



FACULTAD DE  
**CIENCIAS**  
UDELAR | fcien.edu.uy

Tesina Licenciatura en Ciencias Biológicas  
Opción Ecología  
Montevideo, Uruguay  
2014



UNIVERSIDAD  
DE LA REPUBLICA  
URUGUAY

# El papel de la luz y la temperatura en la dinámica de cianobacterias en un lago de uso recreativo

**Andrea Somma**



**Sección Limnología  
Instituto de  
Ciencias  
Ambientales  
Facultad de  
Ciencias  
Universidad de la  
República**

**Orientadora:** Dra. Sylvia Bonilla  
**Co-orientador:** Dr. Luis Aubriot  
Sección Limnología

**Tribunal:**  
Dra. Sylvia Bonilla, Sección Limnología  
Dr. Luis Aubriot, Sección Limnología  
Dra. Gissell Lacerot, Ecología funcional de  
sistemas acuáticos

## Índice

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Floraciones de cianobacterias.....	4
Cianotoxinas.....	5
Efecto de la temperatura y la luz sobre las cianobacterias.....	6
Valores guía y riesgo potencial para los usuarios de lagos con cianobacterias.....	7
El caso de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> .....	8
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
Hipótesis.....	11
Metodología.....	12
Descripción de la zona de estudio.....	12
Metodología de los muestreos y análisis de laboratorio.....	12
Análisis de datos.....	15
Resultados.....	17
Caracterización fisicoquímica del lago Javier.....	17
Composición e indicadores de biomasa del fitoplancton.....	20
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> y su relación con el factor luz y temperatura.....	23
Cianotoxinas.....	25
Uso del lago.....	27
Discusión.....	29
Dominancia de cianobacterias en el lago Javier.....	29
Uso de pigmentos.....	30
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> .....	31
Uso del lago.....	34
Conclusiones y perspectivas.....	36
Agradecimientos.....	37
Bibliografía.....	38

## Resumen

Las cianobacterias planctónicas son capaces de producir toxinas y desarrollar floraciones, lo que trae consecuencias negativas sobre los distintos usos de los cuerpos de agua dulce y la biodiversidad. La cianobacteria invasora y potencialmente tóxica *Cylindrospermopsis raciborskii* (Orden Nostocales) ha sido considerada una especie que domina el fitoplancton en altas temperaturas ( $>17^{\circ}\text{C}$  valor umbral de crecimiento) y tolerante a la sombra ( $I_k = 20 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), aunque se ha visto que tiene tasas de crecimiento máximas a altas intensidades de luz ( $80\text{-}180 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). *C. raciborskii* ha sido encontrada en diversos cuerpos de agua eutróficos de uso recreativo de nuestro país tanto en verano como en invierno (a  $12^{\circ}\text{C}$ ) y formando una floración. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la disponibilidad de luz y la variación de la temperatura en la biomasa de cianobacterias y la concentración de toxinas en un lago eutrófico con uso recreativo. En este trabajo se hicieron muestreos quincenales durante un año (setiembre 2012 a agosto 2013) en el lago Javier (Canelones, Uruguay), donde se midieron los parámetros abióticos de la columna de agua y el biovolumen del fitoplancton, la clorofila *a* y la fluorescencia de la clorofila *a* y ficocianina *in vivo* como estimativos de la biomasa de fitoplancton en general y de cianobacterias en particular. Además se realizaron análisis de saxitoxinas y se efectuó una encuesta a los usuarios del lago buscando determinar el uso que se le da al mismo y los aportes antrópicos que recibe. Este trabajo demostró que *C. raciborskii* es capaz de mantener altas biomásas y de dominar la comunidad fitoplanctónica en un amplio gradiente de temperatura y luz, convirtiendo a este trabajo en el primer registro de la especie formando floración en tan bajas temperaturas ( $10,5^{\circ}\text{C}$ ). A pesar de la alta biomasa que mantiene la especie, los valores de saxitoxina fueron, en la mayoría de los muestreos, menores a los permitidos por la legislación de la OMS para el agua potable ( $3 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Según las recomendaciones de varias legislaciones (OMS, brasilera y uruguaya) todas las variables relacionadas directamente con las cianobacterias en el lago Javier (biovolumen de cianobacterias y clorofila *a*) indican que el lago presenta un alto riesgo para su uso recreativo, sin embargo el 75% de los niños se baña y el 65% realizan deportes acuáticos, por lo que se encuentran expuestos a riesgo sanitario por contacto directo con las cianobacterias. Por lo tanto, consideramos esencial el intercambio de información con los usuarios del lago para alertar sobre el uso del lago, lo que se instrumentó en este estudio.

## Introducción

### Floraciones de cianobacterias

Las cianobacterias son los componentes procariotas del fitoplancton y los organismos fotosintetizadores aeróbicos más antiguos del planeta (Graham & Wilcox, 2000). Se originaron hace 3500 millones de años (Carey *et al.*, 2012) y fueron las responsables de crear una atmósfera oxigénica (Whitton & Potts, 2000). Hoy en día, las cianobacterias colonizan con éxito diferentes y numerosos ecosistemas (Reynolds, 2006), principalmente ecosistemas acuáticos.

Las cianobacterias planctónicas pueden producir toxinas y desarrollar floraciones. Las floraciones de cianobacterias son un aumento excesivo de biomasa en un corto período de tiempo (Reynolds, 2006) y están formadas por una o pocas especies (Carey *et al.*, 2012). Existen dos tipos de floraciones de cianobacterias. Las floraciones acumulativas son aquellas en las que el crecimiento de cianobacterias se da en la superficie del cuerpo de agua y pueden generar espuma cuando hay un gran acúmulo de biomasa. Por otro lado, las floraciones dispersivas son las que se distribuyen en toda la columna de agua. Todas las floraciones de cianobacterias tienen consecuencias negativas para los ecosistemas acuáticos y su utilización como múltiple recurso (Paerl *et al.*, 2011), ya que deterioran la calidad del agua (Reynolds, 2006). Este fenómeno se ha incrementado en las últimas décadas debido a la eutrofización (aumento en la concentración de nutrientes de los sistemas acuáticos) (Reynolds, 2006; Paerl & Huisman, 2008; Carey *et al.*, 2012; O'Neil *et al.*, 2012) y al aumento de la temperatura (Dokulil & Teubner, 2000; O'Neil *et al.*, 2012). Estos recursos, junto con la luz, son necesarios para el crecimiento de las mismas. En la mayoría de los casos las floraciones de cianobacterias pueden ser detectadas a simple vista, ya que el agua se torna de un color verde debido a la gran concentración de células. Sin embargo, las floraciones de ciertas especies, como las de *Cylindrospermopsis raciborskii*, no afectan mayormente el color del agua superficial, lo que puede representar un riesgo adicional de contacto involuntario de los usuarios con las cianobacterias.

Las cianobacterias tienen características ecofisiológicas que les confiere una mayor capacidad en la explotación de los recursos en contraste con las algas eucariotas. Por ejemplo, algunas especies tienen la capacidad de crecer en un amplio gradiente de intensidad lumínica o de tolerar intensidades de luz muy bajas (Reynolds, 1994; Whitton & Potts, 2000; Fabre, 2011;

Bonilla *et al.*, 2012). La mayoría de las especies planctónicas que forman floraciones tienen la capacidad de regular su posición en la columna de agua a través de vesículas de gas, lo que le permite optimizar la captación de luz y nutrientes (Whitton & Potts, 2000; Reynolds, 2006; Bonilla, 2009). Otra adaptación que le otorga una gran ventaja a las cianobacterias es que algunas tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (N<sub>2</sub>) cuando hay poco nitrógeno inorgánico disuelto en la columna de agua (Ferber *et al.*, 2004). En algunas cianobacterias filamentosas esta función es realizada por células especializadas denominadas heterocitos. Por otro lado, en lagos donde el fósforo es el recurso limitante y con floraciones de cianobacterias, se ha demostrado que las cianobacterias son capaces de adaptarse fisiológicamente a las fluctuaciones ambientales de fosfato para optimizar su crecimiento (Aubriot *et al.*, 2000; Amaral, 2011; Aubriot *et al.*, 2011; Amaral *et al.*, 2014).

## Cianotoxinas

Las cianobacterias producen cuatro tipos de toxinas según su efecto en los animales: hepatotoxinas, neurotoxinas, citotoxinas y dermatotoxinas. Dentro de las neurotoxinas más comunes se encuentran las saxitoxinas, las cuales inhiben la transmisión nerviosa bloqueando los canales de sodio de las células y es producida por los géneros *Anabaena*, *Raphidiopsis* y por *Cylindrospermopsis raciborskii*, entre otras cianobacterias. Las dermatotoxinas producen irritaciones en la piel, efectos gastrointestinales y alergias (Chorus & Bartram, 1999; Reynolds, 2006) y pueden estar presentes en todas las cianobacterias. La producción de toxinas (cianotoxinas) es otra característica que podría ser una ventaja que poseen las cianobacterias frente a sus competidores y depredadores (Kardinaal *et al.*, 2007). La producción de cianotoxinas varía con el ciclo de vida del organismo y su degradación depende del tipo de toxina y de las condiciones ambientales, como por ejemplo la intensidad de luz (Chorus & Bartram, 1999; Bonilla, 2009; Fabre, 2011). Sin embargo, las cianotoxinas afectan a los vertebrados incluyendo al ser humano. Se han reportado varios casos de enfermedades o muerte de animales, e incluso humanos, a causa del consumo de agua que contiene cianobacterias (Chorus & Bartram, 1999; Azevedo *et al.*, 2002; Reynolds, 2006). También han sido reportados casos de muerte de animales y enfermedad en humanos luego del contacto, ingestión o aspiración accidental de células de cianobacterias durante el uso recreativo de los cuerpos de agua (Codd *et al.*, 2005). Además, estudios de cascadas tróficas sugieren que algunas toxinas pueden afectar negativamente a toda la cascada ya que se propagan de los niveles inferiores a los superiores (Zimmer & Ferrer, 2007).

## Efecto de la temperatura y la luz sobre las cianobacterias

La estratificación térmica de los ecosistemas lénticos tiene distintas consecuencias en la química del agua y en los procesos biológicos. El ciclo de estratificación y mezcla es un disturbio que afecta la sucesión autogénica del fitoplancton, lo que provoca cambios en la composición y contribución relativa de las especies que lo componen (Reynolds, 1984; Reynolds, 2006). Además, los procesos biológicos que se dan en el epilimnion (que generalmente coincide con la zona trofogénica) y el hipolimnion, producen diferencias en los niveles de pH y conductividad del agua (Lampert & Sommers, 2007). Asimismo, la materia orgánica producida en el epilimnion se hunde y pasa al hipolimnion, llevando a que el hipolimnion se torne anóxico. La anoxia en el hipolimnion provoca la liberación de nutrientes (especialmente fosfato) desde el sedimento quedando disponibles para la captación por parte del fitoplancton y favoreciendo su crecimiento, especialmente de las cianobacterias. Las cianobacterias poseen grandes ventajas a la hora de captar el fosfato, ya que tiene una alta afinidad por el mismo, un rápido sistema de captura y una gran capacidad de almacenamiento (Isvánovics *et al.*, 2000; Antenucci *et al.*, 2005; Aubriot & Bonilla, 2012).

La profundidad promedio de la termoclina aumenta con el aumento a la exposición del viento y con el fetch (distancia máxima del lago donde el viento puede accionar). Sin embargo, modelos de regresiones empíricas desarrollados para predecir la profundidad de la termoclina no son aplicables a lugares donde la temperatura del agua y la velocidad del viento difieren sustancialmente (Kalff, 2002). La zona de mezcla se define como la capa de agua que está sujeta a la mezcla por acción del viento, pudiendo ser la capa superior a la termoclina (si el lago está estratificado) o toda la columna de agua (si el lago está mezclado). La zona de mezcla es la zona en la que circula el fitoplancton. En nuestro país la mayor parte de los ecosistemas acuáticos son someros y presentan estratificaciones muy inestables. En lagos más profundos ( $Z_{max} > 8m$ ), la estratificación se produce durante el verano.

La cantidad de luz de la zona eufótica depende de la luz incidente y de la extinción de la misma en la columna de agua. La zona eufótica puede disminuir debido a la presencia de partículas en suspensión (incluyendo el propio fitoplancton y/o arcillas y limos) (Reynolds, 1994). Por lo tanto, la zona eufótica como aproximación a la cantidad de luz a la que están expuestos los microorganismos no es comparable entre lagos. La luz que recibe el fitoplancton está determinada por la relación entre la zona eufótica y la zona de mezcla ( $Z_{eu}/Z_{mix}$ ). Si se asume que en el límite inferior de la zona eufótica la producción primaria se iguala con la respiración, en el caso de  $Z_{eu}=Z_{mix}$  y si  $Z_{eu}/Z_{mix}$  es mayor a 1, el crecimiento del fitoplancton no estaría

limitado por la luz, sin embargo, si la relación  $Z_{eu}/Z_{mix}$  es menor a 1 ( $Z_{eu} < Z_{mix}$ ), el fitoplancton circulará por momentos en zonas donde la luz es menor al 1% de la luz subsuperficial, lo que podría limitar su crecimiento (Reynolds, 1994; Kalff, 2002). Las características ecofisiológicas de cada especie determinan la dominancia de una u otra en cada caso. De este modo, especies tolerantes a la sombra, tales como las cianobacterias que generan floraciones dispersivas, como *Cylindrospermopsis raciborskii* y *Planktothrix agardhii*, se verán favorecidas en condiciones de  $Z_{eu} < Z_{mix}$ . Por otro lado, en condiciones de máxima exposición a la luz, como pueden ser sistemas con estratificación por tiempos prolongados ( $Z_{eu} > Z_{mix}$ ), las cianobacterias coloniales que forman floraciones de tipo acumulativas (como *Microcystis* sp.) se verán beneficiadas (Whitton & Potts, 2000).

Otra aproximación para calcular la intensidad de luz que reciben los organismos en la columna de agua es la integral de la intensidad de luz en la zona de mezcla ( $I_{mix}$ ) (Wiedner *et al.*, 2007). Este cálculo integra toda la luz existente en la zona de mezcla, es decir es un valor que brinda información sobre cuanta luz recibe el fitoplancton mientras circula por la columna de agua (en  $Z_{mix}$ ). Si bien el  $I_{mix}$  es más difícil de calcular porque se requiere la radiación global total diaria (valores no disponibles para el Uruguay), es una aproximación más certera que la  $Z_{eu}$  o la relación  $Z_{eu}/Z_{mix}$  de la cantidad de luz diaria que reciben los microorganismos.

## Valores guía y riesgo potencial para los usuarios de lagos con cianobacterias

Según el uso que se pretende de un cuerpo de agua, se definen varios criterios de calidad para el mismo. Estos criterios incluyen parámetros físico-químicos como la concentración de nutrientes que presenta el cuerpo de agua e indicadores biológicos tales como la biomasa de cianobacterias (células  $mL^{-1}$ , biovolumen y/o clorofila  $a$ ) (Chorus, 2012). La Organización Mundial de la Salud (OMS) establece valores recomendados de determinados parámetros para el agua destinada a la potabilización y a la recreación. Además, cada país presenta sus propios valores estándar de acuerdo a la legislación local (Chorus & Bartram, 1999; Chorus, 2012). En la Tabla 1 se muestran los niveles permitidos de algunos parámetros de calidad de agua para uso recreativo y apto para baños según la normativa uruguaya, brasilera y las recomendaciones de la OMS. Actualmente, la normativa uruguaya para los cuerpos de agua no establece niveles de clorofila  $a$ , biomasa de cianobacterias ni toxinas en ninguna de las categorías (DINAMA, 1979).

A nivel global, las guías internacionales utilizan indicadores globales para el monitoreo de cianobacterias, tales como la clorofila *a*. La clorofila *a* es un pigmento que está presente en todos los organismos del fitoplancton, lo que hace que sea un indicador confiable de la biomasa del mismo (Gregor & Marsalek, 2004) y que sea un parámetro utilizado en las legislaciones como indicador de biomasa de fitoplancton (Chorus & Bartram, 1999; Chorus, 2012). Los métodos de fluorescencia *in vivo* son una herramienta útil, fácil y rápida para cuantificar organismos del fitoplancton. Este tipo de métodos además puede discriminar entre grupos algales del fitoplancton (Gregor *et al.*, 2007; Izydorczyk *et al.*, 2009). Si bien hay discrepancias acerca de la clorofila *a in vivo*, varios investigadores plantean que la ficocianina *in vivo* es un buen indicador de la biomasa de cianobacterias (Gregor & Marsalek, 2004; Gregor *et al.*, 2007; Seppala *et al.*, 2007).

**Tabla 1.** Algunos parámetros físico-químicos y biológicos y sus niveles admitidos para un cuerpo de agua recreacional apto para baño por contacto directo, según la normativa uruguaya (Clase 2)(DINAMA, 1979); DINAMA, 2012), brasilera (resolução CONAMA N°357, 2005) y de la Organización Mundial para la Salud (OMS)(Chorus, 2012). Las aguas de clase 2 de la normativa uruguaya son aquellas destinadas a recreación por contacto directo con el cuerpo humano.

Variables	Normativa Uruguaya	Normativa brasilera	Normativa OMS
<b>Espuma</b>	Ausente	Ausente	Ausente
<b>Sabor y olor</b>	No perceptible	Ausente	
<b>Oxígeno disuelto (mg L<sup>-1</sup>)</b>	>5	>5	
<b>pH</b>	Entre 6.5 y 8.5	Entre 6 y 9	
<b>Clorofila-a (µg L<sup>-1</sup>)</b>	-	Hasta 30 *	Hasta 10
<b>Densidad de cianobacterias</b>	-	Hasta 50000 células mL <sup>-1</sup> o 5 mm <sup>3</sup> L <sup>-1</sup>	Hasta 20000 células mL <sup>-1</sup>
<b>Nitrato (mg L<sup>-1</sup>, en N)</b>	Hasta 10	Hasta 10	
<b>Amoníaco libre (mg L<sup>-1</sup>)</b>	Hasta 0.02	Amoníaco libre < 1.0 para 8.0 < pH < 8.5**	
<b>Fósforo total (mg L<sup>-1</sup>, en P)</b>	Hasta 0.025	Hasta 0.030	

- No considerado en la normativa

\*Para recreación por contacto secundario (navegación) se toleran hasta 60 µg L<sup>-1</sup>

\*\*Otros valores para diferentes rangos de pH: amoníaco libre hasta 3,7 para pH < 7,5; amoníaco libre < 2,0 para 7,5 < pH < 8,0 y amoníaco libre < 0,5 para pH > 8,5

### **El caso de *Cylindrospermopsis raciborskii***

El comportamiento invasor y la toxicidad de *Cylindrospermopsis raciborskii* ha generado una alerta en la comunidad científica (Briand *et al.*, 2004; Vidal & Kruk, 2008; Sukenik *et al.*, 2012). *Cylindrospermopsis raciborskii* (orden Nostocales) es una cianobacteria de agua dulce potencialmente tóxica originalmente descrita para los trópicos (Indonesia) (Padisák, 1997).

Sin embargo, en años recientes, la aparición y dominancia de *C. raciborskii* se ha expandido a latitudes medias en Europa, América del Norte y América del Sur, donde prolifera en ambientes turbios, como lagos y reservorios eutróficos (Vidal & Kruk, 2008; Paerl *et al.*, 2011). Varias hipótesis se han planteado para explicar el éxito de propagación y el comportamiento invasor de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Estudios de la ecología evolutiva de *C. raciborskii* sugieren dos escenarios posibles para este fenómeno expansivo. En primer lugar, ecotipos con requerimientos de temperatura y luz más bajos están colonizando las regiones más templadas, y en segundo lugar; la dispersión exitosa de la especie hacia regiones templadas está asociada al aumento de la temperatura como consecuencia del cambio climático (Gugger *et al.*, 2005). Se ha determinado que 17°C es el valor umbral de temperatura por encima del cual se dispara el crecimiento (Wiedner *et al.*, 2007), por lo que los efectos del calentamiento global favorecerían la dispersión de esta especie. Castro *et al.* (2004) han determinado que una cepa brasilera de *C. raciborskii* presenta un crecimiento 3 veces mayor a 25°C que a 19°C. Partiendo de que la respuesta de un organismo depende de una combinación de múltiples factores ambientales en lugar de uno solo (Aubriot *et al.*, 2000), se ha sugerido que el calentamiento global combinado con la eutrofización condicionan favorablemente el éxito de esta especie tóxica hacia latitudes templadas (Paerl & Huisman, 2008). Finalmente, los resultados recientes de nuestro grupo de investigación sugieren que la plasticidad fenotípica de la especie puede explicar su comportamiento expansivo (Bonilla *et al.*, 2012).

*Cylindrospermopsis raciborskii* es considerada una especie tolerante a la sombra debido a su bajo parámetro de saturación de la luz ( $I_k=20 \mu E m^{-2} s^{-1}$ ) (Padisák, 1997; Padisák & Reynolds, 1998). Sin embargo, estudios de ecofisiología (Briand *et al.*, 2004; Wiedner *et al.*, 2007; Mehnert *et al.*, 2010) plantean que *C. raciborskii* tiene tasas máximas de crecimiento a altas intensidades de luz (80-120  $\mu mol \text{ fotón } m^{-2} s^{-1}$ ). Estudios con una cepa de *C. raciborskii* aislada de un lago de Uruguay (Lago Javier) establecen que dicha especie presenta sus tasas máximas de crecimiento a altas intensidades de luz (120-180  $\mu mol \text{ fotón } m^{-2} s^{-1}$ ), pero que al igual que lo encontrado por Briand *et al.* (2004) la especie es capaz de mantener tasas de crecimiento positivas a bajas intensidades de luz (Fabre, 2011). Bonilla *et al.* (2012) plantean que la gran plasticidad de la especie puede explicar su respuesta gradual a los cambios ambientales, ya que respecto a variaciones lumínicas, organismos de esta especie cambian la forma y la composición y proporción pigmentaria, lo que le permite crecer en un amplio gradiente lumínico (Bonilla *et al.*, 2012).

*Cylindrospermopsis raciborskii* puede producir tanto cylindrospermopsina como saxitoxina. Sin embargo, la producción de una o de otra es cepa dependiente y varía según las regiones geográficas. De este modo, y hasta el presente se ha determinado que las cepas americanas producen solamente saxitoxina, mientras que las australianas y asiáticas producen cylindrospermopsina y las europeas no producen ninguna de las dos (Haande *et al.*, 2008). Sin embargo, estudios recientes plantean que cepas productoras de saxitoxinas presentan los genes para la producción de cylindrospermopsina (Piccini *et al.*, 2013).

En nuestro país *C. raciborskii* fue registrada en varios cuerpos de agua eutróficos de Canelones, Maldonado y Rocha, tanto en verano como en invierno (en temperaturas de hasta 12°C) y formando floraciones (Vidal & Kruk, 2008; Bonilla, 2009; Fabre *et al.*, 2010; Bonilla *et al.*, 2012). Hasta el momento se ha detectado que las cepas uruguayas producen saxitoxina (Bonilla, 2009; Martigani, 2011; Piccini *et al.*, 2011), por lo que las floraciones de esta especie en Uruguay pueden ser perjudiciales para la salud humana. Debido al impacto que puede llegar a tener esta especie en los ecosistemas acuáticos, es esencial no solamente entender su comportamiento fisiológico, sino también comprender la ecología de la misma a través de estudios de campo.

## Objetivo general

Evaluar el efecto de la disponibilidad de luz y la variación de la temperatura en la biomasa de cianobacterias y la concentración de toxinas en un lago eutrófico dominado por *Cylindrospermopsis raciborskii* con uso recreativo

## Objetivos específicos

1. Caracterizar la estructura y dinámica del fitoplancton en un lago eutrófico dominado por *C. raciborskii* a lo largo del año.
2. Determinar si los cambios en la disponibilidad de luz y la temperatura a lo largo del tiempo se asocian con la variación en la biomasa de *C. raciborskii* y su dominancia.
3. Cuantificar la concentración de saxitoxina a lo largo del año y determinar el riesgo potencial para los usuarios.
4. Comparar diferentes indicadores de biomasa de fitoplancton para monitorear cianobacterias.
5. Relevar la utilización que los habitantes de la zona realizan sobre el lago Javier e informar a la población acerca de la posible peligrosidad en su uso recreativo en base a diversos indicadores abióticos y bióticos.

## Hipótesis

Dada su plasticidad fenotípica, *Cylindrospermopsis raciborskii* puede generar altas biomásas y dominar la comunidad fitoplanctónica en un gradiente de bajas a altas temperaturas y a mayor cantidad de luz fotosintéticamente activa (PAR).

## Metodología

### Descripción de la zona de estudio

El lago Javier (Lago Calcagno) es un lago artificial originado por la remoción de arena para construcción edilicia ubicado en Parque Miramar, Canelones, Uruguay ( $34^{\circ}51'S$ ,  $56^{\circ}02'O$ ) (Figura 1). Según Fabre *et al.* (2010), el lago tiene un área de 23,5 há y se ha determinado una profundidad máxima de 11 m. En los últimos años la construcción de casas alrededor del lago ha aumentado significativamente. Hasta hace pocos años, la zona no contaba con saneamiento, sino que tenía sistema de cámara séptica. Actualmente, este lago se encuentra rodeado por viviendas y su uso es recreativo. Según estudios previos (Fabre *et al.*, 2010; Bonilla, 2009; Vidal & Kruk, 2008) el lago es hipereutrófico y presenta floraciones de la cianobacteria invasora potencialmente tóxica *Cylindrospermopsis raciborskii*.



**Figura 1.** Fotografía satelital del lago Javier (círculo rojo), en zona de Parque Miramar, Departamento de Canelones, Uruguay. Foto tomada de Google Earth.

### Metodología de los muestreos y análisis de laboratorio

Para definir la estación de muestreo en el lago se hizo una salida de campo piloto en setiembre de 2012. La misma se georeferenció con GPS y se determinó la profundidad máxima del lago con un ecosonda. Se realizaron muestreos desde noviembre de 2012 a agosto de 2013. Durante el verano y el invierno los muestreos fueron quincenales y en la primavera y otoño, mensuales.

En los muestreos se midieron las variables abióticas del lago a través de perfiles verticales de temperatura, oxígeno disuelto y penetración de la luz. Se midió el pH y la conductividad de superficie y fondo (profundidad máxima del punto de muestreo). Los registros de temperatura y oxígeno disuelto se determinaron mediante perfiles verticales en toda la columna de agua con sensores Horiba © D-25. Dichos perfiles se realizaron cada 20 cm. Se determinó la profundidad de la zona de mezcla ( $Z_{mix}$ ) y de la termoclina en caso de que se haya medido una diferencia mínima de 0,5 grados en un metro de profundidad. Cuando el lago no se encontró estratificado, la profundidad de la zona de mezcla se definió como la profundidad de la columna de agua.

La penetración de la luz (Radiación Fotosintéticamente Activa, PAR) se determinó mediante un perfil vertical con un sensor Licor © LI-250 cada 10 cm hasta los 2 metros. Se calculó el coeficiente de extinción de la luz ( $K_d$ ,  $m^{-1}$ ) y luego se calculó la zona eufótica ( $Z_{eu}$ , m), la relación entre la zona eufótica y la zona de mezcla ( $Z_{eu}/Z_{mix}$ ) y la cantidad de luz en la zona de mezcla ( $I_{mix}$ ,  $\mu mol \text{ fotón } m^{-2} s^{-1}$ ) según una variación al modelo de Wiedner *et al.* (2007). El modelo utilizado para calcular el  $I_{mix}$  instantáneo fue:

$$I_{mix} = I_{subsup} \cdot \frac{(1 - e^{-K_d \cdot Z_{mix}})}{K_d \cdot Z_{mix}}$$

siendo el  $I_{subsup}$  la cantidad de luz subsuperficial ( $\mu mol \text{ fotón } m^{-2} s^{-1}$ ) medida en el momento del muestreo, el  $K_d$  el coeficiente de extinción de la luz ( $m^{-1}$ ) y  $Z_{mix}$  la zona de mezcla de la columna de agua (m). La luz subsuperficial es la cantidad de luz que entra al lago una vez que se reflejó parte de la emitida por el sol. Cabe destacar que en este trabajo se utilizó la cantidad de luz subsuperficial instantánea medida en el momento del muestreo en lugar de la radiación global total diaria para calcular el  $I_{mix}$ , ya que estos últimos datos no se encuentran disponibles para el país.

La conductividad y el pH se midieron en muestras de agua de superficie y fondo por triplicado con sensores Horiba © D-24 y Oakton pH tester 20, respectivamente. Se tomaron datos de velocidad máxima sostenida diaria de viento de [www.tutiempo.net](http://www.tutiempo.net) de la estación meteorológica de Carrasco, Uruguay, para el período de setiembre de 2012 a setiembre de 2013. Se calculó la cantidad de viento acumulado en los últimos diez días a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Velocidad de viento acumulado } t = (24 \cdot \text{Velocidad promedio del día}) \cdot t$$

siendo 24 la cantidad de horas del día y t el tiempo para el que se va a realizar el análisis (en este caso 10 días).

Las muestras para análisis cualitativo del fitoplancton fueron tomadas con red de arrastre (tamaño de poro de 25  $\mu\text{m}$ ) y fueron conservadas en frío y en oscuridad durante el traslado al laboratorio, donde se analizaron en el correr de las 48 horas en microscopio óptico. El análisis taxonómico de cianobacterias fue al menos hasta el nivel de género. Para el análisis cuantitativo, se tomaron dos muestras, una subsuperficial y otra de fondo, con una botella muestreadora (tipo Ruttner). Las muestras se mantuvieron en oscuridad y a baja temperatura durante el transporte al laboratorio donde fueron fijadas con lugol. La cuantificación se realizó en cámaras Utermöhl de 3 ml mediante la selección de campos aleatorios hasta cuantificar 400 organismos en total, de acuerdo a Sournia (1978). Este último método de conteo es el más apropiado para sistemas eutróficos con altas abundancias de cianobacterias. El biovolumen de cada especie se calculó en base a figuras geométricas aproximadas según Hillebrand *et al.* (1999). Para esto se midió el largo ( $\mu\text{m}$ ), el ancho ( $\mu\text{m}$ ) y la máxima dimensión lineal (MLD,  $\mu\text{m}$ ) de 30 individuos de las especies más abundantes y en el caso de especies que presentaron una abundancia menor a 30 se midieron dichas dimensiones en el máximo número de individuos encontrados, en cada muestra. Se calculó el biovolumen de cada individuo y luego se realizó un promedio del biovolumen de esa especie para cada fecha, tanto en superficie como en fondo. Se consideró que una especie dominó el fitoplancton si su biovolumen representaba más del 40% del biovolumen de fitoplancton total.

La biomasa del fitoplancton fue estimada a través de perfiles verticales *in situ* de fluorescencia de la clorofila *a* (como estimador del fitoplancton) y de ficocianina (como estimador de las cianobacterias). Además se determinó la concentración de clorofila *a* por el método del etanol caliente basado en ISO 1992 modificado (Bonilla, 2009), para lo cual se tomaron muestras subsuperficiales que se mantuvieron en frío y oscuridad durante su traslado hasta el laboratorio.

Según la composición fitoplanctónica encontrada a lo largo del estudio se consideró la saxitoxina como la toxina de mayor relevancia, ya que *Cylindrospermopsis raciborskii* (cianobacteria dominante en la mayoría de los muestreos), es capaz de producirla. Además, una cepa aislada en nuestro laboratorio de este mismo lago produjo grandes cantidades de

saxitoxina en condiciones óptimas de crecimiento (Martigani, 2011; Piccini *et al.*, 2011). Para la cuantificación de saxitoxinas se tomaron muestras de superficie que se congelaron hasta ser analizadas por ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). En algunos muestreos también se tomaron muestras de la zona litoral para realizar análisis de toxinas. El límite de detección del kit comercial (ABRAXIS) de este inmunoensayo es de 0,02 ng mL<sup>-1</sup>. Estos análisis se hicieron en coordinación con la cátedra de Inmunología de la Facultad de Química (Universidad de la República) a cargo de la Dra. Beatriz Brena. En base a datos de tamaños celulares para *C. raciborskii* de Bonilla 2009, se calculó la cantidad de saxitoxina por célula (fg cel<sup>-1</sup>) de dicha especie.

Por último se realizó un cuestionario dirigido a los usuarios que habitan alrededor del lago para evaluar el tipo de uso que se le daba al mismo, si existía un aporte de nutrientes o materia orgánica al lago como consecuencia de las actividades domésticas y qué beneficios recreativos se obtenía a través del uso del lago. El cuestionario consistió en tres módulos. El primer módulo trató sobre las generalidades, buscando obtener la información básica de la vivienda y familia que allí habitaba (cuántas personas viven, cuántos niños, si tienen mascotas, etc.). El segundo módulo buscó identificar que uso se hacía del lago y de qué tipo (forma de acceso al lago, frecuencias de baños y otras actividades recreativas, consumo de peces, etc.). El tercer módulo intentó detectar cuáles son los vertidos directos e indirectos que los vecinos realizaban sobre el lago, ya sea a través del uso de fertilizantes, aguas servidas, tirado de podas, etc. Por último, la entrevista culminó con los intereses que tienen los vecinos en el lago a corto y largo plazo. Esto se llevó a cabo a través de preguntas de carácter cualitativo y cuantitativo (68 preguntas en total). El armado de la encuesta fue realizado con el asesoramiento de la socióloga María del Carmen Correa con la finalidad de que la encuesta fuera sencilla y cuantificable.

## **Análisis de datos**

Se realizaron correlaciones no paramétricas de Spearman sobre las variables abióticas (temperatura, oxígeno, velocidad máxima sostenida del viento, cantidad de luz de la zona de mezcla, zona eufótica, relación zona eufótica/zona de mezcla, cantidad de luz en el 1% de la zona eufótica) y sobre las variables bióticas y sus respectivos indicadores (biovolumen del fitoplancton total, biovolumen de cianobacterias, biovolumen de cianobacterias Nostocales, biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii*, porcentaje de *Cylindrospermopsis raciborskii*, clorofila *a*, clorofila *in vivo*, ficocianina *in vivo*, concentración de saxitoxina).

Se realizaron pruebas de normalidad para el pH, la conductividad, el biovolumen de fitoplancton, el biovolumen de cianobacterias, el biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii*, la temperatura y la cantidad de luz de la zona de mezcla (Imix). En caso de que los datos no hayan presentado distribución normal, se realizó una transformación de los mismos. Con estos datos se realizaron Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías (utilizando los factores superficie o fondo y estratificación o mezcla) con la finalidad de determinar si existían diferencias significativas entre las medias de los paquetes de datos analizados. En caso de que existan diferencias significativas, se realizó un test de Holm-Sidak para determinar entre cuáles de los factores analizados se encontraban dichas diferencias. Estos resultados fueron representados gráficamente mediante boxplots.

## Resultados

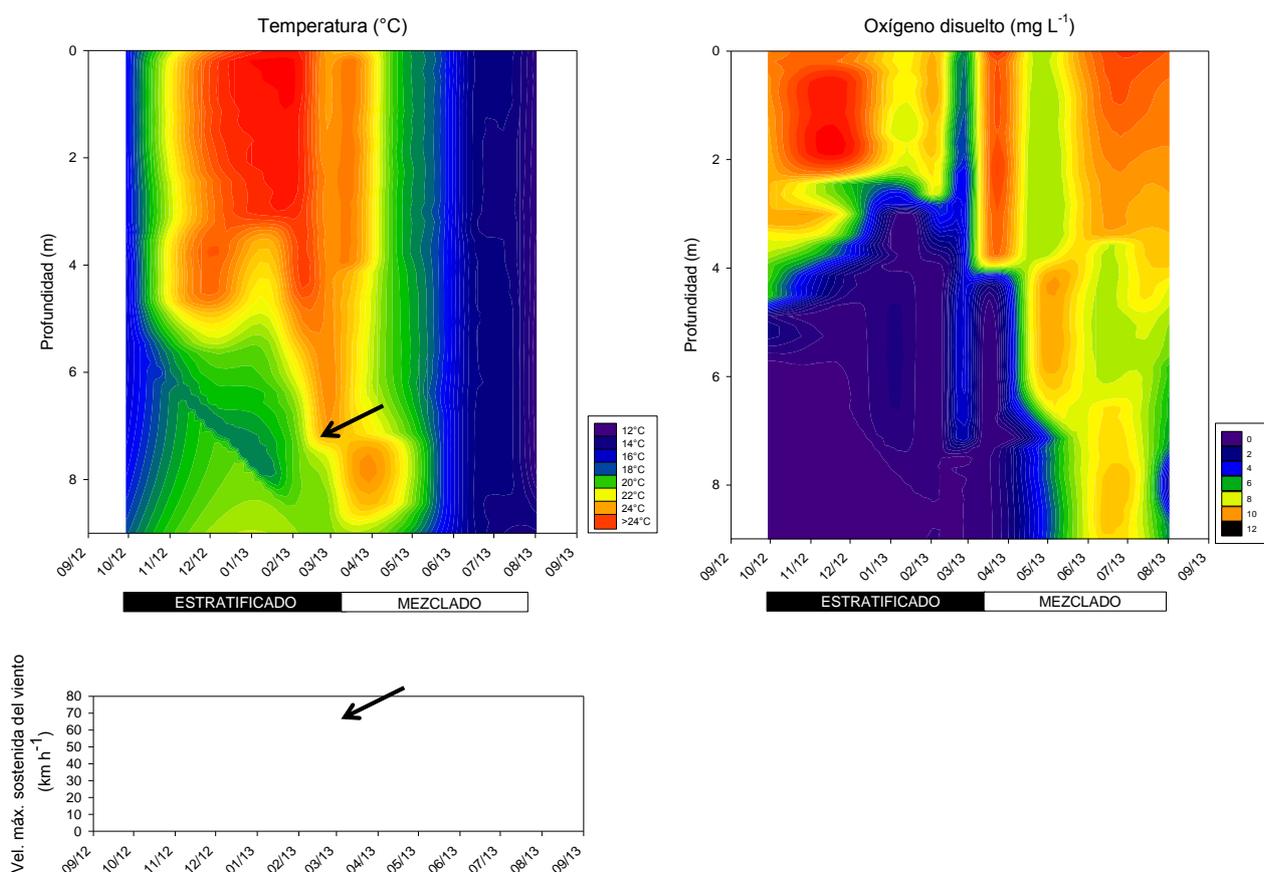
### Caracterización fisicoquímica del lago Javier

A lo largo del período de estudio, la temperatura del lago en la superficie varió 14,4°C siendo el mínimo 10,5°C y el máximo 24,9°C. En algunas fechas de muestreo se pudo observar que la temperatura del agua disminuyó al aumentar la profundidad con diferencias de hasta 7,6°C entre superficie y fondo ( $Z_{max}=10,5$  m). El período de estratificación fue durante la época estival, de setiembre de 2012 a marzo del 2013 (Figura 2). La termoclina se encontró a distintas profundidades (entre 1,8 y 6,6 m), dependiendo de la fecha de muestreo. Para algunas fechas de muestreo (enero 2013) se pudo observar como los cambios en la profundidad de la termoclina coinciden con las ráfagas máximas de viento. El oxígeno disuelto en el agua también presentó cambios según la profundidad y el tiempo. Cabe destacar que cuando el lago estuvo estratificado se determinó anoxia a partir de los 2,8 metros. Cuando el lago se encontró mezclado, el oxígeno disuelto fue mayor a  $6 \text{ mg L}^{-1}$  y no se observaron zonas anóxicas. En algunas fechas puntuales, como el muestreo del 26/02/2013, se observó un descenso de la termoclina (7,8 m de profundidad) y por ende un aumento de la temperatura en la columna de agua. Para esta fecha, el oxígeno en la columna de agua disminuyó a la mitad respecto a las fechas anteriores (Figura 2).

La zona eufótica tuvo un promedio de 1,5 m, con una profundidad mínima de 1,1 m y máxima de 2,3 m. En todas las fechas analizadas la relación entre la zona eufótica y la zona de mezcla ( $Z_{eu}/Z_{mix}$ ) siempre fue menor a 1, indicando que los microorganismos se encontraban circulando en algún momento del día por zonas donde la luz era menor al 1% de la luz incidente (Figura 3).

La cantidad de luz fotosintéticamente activa (PAR) instantánea del aire en función de los meses de muestreo no presentó una distribución normal. Sin embargo, la variación anual de la cantidad de luz de la zona de mezcla del lago aumentó durante el verano y disminuyó durante el invierno (Figura 4).

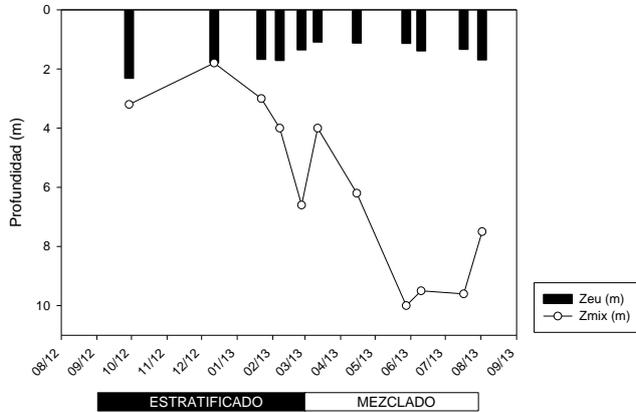
La cantidad de luz de la zona de mezcla ( $I_{mix}$ ) estuvo significativamente correlacionada con la relación  $Z_{eu}/Z_{mix}$  ( $r_s= 0,70$  y  $p\text{-valor}=0,02$ ) (Figura 5). El  $I_{mix}$  y la  $Z_{eu}$  no estuvieron correlacionados entre si ( $p > 0,05$ ). No se encontró una correlación entre la profundidad de la zona eufótica y la intensidad de luz en el 1% de la  $Z_{eu}$  ( $r_s= 0,06$  y  $p\text{-valor}=0,86$ ) (Figura 6).



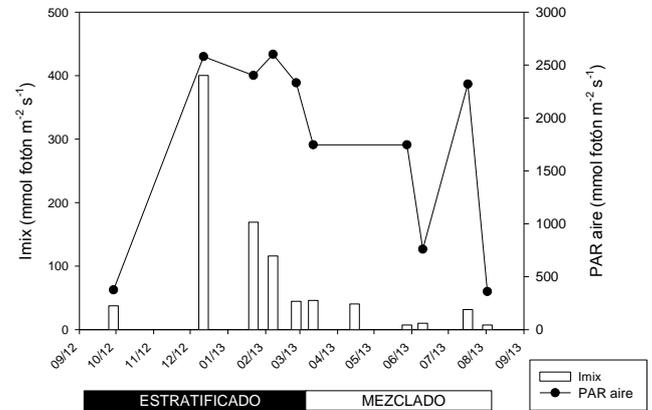
**Figura 2.** Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) del agua en función de la profundidad del lago (eje y en metros) y a lo largo del tiempo (eje x en meses) **(a)**. Oxígeno disuelto ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en profundidad (eje y, m) y a lo largo del tiempo (eje x, meses) **(b)**. El período de estratificación es desde el muestreo del 29/09/2012 al muestreo del 12/03/2013 y se indica con una barra negra. El período de mezcla se indica con una barra blanca. Para ambas gráficas los colores cálidos representan mayores valores y los colores fríos muestran valores menores. En el eje x se indican los meses y el año de cada muestreo. En la gráfica inferior **(c)** se muestra la velocidad máxima sostenida del viento ( $\text{km h}^{-1}$ ) diaria para todo el período de estudio. Con una flecha se indica un descenso de la termoclina que coincide con un pico en la velocidad sostenida del viento.

Durante el periodo de estratificación se observaron diferencias significativas en algunas variables abióticas entre superficie y fondo. Tanto el pH como la conductividad (K) presentaron diferencias significativas entre superficie y fondo ( $F=60,7$  y  $p\text{-valor}<0,001$  para pH y  $F=62,6$  y  $p\text{-valor}<0,001$  para K). Las diferencias significativas entre superficie y fondo se dieron cuando el lago estuvo estratificado (test post hoc de Sidak-Holm,  $p\text{-valor}<0,001$  tanto para pH como para K). Cuando el lago estuvo mezclado, las diferencias entre superficie y fondo de estas dos variables no fueron significativas (test post hoc de Sidak-Holm,  $p\text{-valor}=0,59$  para pH y  $p\text{-valor}=0,98$  para K). Finalmente, los datos de superficie y de fondo de dichas variables

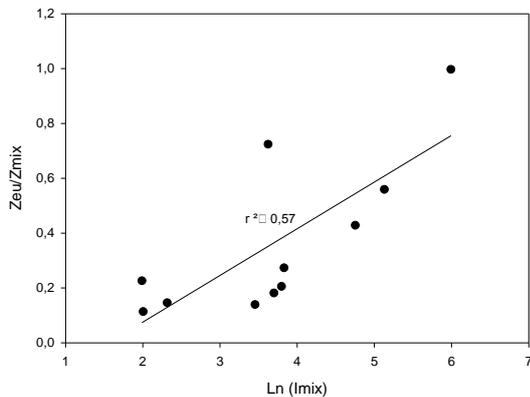
presentaron diferencias significativas entre el período de estratificación y de mezcla ( $F= 8,3$  y  $p\text{-valor}=0,012$  para pH y  $F= 16,29$  y  $p\text{-valor}=0,01$  para K) (Figura 7).



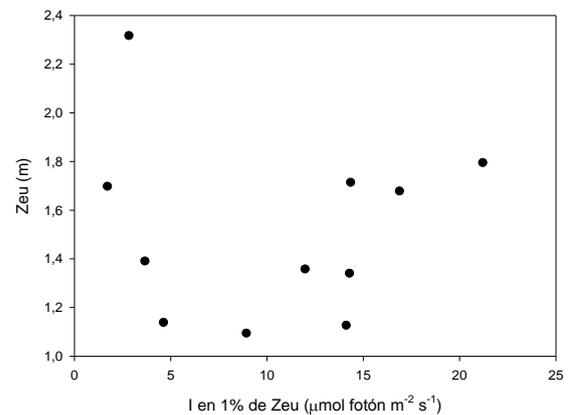
**Figura 3.** Profundidad de la zona eufótica (barras negras) y de la zona de mezcla (línea continua) a lo largo del tiempo (eje x, mes/año). El período de estratificación se marca con una barra negra y el de mezcla con una barra blanca debajo del gráfico.



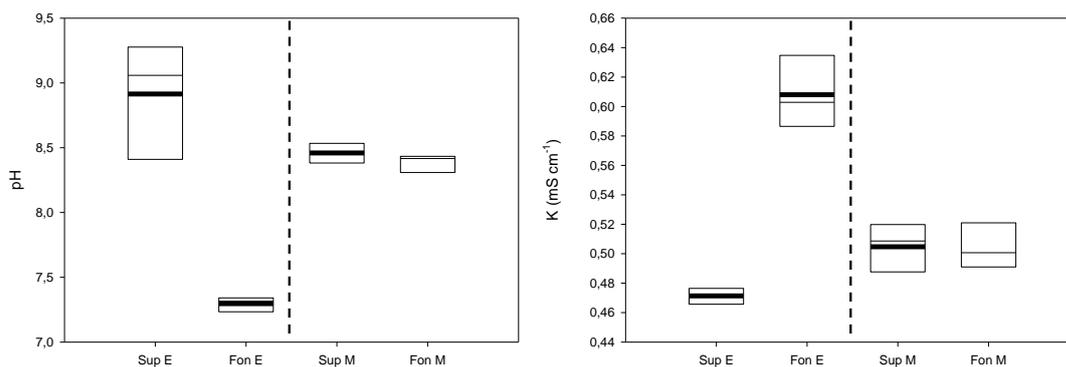
**Figura 4.** Cantidad de luz de la zona de mezcla ( $I_{mix}$ ) en barras blancas y cantidad de luz fotosintéticamente activa instantánea del aire (PAR) en la línea continua negra a lo largo del tiempo (eje x, mes/año). El período de estratificación se marca con una barra negra debajo del gráfico y el de mezcla con una barra blanca.



**Figura 5.** Relación entre la zona eufótica y la zona de mezcla ( $Z_{eu}/Z_{mix}$ ) en función del Ln de la cantidad de luz de la zona de mezcla ( $\ln(I_{mix})$ ). Se indica el  $r^2$  de ajuste de la función lineal ( $p < 0,05$ ).



**Figura 6.** Distribución entre la zona eufótica (zeu) y la cantidad de luz que existe en el límite inferior de la zona eufótica ( $I$  en 1% de ZeU) en  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



**Figura 7.** Distribución de pH (izquierda) y conductividad (derecha) en superficie (Sup) y fondo (Fon) según el período de estratificación (E) y mezcla (M) del lago. Las líneas gruesas indican la media y las líneas finas de las cajas los percentiles 25%, 50% (mediana) y 75%.

### Composición e indicadores de biomasa del fitoplancton

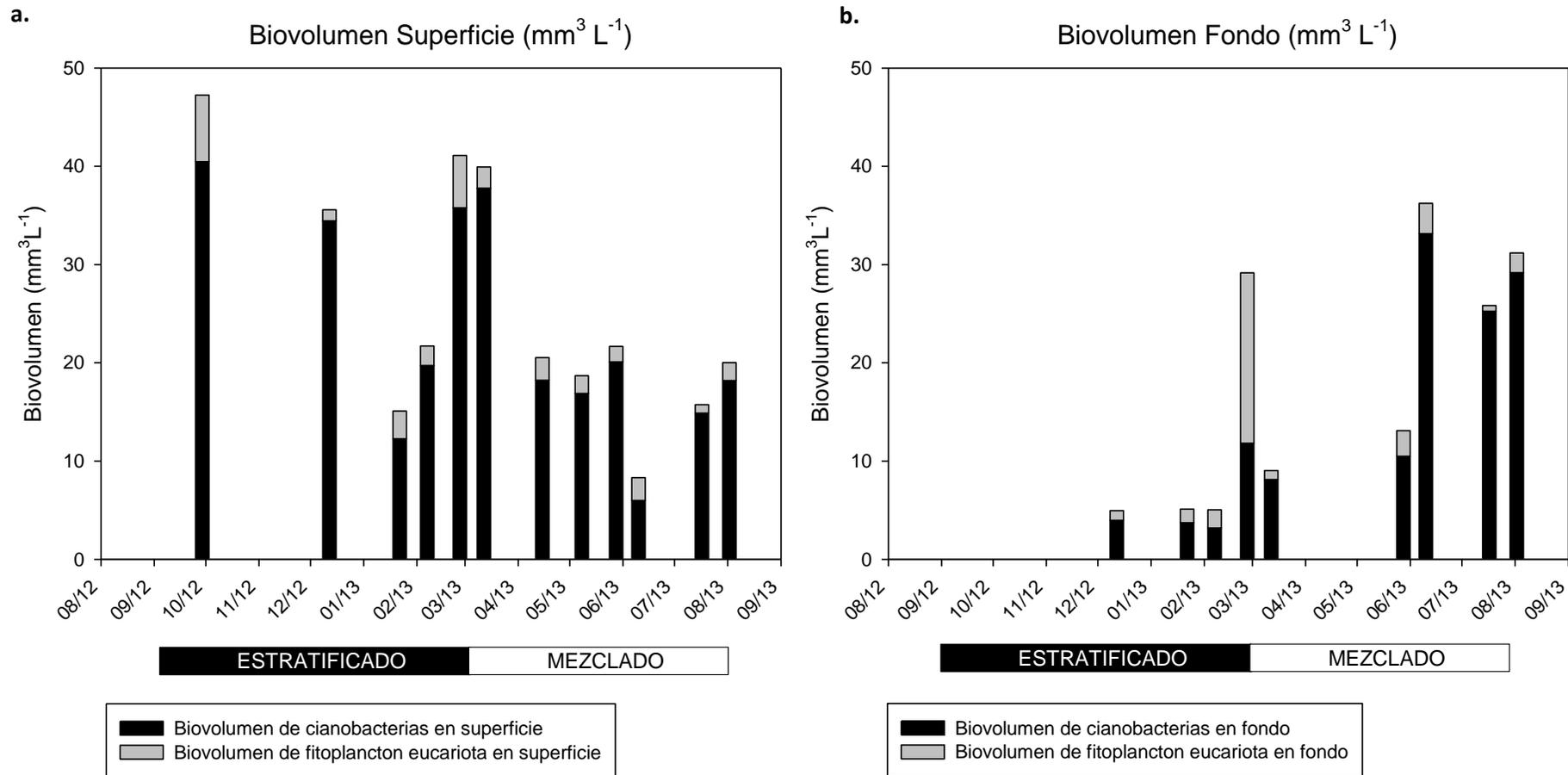
En el periodo de estudio se encontró una alta riqueza de taxas de fitoplancton. Se determinaron un total de 45 taxas distribuidas entre los grupos Cyanobacteria, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae y Euglenophyceae. Las 17 especies de cianobacterias pertenecieron a los tres órdenes planctónicos: Chroococcales (6 especies), Nostocales (4 especies) y Oscillatoriales (5 especies) (Tabla 2).

La concentración de clorofila *a* del centro del lago varió entre 43,8  $\mu\text{g L}^{-1}$  (22/01/2013) y 145,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  (12/03/2013) a lo largo del período estudiado. El promedio de clorofila *a* del centro del lago fue de  $75,77 \pm 30,2 \mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que el promedio de clorofila *a* de la zona litoral fue dos órdenes de magnitud mayor ( $1249,3 \pm 2567,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ). La variación en la clorofila *a* de la zona litoral a lo largo del período de estudio fue mayor, con un mínimo de 61,8  $\mu\text{g L}^{-1}$  (02/08/2013) y un máximo de 5841,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  (10/06/2013).

Los valores de biovolumen de fitoplancton encontrados fueron siempre altos. Las cianobacterias fueron siempre dominantes, (> 40% del biovolumen total de fitoplancton) tanto en superficie como en fondo para todos los muestreos, por lo que el biovolumen de fitoplancton y el biovolumen de cianobacterias estuvieron fuertemente correlacionados ( $r_s = 0,94$  y  $p\text{-valor} < 0,001$ ). A lo largo del año, hubo variaciones (de hasta 5 veces el biovolumen de fitoplancton en superficie y hasta 9 en el fondo) tanto del biovolumen de fitoplancton como de cianobacterias, las cuales no coincidieron con un patrón de cambio de estación (Figura 8).

**Tabla 2.** Taxa fitoplanctónicas encontradas en el lago Javier a lo largo de todo el período de estudio, según los distintos grupos taxonómicos (Cyanobacteria, Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae y Euglenophyceae) y según el orden (Chroococcal, Nostocal y Oscillatorial) en el caso de las cianobacterias.

<b>Grupo taxonómico</b>	<b>Especie</b>
<b>Cyanobacteria</b>	
Chroococcal	<i>Aphanocapsa delicatissima</i> <i>Microcystis</i> sp. <i>Merismopedia</i> sp. <i>Aphanocapsa</i> sp. <i>Snowella</i> sp. Colonia no identificada 1
Nostocal	<i>Aphanizomenon</i> cf. <i>gracile</i> <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <i>Cuspidothrix</i> sp. <i>Anabaenopsis</i> sp.
Oscillatorial	<i>Plankthotrix aghardii</i> <i>Planktolyngbya limnetica</i> <i>Pseudanabaena raphidioides</i> <i>Pseudanabaena</i> sp. <i>Limnothrix</i> sp.
<b>Bacillariophyceae</b>	
	<i>Diatomea pennada</i> <i>Aulacoseria pseudo granulata</i>
<b>Chlorophyceae</b>	
	<i>Scenedesmus acuminatus</i> <i>Scenedesmus espinosus</i> <i>Tetraedron minimum</i> <i>Monoraphidium contortum</i> <i>Monoraphidium</i> cf. <i>griffithi</i> <i>Monoraphidium</i> sp. Clorofita "cf. <i>Oocystis</i> " Unicelular no identificado 1 Colonia no identificada 2
<b>Cryptophyceae</b>	
	<i>Cryptomonas</i> sp. <i>Rhodomonas lacustris</i>
<b>Dinophyceae</b>	
	<i>Peridinium</i> sp.
<b>Euglenophyceae</b>	
	<i>Trachelomonas</i> sp. <i>Euglena</i> sp.



**Figura 8.** Biovolumen de fitoplancton discriminado en cianobacterias (barra negra) y fitoplancton eucariota (barra gris) para superficie (a) y fondo (b). La suma de las dos barras (negra y gris) es el biovolumen del fitoplancton total. El período de estratificación se marca con una barra negra debajo del gráfico y el de mezcla con una barra blanca.

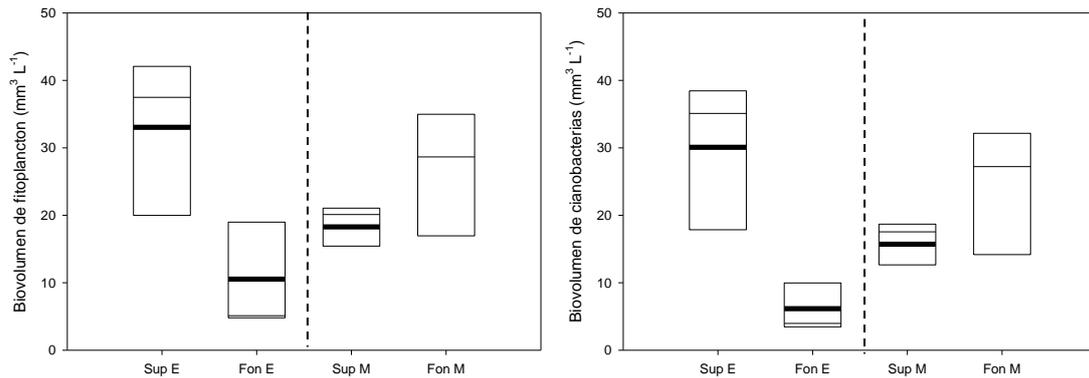
El biovolumen de fitoplancton y el biovolumen de cianobacterias presentaron diferencias significativas entre superficie y fondo cuando el lago estuvo estratificado ( $p$ -valor $<0,001$  tanto para el fitoplancton total como para las cianobacterias), siendo mayor el biovolumen (tanto de fitoplancton total como de cianobacterias) en superficie que en fondo (Figura 9).

Los perfiles de clorofila y ficocianina *in vivo* coincidieron con los perfiles verticales de temperatura y oxígeno disuelto, indicando que la biomasa en el hipolimnion disminuyó cuando el lago estuvo estratificado en contraste con la biomasa en el epilimnion (datos no mostrados). En este estudio, la clorofila  $a$  por extracción no estuvo correlacionada con la clorofila por fluorescencia ni con la ficocianina por fluorescencia ( $p$ -valor $>0,05$ ). La clorofila  $a$  por extracción tampoco se correlacionó con el biovolumen de fitoplancton ( $p$ -valor $>0,05$ ) ni con el biovolumen de cianobacterias ( $p$ -valor $>0,05$ ). Sin embargo, la clorofila  $a$  por extracción se correlacionó con el biovolumen de cianobacterias Nostocales y con el biovolumen de *C. raciborskii* ( $r_s = 0,767$  y  $p$ -valor=  $0,012$  y  $r_s = 0,767$  y  $p$ -valor=  $0,012$ , respectivamente).

La clorofila por fluorescencia no estuvo correlacionada con ningún indicador directo de la biomasa de fitoplancton o de cianobacterias. Sin embargo, la ficocianina por fluorescencia estuvo correlacionada con el biovolumen de fitoplancton total ( $r_s = 0,543$  y  $p$ -valor= $0,043$ ) y con los indicadores directos de cianobacterias: biovolumen de cianobacterias ( $r_s = 0,591$  y  $p$ -valor= $0,025$ ), biovolumen de cianobacterias Nostocales ( $r_s = 0,604$  y  $p$ -valor= $0,021$ ) y biovolumen de *C. raciborskii* ( $r_s = 0,622$  y  $p$ -valor= $0,017$ ). La clorofila por fluorescencia y la ficocianina por fluorescencia estuvieron fuertemente correlacionadas entre sí ( $r_s = 0,851$  y  $p$ -valor $<0,001$ ), evidenciando que la mayor parte del fitoplancton está compuesto por cianobacterias.

### ***Cylindrospermopsis raciborskii* y su relación con el factor luz y temperatura**

Los filamentos de *Cylindrospermopsis raciborskii* fueron rectos y sin vaina mucilaginosas (Figura 10). La dimensión lineal máxima (MLD) promedio de los filamentos de estos organismos en el estudio fue  $138 \pm 45 \mu\text{m}$  en superficie y de  $97 \pm 30 \mu\text{m}$  en fondo, sin diferencias significativas entre ambas zonas. Los filamentos presentaron heterocitos y acinetes en algunos momentos del año. Los heterocitos fueron cónicos terminales, característicos de esta especie. Se encontraron filamentos que presentaron hasta dos heterocitos (uno en cada punta). Los acinetes fueron ovalados e intercalados entre las células vegetativas.



**Figura 9.** Distribución del biovolumen de fitoplancton (izquierda) y de cianobacterias (derecha) en superficie (Sup) y fondo (Fon) según el período de estratificación (E) y mezcla (M) del lago. Las líneas gruesas indican la media y las líneas finas de las cajas los percentiles 25%, 50% (mediana) y 75%.



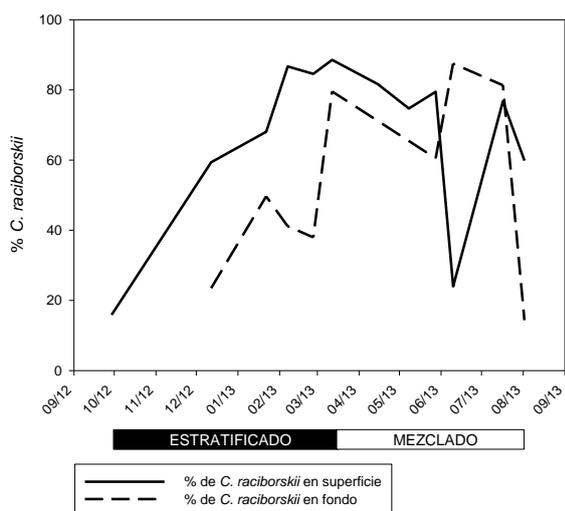
**Figura 10.** Microfotografía de *Cylindrospermopsis raciborskii* del lago Javier (26/12/2012) aumentada 400 veces. Se observa heterocito terminal y acinete intercalar. Foto: Andrea Somma.

El biovolumen de *C. raciborskii* osciló entre 2,1 y 34,9  $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$  en superficie y 1,1 y 31,7  $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$  en fondo. La contribución relativa de *C. raciborskii* al total del biovolumen del fitoplancton varió a lo largo del tiempo, siendo su mínimo 15% y su máximo 88% (Figura 11).

El biovolumen de *C. raciborskii* de superficie presentó diferencias significativas con el de fondo cuando el lago estuvo estratificado (Figura 12).

En relación a los cambios temporales de las variables ambientales, no se observó una correlación entre el biovolumen de fitoplancton y la temperatura ( $r_s = -0,001$  y  $p\text{-valor} = 0,992$ ) (Figura 13 a). No se encontró una correlación entre el biovolumen del fitoplancton y la cantidad de luz a la que estuvieron expuestos los microorganismos ( $I_{mix}$ ) (Figura 13 b), así como tampoco se encontró una correlación entre el biovolumen de fitoplancton y la zona eufótica. El biovolumen de *C. raciborskii* y el porcentaje de *C. raciborskii* tampoco se correlacionaron con la zona eufótica ni con la relación  $Z_{eu}/Z_{mix}$ . Contrastando el biovolumen de *C. raciborskii* en función de la temperatura y la luz, se pudo observar que *C. raciborskii*

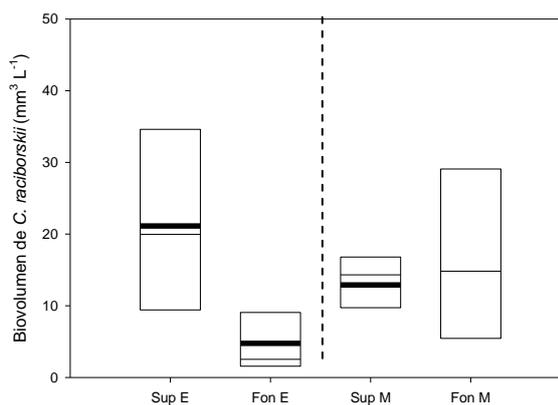
presentó altas biomásas a bajas temperaturas y bajas cantidades de luz y a altas temperaturas en un amplio gradiente de luz. El biovolumen de *C. raciborskii* presentó un pico de biomasa a altas temperaturas (24°C) y bajas cantidades de luz (20  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (Figura 13 c y d). La dominancia del biovolumen de *C. raciborskii* en el biovolumen del fitoplancton total (% *C. raciborskii*) presentó un patrón similar al del biovolumen de *C. raciborskii* en función de la temperatura y la cantidad de luz (Figura 13 e y f).



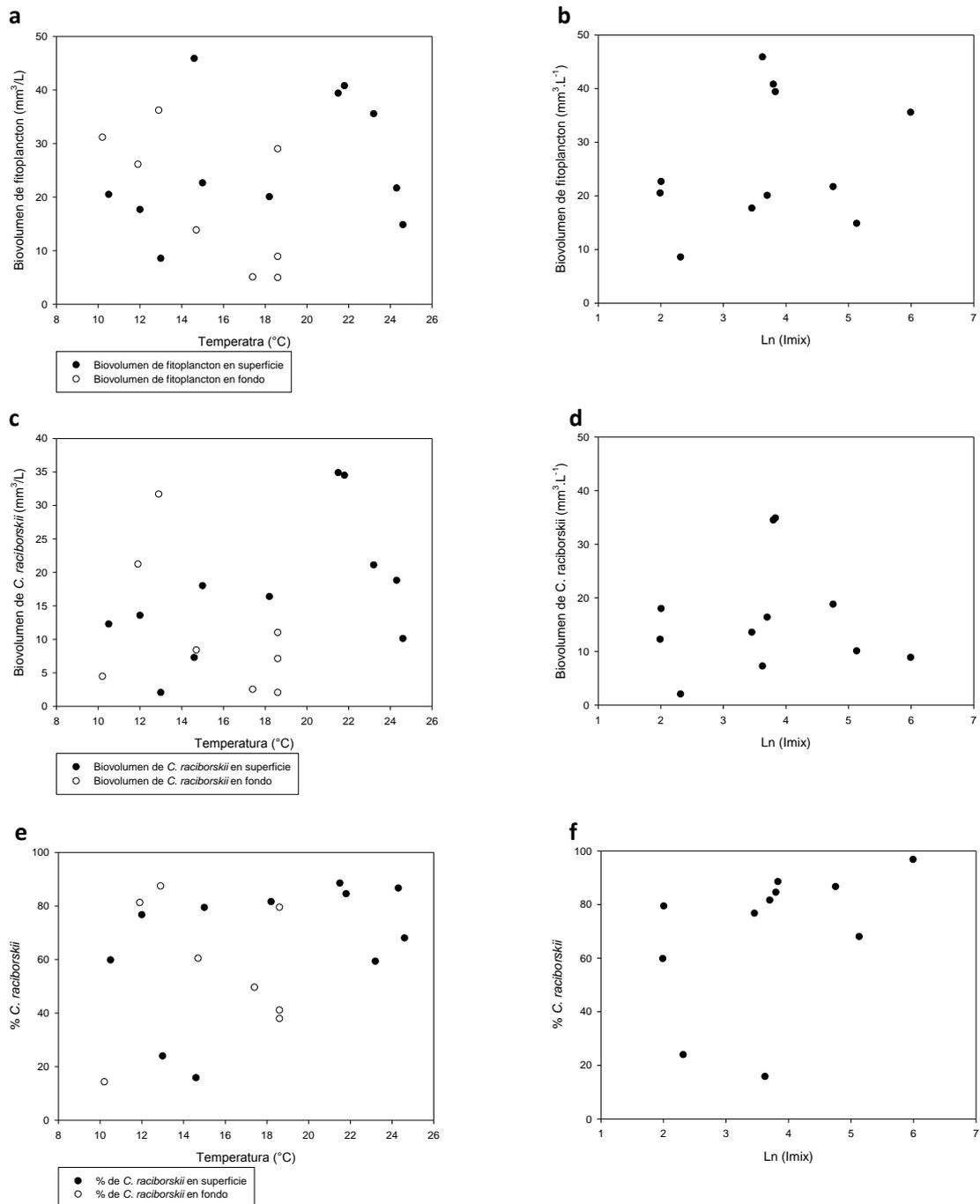
**Figura 11.** Porcentaje de *Cylindrospermopsis raciborskii* en el biovolumen total del fitoplancton en superficie (línea continua) y en fondo (línea punteada) a lo largo del tiempo. El período de estratificación se marca con una barra negra debajo del gráfico y el de mezcla con una barra blanca.

## Cianotoxinas

La concentración de saxitoxina fue siempre menor a  $3,1 \mu\text{g L}^{-1}$  y presentó dos máximos de concentración, uno en marzo y otro en junio (Figura 14). No se encontraron correlaciones significativas entre la concentración de saxitoxina y la biomasa de fitoplancton, cianobacterias, Nostocales y *C. raciborskii*. Tampoco se encontraron correlaciones significativas entre la saxitoxina por unidad de biomasa (de fitoplancton, de cianobacterias y de *C. raciborskii*) y la biomasa de fitoplancton, cianobacterias, cianobacterias Nostocales y *C. raciborskii*. Sin embargo, se pudo observar que la concentración de saxitoxina/biovolumen de cianobacterias y el biovolumen de cianobacterias presentó una tendencia lineal inversa ( $r_s = -0,429$  y  $p\text{-valor} > 0,05$ ).

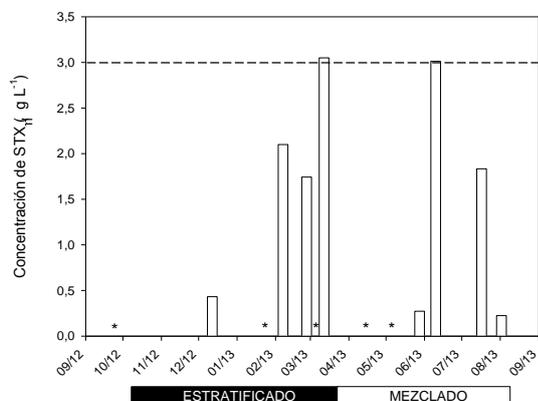


**Figura 12.** Distribución del biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii* en superficie (Sup) y fondo (Fon) según el período de estratificación (E) y mezcla (M) del lago. Las líneas gruesas indican la media y las líneas finas de la caja los percentiles 25%, 50% (mediana) y 75%.

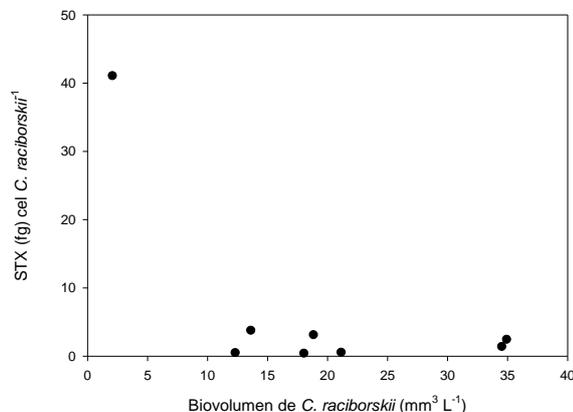


**Figura 13.** Biovolumen de fitoplancton ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) **(a)**, biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii* ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) **(c)** y porcentaje del biovolumen de *C. raciborskii* en el biovolumen de fitoplancton total **(e)** en función de la temperatura del agua. Biovolumen de fitoplancton ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) **(b)**, biovolumen de *Cylindrospermopsis raciborskii* ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) **(d)** y porcentaje del biovolumen de *C. raciborskii* en el biovolumen de fitoplancton total **(f)** en función del logaritmo de la cantidad de luz de la zona de mezcla. Los valores correspondientes a la superficie del lago se muestran con círculos negros y los de fondo en círculos blancos.

La concentración de saxitoxina por célula de *C. raciborskii* no presentó una correlación significativa con el biovolumen de *C. raciborskii* ( $p\text{-valor} > 0,05$ ). A pesar de esto, existió una tendencia lineal inversa entre estas dos variables (Figura 15).



**Figura 14.** Concentración de saxitoxina a lo largo del tiempo. La línea punteada marca el límite de saxitoxina recomendado por la OMS ( $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para el agua potable (Chorus, 2012). Los asteriscos (\*) marcan las fechas en la que se hicieron muestreos pero no se analizó la saxitoxina. El período de estratificación se marca con una barra negra debajo del gráfico y el de mezcla con una barra blanca.



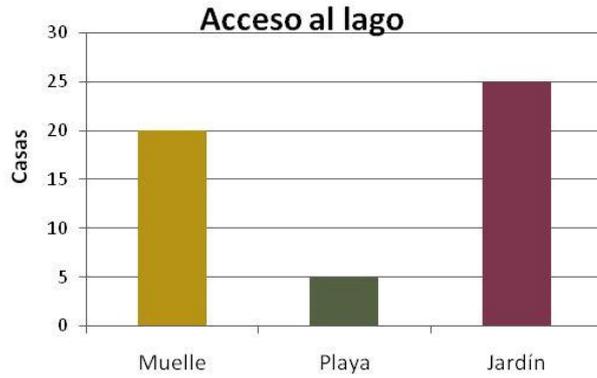
**Figura 15.** Concentración de saxitoxina por célula de *C. raciborskii* (fg. cél<sup>-1</sup>) en función del Biovolumen de *C. raciborskii* ( $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ). Con una línea negra se muestra la tendencia existente entre estas dos variables y su respectivo  $r^2$ .

## Uso del lago

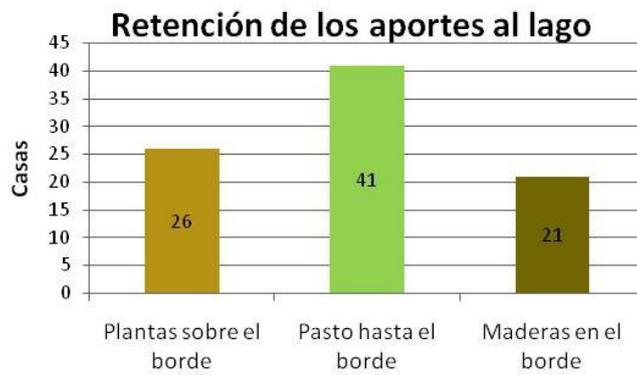
Se encuestaron un total de 42 casas, las que albergan a 192 personas (129 adultos y 63 niños). Del total de las casas encuestadas, 39 tienen acceso al lago, y en la mayoría el acceso es a través de un jardín (Figura 16).

Más de la mitad de las casas presentan al menos una zona del terreno con vegetación costera sobre el lago. Sin embargo, la mayoría de las casas presentaron una porción de la zona de costa con césped sobre el borde del agua (Figura 17).

La mayoría de las personas encuestadas realizaba un uso recreativo con contacto directo del lago, en particular más del 75% del total de los niños se bañaba y el 65% realizaban deportes acuáticos variados (Figura 18). La proporción de personas que pesca fue baja en relación al resto de las actividades, y ninguna de las personas que pesca declaró comer lo que pesca.



**Figura 16.** Número de casas que tienen acceso al lago a través de un muelle (amarillo), de una playa (verde) o de un jardín (violeta) del total de las casas encuestadas.



**Figura 17.** Estructura de la zona litoral de cada casa encuestada. Dichas casas presentan: plantas sobre el borde del agua (amarillo), pasto hasta el borde del agua (verde) y maderas con el fin de retener la erosión del terreno (marrón).



**Figura 18.** Porcentaje del total de Menores (niños, en anaranjado) y del total de Mayores (adultos, en azul) que realizan las distintas actividades recreacionales del lago (baño, deportes acuáticos y pesca). Ninguna de las personas entrevistadas consume los peces capturados.

## Discusión

### Dominancia de cianobacterias en el lago Javier

El lago Javier es un lago hipereutrófico de acuerdo a los valores de clorofila *a* (Ryding *et al.*, 1992; Bonilla, 2009). Los cuerpos de agua eutróficos se caracterizan por tener un alto nivel de productividad y de biomasa fitoplanctónica, tienen el hipolimnion anóxico durante los periodos de estratificación térmica y tienen una baja calidad de agua, entre otras características, lo que limita el uso de los recursos por parte de los seres humanos (abastecimiento de agua potable, uso recreativo, riego, etc.) (Ryding *et al.*, 1992; Chorus & Bartram, 1999). Los niveles de clorofila *a* y el biovolumen de cianobacterias encontrados de este estudio indican que el lago Javier presenta una floración permanente de cianobacterias durante todo el período estudiado (Smayda, 1997; Reynolds, 2006). Si bien existieron diferencias significativas entre el biovolumen de fitoplancton de superficie y fondo cuando el lago estuvo estratificado, tanto en el epilimnion como en el hipolimnion, la dominancia del fitoplancton fue por parte de las cianobacterias.

Según el perfil de temperatura y oxígeno, el lago Javier es un lago monomítico con estratificación estival. La estratificación del lago lleva a que el fondo se vuelva anóxico debido a que los procesos de descomposición (que consumen oxígeno) se dan en esa zona y que el hipolimnion no recibe oxígeno desde la superficie. En estas condiciones, la anoxia del fondo que se da en este tipo de lagos provocaría la reducción de los compuestos nitrogenados y la liberación de PO<sub>4</sub> por parte del sedimento hacia el hipolimnion (Lampert & Sommers, 2007), lo que aumentaría la carga de nutrientes en el lago. Cuando el lago se vuelve a mezclar, estos nutrientes se encontrarían disponibles en toda la columna de agua y podrían ser captados por el fitoplancton. Las cianobacterias son muy eficientes en la incorporación de concentraciones de nutrientes fluctuantes, lo que le otorga una ventaja ante el resto del fitoplancton en este tipo de escenarios (Whitton & Potts, 2000; Moore *et al.*, 2005; Orchard *et al.*, 2009; Aubriot *et al.*, 2011).

La mayoría de las especies de cianobacterias que forman floraciones dispersivas tienen bajos requerimientos lumínicos y toleran períodos de sombra ( $Z_{eu}/Z_{mix} < 1$ ) (Reynolds, 1993; Reynolds, 1994; Briand *et al.*, 2004; Bonilla, 2009; Fabre, 2011; Bonilla *et al.*, 2012). Además, la mayoría de las especies de cianobacterias planctónicas poseen vesículas de gas que les permiten regular su posición en la columna de agua y optimizar la captación de luz (Reynolds,

2006; Bonilla, 2009). La relación  $Z_{eu}/Z_{mix}$  y el  $I_{mix}$  del lago Javier favorecen el crecimiento de cianobacterias que generan floraciones de carácter dispersivo tanto durante la estratificación como en el período de mezcla.

### Uso de pigmentos

El hecho de que la clorofila  $a$  por extracción no se haya correlacionado con ningún indicador directo del fitoplancton pone en cuestionamiento el uso de esta como indicador de biomasa de fitoplancton para las condiciones eutróficas que se registraron en el lago Javier. La variación en la composición pigmentaria del fitoplancton puede hacer que la clorofila  $a$  por extracción no sea un buen indicador de la biomasa fitoplanctónica. Estudios sobre la variación pigmentaria de *Cylindrospermopsis raciborskii* a los cambios en la intensidad de luz y de la temperatura, establecen que al disminuir la temperatura, se produce una disminución significativa en la cantidad de clorofila  $a$  (Mehnert *et al.*, 2012), es decir, variaciones ambientales provocan cambios en la composición pigmentaria (Bonilla *et al.*, 2012). Ante este escenario, la clorofila  $a$  no sería un estimativo seguro del biovolumen de cianobacterias cuando se encuentran en altas biomásas. La clorofila por fluorescencia tampoco estuvo correlacionada con los indicadores directos de biomasa (biovolumen de fitoplancton y de cianobacterias). Gregor & Marsalek (2004) plantean que la clorofila por fluorescencia es una aproximación más certera a la estimación del biovolumen de fitoplancton en cuerpos de agua con bajos niveles de clorofila  $a$  ( $<50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y establecen que cuando las cianobacterias son dominantes y forman floraciones no es un buen indicador (el límite superior de cuantificación con una alta correlación son los  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ). En este trabajo, en el lago Javier se encontraron valores de clorofila dos veces superiores a los  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , por lo que puede suceder que la clorofila por fluorescencia no sea un buen estimador de la biomasa de fitoplancton, ya que es demasiado alta y está por encima del límite de cuantificación con una alta correlación entre la fluorescencia y la biomasa. Este estudio pone en cuestionamiento la utilización de la clorofila por fluorescencia como estimador con alta correlación con la biomasa de fitoplancton en ambientes eutróficos y con dominancia de cianobacterias.

Sin embargo, la ficocianina *in vivo* fue un mejor indicador de la biomasa de cianobacterias que la clorofila  $a$  por extracción y que la clorofila por fluorescencia. Esto puede deberse a que como este lago está dominado por cianobacterias el uso de un pigmento casi exclusivo (también se encuentra presente en muy baja concentración en criptofitas dulceacuícolas) de las mismas es una señal quimiotaxonómica más certera a la hora de realizar estimaciones.

## *Cylindrospermopsis raciborskii*

*Cylindrospermopsis raciborskii* presentó tricomas rectos como los ya citados para esta especie en Uruguay (Vidal & Kruk, 2008; Fabre, 2011). El MLD de las poblaciones encontradas en el lago Javier a lo largo del año fueron mayores que los medidos por (Fabre, 2011) para la cepa MVCC19 de *C. raciborskii* aislada de este mismo lago y similares a los encontrados por Everson *et al.* (2011) (46-106  $\mu\text{m}$ ) en un lago subtropical en Australia. La relación superficie/volumen que presenta esta especie le permite una mayor captación de recursos y de luz (Lewis, 1976). Durante el periodo de estudio, *C. raciborskii* fue la especie que formó floraciones casi permanentes y en varios momentos presentó heterocitos. Se puede suponer que la variación en la aparición de los heterocitos fue en función de la disponibilidad del nitrógeno del agua. La aparición de heterocitos se da en condiciones de nitrógeno insuficientes (Branco & Senna, 1994; Padisák, 1997; Bouvy *et al.*, 2000; Everson *et al.*, 2011). Estudios de campo realizados por Everson *et al.* (2011) determinó que la producción de toxinas (cylindrospermopsina) por parte de *Cylindrospermopsis raciborskii* está correlacionada con la densidad de heterocitos. Sería de interés evaluar la relación entre la producción de saxitoxina y la cantidad de heterocitos de los filamentos.

La concentración de saxitoxina encontrada en el lago siempre estuvo dentro de los valores permitidos para cuerpos de agua recreacionales (Chorus, 2012). La Organización Mundial de la Salud (OMS), la normativa australiana, brasilera y neozelandesa establecen  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  como el valor máximo permitido de saxitoxina para el agua potable. La única legislación que presenta valores límites de saxitoxina para aguas recreacionales es la del estado de Oregon, EEUU, que establece un valor de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de saxitoxina (Chorus, 2012). Teniendo en cuenta estas referencias, la zona de aguas abiertas del lago Javier (centro del lago) no presentaría un gran riesgo para la población que lo utiliza de forma recreativa. Sin embargo, la biomasa de cianobacterias suele acumularse en la orilla, la cual es la zona de contacto para los bañistas. De acuerdo a nuestros resultados, la clorofila *a* en la orilla del lago puede ser hasta 60 veces más alta que en el centro del mismo. Por lo tanto, se esperaría que la saxitoxina también se encontrara en mayor concentración en la orilla. Si la concentración de saxitoxina del lago aumentara proporcionalmente con la biomasa de cianobacterias, las orillas del lago tendrían una concentración de saxitoxina superior (2 veces) a la permitida por la legislación existente para aguas recreacionales. Por otro lado, cabe destacar que si bien la concentración de saxitoxina no fue elevada, la potencialidad en la producción de saxitoxina que presenta el lago si lo es, debido a las grandes biomásas de cianobacterias que se encontraron en este estudio.

Si se compara la producción de STX/célula de *C. raciborskii* encontrada en el lago Javier ( $6,55 \pm 13,01$  fg STX/célula de *C. raciborskii*) con la encontrada experimentalmente por Martigani (2011) en condiciones óptimas de nutrientes ( $52,05$  fg STX/célula de *C. raciborskii*), las poblaciones de *Cylindrospermopsis raciborskii* que se encontraron en el lago Javier en este estudio tienen la potencialidad de producir 8 veces más cantidad de saxitoxina/célula, aumentando el riesgo para los usuarios. Asimismo, las floraciones de cianobacterias con niveles de biomasa como las determinadas en este estudio representan un riesgo sanitario potencial (Chorus & Bartram, 1999; Chorus, 2012), ya que en el futuro otra población de *C. raciborskii* con mayor o diferente toxicidad puede suceder a esta. Además, existe la posibilidad de exposición a toxinas no descubiertas o a variantes de las ya conocidas que hasta el momento no pueden ser detectadas en altas concentraciones, generando un posible riesgo desconocido para los usuarios.

Varios estudios plantean que *Cylindrospermopsis raciborskii* presenta su óptimo a temperaturas de entre 25 y 35°C (Padisák, 1997; Briand *et al.*, 2004; Wiedner *et al.*, 2007), sin embargo, este trabajo evidenció que *C. raciborskii* es capaz de mantener altas biomásas y de dominar la comunidad fitoplanctónica en un amplio gradiente de temperatura. Este hecho apoya lo planteado por Bonilla *et al.* (2012) quienes no encontraron una correlación entre *C. raciborskii* y la temperatura, y por Briand *et al.* (2004) que encuentra, experimentalmente, que cepas de distinto origen de *C. raciborskii* son capaces de crecer en un amplio gradiente de temperatura (de 20 a 35°C). Estas evidencias podrían apoyar la hipótesis de plasticidad fenotípica de la especie o de la existencia de distintos ecotipos que facilitan su expansión (Piccini *et al.*, 2011). Hasta el momento, Everson *et al.* (2011) encontró *Cylindrospermopsis raciborskii* con una biomasa aproximada de  $2,1 \mu\text{m}^3 \text{L}^{-1}$  a una temperatura de 19°C en Australia, con un clima subtropical como el nuestro ( $153^{\circ}49'E$ ,  $28^{\circ}18'S$ ) y Tonetta *et al.* (2013) encontró  $100.000 \text{ ind mL}^{-1}$  de *Cylindrospermopsis raciborskii* a 17,6°C y dominando la comunidad fitoplanctónica de la Lagoa do Perí en Florianópolis, Brasil ( $27^{\circ}44'S$ ,  $48^{\circ}31'W$ ). Fabre *et al.* (2010) encontraron una alta dominancia de *C. raciborskii* a 11°C en el lago Javier. Por lo tanto, en este trabajo se determinó la temperatura más baja (10,5°C) a la que *C. raciborskii* mantiene altas biomásas ( $12,29 \mu\text{m}^3 \text{L}^{-1}$ ) generando floraciones. Estos resultados cuestionan el paradigma de que se trata de una especie tropical y por el contrario apoyan que se trata de una especie altamente flexible (Bonilla *et al.*, 2012).

Los resultados de este trabajo muestran que no hay una correlación entre los indicadores de cantidad de luz (Zeu/Zmix e Imix) y el biovolumen y el porcentaje de *C. raciborskii*, por lo que la

especie es capaz de mantener altas biomásas y dominar la comunidad también en un amplio gradiente lumínico. Estos resultados apoyan lo planteado por diversos autores (Briand *et al.*, 2004; Fabre, 2011; Bonilla *et al.*, 2012) quienes sostienen que debido a sus características ecofisiológicas, la especie es capaz de tolerar un amplio gradiente lumínico. Si bien no se encontró una relación entre el biovolumen de *C. raciborskii* y Zeu/Zmix, Bonilla *et al.* (2012) plantea que el máximo biovolumen de *C. raciborskii* se dió en relaciones de Zeu/Zmix menores a uno. En Lagoa do Peri, Tonetta *et al.* (2013) encontraron alta abundancia de *C. raciborskii* (100.000 ind mL<sup>-1</sup>) con una relación Zeu/Zmix=0,3. En el lago Javier, durante todo el período de estudio, la relación Zeu/Zmix siempre fue menor a uno, lo que podría favorecer las altas biomásas de *C. raciborskii* durante todo el año. Por otro lado, al igual que lo encontrado por Bonilla *et al.* (2012), que no haya una correlación entre el biovolumen y el porcentaje de *C. raciborskii* y la relación Zeu/Zmix indica que la especie tiene una alta tolerancia a la mezcla y a circular por profundidades con ausencia de luz. La alta tolerancia de la especie a la mezcla podría ser un factor que permita que *C. raciborskii* se encuentre en el invierno, cuando el lago no está estratificado y el fitoplancton se encuentra circulando por momentos en oscuridad.

La baja correlación encontrada entre la Zeu y la cantidad de luz en el límite inferior de la zona eufótica evidencia que la zona eufótica no es un buen indicador de la cantidad de luz recibida por el organismo. Al igual que lo determinado por Wiedner *et al.* (2007), este trabajo aporta evidencia a que el Imix es un mejor descriptor que la Zeu de la cantidad de luz que recibe el fitoplancton. Además, si bien el Imix es calculado con el valor de kd (Zeu) y con la Zmix, la alta correlación entre el Imix y la Zeu/Zmix indica que la relación Zeu/Zmix también es un buen indicador de la cantidad de luz que reciben los microorganismos. Por el contrario, la Zeu es un mal indicador de la cantidad de luz recibida por el fitoplancton. Esto se debe a que el fitoplancton se encuentra sujeto al movimiento del agua que hace que circule en la zona de mezcla y el indicador Zeu no tiene en cuenta esta circulación. Por otra parte, como la zona eufótica depende de la cantidad de luz que ingresa al ecosistema, la cantidad de luz que existe en el límite inferior de la Zeu (1%Zeu) no tiene por qué limitar el crecimiento del fitoplancton. Es posible que por debajo de la Zeu exista producción primaria neta. Por ejemplo Fabre (2011) determinó que *C. raciborskii* presenta tasas de crecimiento positivas con una intensidad lumínica de 10  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y González-Piana (2012) establece que a los 5  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  tanto *Cylindrospermopsis raciborskii* como *Planktothrix agardhii* tienen tasas de crecimiento positivas. En este estudio, se encontraron intensidades de luz mayores a los 10  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (20,9  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$  el 12/12/2012) en el límite inferior de la zona eufótica, por lo que

en esta fecha tanto el crecimiento de *C. raciborskii* como de *P. agardhii* no se vería limitado por debajo de la zona eufótica. En este caso, la Zeu no es indicador del límite de producción primaria, por lo que su aproximación sería errónea a la hora de interpretar que la zona afótica es la zona donde domina la respiración ante la fotosíntesis y que por debajo de este límite el fitoplancton se ve limitado en su crecimiento.

Los resultados de este estudio establecen que *C. raciborskii* fue capaz de dominar la comunidad y de presentar altas biomásas en todo el rango de temperatura y luz presentado, por lo que se acepta la hipótesis planteada. Este es el primer trabajo de campo que encuentra biomásas de *C. raciborskii* tan altas y dominancia de esta especie en el total del fitoplancton en un rango de temperaturas (10,5-24,6°C) y cantidad de luz (7,2-169,1  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) tan amplio. Además en este trabajo se observan altas biomásas de *C. raciborskii* (12,3  $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ) y dominancia de la especie (60% del fitoplancton total) a bajas temperaturas (10°C) y bajas intensidades de luz (7  $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

## Uso del lago

Las variables relacionadas directamente con las cianobacterias en el lago Javier (biovolumen de cianobacterias y clorofila *a*) indican que el lago presenta un alto riesgo para su uso recreativo, según las recomendaciones de las distintas legislaciones (OMS, brasilera y uruguaya) (Chorus, 2012). Al comparar con otras normativas internacionales que establecen valores de biomasa de fitoplancton y/o cianobacterias y clorofila *a* para usos recreativos, tales como la de Australia, Cuba, Dinamarca, Alemania, Hungría, Países Bajos, Nueva Zelanda y Turquía, los valores registrados para el lago Javier presentan un riesgo alto para contacto directo (Chorus, 2012).

Un alto porcentaje de vecinos utiliza el lago de forma recreativa exponiéndose a un alto riesgo para la salud. Los niños son en general la población más vulnerable frente a problemas de floraciones de cianobacterias en aguas de recreación porque tienen un tiempo más prolongado que los adultos en contacto con el agua e ingieren volúmenes considerablemente mayores que los adultos en relación a su masa corporal (Chorus & Bartram, 1999). En el lago Javier, más del 75% de los niños se baña en el lago durante el verano y son quienes se encuentran en mayor contacto con las floraciones de cianobacterias. Por otro lado, los animales domésticos también son susceptibles a un alto riesgo al estar en contacto con el agua y al ingerir grandes cantidades de la misma (Chorus & Bartram, 1999). Con la finalidad de evitar el contacto de los usuarios del lago con las cianobacterias, es necesario el intercambio

de información con dicha comunidad. También se recomienda realizar monitoreos con mayor frecuencia y analizando más variables que las rutinarias por el período en el cual la floración de cianobacterias esté presente en el cuerpo de agua (Chorus, 2012).

Hasta el momento, la normativa uruguaya no contempla ningún indicador directo de biomasa de cianobacterias (biovolumen de cianobacterias, células por mililitro de cianobacterias y/o clorofila *a*) así como tampoco incluye concentración de cianotoxinas para cuerpos de agua recreacionales (DINAMA, 1979). Dado que la mayoría de los cuerpos de agua del país presentan un estado trófico avanzado (Bonilla, 2009) y que las cianobacterias dominan en ambientes con estas condiciones (Whitton & Potts, 2000) es importante que se tenga en cuenta las cianobacterias en la legislación para los distintos usos de los cuerpos de agua. La legislación brasilera es de las legislaciones más completas y podría ser un ejemplo a seguir.

## Conclusiones y perspectivas

La cianobacteria planctónica *Cylindrospermopsis raciborskii* en el lago Javier es capaz de mantener altas biomásas y de dominar el fitoplancton en un amplio gradiente de temperatura y de intensidad lumínica. Este trabajo presenta el registro de altas biomásas de la especie a las menores temperaturas (10,5°C) registradas. Estas evidencias ponen en cuestionamiento lo planteado por diversos autores acerca de que la especie es una especie tropical. Esta investigación también pone en cuestionamiento el uso de la Zeu como indicador de la cantidad de luz que reciben los organismos y propone que el Imix y/o la relación Zeu/Zmix describen de forma más realista la cantidad de luz recibida por el fitoplancton.

Dada la alta biomasa de cianobacterias, el lago presenta un alto riesgo para su uso recreativo. Si bien la concentración de toxinas se encuentra dentro de lo permitido por la legislación internacional para cuerpos de agua recreacionales, existe un alto riesgo debido al contacto de los usuarios con biomásas tan altas. Además, el riesgo asociado a toxinas desconocidas es muy alto con biomásas como las encontradas en el lago Javier y futuras poblaciones de *C. raciborskii* con la misma biomasa podrían producir grandes cantidades de saxitoxina.

Dado que *Cylindrospermopsis raciborskii* es capaz de generar floraciones en varios cuerpos de agua recreacionales similares de nuestro país durante todo el año y de producir grandes concentraciones de toxinas (Martigani, 2011; Piccini *et al.*, 2011), tanto estudios de laboratorio como de campo sobre la ecofisiología de la especie son esenciales para poder prevenir dichas floraciones. Actualmente, en nuestro laboratorio, Federica Hirsch está investigando el efecto de los nutrientes sobre la dinámica poblacional de *Cylindrospermopsis raciborskii* en el lago Javier, estudio que complementa este trabajo. En futuras investigaciones consideramos que experimentos de laboratorio o mesocosmos que ayuden a dilucidar cuál es la temperatura umbral a la que *C. raciborskii* es capaz de formar floraciones ayudarían al entendimiento de la ecofisiología de la especie y a la prevención de dichas floraciones. Por otro lado, estudios sobre la depredación de *Cylindrospermopsis raciborskii* pueden ayudar a comprender el comportamiento invasor de la especie y puede ser una herramienta útil para controlar su expansión.

Mientras tanto, el vínculo con los usuarios del lago es fundamental para prevenir el uso de cuerpos de agua recreacionales que presentan alto riesgo de contacto con altas biomásas y/o con toxinas.

## Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mis tutores, Sylvia Bonilla y Luis Aubriot, por orientarme en este trabajo, por sus aportes y discusiones y por la disponibilidad brindada. También quiero agradecerles por la buena onda y la paciencia que me tuvieron.

A los compañeros y amigos de la Sección Limnología por la buena onda de todos los días y la calidez del ambiente de trabajo, las risas, los bailes, las discusiones, las charlas, los encares, etc. Especialmente quiero agradecer a Amelia por todas las enseñanzas y por haberme mostrado parte de este mundo y a Bruno, Federica y Fátima por toda la ayuda en la pasantía.

A la banda por haberme bancado todos estos años y por hacer el trayecto facultativo super divertido y a todos los amigos que de alguna manera u otra estuvieron apoyándome durante todos estos años. A las amigas un agradecimiento más que especial por absolutamente todo lo vivido!

A mi familia que estuvo bancándome la cabeza y resistieron todo esto con la máxima alegría y que me facilitaron todo el trayecto hasta aquí.

A Gissell Lacerot por haber aceptado corregir el manuscrito y por los aportes brindados.

A la Soc. María del Carmen Correa por el asesoramiento en la encuesta y a los vecinos del lago que se mostraron muy interesados en el trabajo y facilitaron su realización.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) que financió este proyecto al haberme otorgado una beca de Iniciación a la Investigación durante el 2012 y a la Sección Limnología por haber hecho posible la realización de esta tesis.

## Bibliografía

- Amaral, V. (2011). Flexibilidad fenotípica de la cianobacteria invasora *Cylindrospermopsis raciborskii* a fluctuaciones en la disponibilidad de fosfato. **Licenciatura en Ciencias Biológicas**. Montevideo, Universidad de la República.
- Amaral, V., S. Bonilla and L. Aubriot (2014). "Growth optimization of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in response to phosphate fluctuations." European Journal of Phycology **49**(1): 134-141.
- Antenucci, J. P., A. Ghadouani, M. A. Burford and J. R. Romero (2005). "The long-term effect of artificial destratification on phytoplankton species composition in a subtropical reservoir." Freshwater Biology **50**(6): 1081-1093.
- Aubriot, L. and S. Bonilla (2012). "Rapid regulation of phosphate uptake in freshwater cyanobacterial blooms." Aquatic Microbial Ecology **67**(3): 251-263.
- Aubriot, L., S. Bonilla and G. Falkner (2011). "Adaptive phosphate uptake behaviour of phytoplankton to environmental phosphate fluctuations." Federation of European Microbiological Societies **77**(1): 1-16.
- Aubriot, L., F. Wagner and G. Falkner (2000). "The phosphate uptake behaviour of phytoplankton communities in eutrophic lakes reflects alterations in the phosphate supply." European Journal of Phycology **35**: 255-262.
- Azevedo, S. M. F. O., W. W. Carmichael, E. M. Jochimsen, K. L. Rinehart, S. Lau, G. R. Shaw and G. K. Eaglesham (2002). "Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil." Toxicology **181-182**: 441-446.
- Bonilla, S. (2009). Cianobacterias planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de monitoreo. Montevideo, UNESCO.
- Bonilla, S., L. Aubriot, M. Soares, M. González-Piana, A. Fabre, V. Huszar, M. Lüring, D. Antoniadis, J. Padisák and C. Kruk (2012). "What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*?" Federation of European Microbiological Societies **79**(3): 594-607.
- Bouvy, M., D. Falcão, M. Marinho, M. Pagano and A. Moura (2000). "Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought." Aquatic Microbial Ecology **23**: 13-27.
- Branco, C. W. and P. A. Senna (1994). "Factors influencing the development of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* in the Paranoá Reservoir, Brasília, Brazil." Algological Studies: 85-96.
- Briand, J., C. Leboulanger, J. Humbert, C. Bernard and P. Dufour (2004). "*Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming?" Journal of Phycology **40**: 231-238.
- Carey, C. C., B. W. Ibelings, E. P. Hoffmann, D. P. Hamilton and J. D. Brookes (2012). "Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate." Water Research **46**(5): 1394-1407.
- Codd, G. A., L. F. Morrison and J. S. Metcalf (2005). "Cyanobacterial toxins: risk management for health protection." Toxicology and applied pharmacology **203**(3): 264-272.
- Chorus, I. (2012). Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Dessau-Roßlau, Federal Environment Agency (Umweltbundesamt).
- Chorus, I. and J. Bartram (1999). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management. London, Chapman & Hall.
- DINAMA (1979). Código de aguas, DECRETO 253/79: 14.
- Dokulil, M. and K. Teubner (2000). "Cyanobacterial dominance in lakes." Hydrobiologia **438**: 1-12.
- Everson, S., L. Fabbro, S. Kinnear and P. Wright (2011). "Extreme differences in akinete, heterocyte and cylindrospermopsin concentrations with depth in a successive bloom involving *Aphanizomenon ovalisporum* and *Cylindrospermopsis raciborskii*(Woloszynska) Seenaya and Subba Raju." Harmful Algae **10**(3): 265-276.
- Fabre, A., C. Carballo, E. Hernández, P. Piriz, L. Bergamino, L. Mello, S. González, G. Pérez, J. G. León, L. Aubriot, S. Bonilla and C. Kruk (2010). "El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla

- explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay." Pan-American Journal of Aquatic Sciences **5**: 112-125.
- Fabre, M. A. (2011). Flexibilidad fenotípica de la cianobacteria invasora *Cylindrospermopsis raciborskii* en un gradiente lumínico. **Licenciatura en Bioquímica**. Montevideo, Universidad de la República.
- Ferber, L., S. Levine, A. Lini and G. Livingston (2004). "Do cyanobacteria dominate in eutrophic lakes because they fix atmospheric nitrogen?" Freshwater Biology **49**: 690-708.
- González-Piana, M. (2012). Efecto de la intensidad lumínica y la temperatura sobre el crecimiento y la morfología de dos cianobacterias filamentosas formadoras de floraciones. Universidad de la República.
- Graham, L. E. and L. W. Wilcox (2000). Algae. Upper Saddle River, Prentice-Hall.
- Gregor, J. and B. Marsálek (2004). "Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll *a*: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods." Water Research **38**: 6.
- Gregor, J., B. Marsálek and H. Sípková (2007). "Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method." Water Research **41**: 16.
- Gugger, M., R. Molica, B. Le Berre, P. Dufour, C. Bernard and J. Humbert (2005). "Genetic diversity of *Cylindrospermopsis* strains (Cyanobacteria) isolated from four continents." Applied and Environmental Microbiology **71**(2): 1097-1100.
- Haande, S., T. Rohrlack, A. Ballot, K. Røberg, R. Skulberg, M. Beck and C. Wiedner (2008). "Genetic characterisation of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) isolates from Africa and Europe." Harmful Algae **7**(5): 692-701.
- Hillebrand, H., C. Dürselen, D. Kirschtel, T. Zohary and U. Pollinger (1999). "Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae." Journal of Phycology **35**: 403-424.
- Isvánovics, V., H. M. Shafik, M. Présing and S. Juhos (2000). "Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures." Freshwater biology **43**(2): 257-275.
- Izydorczyk, K., C. Carpentier, J. Mrówczyński, A. Wagenvoort, T. Jurczak and M. Tarczyńska (2009). "Establishment of an Alert Level Framework for cyanobacteria in drinking water resources by using the Algae Online Analyser for monitoring cyanobacterial chlorophyll *a*." Water Research **43**(4): 989-996.
- Kalff, J. (2002). Limnology: inland water ecosystems, Prentice Hall New Jersey.
- Kardinaal, W. E. A., L. Tonk, I. Janse, S. Hol, P. Slot, J. Huisman and P. M. Visser (2007). "Competition for light between toxic and nontoxic strains of the harmful cyanobacterium *Microcystis*." Applied and environmental microbiology **73**(9): 2939-2946.
- Lampert, W. and U. Sommers (2007). Limnoecology. New York, Oxford University Press.
- Lewis, W. M. J. (1976). "Surface/volume ratio: implications for phytoplankton morphology." Science **192**: 885-887.
- Martigani, F. (2011). Plasticidad nutricional de la cianobacteria invasora *Cylindrospermopsis raciborskii*: efectos en el crecimiento y toxicidad. **Licenciatura en Ciencias Biológicas**. Montevideo, Uruguay, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Mehnert, G., F. Leunert, S. Cirés, K. D. Jöhnk, J. Rucker, B. Nixdorf and C. Wiedner (2010). "Competitiveness of invasive and native cyanobacteria from temperate freshwaters under various light and temperature conditions." Journal of Plankton Research **32**(7): 1009-1021.
- Mehnert, G., J. Rucker, A. Nicklisch, F. Leunert and C. Wiedner (2012). "Effects of thermal acclimation and photoacclimation on lipophilic pigments in an invasive and a native cyanobacterium of temperate regions." European Journal of Phycology **47**(2): 182-192.
- Moore, L., M. Ostrowski, D. Scanlan, K. Feren and T. Sweetsir (2005). "Ecotypic variation in phosphorus-acquisition mechanisms within marine picocyanobacteria." Aquatic microbial ecology **39**(3): 257-269.
- O'Neil, J., T. W. Davis, M. A. Burford and C. Gobler (2012). "The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change." Harmful Algae **14**: 313-334.
- Orchard, E. D., E. A. Webb and S. T. Dyhrman (2009). "Molecular analysis of the phosphorus starvation response in *Trichodesmium* spp." Environmental Microbiology **11**(9): 2400-2411.
- Padisák, J. (1997). "*Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology." Archiv für Hydrobiologie Supplement **107**: 563-593.

- Padisák, J. and C. S. Reynolds (1998). "Selection of phytoplankton associations in Lake Balaton, Hungary, in response to eutrophication and restoration measures, with special reference to the cyanoprokaryotes." Hydrobiologia **384**: 41-53.
- Paerl, H., S. Hall and E. Calandrini (2011). "Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change." Science of the total environment **409**: 6.
- Paerl, H. W. and J. Huisman (2008). "Blooms Like It Hot." Science **320**: 57-58.
- Piccini, C., L. Aubriot, B. D'Alessandro, F. Martigani and S. Bonilla (2013). "Revealing Toxin Signatures in Cyanobacteria: Report of Genes Involved in Cylindrospermopsin Synthesis from Saxitoxin-Producing *Cylindrospermopsis raciborskii*." Advances in Microbiology **3**: 289.
- Piccini, C., L. Aubriot, A. Fabre, V. Amaral, M. González-Piana, A. Giani, C. Figueredo, L. Vidal, C. Kruk and S. Bonilla (2011). "Genetic and eco-physiological differences of South American *Cylindrospermopsis raciborskii* isolates support the hypothesis of multiple ecotypes." Harmful Algae **10**(6): 644-653.
- Reynolds, C. S. (1984). The Ecology of Freshwater Phytoplankton. Cambridge, Cambridge University Press.
- Reynolds, C. S. (1993). Scales of disturbance and their role in plankton ecology. Intermediate Disturbance Hypothesis in Phytoplankton Ecology, Springer: 157-171.
- Reynolds, C. S. (1994). "The long, the short and the stalled: on the attributes of phytoplankton selected by physical mixing in lakes and rivers." Hydrobiologia **289**: 9-21.
- Reynolds, C. S. (2006). Ecology of phytoplankton. Cambridge, Cambridge University Press.
- Ryding, S. O., W. Rast and Unesco (1992). El Control de la eutrofización en lagos y pantanos, Ediciones Piramide.
- Seppala, J., P. Ylostalo, S. Kaitala, S. Hallfors, M. Raateoja and P. Maunula (2007). "Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria bloom dynamics in the Baltic Sea." Estuarine coastal and shelf science **73**: 11.
- Smayda, T. (1997). "What is a bloom?" Limnology and Oceanography **42**: 1132-1136.
- Sournia, A. (1978). Phytoplankton Manual. Paris, UNESCO.
- Sukenik, A., O. Hadas, A. Kaplan and A. Quesada (2012). "Invasion of Nostocales (cyanobacteria) to subtropical and temperate freshwater lakes – physiological, regional and global driving forces." Frontiers in Microbiology **3**.
- Tonetta, D., M. M. Petrucio and R. Laudares-Silva (2013). "Temporal variation in phytoplankton community in a freshwater coastal lake of southern Brazil." Acta Limnologica Brasiliensia **25**(1): 99-110.
- Vidal, L. and C. Kruk (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.
- Whitton, B. A. and M. Potts (2000). The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space, Springer.
- Wiedner, C., J. Rücker, R. Brüggemann and B. Nixdorf (2007). "Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions." Oecologia **152**: 473-484.
- Zimmer, R. K. and R. P. Ferrer (2007). "Neuroecology, chemical defense, and the keystone species concept." The Biological Bulletin **213**(3): 208-225.