews*, 94, 849-873. <https://doi.org/10.1111/brv.12480>
- Reimer, J. D., Herrera, M., Gatins, R., Roberts, M. B., Parkinson, J. E. & Berumen, M. L. (2017). Latitudinal variation in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* of the common reef zoantharian *Palythoa tuberculosa* on the Saudi Arabian coast of the Red Sea. *Journal of Biogeography*, 44(3), 661-673. <https://doi.org/10.1111/jbi.12795>
- Reuter, J. A., Spacek, D. V. & Snyder, M. P. (2015). High-throughput sequencing technologies. *Molecular cell*, 58(4), 586-597. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.004>
- Reynolds, C. S. (1976). Succession and vertical distribution of phytoplankton in response to thermal stratification in a lowland mere, with special reference to nutrient availability. *The Journal of Ecology*, 529-551. <https://doi.org/10.2307/2258772>
- Reynolds, C. S. (1984). Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability. *Freshwater biology*, 14(2), 111-142. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1984.tb00027.x>
- Reynolds, C. S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L. & Melo, S. (2002). Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of plankton research*, 24(5), 417-428. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.5.417>
- Reynolds, C. S. (2006). *The ecology of phytoplankton*. Cambridge University Press.

- Reynolds, C. S., Elliott, J. A. & Frassl, M. A. (2014). Predictive utility of trait-separated phytoplankton groups: A robust approach to modeling population dynamics. *Journal of Great Lakes Research*, 40, 143-150. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2014.02.005>
- Ricciardi, A., Steiner, W. W., Mack, R. N. & Simberloff, D. (2000). Toward a global information system for invasive species. *BioScience*, 50(3), 239-244. <https://doi.org/10.1641/0006-3568>
- Richardson, D. M., Pyšek, P., Rejmanek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D. & West, C. J. (2000). Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and distributions*, 6(2), 93-107. <https://doi.org/10.1046/j.1472-4642.2000.00083.x>
- Richardson, D. M. & Rejmánek, M. (2011). Trees and shrubs as invasive alien species—a global review. *Diversity and distributions*, 17(5), 788-809. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2011.00782.x>
- Rodríguez-López, L., González-Rodríguez, L., Duran-Llacer, I., Cardenas, R. & Urrutia, R. (2021). Spatio-temporal analysis of chlorophyll in six Araucanian lakes of Central-South Chile from Landsat imagery. *Ecological Informatics*, 65, 101431. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2021.101431>
- Rogers, J. B., Stein, E. D., Beck, M. W. & Ambrose, R. F. (2020). The impact of climate change induced alterations of streamflow and stream temperature on the distribution of riparian species. *PLoS One*, 15, e0242682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242682>
- Rojas-Castillo, O. A., Pereira, L., Buffon, P. & de Souza Cardoso, L. (2023). Drivers and ecology of *Ceratium furcoides* invasion of a Brazilian subtropical reservoir and its interaction with the phytoplankton community. *Limnologia*, 101, 126080. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2023.126080>
- Rott, E., Silva, E. I. L., Enriquez, E. E., & Ingthamjitr, S. (2008). Phytoplankton community structure with special reference to species diversity in five tropical Asian water bodies. In *Aquatic ecosystems and development: Comparative Asian perspectives* (pp. 81–120). Margraf & Backhuys Publishers.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E. & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- RStudio Team. (2022). *RStudio: Integrated development environment for R* (Version 2022.07.0). RStudio, PBC. <http://www.rstudio.com/>
- Ryo, M., Angelov, B., Mammola, S., Kass, J. M., Benito, B. M. & Hartig, F. (2021). Explainable artificial intelligence enhances the ecological interpretability of black-box species distribution models. *Ecography*, 44(2), 199-205. <https://doi.org/10.1111/ecog.05360>
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E., Ellstrand, N. C., McCauley, D. E., O'Neil, P., Parker, I. M., Thompson, J. N. &

- Weller, S. G. (2001). The population biology of invasive species. *Annual review of ecology and systematics*, 32(1), 305-332. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114037>
- Saldarriaga, J. F., Cavalier-Smith, T., Menden-Deuer, S. & Keeling, P. J. (2004). Molecular data and the evolutionary history of dinoflagellates. *European journal of protistology*, 40(1), 85-111. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2003.11.003>
- Salmaso, N. (2003). Life strategies, dominance patterns and mechanisms promoting species coexistence in phytoplankton communities along complex environmental gradients. *Hydrobiologia*, 502, 13-36. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.00000004267.64870.85>
- Salmaso, N., Boscaini, A. & Pindo, M. (2020). Unraveling the diversity of eukaryotic microplankton in a large and deep perialpine lake using a high throughput sequencing approach. *Frontiers in microbiology*, 11, 789. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00789>
- Salusso, M. M. & Moraña, L. B. (2014). Fitoplancton de embalses subtropicales del noroeste argentino. *Gestión y ambiente*, 17(1), 209-222.
- Santer, B. (1996). Nutritional suitability of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* for four copepod species. *Journal of plankton research*, 18(3), 323-333. <https://doi.org/10.1093/plankt/18.3.323>
- Sassenhagen, I., Sefbom, J., Godhe, A., & Rengefors, K. (2015). Germination and colonization success of *Gonyostomum semen* (Raphidophyceae) cysts after dispersal to new habitats. *Journal of Plankton Research*, 37(5), 857-861. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbv067>
- Scheffer, M. & Van Nes, E. H. (2006). Self-organized similarity, the evolutionary emergence of groups of similar species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(16), 6230-6235. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508024103>
- Schoolfield, R. M., Sharpe, P. J. H. & Magnuson, C. E. (1981). Non-linear regression of biological temperature-dependent rate models based on absolute reaction-rate theory. *Journal of theoretical biology*, 88(4), 719-731. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(81\)90246-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(81)90246-0)
- Schrank, F. (1798). Fauna boica: Durchgedachte Geschichte der in Baiern einheimischen und zahmen Thiere. Nürnberg, Berlin.
- Seebens, H., Blackburn, T. M., Dyer, E. E., Genovesi, P., Hulme, P. E., Jeschke, J. M., ... & Essl, F. (2017). No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature communications*, 8(1), 14435. <https://doi.org/10.1038/ncomms14435>
- Segura, A. M., Calliari, D., Kruk, C., Conde, D., Bonilla, S. & Fort, H. (2011). Emergent neutrality drives phytoplankton species coexistence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1716), 2355-2361. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2464>

- Segura, A. M., Kruk, C., Calliari, D. & Fort, H. (2013). Use of a morphology-based functional approach to model phytoplankton community succession in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology*, 58(3), 504-512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2012.02867.x>
- Segura, A. M., Sarthou, F. & Kruk, C. (2018). Morphology-based differences in the thermal response of freshwater phytoplankton. *Biology Letters*, 14(5), 20170790. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2017.0790>
- Selina, M. S., Efimova, K. V., Morozova, T. V. & Hoppenrath, M. (2023). Morpho-molecular description of the new sand-dwelling dinoflagellate genus *Aliferia* gen. nov. (Dinophyceae) from the Sea of Japan, including two new species. *Phycologia*, 62(4), 366-382. <https://doi.org/10.1080/00318884.2023.2233838>
- Sendra, M. D., Moschini-Carlos, V., Pompêo, M. L., Soria, X., Soria, J. M. & Vicente, E. (2022). *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans in reservoirs at the Ebro watershed, Spain and Sao Paulo state, Brazil. *Limnetica*, 41(2), 219-234. <https://doi.org/10.23818/limn.41.26>
- Severiano, J. D. S., Oliveira, E. D. S., Lucena-Silva, D. D., Moura, G. C. D., Silva, E. A. D. & Barbosa, J. E. (2022). Invasion of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 in South America: record of the pattern of expansion and persistence in tropical reservoirs in Northeastern Brazil. *Biological Invasions*, 24(1), 217-233. <https://doi.org/10.1007/s10530-021-02641-1>
- Shang, L., Hu, Z., Deng, Y., Liu, Y., Zhai, X., Chai, Z., Liu, X., Zhan, Z., Dobbs, F. C. & Tang, Y. Z. (2019). Metagenomic sequencing identifies highly diverse assemblages of dinoflagellate cysts in sediments from ships' ballast tanks. *Microorganisms*, 7(8), 250. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080250>
- Shang, L., Hu, Z., Deng, Y., Li, J., Liu, Y., Song, X., Zhai, X., Zhan, Z., Tian, W., Xu, J., Han, Y., Shen, H., Ding, H. & Tang, Y. Z. (2024). Transoceanic ships as a source of alien dinoflagellate invasions of inland freshwater ecosystems. *Harmful Algae*, 135, 102630. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102630>
- Shendure, J. & Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature biotechnology*, 26, 1135-1145.
- Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F., Hajibabaei, M. (2012). Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular ecology*, 2, 1794-1805. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05538.x>
- Silva, L. C. D., Leone, I. C., Santos-Wisniewski, M. J. D., Peret, A. C. & Rocha, O. (2012). Invasion of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 at tropical reservoir and its relation to environmental variables. *Biota Neotropica*, 12, 93-100. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032012000200010>
- Silva, W. J. D., Nogueira, I. D. S., Melo-Magalhães, E. M. D., Benício, S. H. M., Pessoa, S. M. & Menezes, M. (2018). Expansion of invasive *Ceratium furcoides* (Dinophyta) toward north-central Brazil: new

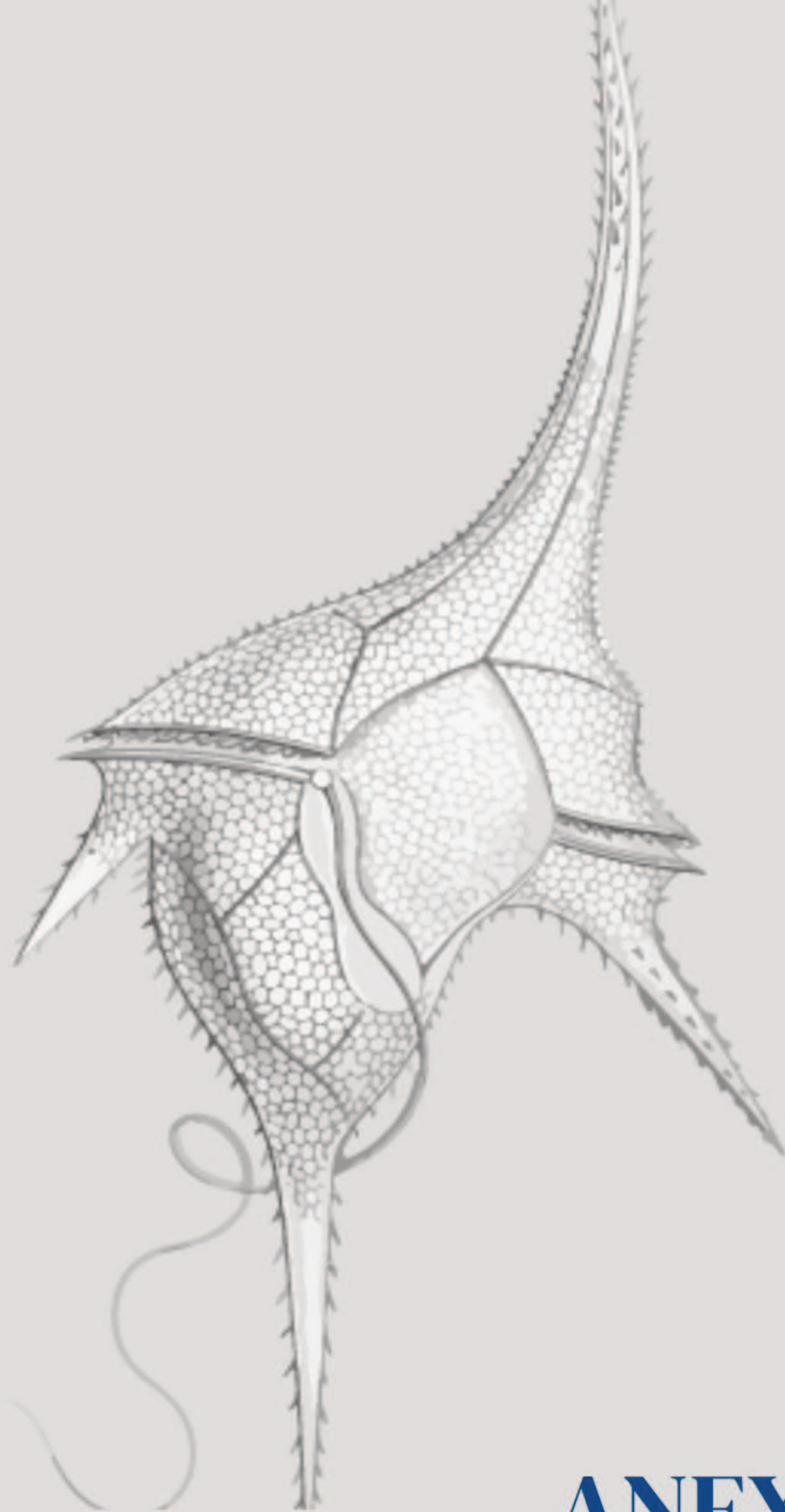
- records in tropical environments. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 30, e210. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X5917>
- Silva, L. N. D., Medeiros, C. M. D., Cavalcante, K. P. & Cardoso, L. D. S. (2019). Invasion and establishment of *Ceratium furcoides* (Dinophyceae) in an urban lake in Porto Alegre, RS, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 33(4), 654-663. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0429>
- Silva, R. D., da Rosa, L. M. & de Souza Cardoso, L. (2024). Spread and persistence of the invasive dinoflagellate *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans through South America: watersheds in Rio Grande do Sul, Brazil. *Aquatic Sciences*, 86(2), 28. <https://doi.org/10.1007/s00027-024-01042-5>
- Silverio, M. J., Montañez, G., Fra, E., Saracho, M., Arjona, M., Amaya, S. & Traccanna, B. (2009). Variación poblacional de *Ceratium hirundinella* (Dinophyceae) en Embalses Eutróficos de Catamarca (Argentina) y su relación con parámetros ambientales. *Huayllu-Bios*, 3, 13-31.
- Simberloff, D. (2011). How common are invasion-induced ecosystem impacts?. *Biological invasions*, 13, 1255-1268. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-9956-3>
- Simberloff, D., Martin, J. L., Genovesi, P., Maris, V., Wardle, D. A., Aronson, J., Courchamp, F., Galil, B., García-Berthou, E., Pascal, M., Pyšek, P., Sousa, R., Tabacchi, E., Vilà, M. & Vilà, M. (2013). Impacts of biological invasions: what's what and the way forward. *Trends in ecology & evolution*, 28(1), 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.07.013>
- Sinniger, F., Pawlowski, J., Harii, S., Gooday, A. J., Yamamoto, H., Chevaldonné, P., Cedhagen, T., Carvalho, G. & Creer, S. (2016). Worldwide analysis of sedimentary DNA reveals major gaps in taxonomic knowledge of deep-sea benthos. *Frontiers in Marine Science*, 3, 92. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00092>
- Slamovits, C. H., & Keeling, P. J. (2008). Widespread recycling of processed cDNAs in dinoflagellates. *Current Biology*, 18(13), R550-R552. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.04.054>
- Soler-Figueroa, B. M., Fontaine, D. N., Carney, K. J., Ruiz, G. M. & Tamburri, M. N. (2020). Characteristics of global port phytoplankton and implications for current ballast water regulations. *Marine Pollution Bulletin*, 155, 111165. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111165>
- Sommer, U., Adrian, R., De Senerpont Domis, L., Elser, J. J., Gaedke, U., Ibelings, B., Jeppesen, E., Lüring, M., Molinero, J. C., Mooij, M. M., van Donk, E. & Winder, M. (2012). Beyond the Plankton Ecology Group (PEG) model: mechanisms driving plankton succession. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 43(1), 429-448. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110411-160251>
- Spector, D. L. (2012). *Dinoflagellates*. Academic Press.
- Sperfeld, E., Schmidtke, A., Gaedke, U. & Weithoff, G. (2010). Productivity, herbivory, and species traits rather than diversity influence invasibility of experimental phytoplankton communities. *Oecologia*, 163, 997-1010. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1594-4>

- Stela, L. V., Ribeiro, K. F. & Crossetti, L. O. (2024). Functional and taxonomic approaches differently highlight local and spatial processes in phytoplankton metacommunities. *Hydrobiologia*, 851(4), 785-800. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05374-5>
- Sweets, J. A. (1988). Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science*, 240(4857), 1285–1293. <https://doi.org/10.1126/science.3287615>
- Taylor, G. T. (1982). Of pelagic heterotrophic protozoa in nutrient cycling, a review. *Ann. Inst.-Océanogr*, 58, 227-241.
- Teneva, I., Gecheva, G., Cheshmedjiev, S., Stoyanov, P., Mladenov, R. & Belkinova, D. (2014). Ecological status assessment of Skalsenski lakes (Bulgaria). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(1), 82-95. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.901682>
- Teschima, M. M., Garrido, A., Paris, A., Nunes, F. L. & Zilberberg, C. (2019). Biogeography of the endosymbiotic dinoflagellates (Symbiodiniaceae) community associated with the brooding coral *Favia grvida* in the Atlantic Ocean. *PLoS One*, 14(3), e0213519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213519>
- Thakur, M. P., Van der Putten, W. H., Cobben, M. M., van Kleunen, M. & Geisen, S. (2019). Microbial invasions in terrestrial ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(10), 621-631. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0236-z>
- Thomasson, K. (1963). Araucanian Lakes. *Acta Phytogeographica Suecica*, 47, 1–139. <https://diva-portal.org/smash/get/diva2:565401/FULLTEXT01.pdf>
- Thomaz, S. M., Kovalenko, K. E., Havel, J. E. & Kats, L. B. (2015). Aquatic invasive species: general trends in the literature and introduction to the special issue. *Hydrobiologia*, 746, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2150-8>
- Thompson, R. H. (1947). *Fresh-water dinoflagellates of Maryland*. Chesapeake Biological Laboratory.
- Thomsen, M., Wernberg, T., Olden, J., Byers, J. E., Bruno, J., Silliman, B. & Schiel, D. (2014). Forty years of experiments on aquatic invasive species: are study biases limiting our understanding of impacts?. *NeoBiota*, 22, 1-22. <https://doi.org/10.3897/neobiota.22.6224>
- Tillmann, U., Bantle, A., Krock, B., Elbrächter, M. & Gottschling, M. (2021). Recommendations for epitypification of dinophytes exemplified by *Lingulodinium polyedra* and molecular phylogenetics of the Gonyaulacales based on curated rRNA sequence data. *Harmful Algae*, 104, 101956. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101956>
- Tilman, D., Kilham, S. S. & Kilham, P. (1982). Phytoplankton community ecology: the role of limiting nutrients. *Annual review of Ecology and Systematics*, 13, 349-372. <https://www.jstor.org/stable/2097072>

- Tilman, D., Kiesling, R., Sterner, R. & Kilham, S. S. (1986). Green, bluegreen and diatom algae: Taxonomic differences in competitive ability for phosphorus, silicon and nitrogen. *Archiv für Hydrobiologie*, 106(4), 473-485. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/106/1986/473>
- Tilman, D. (2004). Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: a stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30), 10854-10861. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403458101>
- Torchin, M. E., Lafferty, K. D., Dobson, A. P., McKenzie, V. J. & Kuris, A. M. (2003). Introduced species and their missing parasites. *Nature*, 421(6923), 628-630. <https://doi.org/10.1038/nature01346>
- Tromas, N., Taranu, Z. E., Martin, B. D., Willis, A., Fortin, N., Greer, C. W. & Shapiro, B. J. (2018). Niche separation increases with genetic distance among bloom-forming cyanobacteria. *Frontiers in Microbiology*, 9, 438. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00438>
- Tulloch, V. J., Tulloch, A. I., Visconti, P., Halpern, B. S., Watson, J. E., Evans, M. C., Auerbach, N. A., Barnes, M., Beger, M., Chadès, I., Giakoumi, S., McDonald-Madden, E., Murray, N. J., Ringma, J. & Possingham, H. P. (2015). Why do we map threats? Linking threat mapping with actions to make better conservation decisions. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 13(2), 91-99. <https://doi.org/10.1890/140022>
- Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen*, 9(1), 1-38.
- Van Dolah, F. M., Lidie, K. B., Monroe, E. A., Bhattacharya, D., Campbell, L., Doucette, G. J. & Kamykowski, D. (2009). The Florida red tide dinoflagellate *Karenia brevis*: new insights into cellular and molecular processes underlying bloom dynamics. *Harmful Algae*, 8(4), 562-572. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.11.004>
- Van Ginkel, C. E., Hohls, B. C. & Vermaak, E. (2001). A *Ceratium hirundinella* (OF Müller) bloom in Hartbeespoort Dam, South Africa. *Water SA*, 27(2), 269-276. <https://doi.org/10.4314/wsa.v27i2.5000>
- Van Kleunen, M., Dawson, W., Essl, F., Pergl, J., Winter, M., Weber, E., ... & Pyšek, P. (2015). Global exchange and accumulation of non-native plants. *Nature*, 525(7567), 100-103. <https://doi.org/10.1038/nature14910>
- Vanderley, R. F., Becker, V., Panosso, R., Ger, K. A. & Padisák, J. (2022). The influence of trophic status and seasonal environmental variability on morpho-functional traits in tropical man-made shallow lakes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(7), 507. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10091-y>
- Vaulot, D. (2023). *pr2database: PR2 database with shiny web interface*. R package version 5.0.0, <https://github.com/pr2database>.

- Velasco-González, I., Sanchez-Jimenez, A., Singer, D., Murciano, A., Díez-Hernando, S., Lara, E. & Martín-Cereceda, M. (2020). Rain-fed granite rock basins accumulate a high diversity of dormant microbial eukaryotes. *Microbial ecology*, 79, 882-897. <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01463-y>
- Vergin, K. L., Beszteri, B., Monier, A., Thrash, J. C., Temperton, B., Treusch, A. H., Kilpert, F., Worden, A. Z. & Giovannoni, S. J. (2013). High-resolution SAR11 ecotype dynamics at the Bermuda Atlantic Time-series Study site by phylogenetic placement of pyrosequences. *The ISME journal*, 7(7), 1322-1332. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.32>
- Vergnon, R., Dulvy, N. K. & Freckleton, R. P. (2009). Niches versus neutrality: uncovering the drivers of diversity in a species-rich community. *Ecology letters*, 12(10), 1079-1090. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01364.x>
- Vidal, L. & Kruk, C. (2008). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(2), 142-151.
- Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I. & Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x>
- Vogler, R. E., Beltramino, A. A., Sede, M. M., Gregoric, D. E. G., Núñez, V. & Rumi, A. (2013). The giant African snail, *Achatina fulica* (Gastropoda: Achatinidae): Using bioclimatic models to identify South American areas susceptible to invasion. *American Malacological Bulletin*, 31, 39- 50. <http://dx.doi.org/10.4003/006.031.0115>
- Walsby, A. E. & Reynolds, C. S. (1980). Sinking and floating. In: Morris, I. (Ed.), *The physiological ecology of phytoplankton* (pp. 371–412). Blackwell Publishing.
- Wells, M. L., Trainer, V. L., Smayda, T. J., Karlson, B. S., Trick, C. G., Kudela, R. M., Ishikawa, A., Bernard, S., Wulff, A., Anderson, D. M. & Cochlan, W. P. (2015). Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful algae*, 49, 68-93. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.07.009>
- Whittington, J., Sherman, B., Green, D. & Oliver, R. L. (2000). Growth of *Ceratium hirundinella* in a subtropical Australian reservoir: the role of vertical migration. *Journal of Plankton Research*, 22(6), 1025-1045. <https://doi.org/10.1093/plankt/22.6.1025>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer Publishing.
- Wickham, H., Hester, J., Chang, W. & Hester, M. J. (2022). Package ‘devtools’. *R Package, Version*, 2(4).
- Wilson, J. B., Spijkerman, E. & Huisman, J. (2007). Is there really insufficient support for Tilman's R* concept? A comment on Miller et al. *The american naturalist*, 169(5), 700-706. <https://doi.org/10.1086/513113>

- Wilson, J. R., Dormontt, E. E., Prentis, P. J., Lowe, A. J. & Richardson, D. M. (2009). Something in the way you move: dispersal pathways affect invasion success. *Trends in Ecology and Evolution*, 24, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.10.007>
- Wright, E. S. (2016). Using DECIPHER v2. 0 to analyze big biological sequence data in R. *R Journal*, 8(1).
- Wu, J. T. & Chou, J. W. (1998). Dinoflagellate associations in Feitsui Reservoir, Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 39.
- Xin, Y., Yang, Z., Du, Y., Cui, R., Xi, Y. & Liu, X. (2024). Vulnerability of protected areas to future climate change, land use modification, and biological invasions in China. *Ecological Applications*, 34(1), e2831. <https://doi.org/10.1002/eap.2831>
- Žerdoner Čalasan, A., Kretschmann, J. & Gottschling, M. (2019). They are young, and they are many: dating freshwater lineages in unicellular dinophytes. *Environmental Microbiology*, 21(11), 4125–4135. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14766>
- Zhang, H., Bhattacharya, D. & Lin, S. (2005). Phylogeny of dinoflagellates based on mitochondrial cytochrome b and nuclear small subunit rDNA sequence comparisons. *Journal of Phycology*, 41(2), 411–420. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.04168.x>
- Zhang, W., Li, Z., Mertens, K. N., Derrien, A., Pospelova, V., Carbonell-Moore, M. C., Bagheri, S., Matsuoka, K., Shin, H. H. & Gu, H. (2020). Reclassification of *Gonyaulax verior* (Gonyaulacales, Dinophyceae) as *Sourniaea diacantha* gen. et comb. nov. *Phycologia*, 59(3), 246–260. <https://doi.org/10.1080/00318884.2020.1735926>
- Zhang, R., Zhang, Y., Fei, X., Hou, Y., Shi, J., Li, E. & Chu, W. (2022). *Limnoperla fortunei* as an invasive biofouling bivalve species in freshwater: a review of its occurrence, biological traits, risks, and control strategies. *Water Infrastructure, Ecosystems and Society*, 71(12), 1364–1383. <https://doi.org/10.2166/aqua.2022.238>
- Zobel, K. (2001). On the species-pool hypothesis and on the quasi-neutral concept of plant community diversity. *Folia Geobotanica*, 36, 3–8. <https://doi.org/10.1007/BF02803133>
- Zurell, D., Franklin, J., König, C., Bouchet, P. J., Serra-Diaz, J. M., Dormann, C. F., Elith, J., Fandos Guzman, G., Feng, X., Guillera-Aroita, G., Guisan, A., Leitão, P. J., Lahoz-Monfort, J. J., Park, D. S., Peterson, A. T., Rapacciuolo, G., Schmatz, D. R., Schröder, B., Thuiller, W., Yates, K. L., Zimmermann, N. E. & Merow, C. (2020). A standard protocol for describing species distribution models. *Ecography*, 43, 1261–1277. <https://doi.org/10.1111/ecog.04960>



ANEXOS

ANEXOS

Sección A1

Script para concatenar alineamientos

```
install.packages("ape")
library(ape)
#Primero busco el directorio donde están todos los archivos (Set as working directory...)
#en cada "ex" pongo los alineamientos
#En este caso, el 1 es del gen 18S, el 2 el alineam ITS y el 3 el de 28S
ex1 <- read.dna("align_18S_Gottsch_EDIT_trim.fasta", format="fasta")
ex2 <- read.dna("align_ITS_Gottsch_trim", format="fasta")
ex3 <- read.dna("align_28S_Gottsch_EDIT_trim.fasta", format="fasta")

output <- cbind(ex1, ex2, ex3, fill.with.gaps=TRUE) #se completa con gaps las secuencias que
solo tienen 18S o cualquiera de los otros dos genes
write.dna(output, "align_Gottsch_concatenado.fasta", format="fasta")
```

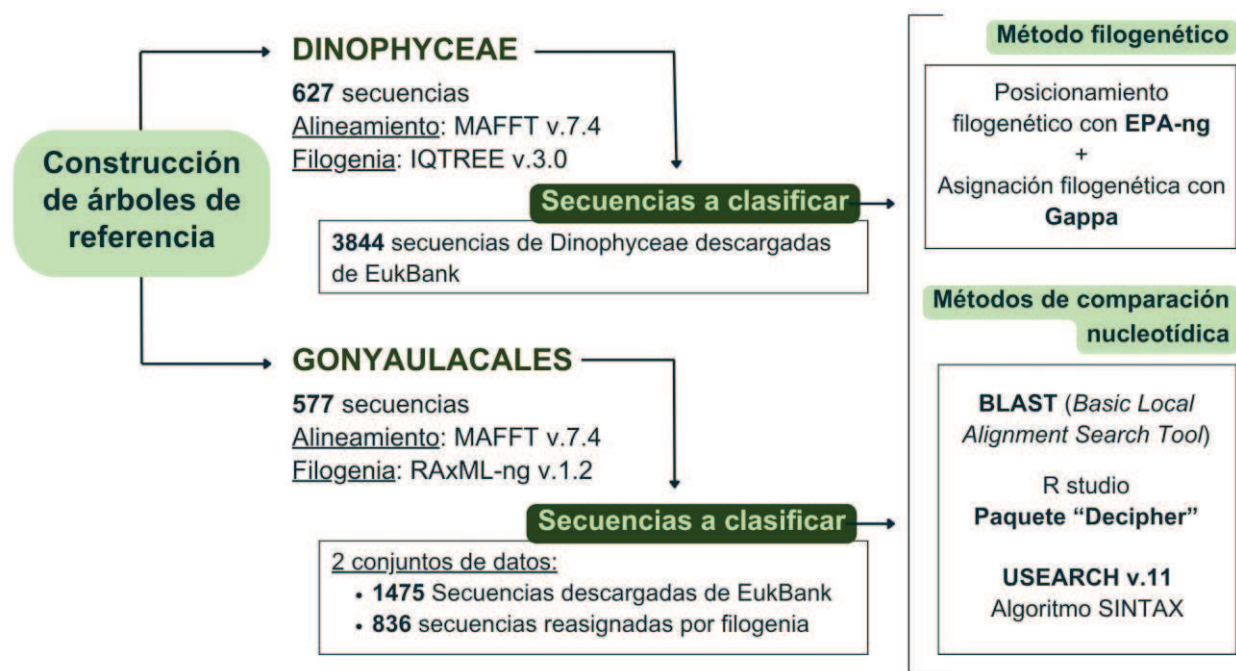



Figura A1. Diagrama sintetizando los procedimientos realizados en la metodología del Capítulo 1.

Tabla A1. Clasificación taxonómica de todos los géneros presentes en el árbol de referencia construido para el grupo Dinophyceae (Figura 1) según Adl. et al. 2012.

Género	Orden						Dinophyceae ordo incertae sedis
	Dinophysiales	Gonyaulacales	Gymnodinales	Peridinales	Prorocentrales	Suessiales	
<i>Akashiwo</i>			X				
<i>Alexandrium</i>		X					
<i>Amphidinium</i>			X				
<i>Amphidoma</i>							X
<i>Amphisolenia</i>	X						
<i>Ankistrodinium</i>			X				

<i>Apicoporus</i>			X				
<i>Apocalathium</i>				X			
<i>Archaeoperidinium</i>				X			
<i>Azadinium</i>							X
<i>Barrufeta</i>			X				
<i>Blastodinium</i>				X			
<i>Borghiella</i>						X	
<i>Brachidinium</i>			X				
<i>Ceratoperidinium</i>			X				
<i>Chimonodinium</i>				X			
<i>Chytriodinium</i>			X				
<i>Dactylodinium</i>						X	
<i>Dinophysis</i>	X						
<i>Dissodinium</i>			X				
<i>Durinskia</i>				X			
<i>Ensiculifera</i>				X			
<i>Erythrospidinium</i>			X				
<i>Glenodiniopsis</i>				X			
<i>Gloeodinium</i>				X			
<i>Gymnodinium</i>			X				
<i>Gyrodiniellum</i>			X				
<i>Gyrodinium</i>			X				
<i>Heterocapsa</i>				X			
<i>Karenia</i>			X				
<i>Karlodinium</i>			X				
<i>Leonella</i>				X			
<i>Lepidodinium</i>			X				
<i>Luciella</i>				X			
<i>Margalefidinium</i>			X				
<i>Moestrupia</i>			X				
<i>Nematodinium</i>			X				
<i>Nusuttodinium</i>			X				
<i>Ornithocercus</i>	X						
<i>Palatinus</i>				X			
<i>Paragymnodinium</i>			X				
<i>Parvodinium</i>				X			
<i>Pentapharsodinium</i>				X			
<i>Peridinium</i>				X			

<i>Pfiesteria</i>				X			
<i>Polykrikos</i>			X				
<i>Posoniella</i>				X			
<i>Prorocentrum</i>					X		
<i>Proterothropsis</i>			X				
<i>Sabulodinium</i>				X			
<i>Scrippsiella</i>				X			
<i>Spiniferodinium</i>			X				
<i>Stoeckeria</i>				X			
<i>Testudodinium</i>			X				
<i>Thecadinium</i>		X					
<i>Theleodinium</i>				X			
<i>Thoracosphaera</i>				X			
<i>Tintinnophagus</i>				X			
<i>Tovellia</i>		X					
<i>Tyrannodinium</i>				X			
<i>Unruhadinium</i>				X			
<i>Vulcanodinium</i>				X			
<i>Warnowia</i>			X				

Sección A2

Tabla A2. Referencias bibliográficas utilizadas para construir la base de datos global de *Ceratium*.

Cita bibliográfica	Año de publicación	doi/URI/link
Bergh R. Der Organismus der Cilioflagellaten. Eine phylogenetische Studie. Morphologisches Jahrbuch 7: 177-288.	1881	-
Blanc H. Note on <i>Ceratium hirundinella</i> (OF Müller), its variability and mode of reproduction. <i>Journal of Nat Hist</i> , 16 444-453.	1885	-
Apstein C. Das Süßwasserplankton. Methode und Resultate der quantitativen Untersuchung. Verlag von Lipsius & Tschier, Kiel und Leipzig.	1896	-
Lemmermann E. 1899. Das Phytoplankton sächsischer Teiche. Forschungsberichte aus der Biologischen Station zu Plön 7: 96-135.	1899	-
Huitfeldt-Kaas H. Die limnetischen Peridineen in norwegischen Binnenseen. Videnskabselskabets Skrifter. I. No. 2: 1-7.	1900	-
Lemmermann E. Beiträge zur Kenntnis der Planktonalgen. XV. Forschungsberichte aus der Biologischen Station zu Plön 10: 116-171	1903	-
Entz G. Adatok a Balaton Planktonjának Ismeretéhez. II.1: 3-26. Budapest	1903	-
Zederbauer E. <i>Ceratium hirundinella</i> in den österreichischen Alpenseen. Österreichische botanische Zeitschrift 54: 124-128.	1904	-
Lemmermann E. Über die von Herrn Dr. Walter Volz auf seiner Weltreise gesammelten Süßwasseralgen. Abh. Naturw. Ver. Bremen 18 (1):143-174, pl. 11.	1905	-
West W, West G. A further contribution to the freshwater plankton of the Scottish Lochs. Trans. Roy. Soc. Edin. 41: 477-518.	1905	-
West W, West G. A comparative study of the plankton of some Irish lakes. Transactions of the Royal Irish Academy 33, section B, Part II.	1906	-

West G. Report on the freshwater algae, including phytoplankton, of the third Tanganyika expedition conducted by Dr. W. A. Cunningham. Journal of the Linnean Society 264: 81-197.	1907	-
Brehm V. Beiträge zur faunistischen Durchforschung der Seen Nordtirols.	1908	-
Ostenfeld C. Phytoplankton aus dem Victoria Nyanza. Abhandlung. Engler's Botanischen Jahrbüchern 41: 331-350	1908	-
West G. A biological investigation of the Peridinieae of Sutton Park, Warwickshire. New Phytol. 8: 181-196.	1909	-
Ostenfeld C. Notes on the phytoplankton of Victoria Nyanza, East Africa. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology 52: 171-181.	1909	-
Woloszynska J. O glonach planktonowych niektórych jezior jawaskich, z uwzględnieniem glonów Sawy. Bull. Int. Acad. Sci. 1912: 649-709.	1912	-
Lindemann E. Untersuchungen über Süßwasserperidineen und ihre Variationsformen II. Archiv für Naturgeschichte 1918, 8: 121-194	1920	-
Kaiser P. Scheffelt E. Das Phytoplankton des Chiemsees nebst Algenfunden aus anderen Seen des Chiemgaus. Archiv für Hydrobiologie 15: 142-177	1924	-
Lefèvre M. Contribution à la flore des algues d'eau douce du nord de la France. Bulletin de la Société Botanique de France 72: 689-699.	1925	-
Entz G. Beiträge zur Kenntnis der Peridineen. II. resp. VII. Studien an Süßwasser-Ceratiem. Arch. Protistenkd. 58 (2): 344-440	1927	-
Entz G. Analyse des Wachstums und der Teilung einer Population sowie eines Individuums des Protisten Ceratium hirundinella unter den natürlichen Verhältnissen. Archiv für Protistenkunde 74: 310-361.	1931	-
Steinmann A. Einige Beobachtungen über das Plankton Zweier Süßwasserseen auf Java Während des West- und Ostmonsuns. Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg 44: 225-238.	1935	-
Thompson R. Fresh-water dinoflagellates of Maryland. Chesapeake Biological Laboratory Publications 67: 3-24.	1947	-

Frade F. Albufeira de Castelo do Bode. A água e alguns dos seus micro-organismos. Bol. Com. Fisc. Águas 35: 129-137.	1954	-
Frade F. Prospecções hidrobiológicas. Albufeira de Castelo do Bode. Bol. Com. Fisc. Águas 38: 5-10	1957	-
Thomasson K. Araucanian Lakes. Acta Phytogeogr Suec 47: 1-139.	1963	diva-portal.org/smash/get/diva2:565401/FULLTEXT01.pdf
Cassie V. Seasonal variation in phytoplankton from Lake Rotorua and other inland waters, Nw Zealand, 1966-67. New Zeal J Mar Fresh 3: 98-123.	1969	-
Mizuno T, Mori S. Preliminary hydrobiological survey of some Southeast Asian inland waters. Biol J Linn Soc, 2:77-118.	1970	-
Dodge J, Crawford R. A survey of thecal fine structure in the Dinophyceae. Bot J Linn Soc, 63: 53-67.	1970	-
Wager D, Schumacher G. Phytoplankton of the Susquehanna River near Binghamton, New York: seasonal variations; effect of sewage effluents. J Phycol, 6: 110-117.	1970	https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1970.tb02367.x
Thomasson K. Rotorua phytoplankton reconsidered. Internat Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie, 59: 703-727.	1974	-
Dotne-Lindgren Å, Ekbohm G. Ceratium hirundinella in Lake Erken: horizontal distribution and form variation. Internat Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie, 60: 115-144.	1975	https://doi.org/10.1002/iroh.19750600105
Willén E. A simplified method of phytoplankton counting. Brit Phycol J, 11: 265-278.	1976	https://doi.org/10.1080/00071617600650551
Bruno S, McLaughlin J. The nutrition of the freshwater dinoflagellate Ceratium hirundinella. J Protozoology, 24: 548-552.	1977	https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1977.tb01012.x
Cassie V. Seasonal changes in phytoplankton densities in four North Island lakes, 1973-74. New Zeal J Mar Fresh, 12: 153-166.	1978	https://doi.org/10.1080/00288330.1978.9515736
Gay C. Quelques aspects de l'écologie du plancton d'un lac de montagne eutrophe: le lac de Petichet (Isère). Journal of Limnology, 15: 275-290.	1979	https://doi:10.1051/limn/1979013
Harris G, et al. Physiological and environmental constraints in the ecology of the planktonic dinoflagellate Ceratium hirundinella. Freshwater Biol, 9: 413-428.	1979	https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1979.tb01526.x

Nicholls K, et al. A fish-kill in Heart Lake, Ontario, associated with the collapse of a massive population of <i>Ceratium hirundinella</i> (Dinophyceae). <i>Freshwater Biol</i> , 10: 553-561.	1980	https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1980.tb01231.x
Chapman D, et al. An electron microscope study of the excystment and early development of the dinoflagellate <i>Ceratium hirundinella</i> . <i>Brit Phycol J</i> , 16: 183-194.	1981	https://doi.org/10.1080/00071618100650191
Chapman D, et al. Cyst formation in the freshwater dinoflagellate <i>Ceratium hirundinella</i> (Dinophyceae). <i>J Phycol</i> , 18: 121-129.	1982	https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1982.tb03165.x
Frempong E. A seasonal sequence of diel distribution patterns for the planktonic dinoflagellate <i>Ceratium hirundinella</i> in a eutrophic lake. <i>Freshwater Biol</i> , 14: 401-421.	1984	https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1984.tb00163.x
Hickel B. The population structure of <i>Ceratium</i> in a small eutrophic lake: Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen, 22: 2845-2849.	1985	https://doi.org/10.1080/03680770.1983.11897787
Kawabata Z, Kagawa H. Distribution pattern of the dinoflagellate <i>Ceratium hirundinella</i> in a reservoir. <i>Hydrobiologia</i> , 169: 319-325.	1988	https://doi.org/10.1007/BF00007555
Hickel B. Sexual reproduction and life cycle of <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyceae) in situ in the lake Plußsee. <i>Flagellates in Freshwater Ecosystems</i> , 41-48.	1988	https://doi.org/10.1007/978-94-009-3097-1_3
Heaney S, et al. Population dynamics of <i>Ceratium</i> spp. in three English lakes, 1945–1985. Springer Netherlands.	1988	https://doi.org/10.1007/978-94-009-3097-1_11
Cambra J, et al. Composicion fitoplanctonica en embalses de pequeno volumen del este de la Peninsula Iberica. <i>Bol Soc Brot</i> , 62: 5-18.	1989	-
Ling H, et al. Freshwater dinoflagellates of Tasmania, a survey of taxonomy and distribution. <i>Brit Phycol J</i> , 24: 111-129.	1989	https://doi.org/10.1080/00071618900650111
Ngô H Pfiester L. Freshwater dinoflagellates from North Deming Pond, Minnesota, USA. <i>T Am Microsc Soc</i> , 380-398.	1990	https://doi.org/10.2307/3226692
Pollinger U, Hickel B. Dinoflagellate associations in a subtropical lake (Lake Kinneret, Israel). <i>Arch Hydrobiol</i> , 120: 267-285	1991	10.1127/archiv-hydrobiol/120/1991/267
Kitaka N. Phytoplankton productivity in Lake Naivasha (Doctoral dissertation, University of Nairobi).	1991	http://erepository.uonbi.ac.ke:8080/xmlui/handle/123456789/22272

Lindström K. Ceratium in Lake Erken: vertical distribution, migration and form variation. Nord J Bot, 12: 541-556.	1992	https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1992.tb01833.x
Moustaka-Gouni M, Nikolaidis G. Phytoplankton and physical-chemical features of Tavropos Reservoir, Greece. Hydrobiologia, 228: 141-149.	1992	https://doi.org/10.1007/BF00006202
Kawabata Z, Banba D. Effect of water temperature on the excystment of the dinoflagellate Ceratium hirundinella (OF Müller) Bergh. Hydrobiologia, 257: 17-20.	1993	https://doi.org/10.1007/BF00013992
Sommer U. Phytoplankton competition in Plußsee: A field test of the resource-ratio hypothesis. Limnol Oceanogr, 38: 838-845.	1993	https://doi.org/10.4319/lo.1993.38.4.0838
Pollingher U, et al. The cysts of Ceratium hirundinella: their dynamics and role within a eutrophic (Lake Sempach, Switzerland). Aquat Sci, 55: 10-18.	1993	https://doi.org/10.1007/BF00877255
Carty S. Contribution to the dinoflagellate flora of Ohio.	1993	http://hdl.handle.net/1811/23584
Senzaki S, Horiguchi T. A taxonomic survey of freshwater dinoflagellates of Nagano Prefecture, Japan. J. Phycol, 42: 29-42.	1994	-
Salbrechter M, Arndt H. The annual cycle of protozooplankton in the alpine, mesotrophic Lake Mondsee. Mar. Microb. Food Webs, 8: 17-234.	1994	-
Danielidis D, et al. Limnological survey of Lake Amvrakia, western Greece. Hydrobiologia, 318: 207-218.	1996	https://doi.org/10.1007/BF00016682
Kawabata Y, et al. The phytoplankton of some saline lakes in Central Asia. International Journal of Salt Lake Research, 6: 5-16.	1997	https://doi.org/10.1023/A:1009058710369
Guerrero J, Echenique R. Ceratium hirundinella blooms in Argentine reservoirs. Harmful Algae News, 16: 3.	1997	-
Craveiro S, Santos L. Variation of river flow through a small reservoir: the effect on phytoplankton assemblages. Bol. Soc. Brot, 68: 129-157.	1997	-
Tafas T, Economou-Amilli A. Limnological survey of the warm monomictic lake Trichonis; II. Seasonal phytoplankton periodicity—a community approach. Hydrobiologia, 344: 141-153.	1997	https://doi.org/10.1023/A:1002962513146
Wu J, Chou J. Dinoflagellate associations in Feitsui Reservoir, Taiwan. Bot Bull Acad Sinica, 39.	1998	https://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/1998/2/bot92-10.html

Finlay B, Esteban G. Planktonic ciliate species diversity as an integral component of ecosystem function in a freshwater pond. <i>Protist</i> , 149: 155-165.	1998	https://doi.org/10.1016/S1434-4610(98)70020-3
Rengefors K, et al. Quantitative X-ray microanalysis as a method for measuring phosphorus in dinoflagellate resting cysts. <i>Eurn Journal of Phycology</i> , 34: 171-177.	1999	https://doi.org/10.1080/09670269910001736222
Prosperi C. Competencia entre las cianofíceas y las pirrofíceas en el embalse San Roque (Córdoba, Argentina). Seminario "Identificación y control de algas en la producción de agua potable, 60-64.	2000	-
Whittington J, et al. Growth of <i>Ceratium hirundinella</i> in a subtropical Australian reservoir: the role of vertical migration. <i>J Plankton Res</i> , 22: 1025-1045.	2000	https://doi.org/10.1093/plankt/22.6.1025
Nõges P, Viirret M. Environmental conditions and the development of <i>Planktonema lauterbornii</i> Schmidle in phytoplankton of Karhijärvi, a lake in SW Finland. <i>Boreal Environ Res</i> , 6: 181-190.	2001	-
Van Ginkel C, et al. A <i>Ceratium hirundinella</i> (OF Müller) bloom in Hartbeespoort Dam, South Africa. <i>Water SA</i> , 27: 269-276.	2001	10.4314/wsa.v27i2.5000
Bustamante M, et al. Estudios para la evaluación de la eutroficación del embalse San Roque mediante la observación, medición y aplicación de herramientas numéricas. Seminario Taller "Calidad de Agua en los Embalses de Córdoba", Córdoba.	2002	https://www.ina.gob.ar/archivos/publicaciones/Cirsa-Limnologia-4-eutrofication.pdf
Casco M, et al. Long-term study of plankton in Rio Tercero Reservoir (Argentina) in relation to a nuclear power plant operation. <i>Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen</i> , 28: 1027-1031.	2002	https://doi.org/10.1080/03680770.2001.11901873
Pérez-Martínez C, Sánchez-Castillo P. Winter dominance of <i>Ceratium hirundinella</i> in a southernnorth-temperate reservoir. <i>J Plankton Res</i> , 24: 89-96.	2002	https://doi.org/10.1093/plankt/24.2.89
Kasten, J. Inundation and isolation: dynamics of phytoplankton communities in seasonal inundated flood plain waters of the Lower Odra Valley National Park. <i>Limnologica</i> , 33: 99-111.	2003	https://doi.org/10.1016/S0075-9511(03)80039-7
Strojsová, A., et al. Seasonal study of extracellular phosphatase expression in the phytoplankton of a eutrophic reservoir. <i>Eur J Phycol</i> , 38: 295-306.	2003	https://doi.org/10.1080/09670260310001612628

Grigorszky I, et al. Deep chlorophyll maximum by <i>Ceratium hirundinella</i> (OF Müller) Bergh in a shallow oxbow in Hungary. <i>Hydrobiologia</i> , 506: 209-212.	2003	https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000008632.57769.19
Pongswat S, et al. Diversity of phytoplankton in the Rama IX Lake, a man-made lake, Pathumthani Province, Thailand. <i>Science Asia</i> , 30: 261-267.	2004	https://www.thaiscience.info/journals/Article/SCAS/10460154.pdf
Silverio M, et al. Consecuencias ecológicas del florecimiento de una dinoficea en el dique Sumampa (Catamarca). <i>Revista Ciencia y Técnica</i> .	2004	-
Mac Donagh M, et al. Colonization of a neotropical reservoir (Argentina) by <i>Ceratium hirundinella</i> (OF Müller) Bergh. <i>J Limnol</i> , 41: 291-299.	2005	https://doi.org/10.1051/limn/2005020
Rodríguez M, et al. Floraciones de algas en el Embalse San Roque (Córdoba). In XX Congreso Nacional del Agua y III Simposio de Recursos Hídricos del Cono Sur, Mendoza, Argentina.	2005	http://w.ina.gob.ar/archivos/publicaciones/Cirsa-Limnologia-16-FLORACIONES.pdf
Naselli-Flores L, Barone R. Water-level fluctuations in Mediterranean reservoirs: setting a dewatering threshold as a management tool to improve water quality. <i>Hydrobiologia</i> , 548: 85-99.	2005	https://doi.org/10.1007/s10750-005-1149-6
Ferrareze M, Nogueira M. Phytoplankton assemblages and limnological characteristics in lotic systems of the Paranapanema Basin (Southeast Brazil). <i>Acta Limnol Brasiliensia</i> , 18: 389-405.	2006	https://app.periodikos.com.br/article/627b11eb782aad05cf549225/pdf/alb-18-4-389.pdf
Quesada A, et al. Toxicity of <i>Aphanizomenon ovalisporum</i> (Cyanobacteria) in a Spanish water reservoir. <i>Eur J Phycol</i> , 41: 39-45.	2006	https://doi.org/10.1080/09670260500480926
Parodi E, et al. Cytomorphometric characterization of a population of <i>Ceratium hirundinella</i> fa. <i>austriacum</i> during a bloom in a reservoir of the Province of Buenos Aires, Argentina.	2007	http://dx.doi.org/10.1127/1864-1318/11/0125-045
Santos-Wisniewski M, et al. First record of the occurrence of <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans 1925, an invasive species in the hydroelectricity power plant Furnas Reservoir, MG, Brazil. <i>Braz J Biol</i> , 67: 791-793.	2007	https://doi.org/10.1590/S1519-69842007000400033
Stefaniak K, et al. Changes of summer phytoplankton communities in Lake Swarzędzkie in the 2000-2003 period. <i>Oceanol Hydrobiol Stud</i> 36:77-85	2007	-

Hansen G, Flaim G. Dinoflagellates of the Trentino province, Italy. J Limnol, 66: 107-141.	2007	https://doi.org/10.4081/jlimnol.2007.107
Çelekli A, et al. The phytoplankton community (except Bacillariophyceae) of lake Abant (Bolu, Turkey). Turk J Bot, 31: 109-124.	2007	https://journals.tubitak.gov.tr/botany/vol31/iss2/3
Rott E, et al. Phytoplankton community structure with special reference to species diversity in five tropical Asian water bodies. Aquatic ecosystems and development: Comparative Asian perspectives. Weikersheim, 81-120.	2008	-
Chu G, et al. Dinocyst microlaminations and freshwater "red tides" recorded in Lake Xiaolongwan, northeastern China. J Paleolimnol, 39: 319-333.	2008	https://doi.org/10.1007/s10933-007-9106-1
Rodríguez M, et al. Estudio del fitoplancton en el marco de monitoreo del Embalse San Roque (Cba). In Actas IV Congreso Argentino de Limnología, San Carlos de Bariloche. Argentina.	2008	https://www.ina.gov.ar/archivos/publicaciones/Cirsa-Limnologia-25-Fitoplancton-embalse-SR.pdf
Silverio M, et al. Variación poblacional de Ceratium hirundinella (Dinophyceae) en Embalses Eutróficos de Catamarca y su relación con parámetros ambientales. Huayllu-Bios, 3: 13-31.	2009	https://exactas.unca.edu.ar/HUAYLLUBIOS/num-3/1.pdf
Hart R, Wragg P. Recent blooms of the dinoflagellate Ceratium in Albert Falls Dam: History, causes, spatial features and impacts on a reservoir ecosystem and its zooplankton. Water, 35.	2009	10.4314/wsa.v35i4.76807
Fabre A, et al. El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay.	2010	https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/80575
Matsumura-Tundisi T, et al. Occurrence of Ceratium furcoides (Levander) Langhans 1925 bloom at the Billings Reservoir, São Paulo State, Brazil. Braz J Biol, 70: 825-829.	2010	https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000400013
Barker T, et al. Micro-scale structure in the chemistry and biology of a shallow lake. Freshwater Biol, 55: 1145-1163.	2010	https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02339.x
Lin S, et al. Spliced leader-based metatranscriptomic analyses lead to recognition of hidden genomic features in dinoflagellates. P Natl Acad Sci, 107: 20033-20038.	2010	https://doi.org/10.1073/pnas.1007246107

Oliveira H, et al. First record of <i>Ceratium</i> Schrank, 1973 (Dinophyceae: Ceratiaceae) in freshwater ecosystems in the semiarid region of Brazil. <i>Check List</i> , 7: 626-628.	2011	-
Katsiapi M, et al. Phytoplankton and water quality in a Mediterranean drinking-water reservoir (Marathonas Reservoir, Greece). <i>Environ Monit Assess</i> , 181: 563-575.	2011	https://doi.org/10.1007/s10661-010-1851-3
Noges P., et al. Increased nutrient loading and rapid changes in phytoplankton expected with climate change in stratified South European lakes: sensitivity of lakes with different trophic state and catchment properties. <i>Hydrobiologia</i> , 667: 255-270.	2011	https://doi.org/10.1007/s10750-011-0649-9
Bustamante Gil C, et al. Spatial and temporal change characterization of <i>Ceratium furcoides</i> in the equatorial reservoir Riogrande II, Colombia. <i>Acta Limnol Brasiliensia</i> , 24: 207-219.	2012	https://doi.org/10.1590/S2179-975X2012005000039
Léniz B, et al. Caracterización y comparación de la biomasa microfitorplanctónica en el curso inferior del río Biobío y la zona costera adyacente frente a Chile Central durante condiciones de otoño-invierno. <i>Lat Am J Aquat Res</i> , 40: 847-857.	2012	http://dx.doi.org/103856/vol40-issue4-fulltext-3
Licera C, et al. Cianobacterias en embalses de Córdoba, descripción taxonómica y ecológica. Informe. Instituto Nacional del Agua, Centro de Investigación de la Región Semiárida (INA-CIRSA), Córdoba-Argentina.	2012	-
Nishimura P. A comunidade fitoplanctônica nas represas Billings e Guarapiranga (Região Metropolitana de São Paulo). Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo.	2012	https://doi.org/10.11606/T.41.2012.tde-20052013-085202
Silva L, et al. Invasion of the dinoflagellate <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans 1925 at tropical reservoir and its relation to environmental variables. <i>Biota Neotropica</i> , 12: 93-100.	2012	https://doi.org/10.1590/S1676-06032012000200010
Jekatierynczuk-Rudczyk E, et al. Assessment of trophic state of four lakes in the Suwałki Landscape Park (NE Poland) based on the summer phyto-and zooplankton in comparison with some physicochemical parameters. <i>Current advances in algal taxonomy and its applications</i> , 205-225.	2012	-
Bilous O, et al. Phytoplankton communities in ecological assessment of the Southern Bug River upper reaches (Ukraine). <i>Ecohydrology & Hydrobiology</i> , 12: 211-230.	2012	https://doi.org/10.1016/S1642-3593(12)70205-7

Galarce L, et al. A new record of the non indigenous freshwater jellyfish <i>Craspedacusta sowerbii</i> Lankester, 1880 (Cnidaria) in Northern Patagonia. <i>BioInvasions Records</i> , 2: 263-270.	2013	https://pdfs.semanticscholar.org/eb72/003e7ee16254c4ac38fc22532f843bc17f66.pdf
Cortez M. Aspectos ecológicos e sua relação com o polimorfismo genético e a taxonomia convencional de cianobactérias da represa Billings. Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo.	2013	https://doi.org/10.11606/D.41.2013.tde-19032014-135142
Bressane L, et al. Análise da comunidade fitoplanctônica na represa de Furnas em Barranco Alto-MG. <i>Forum Amb da Alta Paulista</i> , 9: 51-68.	2013	-
Cavalcante K, et al. First record of expansive <i>Ceratium</i> species (Dinophyceae) in Southern Brazil, with notes on their dispersive patterns in Brazilian environments. <i>Check List</i> , 9: 862-866.	2013	https://doi.org/10.15560/9.4.862
Katsiapi M, et al. Different phytoplankton descriptors show asynchronous changes in a shallow urban lake (L. Kastoria, Greece) after sewage diversion. <i>Fund Appl Limnol</i> , 182: 219-30.	2013	-
Battes K, et al. Diversity of plankton communities from lake Zoreni (Transylvania, Romania). <i>Studia Universitatis Babes-Bolyai, Biologia</i> , 58(2).	2013	-
Eyo V, et al. Ecology and diversity of phytoplankton in the great Kwa River, Cross River State, Nigeria. <i>J Fish Aquat Studies</i> , 1: 1-7.	2013	-
Matthews M, Bernard, S. Characterizing the absorption properties for remote sensing of three small optically-diverse South African reservoirs. <i>Remote Sensing</i> , 5: 4370-4404.	2013	https://doi.org/10.3390/rs5094370
Martinet J, et al. Phytoplankton functional groups for ecological assessment in young sub-tropical reservoirs: case study of the Nam-Theun 2 Reservoir, Laos, South-East Asia. <i>J Limnol</i> , 73.	2014	10.4081/jlimnol.2014.958
Villabona-González S, et al. Biomasa de rotíferos de dos embalses con diferentes estados tróficos (Colombia) y su relación con algunas variables limnológicas. <i>Actual Biol</i> , 36: 149-162.	2014	http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0304-35842014000200006&script=sci_arttext
Montoya H, Komárková J. Cyanobacterial species, potentially forming water blooms in the Lake Titicaca (Peru). <i>Arnaldia</i> , 21: 381-390.	2014	https://biostor.org/reference/208797

Meichtry de Zaburlin N, et al. Primer registro del dinoflagelado invasor <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans 1925 en la Argentina y su distribución en el área de influencia del Embalse Yacyretá (río Paraná). <i>Limnetica</i> , 33: 153-160.	2014	10.23818/limn.33.12
Tracanna B, et al. Assessment of the physicochemical variables of a subtropical reservoir in the northwest of Argentina. <i>Acta Limnol Bras</i> , 26, 367-380.	2014	https://doi.org/10.1590/S2179-975X2014000400005
Daga I, Pierotto M. Variaciones espaciales y temporales de organismos autótrofos en el embalse La Quebrada (Córdoba, Argentina). <i>Arnaldoa</i> , 21.	2014	https://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/view/114/111
Galea M, et al. Estudio del fitoplancton aguas arriba y aguas abajo del Dique Embalse Casa de Piedra, río Colorado (La Pampa, Argentina). <i>Biol Acuát</i> , 30: 287-300.	2014	https://revistas.unlp.edu.ar/bacuatica/article/view/7724
Jati S, et al. First record of the occurrence of <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans (Dinophyceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. <i>Braz J Biol</i> , 74: 235-236.	2014	https://doi.org/10.1590/1519-6984.19313
Teneva I, et al. Ecological status assessment of Skalski lakes (Bulgaria). <i>Biotechnol Biotec Eq</i> , 28: 82-95.	2014	https://doi.org/10.1080/13102818.2014.901682
Belkinova D, et al. Phytoplankton based assessment of ecological status of Bulgarian lakes and comparison of metrics within the water framework directive. <i>Appl Ecol Env Res</i> , 12: 83-103.	2014	https://www.aloki.hu/pdf/1201_083103.pdf
Jekatierynczuk-Rudczyk E, et al. The trophic status of Suwałki Landscape Park lakes based on selected parameters (NE Poland). <i>Environ Monit Assess</i> , 186: 5101-5121.	2014	https://doi.org/10.1007/s10661-014-3763-0
Ersanlı E, Gönülol A. Phytoplankton dynamics and some physicochemical variables in Cakmak Reservoir (Samsun, Turkey). <i>Manas J Agric Vet Life Sci</i> , 4: 7-25.	2014	https://dergipark.org.tr/en/pub/mjavl/issue/40468/484816#article_cite
Sambitan K, et al. Phytoplankton community structure of Lake Paoay and Lake Mohicap with notes on the first record of <i>Ceratium</i> (Dinophyta) in Lake Paoay. <i>Acta Manilana</i> , 63: 45-54.	2015	https://doi.org/10.53603/actamanil.63.2015.dmog3901
Li Z, et al. Resting stages of freshwater algae from surface sediments in Paldang Dam Lake, Korea. <i>Nova Hedwigia</i> , 101: 475-500.	2015	-

Salusso M, Moraña, L. Fitoplancton de dos embalses de la Provincia de Salta. Lhawet, 4.	2015	http://170.210.203.22/index.php/Lhawet/article/view/273
Barreda M. Invasión del dinoflagelado <i>Ceratium</i> en una laguna de la llanura aluvial del río Paraná”. Tesina de grado. Universidad Nacional del Litoral.	2015	-
Moreira R, et al. First record of <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyta), an invasive species, in a temporary high-altitude lake in the Iron Quadrangle. <i>Braz J Biol</i> , 75: 98-103.	2015	https://doi.org/10.1590/1519-6984.08013
Simmonds B, et al. Phytoplankton succession and the formation of a deep chlorophyll maximum in a hypertrophic volcanic lake. <i>Hydrobiologia</i> , 745: 297-312.	2015	https://doi.org/10.1007/s10750-014-2114-z
Morales E. Floración de <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans en la represa de La Angostura, Bolivia. <i>Acta Nova</i> , 7, 389.	2016	http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?pid=S1683-07892016000200003&script=sci_arttext&tlng=es
Almanza V, et al. Características morfológicas y limnológicas de las floraciones de <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyta) en un lago somero de Chile Central. <i>Limnetica</i> , 35: 253-268.	2016	10.23818/limn.35.21
Mariñelarena A, et al. Un caso inusual de eutrofización en el Embalse Río Tercero: el posible rol de dos bioinvasores.	2016	https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/108681
Cavalcante K, et al. Towards a comprehension of <i>Ceratium</i> invasion in Brazilian freshwaters: autecology of <i>C. furcoides</i> in subtropical reservoirs. <i>Hydrobiologia</i> , 771: 265-280.	2016	https://doi.org/10.1007/s10750-015-2638-x
Rocha L. A ocorrência de <i>Ceratium</i> em um reservatório subtropical: aspectos ecológicos e sua influência sobre a estrutura da comunidade fitoplanctônica.	2016	https://lume.ufrgs.br/handle/10183/170303
De Almeida C, et al. The effectiveness of conventional water treatment in removing <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans, <i>Microcystis</i> sp. and microcystins. <i>Water SA</i> , 42: 606-611.	2016	https://hdl.handle.net/10520/EJC197074
Rosini E, et al. Changes in phytoplankton spatial and temporal dynamics in a Brazilian tropical oligotrophic reservoir after net cage installation. <i>Braz J Bot</i> , 39: 569-581.	2016	https://doi.org/10.1007/s40415-016-0259-x

Oterino A, de Munain Martínez, I. Biodiversidad microscópica en el embalse de La Grajera (Logroño). <i>Zubía</i> , 33: 129-210.	2016	-
Rodas G, et al. Primer reporte de floración por <i>Ceratium furcoides</i> en el Lago Ypacaraí-Dep Central, Paraguay. <i>Steviana</i> , 9: 26-35.	2017	https://revistascientificas.una.py/index.php/stevia/article/view/1202
Bordet F, et al. Influence of light and mixing regime on bloom-forming phytoplankton in a subtropical reservoir. <i>River Res Appl</i> , 33: 1315-1326.	2017	https://doi.org/10.1002/rra.3189
Nogueira, L. Master dissertation, Universidad de la República.	2017	-
Daga C, et al. Contribución al conocimiento de cianobacterias de dos embalses de la provincia de Córdoba, Argentina. <i>Lilloa</i> , 54: 1-10.	2017	https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S2346-96412017000200005&script=sci_arttext
Cavalcante K, et al. Diversity of freshwater dinoflagellates in the State of Paraná, southern Brazil, with taxonomic and distributional notes. <i>Fottea</i> , 17: 240-263.	2017	10.5507/fot.2016.026
Cassol A, et al. Climate factors and limnological conditions shaping phytoplankton community in two subtropical cascading reservoirs. <i>Acta Limnol Bras</i> , 29: 17.	2017	https://doi.org/10.1590/S2179-975X6316
Jati S, et al. Phytoplankton community in the last undammed stretch of the Paraná River: considerations on the distance from the dam. <i>Acta Limnol Bras</i> , 29: 112.	2017	https://doi.org/10.1590/S2179-975X4017
Campanelli L, et al. Record of the occurrence of dinoflagellate <i>C. furcoides</i> in a fish farming lake located in the countryside of São Carlos. <i>Braz J Biol</i> , 77: 426-427.	2017	https://doi.org/10.1590/1519-6984.06916
Napiórkowska-Krzebietke A, et al. Taxa-specific eco-sensitivity in relation to phytoplankton bloom stability and ecologically relevant lake state. <i>Acta Oecologica</i> , 81: 10-21.	2017	https://doi.org/10.1016/j.actao.2017.04.002
Wiśniewska M, Dembowska, E. Phytoplankton dynamics in relation to physicochemical conditions in large, stratified Lake Charzykowskie (Northern Poland). <i>Oceanol Hydrobiol St</i> , 46: 260-270.	2017	https://doi.org/10.1515/ohs-2017-0028
Munawar M, et al. Phytoplankton ecology of a culturally eutrophic embayment: Hamilton Harbour, Lake Ontario. <i>Aquat Ecosyst Health</i> , 20: 201-213.	2017	https://doi.org/10.1080/14634988.2017.1307678

Lemke M, et al. Diversity and succession of pelagic microorganism communities in a newly restored Illinois River floodplain lake. <i>Hydrobiologia</i> , 804: 35-58.	2017	https://doi.org/10.1007/s10750-017-3327-8
Fadel A, Slim K. Evaluation of the physicochemical and environmental status of Qaraaoun Reservoir. The Litani River, Lebanon: An Assessment and Current Challenges, 71-86.	2018	https://doi.org/10.1007/978-3-319-76300-2_5
Jaramillo-Londoño J. <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyceae): un dinoflagelado invasor en un embalse alto andino ecuatorial en Colombia. <i>UDCA Actualidad & Divulgación Científica</i> , 21: 265-269.	2018	https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n1.2018.686
Bedoya Brandacher, J. Composición del fitoplancton en la Represa de “El Pañe” entre abril a septiembre, Arequipa–2017.	2018	-
Ascencio E, et al. Estudio morfológico de <i>Naiadinium polonicum</i> (Dinophyceae) reportado por primera vez en aguas continentales de Chile. <i>Gayana. Botánica</i> , 75: 438-446.	2018	http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432018000100438
Salusso M, Moraña L. Comparative reservoir limnology in Juramento (Salta) and Salí-Dulce (Tucumán) Basins in Argentina. <i>Revista de Biología Tropical</i> , 66: 415-427.	2018	http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i1.26613
Tiberi A, et al. Análisis preliminar del fitoplancton y variables fisicoquímicas del embalse Río Hondo. <i>Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA</i> , 4: 272-276.	2018	-
Torremorell A, et al. Phytoplankton limitation in Patagonian and Pampean shallow lakes: effect of phosphorus and light. <i>Hydrobiologia</i> , 816: 91-105.	2018	https://doi.org/10.1007/s10750-017-3181-8
Martínez de Marco S, et al. Assessment of phytoplankton in the Escaba reservoir, Tucumán, Argentina, in order to characterize the water quality.	2018	10.31055/1851.2372.v53.n4.21976
Silva W, et al. Expansion of invasive <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyta) toward north-central Brazil: new records in tropical environments. <i>Acta Limnol Bras</i> , 30: e210.	2018	https://doi.org/10.1590/S2179-975X5917
Bau A. Variação espacial e temporal da comunidade fitoplancônica em uma seção do Reservatório de Passo Real, RS, Brasil.	2018	http://repositorio.ufsm.br/handle/1/15176
Rakočević J. Phytoplankton of Šasko Lake and the first record of invasive toxin-producing cyanobacterium <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Seenayya	2018	https://doi.org/10.37828/em.2018.16.10

et Subba Raju, 1972 in Montenegro. <i>Ecologica Montenegrina</i> , 16: 114-123.		
Çelekli A, et al. Bioassessment of ecological status of three Aegean reservoirs based on phytoplankton metrics. <i>Turk J Wat Sci Manag</i> , 2: 76-99.	2018	https://doi.org/10.31807/tjwsm.363608
El-Otify A, Iskaros I. Plankton and zoobenthos in the southern region of the Nile in Egypt: Community structure, relative abundance and diversity. <i>Asian J Biol</i> , 5: 1-23.	2018	https://doi.org/10.9734/AJOB/2018/38461
Golubkov M, et al. Effects of environmental variables on midsummer dinoflagellate community in the Neva Estuary. <i>Oceanologia</i> , 61: 197-207.	2019	https://doi.org/10.1016/j.oceano.2018.09.001
Crossetti L, et al. Phytoplankton species interactions and invasion by <i>Ceratium furcoides</i> are influenced by extreme drought and water-hyacinth removal in a shallow tropical reservoir. <i>Hydrobiologia</i> , 831: 71-85.	2019	https://doi.org/10.1007/s10750-018-3607-y
Gao Y, et al. Distribution patterns of dinoflagellate communities along the Songhua River. <i>PeerJ</i> , 7: 6733.	2019	https://doi.org/10.7717/peerj.6733
Zarei Darki B, Krakhmalnyi A. Biotic and abiotic factors affecting the population dynamics of <i>Ceratium hirundinella</i> , <i>Peridinium cinctum</i> , and <i>Peridiniopsis elpatiewskyi</i> . <i>Diversity</i> , 11: 137.	2019	https://doi.org/10.3390/d11080137
Toma J. Algae as indicator to assess trophic status in Dokan Lake, Kurdistan region of Iraq. <i>J Pure Appl Sci</i> , 31: 57-64.	2019	10.24271/garmian.scpas12
Aziz F, Yasin, S. Twenty-five new records of algae in eight artificial fish ponds in Erbil. <i>J Pure Appl Sci</i> , 31: 1-16.	2019	10.21271/zjpas.31.4.16
González-Madina L, et al. Drivers of cyanobacteria dominance, composition and nitrogen fixing behavior in a shallow lake with alternative regimes in time and space, Laguna del Sauce (Maldonado, Uruguay). <i>Hydrobiologia</i> , 829: 61-76.	2019	https://doi.org/10.1007/s10750-018-3628-6
Oliveira C, et al. Phytoplankton responses to an extreme drought season: A case study at two reservoirs from a semiarid region, Northeastern Brazil. <i>J Limnol</i> , 78.	2019	https://doi.org/10.4081/jlimnol.2019.1869
Martínez E. Cianobacterias planctónicas como indicadores de calidad de aguas de lagunas en contextos agrícolas del departamento de Bella Vista (Corrientes,	2019	http://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/33852

Argentina). Tesina de grado. Universidad Nacional del Noroeste, Corrientes.		
Roriz P, et al. Primeiro registro da espécie invasora <i>Ceratium furcoides</i> (levander) langhans 1925 (dinophyceae) no lago Paranoá, Distrito Federal. <i>Oecologia Australis</i> , 23.	2019	-
Silva L, et al. Invasion and establishment of <i>Ceratium furcoides</i> in an urban lake in Porto Alegre, RS, Brazil. <i>Acta Bot Bras</i> , 33: 654-663.	2019	https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0429
Bortolini J, et al. Response to environmental, spatial, and temporal mechanisms of the phytoplankton metacommunity: comparing ecological approaches in subtropical reservoirs. <i>Hydrobiologia</i> , 830, 45-61.	2019	https://doi.org/10.1007/s10750-018-3849-8
Rodrigues E, et al. Phytoplankton, trophic state and ecological potential in reservoirs in the State of São Paulo, Brazil. <i>Revista Ambiente & Água</i> , 14: 2428.	2019	https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2428
Grigorsky I, et al. Drivers of the <i>Ceratium hirundinella</i> and <i>Microcystis aeruginosa</i> coexistence in a drinking water reservoir. <i>Limnetica</i> , 38: 41-53.	2019	https://doi.org/10.23818/limn.38.11
Islam M, et al. Zooplankton abundance, diversity and its relationship with physicochemical parameters of three ponds in Chittagong University, Bangladesh. <i>Int J Fish Aquat St</i> , 8: 626-632.	2020	-
Song J, et al. Spatial and temporal variations in the plankton community because of water and sediment regulation in the lower reaches of Yellow River. <i>J Clean Prod</i> , 261: 120972.	2020	https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120972
Quispe C, Quispe, D. Presence and distribution <i>Ceratium hirundinella</i> (OF Müller) Dujardin in the mouth river of the Ramis River–Titicaca Lake. <i>Investigación Universitaria</i> , 10: 316-323.	2020	https://orcid.org/0000-0002-1493-9209
Ferrari G. Water flow and temperature as main factors that regulate phytoplankton and cyanobacterial blooms in a large subtropical river. <i>Innotec</i> , 30-66.	2020	https://doi.org/10.26461/20.07
Daga I, et al. Composición algal y bioindicadores de calidad de agua. Caso de estudio: Embalse San Roque, Córdoba. Argentina. <i>CURIHAM</i> , 26: 1-11.	2020	https://doi.org/10.35305/curiham.v26i0.143
Accattatis V, et al. Identifying invaders: the case of <i>Ceratium furcoides</i> (Gonyaulacales, Dinophyceae) in South America. <i>J Phycol</i> , 56: 1362-1366.	2020	https://doi.org/10.1111/jpy.13015

Macêdo R, et al. Spreading of the invasive dinoflagellate <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans throughout the Paraíba do Sul ecoregion, South America, Brazil. <i>Limnetica</i> , 40: 233-246.	2020	10.23818/limn.40.16
Loaiza-Restano A, et al. Spatial and temporal variation of the phytoplankton structure in cascading oligotrophic reservoirs of southeast Brazil. <i>Acta Limnol Bras</i> , 32: 12.	2020	https://doi.org/10.1590/S2179-975X7618
Dias A, Tucci, A. <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans: first record in Nova Avanhandava reservoir, Southeast Brazil. <i>Hoehnea</i> , 47: 742019.	2020	https://doi.org/10.1590/2236-8906-74/2019
Gecheva G, et al. Phytoplankton, Macrophytes and Macroinvertebrates in Reservoirs: Response to Eutrophication. <i>Ecologia Balkanica</i> , 12.	2020	http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/EB/2020_vol12_iss2/153-164_eb.20133.pdf
Ułańczyk R, et al. Phytoplankton production in relation to simulated hydro-and thermodynamics during a hydrological wet year–Goczałkowice reservoir. <i>Ecol Indic</i> , 121: 106991.	2020	https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106991
Karpowicz M, et al. Effect of eutrophication and humification on nutrient cycles and transfer efficiency of matter in freshwater food webs. <i>Hydrobiologia</i> , 847: 2521-2540.	2020	https://doi.org/10.1007/s10750-020-04271-5
Klimaszyk P, et al. The effect of human impact on the water quality and biocoenoses of the soft water lake with isoetids: Lake Jeleń, Poland. <i>Water</i> , 12: 945.	2020	https://doi.org/10.3390/w12040945
Adamczuk M, et al. Do anthropogenic hydrological alterations in shallow lakes affect the dynamics of plankton? <i>Ecol Indic</i> , 114: 106312.	2020	https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106312
Skaar M. Blooms of cyanobacteria and toxin production in Lake Vikevannet, Lake Haugestadvannet and Lake Hillestadvannet 2019. Master's thesis, University of South-Eastern Norway.	2020	https://hdl.handle.net/11250/2721135
Moldoveanu M, et al. The assessment of biotic composition related to environmental extremes conditions in natural salted Lake Letea. <i>Rom Biotech Lett</i> , 25: 1641-1650.	2020	https://e-repository.org/rbl/vol.25/iss.3/18.pdf
Çelekli A, Lekesiz, Ö. Limno-ecological assessment of lentic ecosystems in the western Mediterranean basin (Turkey) using phytoplankton indices. <i>Environ Sci Pollut R</i> , 28: 3719-3736.	2020	https://doi.org/10.1007/s11356-020-10697-0

Owino O, et al. Phytoplankton community structure and ecology in Lake Naivasha, Kenya. <i>International J Fish Aquat St</i> , 8: 478-483.	2020	-
Mhlanga L, et al. A survey of phytoplankton and zooplankton communities in the newly created Tugwi-Mukosi reservoir, Zimbabwe, during the filling phase. <i>Afr J Aquat Sci</i> , 45: 466-474.	2020	https://doi.org/10.2989/16085914.2020.1733926
Kassem D, et al. Phytoplankton heterogeneity in subtropical-semiarid reservoir with special reference to spring cyanobacterial bloom. <i>Egypt J Phycol</i> , 21: 55-90.	2020	10.21608/egyjs.2020.132192
Haroon A, et al. Research article biological characterization of water in damietta branch of the Nile River, Egypt. <i>Pak J Biol Sci</i> , 23: 861-882.	2020	10.3923/pjbs.2020.861.882
Saeiam Y, Kulabtong S. Water quality factors related to phytoplankton population changes in the estuary ecosystem: A case study of Mae Klong and Tha Chin Estuary. <i>Int J Agric Tech</i> , 17: 1907.	2021	https://www.thaiscience.info/Journals/Article/IJAT/10994662.pdf
Sulawesty F, et al. Phytoplankton community structure in Menjer Lake, Central Java. In <i>IOP Conference Series: Earth and Environmental Science</i> , 869: 012037.	2021	10.1088/1755-1315/869/1/012037
Barshile J, et al. Phytoplanktonic diversity study in Deothan reservoir (Maharashtra).	2021	-
Wu T, et al. Effects of algae proliferation and density current on the vertical distribution of odor compounds in drinking water reservoirs in summer. <i>Environ Pollut</i> , 288: 117683.	2021	https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117683
Malashenkov D, et al. Comparative analysis of freshwater phytoplankton communities in two lakes of Burabay National Park using morphological and molecular approaches. <i>Sci Rep</i> , 11: 16130.	2021	https://doi.org/10.1038/s41598-021-95223-z
Bustamante-Gil C, et al. Checklist, new records, and taxonomic annotations of freshwater thecate dinoflagellate in Colombia. <i>Phytotaxa</i> , 509: 135-167.	2021	10.11646/phytotaxa.509.2.1
Gil-Guarín I, et al. Dinámica temporal y espacial de los grupos funcionales del fitoplancton en un embalse tropical colombiano. <i>Limnetica</i> , 41: 339-354.	2021	10.23818/limn.41.20
Rodríguez-López L, et al. Spatio-temporal analysis of chlorophyll in six Araucanian lakes of Central-South Chile from Landsat imagery. <i>Ecol Informat</i> , 65: 101431.	2021	https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2021.101431

Pacheco J, et al. Invasion of <i>Ceratium furcoides</i> in subtropical lakes in Uruguay: Environmental drivers and fish kill record during its bloom. <i>Biol Invasions</i> , 23: 3597-3612.	2021	https://doi.org/10.1007/s10530-021-02600-w
Boltovskoy D, et al. Multiannual trends (2004–2019) in the abundance of larvae of the invasive mussel <i>Limnoperna fortunei</i> and crustacean zooplankton in a large South American reservoir. <i>Aust Ecol</i> , 46: 1221-1235.	2021	https://doi.org/10.1111/aec.13058
Gianello D, et al. Estudio de la calidad de agua y su vinculación con los ensamblajes de microfitoplancton y macroinvertebrados bentónicos de la Laguna del Parque Unzué (Entre Ríos).	2021	http://hdl.handle.net/11336/183770
Kruk C, et al. A trait-based approach predicting community assembly and dominance of microbial invasive species. <i>Oikos</i> , 130: 571-586.	2021	https://doi.org/10.1111/oik.07694
Oliveira C, et al. Temporal occurrence of <i>Ceratium furcoides</i> (Dinophyceae: Ceratiaceae) during an extreme drought season in Pernambuco state, Northeast Brazil. <i>Rodriguésia</i> , 72: 02019.	2021	https://doi.org/10.1590/2175-7860202172043
Severiano J, et al. Invasion of the dinoflagellate <i>Ceratium furcoides</i> (Levander) Langhans 1925 in South America: record of the pattern of expansion and persistence in tropical reservoirs in Northeastern Brazil. <i>Biol Invasions</i> , 24: 217-233.	2021	https://doi.org/10.1007/s10530-021-02641-1
Napiórkowska-Krzebietke A, Skrzypczak, A. A new charophyte habitat with a stabilized good ecological potential of mine water. <i>Sci Rep-UK</i> , 11: 14564.	2021	https://doi.org/10.1038/s41598-021-93827-z
Goździewska A, et al. Functional responses of zooplankton communities to depth, trophic status, and ion content in mine pit lakes. <i>Hydrobiologia</i> , 848: 2699-2719.	2021	https://doi.org/10.1007/s10750-021-04590-1
Hanžek N, et al. Assessing ecological status in karstic lakes through the integration of phytoplankton functional groups, morphological approach and environmental DNA metabarcoding. <i>Ecol Indic</i> , 131: 108166.	2021	https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108166
Mohammed K, Mahrán B. Environmental studies on phytoplankton diversity in drainage water of main drains in Eastern Delta, case study. <i>The Egypt J Aquat Res</i> , 48: 211-216.	2022	https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.09.007

Pham T, et al. Factors affecting the seasonal succession of phytoplankton functional groups in a tropical floodplain reservoir in Vietnam. <i>Water Infrastr, Ecosyst Soc</i> , 71: 401-414.	2022	https://doi.org/10.2166/aqua.2022.110
Mendoza-Carbajal L, et al. Invasive species of <i>Ceratium</i> Schrank, 1973 (Dinophyceae: Ceratiaceae) in freshwater bodies from Peru.	2022	10.15381/rpb.v29i4.23765
Contino L. Estudio de la fitoflora del río Colorado (Tucumán, Argentina) en relación a parámetros físicoquímicos y su implicancia con la calidad del agua. Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Tucumán.	2022	-
Corrêa R, et al. First report of the invasive <i>Ceratium furcoides</i> in Paracambi Reservoir, Rio de Janeiro: Risks to the world's largest domestic water treatment plant. <i>Lakes & Reservoirs: Res Manag</i> , 27: e12400.	2022	https://doi.org/10.1111/lre.12400
Amorim C, Moura, A. Habitat templates of phytoplankton functional groups in tropical reservoirs as a tool to understand environmental changes. <i>Hydrobiologia</i> , 849: 1095-1113.	2022	https://doi.org/10.1007/s10750-021-04750-3
Vieira da Silva M, et al. The phytoplankton community as a descriptor of environmental variability: a case study in five reservoirs of the Paraná River basin. <i>Acta Limnol Bras</i> , 34, e1.	2022	https://doi.org/10.1590/S2179-975X4621
Sendra M, et al. <i>C. furcoides</i> (Levander) Langhans in reservoirs at the Ebro watershed, Spain and Sao Paulo state, Brazil. <i>Limnetica</i> , 41: 219-234.	2022	http://hdl.handle.net/11449/241427
Toušová Z, et al. Estrogenic and retinoid-like activity in stagnant waters with mass occurrence of water blooms. <i>Sci Total Environ</i> , 852: 158257.	2022	https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158257
Poniewozik M, Lenard T. Phytoplankton composition and ecological status of lakes with cyanobacteria dominance. <i>Int J Env Res Pub He</i> , 19: 3832.	2022	https://doi.org/10.3390/ijerph19073832
Okhapkin A, et al. Composition and structure of phytoplankton of Lake Svetloyar (Russia). <i>Inland Water Biol</i> , 15: 543-554.	2022	https://doi.org/10.1134/S1995082922050169
Stanislavskaya E, et al. Algaeflora of Lakes in the Kurgalsky Nature Reserve (Leningrad Oblast). <i>Biology Bulletin</i> , 49: 1814-1820.	2022	https://doi.org/10.1134/S1062359022100181

Bazarova, B. B., et al. Biodiversity of the Ingoda River ecosystem. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 62: 012006.	2022	10.1088/1755-1315/962/1/012006
Pearman J, et al. Human access and deterministic processes play a major role in structuring planktonic and sedimentary bacterial and eukaryotic communities in lakes. PeerJ, 10: 14378.	2022	https://doi.org/10.7717/peerj.14378
Jabbi A, Isah, B. The zooplankton and environmental characteristics of Yardantsi Reservoir, Gusau, Nigeria. Zoologist, 21: 1-7.	2022	10.4314/tzool.v21i1.1
Barinova S, et al. Phytoplankton Diversity and Bioindication of the Lakes in the Burabay National Natural Park, Northern Kazakhstan. Ecologies, 4: 242-268.	2023	https://doi.org/10.3390/ecologies4020017
Rojas-Castillo O, et al. Drivers and ecology of C. furcoides invasion of a Brazilian subtropical reservoir and its interaction with the phytoplankton community. Limnologica, 101: 126080.	2023	https://doi.org/10.1016/j.limno.2023.126080
Álvarez Dalinger F. Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Salta.	2023	
Louati I, et al. The phyto-bacterioplankton couple in a shallow freshwater ecosystem: Who leads the dance? Harmful Algae, 126: 102436.	2023	https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102436
Dochin K. Using phytoplankton as a tool for evaluating changes in the ecological status of two Bulgarian reservoirs. Bulg J Agric Sci, 29.	2023	https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20230188924
Znavor P, et al. Spatial and temporal variability of methane emissions and environmental conditions in a hyper-eutrophic fishpond. Biogeosciences, 20: 4273-4288.	2023	https://doi.org/10.5194/bg-20-4273-2023
Pelechata A, et al. Climate features or the composition of submerged vegetation? Which factor has a greater impact on the phytoplankton structure in temperate lakes? Ecol Indic, 146: 109840.	2023	https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109840
Šimunović M, et al. Phytoplankton Diversity of a Natural Karst Lake Combining Morphological and Molecular Approaches. Water, 15: 1379.	2023	https://doi.org/10.3390/w15071379

Sección A3

Líneas de comando utilizadas para:

Descargar la información de cada proyecto de Mgnify al cluster Pirayú:

```
for MGYS in MGYS00001990 MGYS00002157 MGYS00002183 MGYS00001720 MGYS00005530 MGYS00002298  
MGYS00002282 MGYS00004238 MGYS00005115 MGYS00002543 MGYS00005582 MGYS00005250 MGYS00004312  
MGYS00004312 MGYS00004467 MGYS00004475 MGYS00004449 MGYS00004401 MGYS00004531 MGYS00001658; do  
curl -X GET https://www.ebi.ac.uk/metagenomics/api/v1/studies/$MGYS > $MGYS.json; done
```

Unificar archivos .json en uno solo:

```
jq -rc < *.json '.' | paste -d $'\n' MGYS* > final.json
```

El clustering de secuencias cortas:

```
/usearch11      -cluster_fast      ceratium_seqs_V4_sorted.fasta      -id      1.0      -centroids  
output_centroids_seqs_V4.fasta -uc output_clusters_seqs_V4.uc
```

Tabla A3. Información sobre las secuencias del género *Ceratium* incluidas en los análisis filogenéticos y el cálculo de estadísticos por clado. EEUU: Estados Unidos.

Secuencia_ID	Clado	Nombre ambiente	Tipo de ambiente	País	Latitud	Longitud	Fecha de muestreo
GU647183 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-1	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
GU647187 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-1	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
GU647179 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-1	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
GU647172 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-2	Long Island Sound	Estuario	EEUU	41.065959	-73.446089	31/5/2007
PQ323381 <i>Ceratium_furcoides</i>	Cer-2	Regadera	Embalse	Colombia	4.398815	-74.141703	03/2017
DQ487192 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-2	Garden	Estanque	EEUU	41.18082	-81.654073	19/6/2005
AY460574 <i>Ceratium_sp</i>	Cer-2	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
MK350558 <i>Ceratium_sp</i>	Cer-2	Thoropa taophora	anfibio	Brasil	-23.733774	-45.738253	15/2/2015
GU647181 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-2	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
GU647188 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-2	Mirror	Laguna	EEUU	41.806964	-72.247211	1/6/2007
PQ323382 <i>Ceratium_furcoides</i>	Cer-2	Regadera	Embalse	Colombia	4.398815	-74.141703	03/2017
AY443014 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-2	Cultivo	Cultivo	NA	NA	NA	NA
MW139960 <i>Ceratium_sp</i>	NA	Superior	Lago	EEUU	47.380334	-90.258173	NA
PRJEB34585_530 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_530 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_530 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017
PRJEB36925_3789 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Garda	Lago	Italia	45.593523	10.624365	NA
PRJEB34585_380 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_1204 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_1529 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_1363 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_344 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_344 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_344 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017
PRJEB34585_580 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_1545 <i>Ceratium_hirundinella</i>	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017

EU025021 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Wallersee	Lago	Austria	47.913686	13.172589	NA
PRJEB34585_1016 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
PRJEB34585_1016 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_1016 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017
PRJEB34585_1272 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_1272 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017
PRJEB34585_1179 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Ammersee (Diessen)	Lago	Alemania	47.953598	11.113119	04/2017
PRJEB34585_1179 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Starnberger See	Lago	Alemania	47.986118	11.343263	04/2017
PRJEB34585_1633 Ceratium_hirundinella	Cer-3	Worth	Lago	Alemania	48.069098	11.194344	04/2017
Br_24 Ceratium_hirundinella	NA	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	
Broa_07599 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_05673 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_07892 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_08702 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13271 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13941 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_09261 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
PRJNA486319_22987 Ceratium_hirundinella	Cer-4	Saint-Charles	Río	Canadá	46.862514	-71.368861	26/7/2016
Broa_14569 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_12518 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_11487 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13088 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13440 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13435 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13948 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13943 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13938 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_11169 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_09260 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13764 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	

Broa_14133 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14344 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13947 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Br_44 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-22.38179	-49.46218	
Br_46 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-22.38179	-49.46218	
Broa_06324 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Br_28 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	
Broa_09707 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13771 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13265 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_11711 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_05962 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14343 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10755 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13260 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10644 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10849 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_05621 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10754 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Br_22 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-21.322692	-49.511829	
Broa_10946 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Br_29 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	
Br_45 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-22.38179	-49.46218	
Broa_01447 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10346 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_07994 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_10850 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_08946 Ceratium_hirundinella	Cer-4	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
EukBank_2 Ceratium_hirundinella	Cer-4	Sanabria	Lago	España	42.1205472	-6.72531667	
Br_14 Ceratium_hirundinella	Cer-4	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	

Broa_13269 Ceratium_hirundinella	Cer-5	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14568 Ceratium_hirundinella	Cer-5	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14341 Ceratium_hirundinella	Cer-5	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_00136 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_00096 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Br_30 Ceratium_furcoides	Cer-6	Parque Ecológico Eugenio Walter	Laguna	Brasil	-23.293106	-47.655348	
EukBank_6 Ceratium_furcoides	Cer-6	Paraná	Río	Argentina	-60.55011	-31.68562	
Parana_2996 Ceratium_furcoides	Cer-6	Paraná	Río	Argentina	-60.55011	-31.68562	
Broa_11968 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_12093 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_12389 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13272 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13266 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13949 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14571 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_13775 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14313 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14108 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14308 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
Broa_14819 Ceratium_furcoides	Cer-6	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	
JQ639759 Ceratium_hirundinella	NA	s/n	s/n	China	30.546045	114.356045	
Br_4 Ceratium_furcoides	NA	s/n	Laguna	Brasil	-21.322692	-49.511829	
JQ639758 Ceratium_furcoides	Cer-7	s/n	s/n	China	30.546045	114.356045	
JQ639757 Ceratium_furcoides	Cer-7	s/n	s/n	China	30.546045	114.356045	
MK567886 Ceratium_furcoides	Cer-7	Colastinecito de las cruces	Arroyo	Argentina	-60.52753	-31.65214	
PRJNA386242_4098 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_38631 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	18/3/2016
PRJNA386242_3037 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016

PRJNA386242_21591	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	22/7/2015
PRJNA386242_15620	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_20925	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	23/3/2016
PRJNA386242_4606	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_18467	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_21752	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_30629	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_28509	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_17386	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_12031	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_12385	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_33495	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_612	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_25895	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_24419	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_26589	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_22709	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_20079	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_3534	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_17249	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_28186	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_17761	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_16461	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_26437	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_152	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_33762	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_9788	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_28360	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_9981	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_19480	Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016

PRJNA386242_22157 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_38947 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
Br_6 Ceratium_hirundinella	Cer-7	s/n	Embalse	Brasil	-21.891453	-51.817265	-
PRJNA386242_30422 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_1683 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	18/3/2016
PRJNA386242_9536 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_3504 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_20819 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_2851 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_27556 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_30645 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_7929 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_39523 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_982 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	24/3/2016
PRJNA386242_34153 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_30893 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_24004 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_18153b Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	18/3/2016
PRJNA386242_18049 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_32608 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_15833 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_28290 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_19460 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_22954 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_167 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_8351 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	18/3/2016
PRJNA386242_31592 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_8158 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_39941 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_28232 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016

PRJNA386242_35100 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_10127 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	10/4/2016
Br_34 Ceratium_furcoides	Cer-7	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Br_15 Ceratium_furcoides	Cer-7	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
PRJNA386242_6408 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_21319 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_14239 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_32583 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_38515 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_9646 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_15489 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_15789 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_27997 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_40041 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_37213 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_17278 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_1337 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_23 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_32529 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_24354a Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_38870 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_19208 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_32917 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_7849 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_30608 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_10968 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_25277 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_36075 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_32467 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_1275 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016

PRJNA386242_20023 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_9007 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_5139 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_11013 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_10073 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_10859 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_21756 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_10845 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_26416 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_38635 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_25013 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
PRJNA386242_5470 Ceratium_furcoides	Cer-7	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	11/4/2016
Broa_00090 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_07051 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_08947 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10347 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_07410 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_09262 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_08518 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_19 Ceratium_furcoides	Cer-8	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_10547 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_09622 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14342 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13087 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13946 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13944 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_15150 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14847 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13604 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00109 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-

Br_37 Ceratium_furcoides	Cer-8	s/n	Laguna	Brasil	-21.322692	-49.511829	-
Br_27 Ceratium_furcoides	Cer-8	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_06407 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_8 Ceratium_furcoides	Cer-8	s/n	Embalse	Brasil	-21.891453	-51.817265	-
Broa_00030 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00786 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00601 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_25 Ceratium_furcoides	Cer-8	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Parana_4869 Ceratium_furcoides	Cer-8	Paraná	Río	Argentina	-60.55011	-31.68562	-
Broa_09257 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_15153 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14863 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11374 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_09435 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10459 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11375 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12233 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14339 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13079 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13089 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13776 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12660 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14851 Ceratium_hirundinella	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13261 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13772 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14338 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13769 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11969 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12656 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13437 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-

Broa_13766 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10643 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12236 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11580 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11967 Ceratium_furcoides	Cer-8	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
PRJNA386242_23638 Ceratium_furcoides	NA	Dongjiang	Río	China	24.284109	115.223002	-
Broa_00154 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00208 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00086 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00148 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_17 Ceratium_sp	Cer-9	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_14132 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14853 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14567 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14850 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00102 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00170 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00252 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00129 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00204 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_01117 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12519 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13264 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12234 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12659 Ceratium_sp	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
EukBank_5 Ceratium_furcoides	Cer-9	Congwong	Bahía	Australia	-33.992034	151.232282	-
Br_11 Ceratium_furcoides	Cer-9	s/n	Laguna	Brasil	-21.322692	-49.511829	-
Br_26 Ceratium_furcoides	Cer-9	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_11061 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_00802 Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-

Broa_12095	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13602	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13263	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14135	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13939	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14347	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_15149	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14139	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14846	Ceratium_furcoides	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_04906	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_04706	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_04011	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_03390	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11489	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_40	Ceratium_hirundinella	Cer-9	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_14542	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14305	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14137	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13185	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13699	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13768	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_08879	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13085	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13770	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11709	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14345	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13945	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14337	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_14340	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13080	Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-

Broa_13267 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12517 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11712 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_07086 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_08334 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_06207 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_07292 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_06169 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_11063 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12392 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10460 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10851 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_06363 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_05369 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Br_20 Ceratium_hirundinella	Cer-9	s/n	Laguna	Brasil	-23.931225	-47.057456	-
Broa_04727 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13765 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12520 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13259 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13436 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13081 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10326 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_10620 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_09849 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13270 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_08866 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12658 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_13083 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-
Broa_12776 Ceratium_hirundinella	Cer-9	BroaMO	Embalse	Brasil	-22.192449	-47.88931	-

Sección A4

Estimación del *fitness*

La capacidad de extraer recursos del ambiente es un indicador indirecto de la competencia a largo plazo y una medida del *fitness* (R^* según Tilman et al. 1982, Segura et al. 2012). Suponiendo un modelo de quimiostato que describe la interacción entre el fitoplancton (P ; $\text{mm}^3 \text{ ml}^{-1}$) y los recursos (R ; concentración de fosfato en $\text{mg PO}_4^{3-} \text{ mm}^{-3}$):

$$\frac{dP}{dt} = \mu(R)P - mP$$
$$\frac{dR}{dt} = (f - \mu)R - \frac{Q}{R + k}$$

donde $\mu(R)$ es la función de crecimiento dependiente de recursos, m es la mortalidad del fitoplancton (día^{-1}), R_o es la concentración de recursos (fosfato: $\text{mg PO}_4^{3-} \text{ mm}^{-3}$) en el agua entrante. La tasa de renovación del agua (f , día^{-1}) del ecosistema es el inverso del tiempo de residencia y Q es la cuota de recursos para cada célula ($5.05 \times 10^{-3} \text{ mg PO}_4^{3-} \text{ mm}^{-3} \text{ célula}^{-1}$; Segura et al. 2012). La función para caracterizar el crecimiento fue la ecuación de Monod:

donde $\mu_{\max}$ es la tasa de crecimiento dependiente de la temperatura (T) máxima, y k es la constante de media saturación para el crecimiento.

En dichas ecuaciones se realizaron las sustituciones correspondientes para realizar los cálculos y poder estimar R^* según la fórmula:

$$R^* = \frac{km}{\mu_{\max}(T) - m}$$

Se asumió que la mortalidad (m) es una función de la tasa de sedimentación (s) y de la profundidad del ecosistema (z), las pérdidas por depredación (CCR) y la tasa de recambio del agua (f).

Cálculo del CCR: la biomasa removida por el zooplancton (CCR, día^{-1}) fue calculada considerando la abundancia de zooplancton en la fecha de muestreo correspondiente: rotíferos (0–0.360 ind.

l^{-1}), cladoceros ($0-0.030 \text{ ind. } l^{-1}$) y copépodos calanoides ($0.020-0.240 \text{ ind. } l^{-1}$) Esto se calculó multiplicando la tasa de claramiento de cada grupo de zooplancton ($ml/ind. \text{ día}^{-1}$) por especie o grupo de especies por la abundancia de cada grupo de zooplancton en cada fecha de muestreo (Colina et al. 2015). Agregando los efectos de los tres grupos de zooplancton, y asumiendo una relación de abundancia depredador/presa de 1:100 (Agustí et al. 1987, Hansen et al. 1994), se estimó la tasa de depredación por parte de la comunidad de zooplancton (CCR, día^{-1}) para MBFG V excluyendo las especies de *Ceratium*.

Tabla A4.1. Rasgos fisiológicos y morfológicos utilizados en la estimación del *fitness* (R^*). TPC: curva de desempeño térmico (tasa máxima de crecimiento en función de la temperatura, día^{-1}), k: constante de media saturación para el crecimiento, m: mortalidad, CCR: pérdida por mortalidad debido a la depredación.

Especies o grupo de especies	TPC	k ($\mu\text{M PO}_4$)	Velocidades de hundimiento (m día^{-1})	Mortalidad por pastoreo CCR (día^{-1})
<i>Ceratium furcoides</i>	Butterwick et al. 2005	<i>Ceratium fusus</i> , <i>C. furca</i> : $0,03-0,14 \mu\text{M}$ (Qasim et al. 1973; Baek et al. 2008)	0 Pollinger 1988; Whittington et al. 2000; Clegg et al. 2004	0 Pollinger 1988; Olrik 1994; Santer 1996; Reynolds 2006; Bertolo et al. 2010; Colina et al. 2015
GFBM V excluyendo <i>Ceratium</i> spp.	$\mu m(T) = 0,512^{(0,0547T)}$, $R^2 = 0,30$	Promedio: $0,0153 \text{ m día}^{-1}$ <i>Pavlova lutheri</i> , <i>Dunaliella salin</i> (Laws et al. 2011; Grant et al. 2013)	Promedio: $0,254 \text{ m día}^{-1}$ <i>Cryptomonas marsonii</i> , <i>C. erosa</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Monochrysis lutheri</i> , <i>Rhodomonas minuta</i> (Eppley et al. 1967; Burns & Rosa 1980)	CCR: $1,966 \text{ días}^{-1}$ ($0,329-3,973$)
GFBM VII Complejo <i>Microcystis aeruginosa</i> (MAC)	$0,11T^{0,083}$ $6,31T^{-0,065}$ bp $27,5^\circ\text{C}$ (Kruk et al. 2017)	$0,56 \mu\text{M}$ ($20-23^\circ\text{C}$) (Tilman et al. 1982; Reynolds 1984)	0 Walsby & Reynolds 1980; Harke et al. 2016; Kruk et al. 2017	0 Rolland & Hans 1987; Reynolds et al. 2014; Colina et al. 2015