



**INFLUENCIA DE FACTORES
ABIÓTICOS EN EL CRECIMIENTO DE
*CYLINDROSPERMOPSIS
RACIBORSKII* EN UNA LAGUNA
TROPICAL MEDIANTE
EXPERIMENTACIÓN CON
MESOCOSMOS**

Tesina de Grado
Licenciatura en Ciencias Biológicas- UDELAR
Profundización en Oceanografía
Área de Estudio: Limnología, Ecología de Sistemas Acuáticos
Rafael Santana
Diciembre 2014

ALUMNO: Rafael Santana Fabiano (UDELAR – Universidad De La República – Uruguay)

ORIENTADOR: Cleber Cunha Figueredo (UFMG - Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil)

TUTORA en el país: Sylvia Bonilla (Sección Limnología, IECA, UDELAR – Universidad De La República)

COLABORADORA: Gabriela Von Rückert (UNILESTE - Centro Universitário do Leste de Minas Gerais)

INTITUCIONES COLABORADORAS: UDELAR – Universidad De La República; UFMG - Universidade Federal De Minas Gerais; UNILESTE - Centro Universitário do Leste de Minas Gerais; USIMINAS - Usinas Siderúrgicas de Minas Gerais S.A.

LABORATORIOS DE EJECUCIÓN: Laboratório de Pesquisas Ambientais, Engenharia Sanitária e Ambiental, Cento Universitário do Leste de Minas Gerais - UnilesteMG, Brasil. - Laboratório de Ficologia, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

INDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
<i>Floraciones de cianobacterias</i>	4
<i>El caso de <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i></i>	5
<i>Lagos someros y floraciones de cianobacterias</i>	6
JUSTIFICACIÓN	8
HIPÓTESIS	9
OBJETIVO GENERAL.....	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
AMBIENTE DE ESTUDIO.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
<i>Fabricación y montaje de los mesocosmos</i>	12
<i>Muestreo y análisis Químicos y Físicos</i>	15
<i>Análisis Biológicos</i>	16
<i>Análisis Estadísticos</i>	17
RESULTADOS	18
<i>Variables Químicas y Físicas</i>	19
<i>Variables Biológicas</i>	23
<i>Correlaciones Estadísticas</i>	26
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES	32
PERSPECTIVAS	32
AGRADECIMIENTOS.....	33
BIBLIOGRAFÍA.....	34

RESUMEN

Las floraciones de cianobacterias son tema de interés científico debido a que limitan o impiden el uso del agua y a sus impactos negativos en el ecosistema acuático. Los nutrientes condicionan la dinámica del fitoplancton en general, siendo su variación uno de los principales factores determinantes de una floración. Además, el sedimento de los ecosistemas someros se resuspende lo que condiciona las características físicas y químicas del agua, como la dinámica de los nutrientes y la disponibilidad de la luz por la turbidez generada. En el presente trabajo estudiamos la influencia del sedimento en el crecimiento poblacional de la comunidad de cianobacterias en un lago tropical (Lagoa dos Pedalhinhas, Ipatinga, MG, Brasil) somero (profundidad máxima: 2,7 m) y eutrófico. El estudio se centró en la cianobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii* una especie que se considera actualmente en expansión en todo el mundo y que tiene características que le permitirían explotar ambientes someros turbios. Se utilizó una aproximación experimental con mesocosmos aislados y en contacto con el sedimento y muestreos en el lago, durante 29 días. El biovolumen de las cianobacterias en el lago fue típico de ecosistemas eutróficos (3,8 a 25,8 mm³L⁻¹). El tratamiento en contacto con el sedimento, así como el lago, presentaron un desarrollo poblacional de *C. raciborskii* mayor que el tratamiento sin contacto con el sedimento. También se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la turbidez y el biovolumen de cianobacterias totales. El contacto del cuerpo de agua con el sedimento favoreció el crecimiento poblacional de *C. raciborskii*. Argumentamos que esto sucede debido al aumento de turbidez y aporte probable de nutrientes que genera el sedimento. Concluimos que la interacción del sedimento con el cuerpo de agua afecta el desarrollo de floraciones de *C. raciborskii* y puede ser clave su papel en lagos someros donde se registra frecuentemente esta especie.

INTRODUCCIÓN

Floraciones de cianobacterias

Las cianobacterias, cuyos registros fósiles más antiguos datan de aproximadamente de 3,5 billones de años, son el grupo de organismos más primitivo en el que se encontró fotosíntesis oxigénica (Whitton & Potts, 2002). En la actualidad las cianobacterias se desarrollan con mucho éxito en ambientes acuáticos, principalmente en el fitoplancton de agua dulce (Whitton & Potts 2002; Paerl & Paul, 2012).

Bajo condiciones ambientales favorables, las cianobacterias planctónicas aumentan sus poblaciones en plazos de tiempo muy corto, pasando a ser los principales componentes de la comunidad fitoplanctónica. Este fenómeno conocido como floración de cianobacterias (Smayda, 1997), trae asociado problemáticas diversas, como limitar o impedir el uso del agua para diversos fines. Las cianobacterias pueden tener daños potenciales a la salud humana ya que pueden producir potentes toxinas (Chorus & Bartram 1999; Huissman *et al.*, 2005), además afectan negativamente los cuerpos de agua, en los cuales se pueden generar malos olores (por sustancias producidas por estos organismos o por anoxia), o simplemente por la cantidad de organismos presente (Moss, 1988; Paerl & Paul, 2012).

En general las floraciones de cianobacterias se desencadenan por la combinación de múltiples factores (Reynolds, 1984; Huissman *et al.*, 2005). Si bien los factores desencadenantes de una floración pueden manifestarse de forma natural, la eutrofización (enriquecimiento de nutrientes principalmente nitrógeno y fósforo) de los cuerpos de agua y sus cuencas son la principal causa que favorece la ocurrencia de floraciones de cianobacterias en ecosistemas límnicos a nivel mundial (Hallegraeff, 1992; Scheffer *et al.*, 1997; Whitton & Potts, 2002; Pearl & Paul, 2012). El aumento en la concentración de fósforo y nitrógeno (Scheffer, 1998; Lampert & Sommer, 2007), macronutrientes para los organismos autótrofos, promueve el desarrollo de cianobacterias. Como factor físico la disponibilidad de luz en el cuerpo de agua juega un papel esencial en el desarrollo de los organismos fitoplanctónicos, así como en las cianobacterias (Whitton & Potts, 2002; Bonilla *et al.*, 2012), por ser su fuente de

energía primordial. El aumento de temperatura fomenta el desarrollo de floraciones de cianobacterias (Paerl, 2011; Kosten *et al.*, 2012) tanto a través de cambios a corto plazo como estacionales (Mohamed, 2007) y climáticos (Paerl, 2011).

*El caso de *Cylindrospermopsis raciborskii**

Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenaya et Subba Raju, perteneciente al Orden Nostocales, es una cianobacteria emergente en ecosistemas límnicos de todo el mundo con expansión reciente de zonas tropicales hacia latitudes templadas (Padisák, 1997; Sukenik *et al.*, 2012). Se ha reportado que esta especie puede producir alcaloides perjudiciales para la salud humana, como neurotoxinas de tipo saxitoxina (Lagos *et al.*, 1999; Castro *et al.*, 2004; Piccini *et al.*, 2011) o la citotoxina cylindrospermopsina (Saker *et al.*, 2003). Hasta el momento no se han encontrado cepas que produzcan ambas toxinas (Castro *et al.*, 2004) y las cepas americanas tóxicas son productoras de saxitoxina (Lagos *et al.*, 1999; Piccini *et al.*, 2011).

Para explicar la expansión geográfica reciente de *C. raciborskii*, Briand *et al.* (2004) propusieron las siguientes tres hipótesis: 1. En la especie existen distintos ecotipos con distintas preferencias ecosistémicas y tolerancias. 2. La alta plasticidad fenotípica de la especie le permite adaptarse a cambios en los ecosistemas de forma rápida optimizando su desempeño en el mismo. 3. La expansión reciente de la especie se debe al calentamiento global. Trabajos de distintos autores brindan evidencias para cada una de estas hipótesis (Padisák, 1997; McGregor & Fabbro, 2000; Briand *et al.*, 2000; Wiedner, 2007; Figueredo & Giani, 2009; Piccini *et al.*, 2011; Bonilla *et al.*, 2012). La mayoría de estos autores concuerdan en que la expansión geográfica de esta especie se da por la combinación de las tres hipótesis.

C. raciborskii presenta una combinación de características fisiológicas que le confieren ventajas para crecer exitosamente en diferentes ambientes y frente a otros organismos del fitoplancton. Una de estas es su capacidad de generar acinetos (células de resistencia) en situaciones desfavorables, lo que es importante para su sobrevivencia principalmente en ecosistemas templados (Padisák, 1997; Moore *et al.*, 2005), característico para todas las especies de Nostocales. Las floraciones de *C.*

raciborskii ocurren en toda la columna de agua, lo que la caracteriza como una cianobacteria formadora de floraciones dispersivas (Bonilla, 2009). Así como otras cianobacterias, es capaz de regular su flotación mediante vacuolas de gas (Padisák, 1997), tiene resistencia a la herbivoría debido a su forma y gran tamaño (Padisák, 1997) y genera efectos alelopáticos que podrían disminuir el crecimiento de otras especies del fitoplancton (Figueredo *et al.*, 2007). También esta cianobacteria tiene alta tolerancia al sombreado por lo que puede crecer en ambientes pobres lumínicamente, cuando la relación *Zona eufótica/Zona de mezcla* (Zeu/Zmix) está muy por debajo de 1 (Padisák, 1997). Por lo tanto, la tolerancia al sombreado explica ventajas competitivas de la especie en ambientes someros turbios (Padisák, 1997), lo que la cataloga en el grupo funcional S_N (Reynolds *et al.*, 2002). Por otro lado, estudios recientes plantean que esta especie tiene la capacidad de aclimatarse y optimizar su crecimiento a distintas intensidades de luz (Fabre, 2011), presentando mayores tasas de crecimiento en intensidades de luz de medias a altas (Bonilla *et al.*, 2012; Fabre, 2011; Kokocinski *et al.*, 2010), lo que también le confiere ventajas frente a otros organismos a altas intensidades lumínicas. Presenta también la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico mediante heterocitos (Padisák 1997) y alta afinidad al fósforo (Isvanovics *et al.*, 2000; Amaral *et al.*, 2014), le permite acceder a incorporar este nutriente en el fondo del lago, próximo al sedimento.

Lagos someros y floraciones de cianobacterias

Dentro de los ecosistemas límnicos los lagos someros dominan numéricamente a nivel mundial (Wetzel 1990). Los lagos someros no suelen alcanzar profundidades mayores a 3-4 metros y son polimícticos (Scheffer, 1998). La interacción con el sedimento desarrolla un papel crucial en estos ecosistemas, debido a que afecta la dinámica de los nutrientes en todo el lago (Boström & Pettersson, 1982; Scheffer, 1998; Søndergaard *et al.*, 2003) y la penetración lumínica en la columna de agua por resuspensión de sedimentos. Esto se debe a que el sedimento aporta partículas (arcillas, limo y partículas orgánicas en suspensión) debido a la constante circulación generada por el viento (Reynolds, 1984; Scheffer, 1998; Kristensen *et al.*, 1992). Los

sedimentos en suspensión aumentan la turbidez del cuerpo de agua y la disponibilidad de nutrientes en la columna de agua (Scheffer 1998).

Los sedimentos actúan en los lagos en general como un sumidero de nutrientes (principalmente el fósforo), el cual puede reternerlos o liberarlos nuevamente según las condiciones físicas, biológicas y químicas (Boström & Pettersson, 1988; Marsden, 1989; Pettersson 1998). A pesar de que en lagos someros el ciclado de nutrientes es muy rápido, se ha demostrado muy a menudo la liberación desde el sedimento a la columna de agua (Lee *et al.*, 1977; Boström *et al.*, 1982; Jensen & Andersen, 1992). En general el pool de fósforo presente en el sedimento es 100 veces mayor que en el cuerpo de agua (Søndergaard *et al.*, 2003). La liberación de fósforo del sedimento al cuerpo de agua depende de la temperatura, el pH y el oxígeno disuelto (Boström & Pettersson, 1982, Wu *et al.* 2014). Las bacterias heterótrofas cumplen un papel esencial en el reciclado de nutrientes dado que son capaces de remineralizar el fósforo por procesos metabólicos (Gachter *et al.* 1988) el cual luego queda disponible para ser captado por el fitoplancton. La poca profundidad en los lagos someros favorece que la luz PAR llegue al sedimento por lo que en muchos casos la relación Z_{eu}/Z_{mix} es mayor a 1, generando un hábitat apropiado para el crecimiento de diversas comunidades de productores primarios como las macrófitas enraizadas o el microfitorobentos. Sin embargo, esto no siempre sucede debido a la resuspensión de partículas inorgánicas que restringen el campo lumínico o por crecimiento del fitoplancton en lagos eutróficos, haciendo que $Z_{eu}/Z_{mix} \ll 1$. Por lo tanto el campo lumínico es causa y consecuencia del crecimiento del fitoplancton.

Scheffer (1998) plantea dos estados estables alternativos en lagos someros templados eutróficos en relación a la turbidez y los nutrientes totales en el agua. Estos estados son resilientes al cambio debido a una serie de mecanismos físicos, químicos y biológicos que estabilizan cada estado y dificultan el pasaje de uno al otro, existiendo un gradiente de turbidez y nutrientes en donde ambos estados son posibles y solo una vez superados valores umbrales, el ecosistema cambia de un estado al otro. En el primer estado el agua es clara, dominan las macrófitas enraizadas. Al aumentar los nutrientes en la columna de agua se verá estimulado el crecimiento del fitoplancton

que genera turbidez con su propia biomasa, y en consecuencia habrá una disminución en la Zeu lo que limita el crecimiento de las macrófitas desplazándolas competitivamente. En el segundo estado el agua es turbia dominado por el fitoplancton. Este estado se auto perpetúa dado que el fitoplancton en general tiene menores requerimientos lumínicos para crecer que las macrófitas (Sand-Jensen & Borum, 1991, Scheffer & van Nes, 2007).

La importancia de la interacción entre la columna de agua y el sedimento se ve potenciada en los lagos someros debido al alto cociente Superficie del sedimento: Columna de agua, lo que hace que la influencia potencial generada por el sedimento sea porcentualmente mayor en lagos someros que en lagos profundos (Søndergaard *et al.*, 2003). Por lo mencionado en este párrafo los lagos someros son un ambiente propicio para evaluar el crecimiento de cianobacterias.

JUSTIFICACIÓN

Cylindrospermopsis raciborskii es foco de interés científico y social, principalmente cuando las floraciones ocurren en ambientes con riesgo de contacto directo con el agua, debido a su potencial toxicidad. Los sedimentos re-suspendidos por procesos de mezcla generados por el viento en lagos someros aumentan la turbidez (Scheffer, 1998), lo que puede favorecer el desarrollo de cianobacterias. También el sedimento aporta fósforo al agua, lo que puede favorecer el desarrollo del fitoplancton en general (Scheffer, 1998). Esto aumentaría la turbidez aun más, promoviendo organismos fitoplantónicos capaces de optimizar la fotosíntesis a bajas intensidades lumínicas como *C. raciborskii* (Padisák, 1997; Reynolds *et al.*, 2002; Briand *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009).

Las aproximaciones experimentales son muy utilizadas en ecología ya que permiten establecer causalidad. Los experimentos de mesocosmos son más realistas que los experimentos en el laboratorio en pequeños volúmenes y con todas las condiciones

controladas (por ejemplo: luz y temperatura). Los mesocosmos brindan condiciones controladas de algunos parámetros y reproducen las condiciones climáticas y oscilaciones ambientales de forma exacta o muy similar a las del ecosistema a ser estudiado (Bloesch *et al.*, 1988), por lo que simulan el ambiente natural. La principal limitación de este tipo de experimentos es la existencia de muchas variables difícilmente estimables y/o controlables (Bloesch *et al.*, 1988). Sin embargo, este tipo de unidad experimental es más abordable para el investigador que el ecosistema en su totalidad dado que se pueden variar condiciones en el mesocosmo para encontrar relaciones causales que no siempre son evidentes a la hora de analizar un ecosistema. Otra gran ventaja de la experimentación con mesocosmos es la capacidad de repetición del experimento, a diferencia de lo que sucede con los ecosistemas naturales en los cuales no podemos repetir las condiciones.

En este trabajo se analizó, mediante mesocosmos, como el contacto con el sedimento afectó las propiedades fisicoquímicas de la columna de agua, y de la comunidad de cianobacterias con énfasis en *C. raciborskii*. También nos propusimos realizar un seguimiento del lago en paralelo a los experimentos.

HIPÓTESIS

La interacción entre el sedimento y la columna de agua genera condiciones que favorecen la ocurrencia de floraciones de *C. raciborskii* en lagos someros.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la dinámica poblacional de *C. raciborskii* en un lago tropical en condiciones de contacto y aislamiento del sedimento y determinar las variables ambientales explicativas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar las características químicas, físicas y biológicas en un lago tropical desde el comienzo de una floración de *C. raciborskii*.
2. Determinar las diferencias en las características químicas y físicas de la columna de agua cuando está y no está en contacto con el sedimento.
3. Determinar si la dinámica poblacional y la ocurrencia de floraciones de *C. raciborskii* es distinta cuando está y no está en contacto con el sedimento.

AMBIENTE DE ESTUDIO

Para la realización del experimento se escogió un lago somero tropical eutrófico “Lagoa dos Pedalinhos” (LP) (19°30’15” S - 42°30’13” O) ubicado en el complejo deportivo USIPA, Ipatinga, Minas Gerais, Brasil (Fig. 1). La LP es un lago somero (profundidad máxima: 2,7 m) con un área de 1,34 ha situada a 274 m sobre el nivel del mar. Este lago fue creado artificialmente mediante el embalsamiento del arroyo “Nossa Senhora”, perteneciente a la sub-cuenca del río Piracicaba. Siendo LP el último lago de un sistema de 7 embalses del arroyo “Nossa Senhora” (Figueredo *et al.*, 2014). Los lagos someros tropicales han sido menos estudiados históricamente que los templados. A su vez, este lago es un modelo interesante para el análisis de *C. raciborskii* ya que presenta frecuentes floraciones de esta especie.

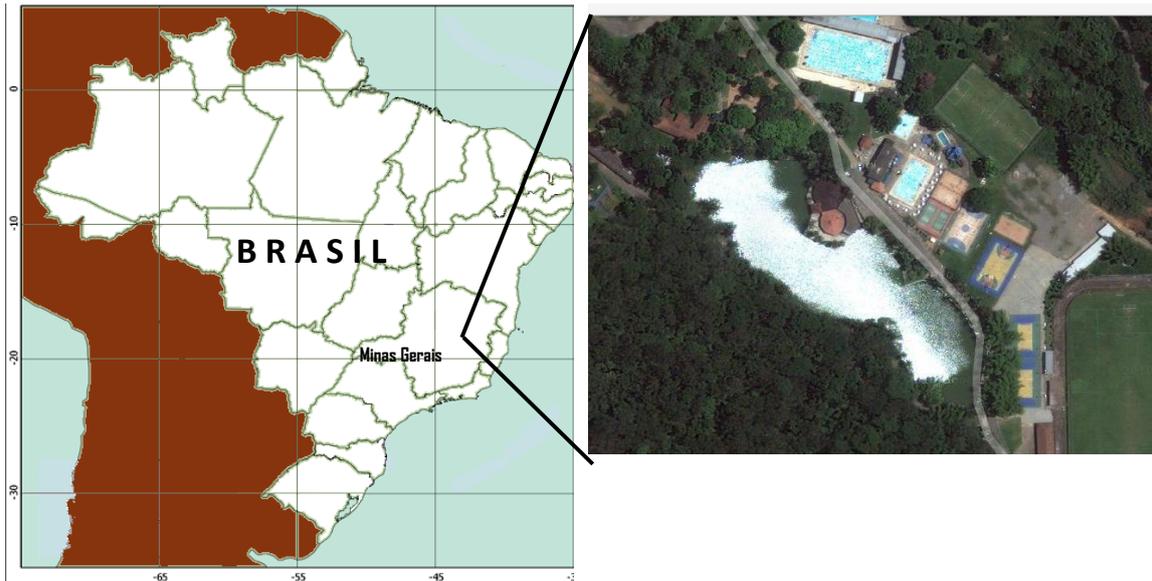


Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio (izquierda) y foto satelital de complejo deportivo USIPA con la “Lagoa dos Pedalinhos” (derecha). Fuente de la imagen de satélite: www.mapsgoogle.com (2012).

Hasta hace poco tiempo este lago era utilizado con fines recreativos. Sin embargo, recientemente se detectó la presencia de altas concentraciones de *C. raciborskii* y de otras cianobacterias, como *Microcystis aeruginosa* y *M. panniformis*, por lo que se cerró el acceso al público en setiembre de 2010. El lago presentó floraciones de *C. raciborskii* durante el periodo de 2009 a 2010, con concentraciones celulares siempre por encima del máximo permitido de $50000 \text{ cel mL}^{-1}$ (von Rückert *et al.* 2011) según la legislación brasileña para aguas clase 2 (CONAMA 2005). Las aguas de clase 2 son aquellas destinadas a recreación de contacto primario, tales como natación y buceo o actividades recreacionales ligadas a la pesca. A su vez, en términos de biovolumen, las concentraciones de *C. raciborskii* variaron entre 11 y $92 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$, representando aproximadamente 90% del biovolumen fitoplanctónico total durante prácticamente todo el periodo (von Rückert *et al.* datos no publicados).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó una aproximación experimental para evaluar la influencia del sedimento en el crecimiento de *C. raciborskii* comparando distintos tratamientos con y sin contacto con el sedimento en mesocosmos en la LP en el año 2011; durante los meses de setiembre y octubre.

Fabricación y montaje de los mesocosmos

Un total de 6 tanques de 0,60 m de diámetro y 1,4 m de altura (Fig. 2 y 3), fueron fabricados con polietileno de 0,10 mm de espesor, con una capacidad total de 395 litros. Tres tanques (I1, I2 e I3) fueron construidos totalmente cerrados en el fondo, lo cual aisló su contenido del sedimento del lago. A los tres tanques restantes (S1, S2 y S3) se les colocó una estructura plástica rígida, en forma de anillo, que contornaba todo el diámetro del fondo abierto del tanque. Las dimensiones de este anillo fueron de 0,15m de altura y 5mm aproximadamente de grosor, la cual hacía posible enterrarlos, quedando así el contenido interno del tanque en contacto directo con el sedimento, pero aislado del lago. Estos tanques fueron a su vez asegurados en el fondo por 4 pesas alrededor del plástico, procurando evitar resuspensión del sedimento.

Todos los tanques se llenaron hasta 1,20m de su altura, por lo que contenían un volumen de 340 litros de agua. Los tanques en contacto con el sedimento, se llenaron con agua perteneciente a toda la columna del lago. Los tanques cerrados se llenaron sumergiéndolos 20 cm en posición vertical y moviéndolos procurando tomar solo el agua entre los 20 y 80 cm de profundidad de forma de no llenarlo solo con aguas superficiales y también de evitar contaminación con partículas del sedimento. Los tanques I1, I2 e I3 fueron las réplicas del tratamiento sin interacción con el sedimento (I). Los tanques S1, S2 y S3 correspondían al tratamiento con contacto con el sedimento (S), este tratamiento fue tomado como control dado que simuló las condiciones naturales del lago. A su vez a lo largo de las colectas también se extrajo y analizó agua de distintos puntos del lago (R, de “reservorio” del portugués) para

acompañar la evolución natural en el lago con nuestros tratamientos (estos puntos serán denominados R1, R2 y R3).

Los 6 tanques se llenaron y colocaron de forma alternada (siempre un tanque en contacto con el sedimento al lado de uno sin contacto con el sedimento; Fig. 3) para minimizar la variabilidad espacial en los tratamientos. A su vez, las partes abiertas a la superficie de los tanques fueron contenidas en una estructura de flotación con 20 cm de altura. La misma fue montada con caños de PVC de 1 pulgada, a los cuales se les amarró boyas, evitando la mezcla de agua encerrada en los tanques con el resto del lago. Dos de los tratamientos (un tanque cerrado -I3- y un tanque abierto -S3- sufrieron alteraciones por lo que debieron ser descartados como tratamientos para los análisis estadísticos. Por ello los puntos I3, S3 y R3 no fueron considerados en los resultados.

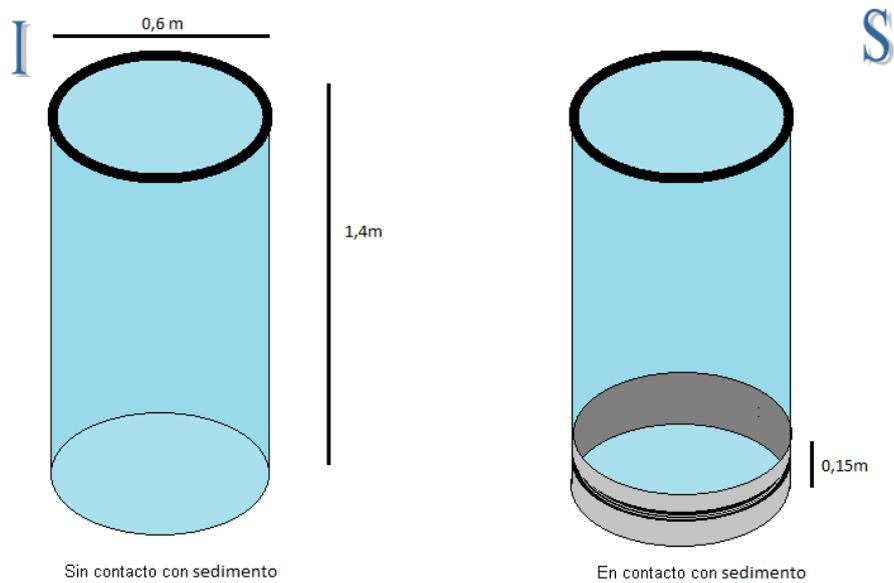


Figura 2. Diseño de los tanques montados. Izquierda: diseño del tanque sin contacto con el sedimento (I). Derecha: diseño del tanque en contacto con el sedimento (S).



Figura 3. Foto de los tanques montados y colocados en LP (setiembre, 2011)

Sequimiento de los experimentos

Inmediatamente después de montados se realizó una colecta (Tiempo 1: 15/09/2012), luego a partir de esa fecha se realizaron colectas cada 4 días (salvo en la última colecta que tomó un periodo de 5 días) hasta el día 29, totalizando 7 colectas. Durante el primer muestreo los tanques no mostraron diferencias con respecto al reservorio, tanto en los parámetros físicos y químicos como en las variables biológicas. Por lo que podemos afirmar que el proceso de montaje del experimento no afectó las cualidades del agua. Los muestreos fueron realizados en una embarcación (bote), a las 9 h, salvo la primera colecta que se realizó luego del montaje de los tanques a las 15:30 h. En todos los muestreos se aseguró no remover el sedimento tomándose todos los datos en cada punto en el siguiente orden: R1, R2, R3, I1, S1, I2, S2, I3 y S3.

Muestreo y análisis Químicos y Físicos

En cada colecta se registraron las siguientes variables: conductividad eléctrica, oxígeno disuelto, pH, salinidad y temperatura con una sonda multi-parámetro Hanna HI9828. También se estimó la profundidad de la zona eufótica multiplicando por 3 las medidas obtenidas con un disco de Secchi (Dokulil & Teubner, 2000).

La obtención de las muestras se realizó colectando dos litros de agua sub-superficial en cada uno de los tanques y de los dos puntos del lago. El agua colectada se conservó en una caja térmica a $9 (\pm 1) ^\circ\text{C}$ y se transportó rápidamente al laboratorio para los análisis de la misma.

Se tomó una alícuota de 25mL para medir turbidez por espectrofotometría (APHA, 2005, espectrofotómetro MERCK 60) y una alícuota de 500mL que se congeló para un posterior análisis de nitrógeno total (APHA 2005) y fósforo total (MERCK 1.14848 y 1.14687). Finalmente, a partir de los 2 litros de agua originales, se filtraron y guardaron 250 mL para análisis de nutrientes disueltos, los cuales fueron orto-fosfato (MERCK 1.14848), amonio (ALPHA, 2005), nitrito (ALPHA, 2005) y nitrato. El nitrato disuelto fue reducido en una columna de cadmio y cuantificado como nitrito (APHA, 2005). Para calcular el cociente atómico Nitrógeno inorgánico disuelto: Orto-fosfato (N:P) cuando la concentración era inferior al límite de detección del método se asumió una concentración de la mitad del límite de detección ($5 \mu\text{gL}^{-1}$ para el fósforo y amoníaco y $10 \mu\text{gL}^{-1}$ para el nitrito y nitrato. Luego se convirtió de gramos a átomos (μgL^{-1} a MolL^{-1}) y se calculó el cociente N:P de las fracciones disueltas. Se asumió que valores muy alejados de la relación atómica N:P de Redfield (1958) indicaban limitación por nitrógeno (ej: < 10) o fósforo (ej: > 30).

Para determinar la concentración de la clorofila del fitoplancton, se filtraron 250 ml de cada muestra utilizando filtros de fibra de vidrio (GFF-Macherey Nalgene) que se guardaron en oscuridad a -10°C hasta su análisis por el método recomendado por ALPHA (2005) con acetona 90 % como solvente, sin corrección por acidificación (Jeffrey et al. 1997)

Análisis Biológicos

En el laboratorio, se tomó una alícuota de aproximadamente 300mL de cada muestra y se conservó con solución de lugol acético para análisis de fitoplancton. La identificación taxonómica fue llevada a cabo con las siguientes claves: Komárek & Anagnostidis (1989), Komárek & Anagnostidis (1999), Komárek & Anagnostidis (2005). Las alícuotas conservadas en lugol acético fueron utilizadas para realizar el análisis del fitoplancton con énfasis en las poblaciones de cianobacterias mediante el método de Utermöhl (1958). Se dejó sedimentar 4 horas en cámaras de 1 centímetro de altura y se corroboró en el microscopio que el fitoplancton hubiese sedimentado homogéneamente en toda la cámara. Luego con un aumento de 40X en un microscopio invertido se contaron todos los individuos hasta superar los 100 individuos de la especie más abundante, siempre contando 30 campos o más. Se cuantificó el número de heterocitos por filamento de *C. raciborskii*. El biovolumen de cada especie de cianobacteria fue obtenido mediante la cuantificación celular multiplicado por el biovolumen celular medio, estimado por la aproximación a una forma geométrica simple similar (Rott, 1981; Sun & Liu, 2003). Se calculó el biovolumen de la comunidad de cianobacterias y el porcentaje que *C. raciborskii* representaba en esta comunidad. También se calculó la tasa de crecimiento *in situ* de *C. raciborskii* mediante la siguiente fórmula modificada de Saker & Griffiths (2000):

$$TC = (\ln \text{Biovol}_f - \ln \text{Biovol}_i) / (t_f - t_i)$$

Siendo TC la tasa de crecimiento (d^{-1}). Donde Biovol_f es el biovolumen de *C. raciborskii* en el tiempo t_f (tiempo final del intervalo considerado) y Biovol_i es el biovolumen de *C. raciborskii* en el tiempo t_i (tiempo inicial del intervalo considerado), siendo $t_i < t_f$.

En el presente estudio se designó $10 \text{ mm}^3 \text{L}^{-1}$ de biovolumen de *C. raciborskii* como valor umbral para considerar el inicio de la floración. Utilizamos este valor en base al umbral de alerta para el nivel dos propuesto por Chorus & Bartram (1999) para aguas recreacionales.

A los efectos de descartar que la variación en los tratamientos se debiera a la comunidad de peces se realizó una evaluación de la biomasa total de peces en tiempo

final. Al desmontar el experimento (17/10/2012) se utilizó una red para cuantificar la comunidad de peces en los tanques. La red utilizada fue circular, levemente más pequeña que el diámetro de los tanques, con una apertura de malla de 3 mm. La misma se bajó hasta el fondo del tanque inclinada y luego de esperar 3 minutos era retirada rápidamente. Este procedimiento se repitió tres veces en cada tanque (el último arrastre no presentaba peces) de forma de colectar todos los peces. Todos los peces fueron identificados como *Poecilia sp.* (Reis *et al.*, 2003), cuantificados y veinte de ellos fueron medidos para cada tanque para estimar la biomasa (peso) (Bolger & Connolly, 1989). No se encontraron diferencias en la biomasa de la población. Por ello, se descartó que las diferencias entre los tratamientos se debieran a efectos indirectos de la población de *Poecilia sp.* (No trataremos con estos datos en resultados ni en la discusión).

Análisis Estadísticos

A la matriz de datos biológicos y físico-químicos se le aplicó el test de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad y también el test de Brown-Forsythe para comprobar la homocerasticidad de los datos. Todos los datos cumplieron con estas características, por lo que pudimos aplicar un ANOVA de una vía (factor: tratamientos) de medidas repetidas, utilizando el programa STATISTICA 6, para detectar que variables mostraban diferencias significativas en los tratamientos. Aquellas variables que mostraron diferencias significativas entre los 3 diferentes grupos de datos (lago, tratamiento I y tratamiento S) en el test de ANOVA fueron sometidos posteriormente al test de Tukey (STATISTICA 6) para la comparación de valores medios.

Para inferir relaciones causa efecto, especialmente aquellas que explicaran la variación de *C. raciborskii* en los muestreos, se realizaron correlaciones estadísticas entre las distintas variables medidas en el experimento para cada tratamiento, con el Test de Spearman (STATISTICA 6): entre pH, oxígeno disuelto (mgL^{-1}), profundidad de la zona eufótica (cm), temperatura ($^{\circ}\text{C}$)*, turbidez (NTU), Conductividad ($\mu\text{S/m}$), PO_4^- (μgL^{-1}), P-total (μgL^{-1}), NH_4 (μgL^{-1}), NO_2 (μgL^{-1}), NO_3^- (μgL^{-1}), NID (μgL^{-1}), N-total (μgL^{-1}), Coeficiente N/P, Clorofila total (μgL^{-1}), biovolumen de *C. raciborskii* (mm^3L^{-1}),

biovolumen de Chroococcales totales (mm^3L^{-1}), % de Heterocitos en *C. raciborskii*, biovolumen de cianobacterias total (mm^3L^{-1}), % de biovolumen de *C. raciborskii* en cianobacterias total.

Con las variables que a nuestra consideración explicaban las diferencias encontradas entre los tratamientos S e I, se graficó en un scatterplot de la variable en función de *C. raciborskii*. Se buscaron modelos sencillos que se ajustaran significativamente para explicar la distribución de datos.

*Los datos de temperatura de la primera colecta no fueron tomados en cuenta para las correlaciones estadísticas por tratarse de horas del día distintas a las otras colectas.

RESULTADOS

Las variables tanto químicas y físicas fueron características de un lago eutrófico a hipereutrófico (hipereutrófico teniendo en cuenta valores de fósforo y nitrógeno totales, Tabla 1). Las formas de nitrógeno disueltas se encontraron por debajo del límite de detección todo el experimento (límite para el nitrito y nitrato= $20 \mu\text{gL}^{-1}$; límite para el amonio= $10 \mu\text{gL}^{-1}$) por lo que el NID fue representado principalmente por el nitrato. El ortofosfato solo presentó valores por encima del límite de detección ($10 \mu\text{gL}^{-1}$) en 2 de las 7 colectas. La comunidad de cianobacterias estaba conformada por los taxa: Chroococcales, Oscillatoriales y Nostocales. La comunidad de cianobacterias estuvo dominada en todos los tratamientos y en el lago por las Nostocales, especialmente por la especie *Cylindrospermopsis raciborskii*.

Tabla 1. Valores de las distintas variables medidas en el lago y en los tratamientos en las distintas colectas. **Promedio en negrita**; mediana (mínimo - máximo entre paréntesis). Se marca como <LD aquellas concentraciones que fueron inferiores al límite de detección del método (LD para el nitrito y nitrato= 20 µg/L; límite para el amonio= 10 µg/L, límite para el ortofosfato= 10 µg/L). S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago

Variable	S	I	R
pH	7,9 ; 7,7 (7,0-9,1)	7,9 ; 7,7 (7,0-9,1)	8,7 ; 8,7 (8,0-9,3)
OD (mgL ⁻¹)	7,1 ; 6,93 (4,5-10,1)	7,1 ; 6,95 (3,9-10,8)	9,3 ; 9,8 (6,9-12,4)
Zeú (cm)	105 ; 105 (87-120)	111 ; 114 (96-123)	112 ; 111 (99-123)
Temperatura (°C)	23,8 ; 23,9 (22,0-25,4)	23,9 ; 23,9 (22,6-25,5)	23,8 ; 24,1 (22,0-25,6)
Turbidez (NTU)	35 ; 36 (28-44)	29 ; 28 (18-36)	37 ; 36 (31-47)
Amonio (µg/L ⁻¹)	0,6 ; <LD (<LD -11,3)	<LD	2,4 ; <LD (<LD -28,5)
Nitrito (µg/L ⁻¹)	<LD	0,1 ; <LD (<LD - 2,0)	0,3 ; <LD (<LD -4,4)
Nitrato (µg/L ⁻¹)	17,1 ; 3,4 (<LD - 83,3)	16,9 ; 3,8 (<LD -95,2)	10,7 ; 0,5 (<LD -68,0)
PO ⁴ (µg/L ⁻¹)	16 ; <LD (<LD -57)	19 ; <LD (<LD -72)	14 ; <LD (<LD -60)
P-total (µg/L ⁻¹)	129 ; 121 (109-180)	108 ; 103 (74-163)	110 ; 111 (91-137)
N-total (µg/L ⁻¹)	1794 ; 1788 (1135-2238)	1617 ; 1651 (1133-2247)	1950 ; 1773 (1501-3266)
Relación N:P	11,0 ; 11,1 (1,3-31,5)	10,8 ; 11,1 (1,0-33,9)	10,5 ; 11,1 (1,3-36,8)
Clorofila Total (µg/L ⁻¹)	95 ; 93 (27-181)	78 ; 69 (25-191)	89 ; 77 (44-175)
<i>C. raciborskii</i> (mm ³ L ⁻¹)	9,51 ; 9,66 (3,20-21,65)	7,48 ; 6,24 (3,64-18,44)	10,69 ; 6,64 (3,69-22,20)
% heterocitos	37; 36 (27-48)	40 ; 40 (33-54)	38; 39 (30-46)
Chroococales (mm ³ L ⁻¹)	2,80 ; 2,46 (0,58-6,85)	1,55 ; 1,22 (0,02-6,06)	0,82 ; 0,50 (0,00-2,74)
Ciano. Total (mm ³ L ⁻¹)	12,40 ; 12,42 (4,11-25,86)	9,05 ; 7,44 (3,81-24,51)	11,57 ; 6,90 (4,44-22,70)
Conductividad (µSm ⁻¹)	124 ; 126 (113-136)	123 ; 126 (113-134)	123 ; 125 (113-132)
Salinidad	0,06	0,06	0,06

Los datos del tratamiento I presentaron diferencias estadísticamente significativas en variables tanto físicas como biológicas con respecto al control (tratamiento S) y a las muestras tomadas del lago. Cabe resaltar que el biovolumen de *C. raciborskii* fue una de las variables biológicas que mostró diferencias significativas entre el tratamiento I y el S (ANOVA, $p < 0.05$).

Variables Químicas y Físicas

El aislamiento con el sedimento trajo como consecuencia diferencias significativas en la turbidez en el agua (Fig. 4B) (ANOVA, $p < 0.001$). A su vez el lago y el tratamiento S presentaron mayor turbidez que el tratamiento I (Fig. 4B) (Tabla 2). La temperatura del agua aumentó a lo largo del experimento y no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos y el lago ($p > 0.05$) (Fig. 4A, Tabla 2).

Tabla 2. Variables, valores de F y P para el test de Anova de medidas repetidas. También se presenta aquí el orden de prelación entre los tratamientos que presentaron diferencias estadísticas, y el valor de P entre cada tratamiento. R: lago, I: tanque aislado, S: tanque abierto.

Variable	Anova		Tukey			Orden de prelación
	F	P	R:I	R:S	I:S	
pH	6,072	<0,000	0,007	0,007	0,991	R > (I = S)
OD (mgL ⁻¹)	6,310	<0,000	0,002	0,002	0,996	R > (I = S)
Zeú (cm)	3,535	0,008	0,682	0,005	0,007	(R = I) > S
Temperatura (°C)	1,090	0,440				R = I = S
Turbidez (NTU)	14,28	<0,000	0,003	0,246	0,005	(R = S) > I
P-total (µg ⁻¹)	4,080	0,139				R = I = S
N-total (µg ⁻¹)	1,249	0,325				R = I = S
Clorofila Total (µg ⁻¹)	12,83	0,034	0,085	0,383	0,032	S > I; (R=S); (R=I)
<i>C. raciborskii</i> (mm ³ L ⁻¹)	3,578	0,007	0,008	0,113	0,029	(R = S) > I
TC <i>C. raciborskii</i> (mm ³ L ⁻¹ .d)	0,623	0,594				R = I = S
% heterocitos	0,498	0,889				R = I = S
Chroococales (mm ³ L ⁻¹)	1,464	0,235				R = I = S
Ciano. Total (mm ³ L ⁻¹)	2,632	0,031	0,020	0,271	0,009	(R = S) > I

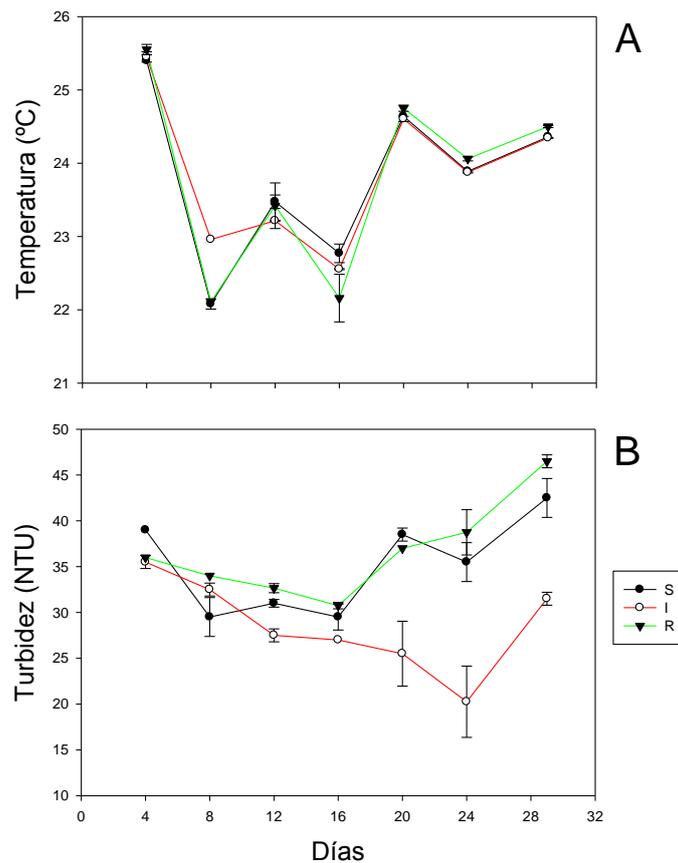


Figura 4 Variación de: A-Temperatura (°C) y B-Turbidez (NTU) para los distintos tanques y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar (n=2).

La zona eufótica (Fig. 5) cubrió casi toda la columna de agua durante el experimento, variando entre 96 y 123 cm en el tratamiento I con una mediana de 114 cm, en el tratamiento S entre 87 y 120 cm con una mediana de 105 cm y en el lago entre 99 y 123 cm con una mediana de 111 cm. Se encontró menor transparencia para el tratamiento en contacto con el sedimento que para los otros puntos de colecta (Tukey, $p < 0.05$) (Tabla 2).

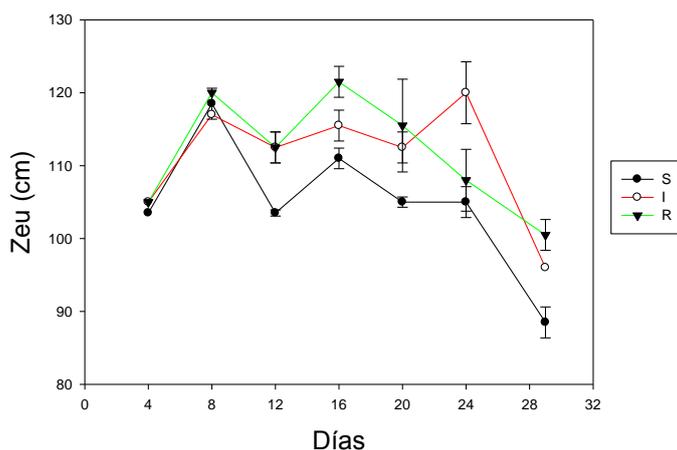


Figura 5 Profundidad de la zona eufótica (Zeu) para los distintos tanques y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar ($n=2$).

Las formas disueltas de nitrógeno (nitrito, amonio y nitrato) se encontraron todas cercanas a los límites de detección de cada método (Tabla 1). Cuando se analizó el ion amonio solo una muestra presentó concentraciones por encima del límite de detección (R2, fecha 19/09). El NID por ende fue principalmente representado por el nitrato que solo presentó dos máximos (Fig. 6 A) en la segunda y quinta colecta con valores que variaron entre los 20 y 60 μgL^{-1} de promedio. La concentración de N-total (Fig. 6 B) varió entre 1058 y 5414 μgL^{-1} con una media de 2135 μgL^{-1} . No existieron diferencias significativas con respecto a esta variable entre los tratamientos (Tabla 2).

Con respecto al Fósforo disuelto, se detectó un máximo en las primeras 2 colectas con valores promedio entre 40 y 65 μgL^{-1} , y luego las concentraciones de ortofosfato disminuyeron por debajo del límite de resolución del método durante el resto del experimento, (Fig. 6 C). A pesar de esto, como sucedió con el nitrógeno, las concentraciones de P-total fueron altas (Fig. 6 D), variando entre 74 y 229 μgL^{-1} con

una media de $125 \mu\text{gL}^{-1}$ y no presentaron diferencias entre los tratamientos (Tabla 2). La relación N:P fue baja hasta el día 16 inclusive, presentando luego valores superiores en la colecta realizada en el día 20 (Fig. 7). Finalmente el día 29 fueron nuevamente bajos (Fig. 7).

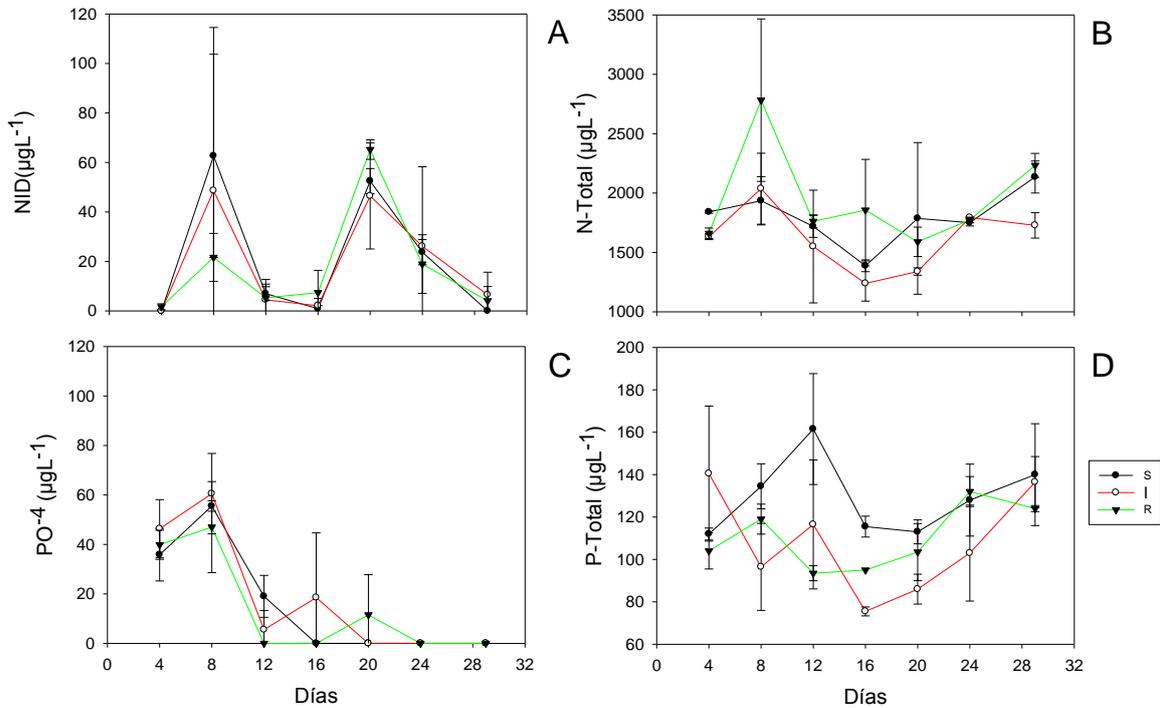


Figura 6. Concentraciones: A-Nitrógeno inorgánico disuelto ($\mu\text{g L}^{-1}$), B-Nitrógeno total ($\mu\text{g L}^{-1}$), C-Ortofosfato $-\text{PO}_4^-$ ($\mu\text{g L}^{-1}$) y D-Fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$) para los distintos tanques y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar ($n=2$).

La conductividad presento un patrón de aumento a lo largo del experimento, de 113 a $136 \mu\text{Sm}^{-1}$ (Tabla 1), pero sin diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). La concentración de clorofila total aumentó durante el experimento, sin mostrar diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $p= 0.235$) (Fig. 8). La concentración de la clorofila varió entre 25 y $191 \mu\text{gL}^{-1}$ con una media de $74 \mu\text{gL}^{-1}$.

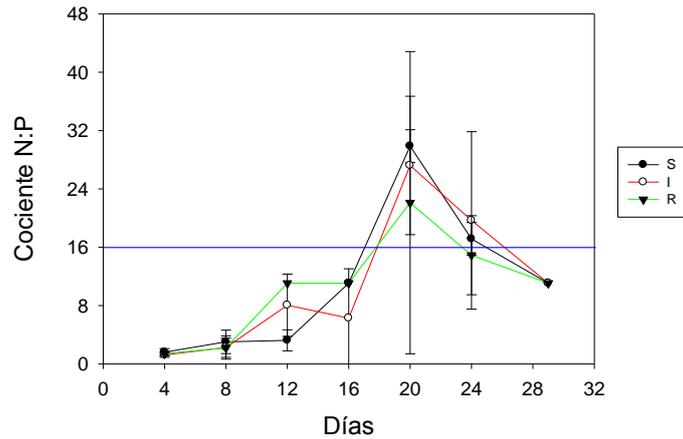


Figura 7. Relación Nitrógeno:Fósforo para los distintos tanques y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar (n=2). Se Marca con una línea azul el valor de la relación de Redfield, según estequiometría general del plancton.

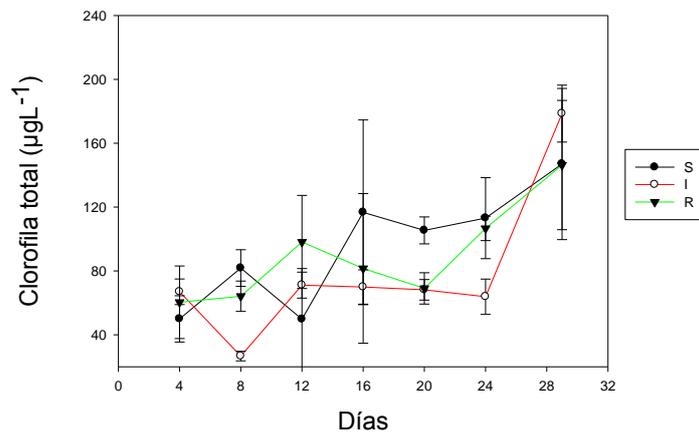


Figura 8. Clorofila total ($\mu\text{g L}^{-1}$) en los distintos tratamientos y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar (n=2).

Variables Biológicas

Las especies de cianobacterias encontradas fueron Chroococcales: *Aphanocapsa holsatica*, *Aphanocapsa* sp., *Microcystis aeruginosa* y *M. panniformis*, *Sphaerocavum brasiliense*, *Merismopedia* sp.; Oscillatoriales: *Pseudanabaena catenata*, *Geitlerinema* sp., *Romeria* sp. y Nostocales: *Cylindrospermopsis raciborskii*. Durante los muestreos el biovolumen de la comunidad de cianobacterias presentó un patrón de aumento en ambos tratamientos y en el lago, variando entre 3,81 y 24,51 mm^3L^{-1} en el tratamiento

I con una mediana de $7,44 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$, en el tratamiento S entre $4,11$ y $25,86 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ con una mediana de $12,42 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ y en el lago entre $4,44$ y $22,70 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ con una mediana de $6,90 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ (Tabla 1). El biovolumen de las cianobacterias del lago y los tanques estuvo dominado principalmente por *C. raciborskii* durante las fechas de colecta que representó más del 60% del total en todos los tratamientos (salvo una colecta) y el lago, desde el inicio (Fig. 9). Los filamentos de *C. raciborskii* eran rectos, con o sin heterocito terminal.

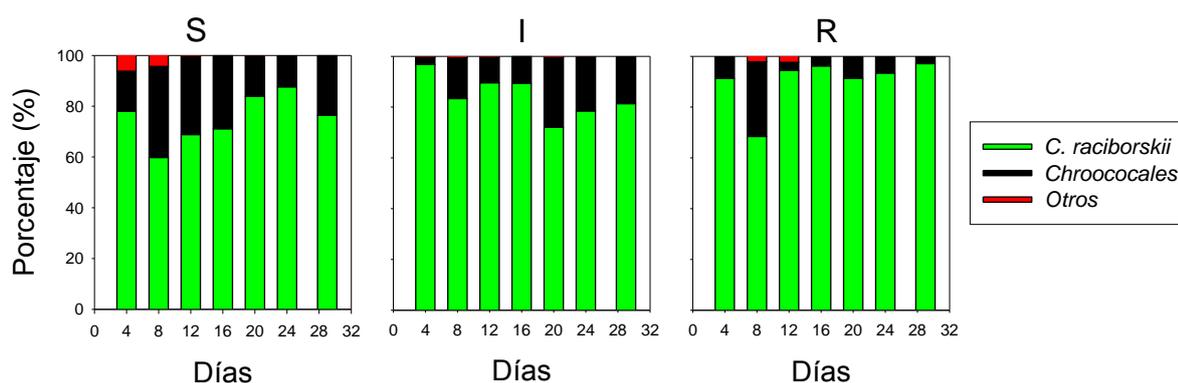


Figura 9. Comparación de biovolumen porcentual de la comunidad de cianobacterias en función de los días, en los tanques y lago (R: lago. I: tanque sin contacto con el sedimento. S: tanques en contacto con el sedimento), comparando *C. raciborskii* (verde), Chroococales (azul) y otras Cianobacterias menos representadas (Rojo).

El biovolumen de *C. raciborskii* presentó diferencias significativas entre los distintos tratamientos (ANOVA, $p < 0.05$) (Fig. 10 A). El tratamiento S y el lago presentaron mayor biovolumen de *C. raciborskii* (máximo de $21,6 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) que el tratamiento I (máximo $18,4 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) (Tabla 2). El biovolumen de *C. raciborskii* aumentó a lo largo del experimento en los tratamientos y en el lago (Fig. 10 A) presentando $6,24 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ de mediana (Mínimo $3,6 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ y Máximo $18,4 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) en el tratamiento I; $9,66 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ de mediana (m: $3,20 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ y M: $21,65 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) en el tratamiento S y $6,64 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ de mediana (m: $3,69 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$ y M: $22,20 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$) en el lago. El biovolumen de cianobacterias totales aumento en ambos tratamientos y en el lago durante el periodo estudiado (Fig. 10 B). La tasa de crecimiento (TC) de *C. raciborskii* no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (ANOVA, $p > 0.05$) (Tabla 2), sin embargo las TC máximas para el tratamiento S fueron alcanzadas antes que en el tratamiento I (Fig. 10 C). A su vez la floración (población de *C. raciborskii* $\geq 10 \text{ mm}^3\text{L}^{-1}$)

se desencadenó antes en el tratamiento S y en el lago que en el tratamiento I (Fig. 10 A). Las cianobacterias del orden Chroococcales no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 10 D, Tabla 2).

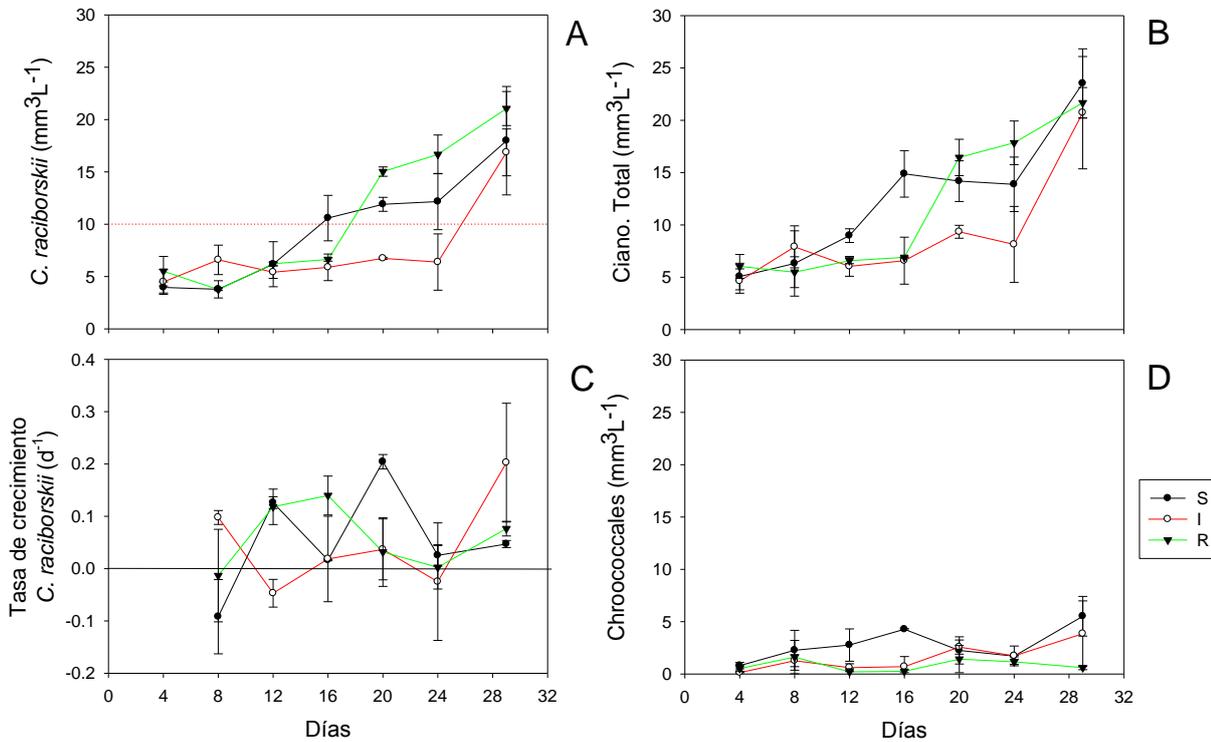


Figura 10. Biovolumen (mm³ L⁻¹) de los principales grupos de fitoplancton presentes en el estudio de: A-*C. raciborskii* B-Cianobacterias totales, C-Tasa de crecimiento de *C. raciborskii* y D-Cianobacterias Chroococcales en los tanques y lago en función de los días. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Líneas verticales representan el desvío estándar (n=2). Línea roja en B marca límite utilizado (10 mm³ L⁻¹) en este trabajo como comienzo de la floración.

El porcentaje de filamentos heterocitados fue similar en las poblaciones de *C. raciborskii*, sin diferencias significativas ($p > 0.05$), entre los dos tratamientos y en el lago (Fig. 11). El porcentaje de filamentos heterocitados promedio a lo largo del experimento fue de 37.9% para el lago, 40.2% para los tanques sin contacto con el sedimento y 36.5% para los tanques en contacto con el sedimento.

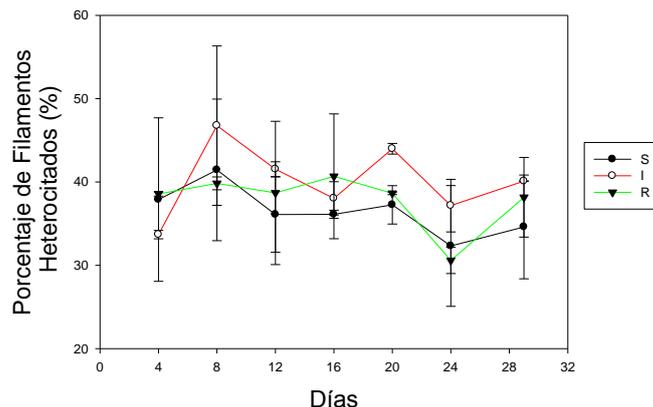


Figura 11. Porcentaje filamentos heterocitados por filamento en *C. raciborskii* cuantificados en los tanques y lago durante las distintas fechas de colecta. R: lago I: tanque sin contacto con el sedimento. S: tanques en contacto con el sedimento. Líneas verticales representan el desvío estándar (n=2).

Correlaciones Estadísticas

El biovolumen de *C. raciborskii* aumentó en forma lineal junto con la turbidez en el tratamiento en contacto con el sedimento y en el lago (Fig.12). También el biovolumen de *C. raciborskii* se ajusto a una función exponencial negativa simple con respecto al ortofosfato en el tratamiento S y presentó una regresión lineal en el lago en función del ortofosfato (Fig.12).

En todos los tratamientos el biovolumen de *C. raciborskii* se correlacionó con las Cianobacterias totales. En el tratamiento I el biovolumen de Chroococcales se correlacionó positivamente con la temperatura. En los tratamientos en contacto con el sedimento (S) el biovolumen de *C. raciborskii* se correlacionó de forma positiva con la temperatura, la conductividad, la clorofila total, el biovolumen de Chroococcales y Cianobacterias totales; y de forma negativa con el ortofosfato. En el lago (R) el biovolumen de *C. raciborskii* se correlacionó positivamente con el oxígeno disuelto, la temperatura, la turbidez, la conductividad, clorofila total y Cianobacterias totales; y de forma negativa con el ortofosfato y el amoniaco disuelto. El biovolumen de *C. raciborskii* se correlacionó positivamente con la clorofila total se correlacionó y negativamente con el ortofosfato en el tratamiento S y en el Lago. En el tratamiento S la clorofila total se correlacionó con el biovolumen de cianobacterias total.

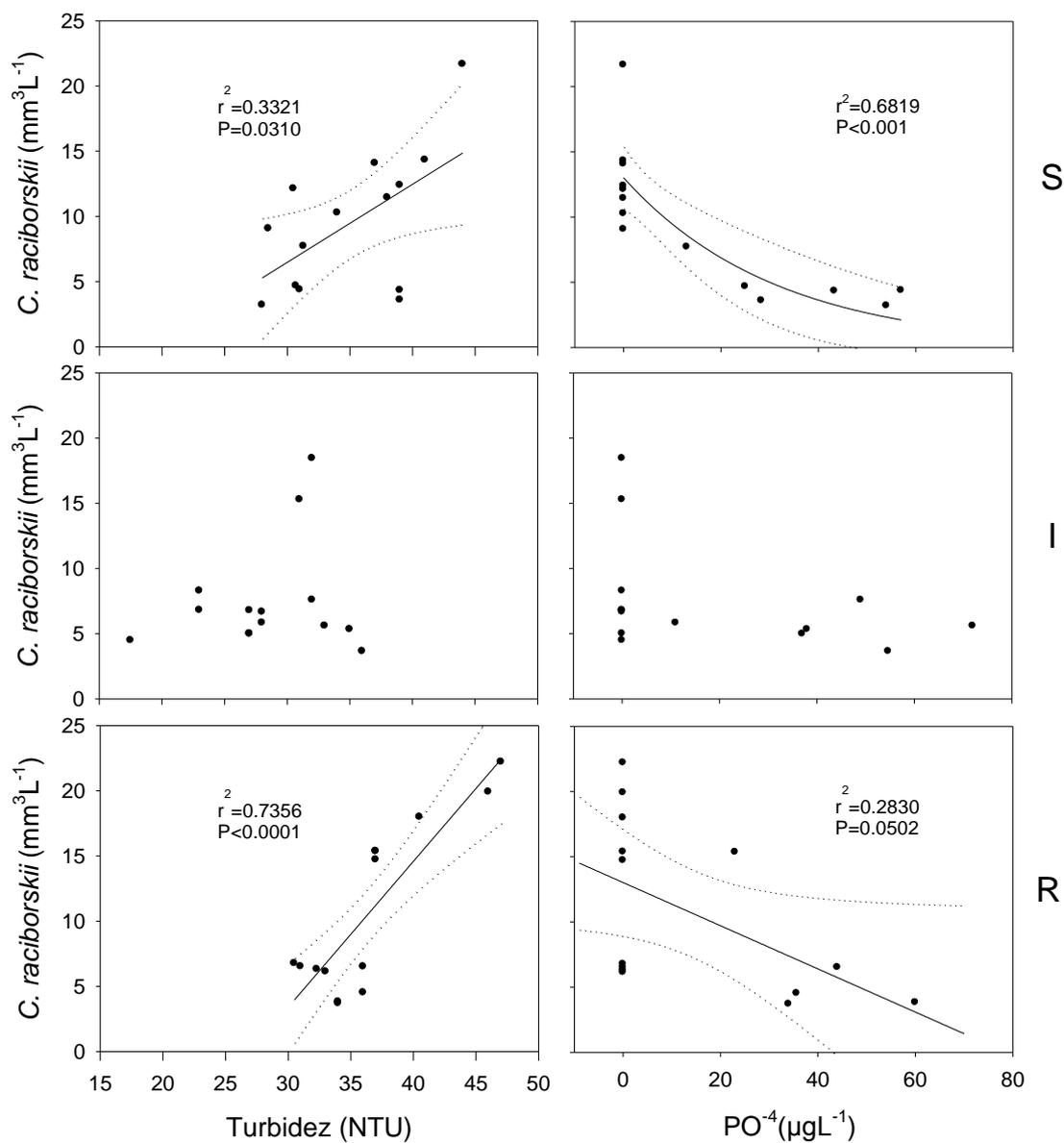


Figura 12. Biovolumen de *C. raciborskii* (mm³ L⁻¹) en función de la Turbidez (NTU) izquierda y Ortofosfato (µg L⁻¹) derecha en los distintos tratamientos. S: tanques en contacto con el sedimento. I: tanque sin contacto con el sedimento. R: lago. Los datos fueron ajustados a una regresión lineal ($f = y_0 + a \cdot x$) en los tratamientos R y S para *C. raciborskii* (mm³ L⁻¹) en función de Turbidez (NTU); y una regresión de exponencial negativa simple ($f = a \cdot \exp(-b \cdot x)$) en S y una regresión lineal ($f = y_0 + a \cdot x$) en R para *C. raciborskii* (mm³ L⁻¹) en función de Ortofosfato (µg L⁻¹).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados demostraron que el aumento del biovolumen de *C. raciborskii* está influido por el contacto del cuerpo del agua con el sedimento. El contacto con el sedimento probablemente explique las diferencias encontradas entre tratamientos, dado que el aumento del biovolumen de la especie en estudio se ve favorecido por la turbidez y la posibilidad de aporte de fósforo por parte del sedimento. Estos dos factores favorecen competitivamente y metabólicamente a *C. raciborskii* y potencian el desarrollo de las floraciones. El aumento del biovolumen en los tratamientos S y en el lago, con respecto a los tratamientos I, probablemente se debe a la resuspensión de partículas desde el sedimento que promueven la turbidez (Reynolds, 1984; Kristensen *et al.*, 1992; Scheffer, 1998) y el aporte de nutrientes desde el fondo que promueven el crecimiento del fitoplancton (Boström & Pettersson, 1982).

Aceptamos la hipótesis de trabajo dado que en los tratamientos S, el biovolumen de *C. raciborskii* fue significativamente mayor que en el tratamiento I. El aumento de turbidez generado por la resuspensión de partículas le podría brindar a *C. raciborskii* una ventaja competitiva frente al resto del fitoplancton (Padisák, 1997) dado que tolera condiciones bajas de luminosidad (Briand *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009; Bonilla *et al.*, 2012). Al mismo tiempo que *C. raciborskii* tolera el sombreado, el aumento de su biovolumen lo promueve, lo que genera un mecanismo de retroalimentación positivo el cual le brinda una ventaja competitiva frente a otros organismos fitoplanctónicos. Cabe remarcar que es solo una ventaja competitiva y no metabólica, dado que *C. raciborskii* presenta mayor tasa de crecimiento cuando las condiciones de luminosidad son altas (Kokocinski *et al.*, 2010; Bonilla *et al.* 2012, Fabre, 2011). Una situación muy similar, en la cual dominan las cianobacterias filamentosas del Orden Oscillatoriales por sobre las algas eucariotas del fitoplancton, fue descrita por Scheffer *et al.* (1997) y denominada el tercer estado estable. Esta dominancia se explicaba porque las cianobacterias filamentosas, pueden generar mayores biomásas en comparación con las clorofitas y así mayor sombreado con la misma cantidad de fósforo (Mur *et al.*, 1977). *C. raciborskii* cuenta con bajo mantenimiento de la cuota

celular con respecto a otras cianobacterias (Istvánovics *et al.*, 2000) por lo cual aplica como especie representativa potencial para explicar el tercer estado estable en lagos someros (Scheffer *et al.*, 1997).

Durante el periodo de setiembre a octubre de 2011 en la LP se desencadenó una floración de cianobacterias. *C. raciborskii* fue la especie dominante del fitoplancton durante este periodo (Figueredo *et al.* 2014). En todos los tratamientos y en el lago aumentó el biovolumen de *C. raciborskii* así como las concentraciones de Clorofila Total. Durante la mayor parte de este período las concentraciones de ortofosfato se encontraron por debajo del límite de detección y las concentraciones de NID fueron bajas con respecto a los valores encontrados en otros periodos (Figueredo *et al.* 2014).

Estudios en este ecosistema llevados a cabo entre setiembre de 2012 a abril de 2013 por Figueredo *et al.* (2014) encontraron que el biovolumen de *C. raciborskii* se encontraba correlacionado negativamente con la concentración de nitrógeno inorgánico disuelto. El presente estudio no mostró esta correlación, pero durante todo el período de estudio las concentraciones de NID fueron bajas, y el biovolumen de *C. raciborskii* aumentó hasta alcanzar concentraciones muy elevadas, lo que concuerda con los datos recabados por Figueredo *et al.* (2014) en una escala de tiempo mayor. Por lo cual no descartamos la posibilidad de que bajas concentraciones de NID sea uno de los factores desencadenantes de la floración de *C. raciborskii* en la LP. Sin embargo, durante el período de nuestro estudio, tanto el nitrógeno inorgánico disuelto como el ortofosfato podrían haber sido limitantes del crecimiento del fitoplancton en este experimento teniendo en cuenta las variaciones la relación N:P; pudiendo existir co-limitación entre ambos nutrientes (Mills *et al.*, 2004; Sterner, 2008). Proponemos a su vez que *C. raciborskii* se encuentra limitada por el nitrógeno, no solo por las concentraciones bajas de NID y que los valores de la relación N:P son inferiores a 10 durante gran parte del experimento, sino también porque la especie presentó alto porcentaje de filamentos heterocitados respecto a sistemas acuáticos de Brasil sin limitación de nitrógeno. Esto último se observó con respecto a: Lagoa das Garças (Tucci & Sant'anna 2003), Lagoa do Paranoá (Branco & Senna 1994), para una presa del

nordeste de Brasil (Huszar et al 2000), un reservatorio raso eutrófico de Pernambuco, Brasil (Bouvy et al 1999) y a la Lagoa Santa, MG (Figueredo & Giani 2009), presentando estos ecosistemas valores de entre 0 a 20 por ciento de filamentos heterocitados. En el trabajo de Figueredo & Giani (2009) a concentraciones inferiores a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de NID, *C. raciborskii* aumentó de 0% a 16 % los filamentos con heterocitstos en la población. Con respecto al fósforo, si bien solo podemos suponer limitación para este nutriente en día 20, no descartamos que a partir del día 8 (cuando las concentraciones son inferiores al LD) exista limitación por fósforo. Esto podría deberse a un direccionamiento de gran parte del P asimilado para la fijación de nitrógeno atmosférico, proceso que cuenta con una gran necesidad de ATP rico en fósforo (Mills et al. 2004).

La limitación por fósforo favorece competitivamente a *C. raciborskii* (Pádisak & Istvánovics, 1997; Istvánovics et al., 2000; Amaral et al., 2014). Nuestros resultados concuerdan con ello, dado que tanto en el lago como en el tratamiento S, se observó que al disminuir la concentración de ortofosfato aumenta el biovolumen de *C. raciborskii*. Probablemente debido al consumo de este nutriente por parte de la misma cianobacteria. *C. raciborskii* metabólicamente cuenta con mayores tasas de crecimiento a concentraciones de fósforo altas (Istvánovics et al., 2000), pero a su vez cuenta con alta afinidad por este nutriente, es capaz de acumularlo e inclusive adaptar las tasas de incorporación del mismo en situaciones de deficiencia del nutriente (Amaral et al., 2014). También esta especie tiene la capacidad de regular su flotabilidad (Pádisak, 1997) lo cual le permitiría llegar cerca del fondo y captar así pequeños pulsos de fósforo u otros nutrientes. El ecosistema de la LP se caracteriza por tener altas concentraciones de nutrientes totales, como ocurre en todo ecosistema eutrófico (Lampert & Sommer, 2007), pero sin embargo la disponibilidad de ortofosfato es muy baja o indetectable. Por estos mismos motivos *C. raciborskii*, debido a su gran afinidad al ortofosfato y su flexibilidad fisiológica para incorporarlo rápidamente y/o acumularlo, se ve favorecida en este ecosistema. Estudios de Posselt et al. (2009) encontraron que el agregado de pulsos de fósforo en un lago limitado por este elemento puede promover el desarrollo de *C. raciborskii*. En nuestros

experimentos especulamos que el sedimento actúa como fuente constante de ortofosfato, lo que podría aportar pulsos no detectables experimentalmente en este estudio, a los cuales *C. raciborskii* se aclimata.

El aumento de la temperatura se correlacionó con el aumento de *C. raciborskii* en el tratamiento S y en el Lago, lo que indica que la floración se ve potenciada por el aumento de temperatura, como sucede con la mayoría de las cianobacterias (Whitton & Potts, 2002). Muchas otras investigaciones han mostrado que frente a un aumento de temperatura se suelen producir floraciones de *C. raciborskii* (Padisák, 1997; Bouvy *et al.*, 1999; Tucci & Sant'Anna, 2003; Briand *et al.*, 2004; Figueredo & Giani, 2005; Wiedner *et al.*, 2007; Kokociński *et al.* 2010; Bonilla *et al.* 2012; Paerl *et al.* 2012, Sukenik *et al.*, 2012), no necesariamente implicando una temperatura concreta, sino la variación de la misma (Bonilla *et al.*, 2012) de la misma forma que sucede con las cianobacterias en general (Pearl *et al.*, 2012). Esto no significa que el cambio de la temperatura sea el motivo de la ocurrencia de la floración de *C. raciborskii*, sino que existen otros factores que permiten la ocurrencia de la misma, por ejemplo, como ya mencionamos niveles muy bajos de nutrientes disueltos (de ortofosfato y NID), condiciones de eutrofia del lago, turbidez alta, condiciones aptas para la especie de pH, conductividad y salinidad como las presentes en nuestro estudio, etc. Concordamos con Allen & Polimene (2011) que plantean que una floración se desencadena por una multiplicidad de factores, como suponemos que sucede en nuestro caso.

En el experimento los patrones encontrados en la turbidez no concuerdan con la cuantificación de la zona eufótica con el disco de Secchi, esto podría deberse a que propiedades colorimétricas junto con la alta turbidez del cuerpo de agua vuelven dificultosa la cuantificación de la zona eufótica mediante el método de Secchi. Una limitante de nuestro experimento es que no se evaluó la comunidad zooplanctónica. Sin embargo el escenario más probable es que en el primer día de estudio la comunidad zooplanctónica fue la misma en todos los tratamientos tanto como en el reservorio y es posible asumir que el montaje de los tanques no afectó esta

comunidad. Cabe resaltar que *C. raciborskii* recibe baja presión de depredación por el zooplancton debido a su baja palatabilidad (Padisák 1997), por lo que probablemente la comunidad zooplanctónica no tendría incidencia en el desarrollo de las cianobacterias a no ser por efectos indirectos que no evaluamos. Finalmente, otros organismos como algas bénticas, hongos y/o bacterias también podrían haber variado en función de la interacción con el sedimento, afectando así la comunidad de cianobacterias.

CONCLUSIONES

La interacción con el sedimento desempeña un papel importante para el crecimiento de *C. raciborskii*. El tratamiento sin interacción con el sedimento presentó biovolúmenes estadísticamente menores que el tratamiento en contacto con el sedimento y el lago, lo cual se explica por el aumento de turbidez y probablemente mayor aporte de fósforo en el tratamiento en contacto con el sedimento, lo cual favorece competitivamente y metabólicamente a *C. raciborskii*.

Los factores que desencadenan la floración de *C. raciborskii* en la Lagoa dos Pedalinhos son varios, siendo la combinación de los mismos los que permiten su persistencia. De los mismos cabe resaltar las condiciones de alta turbidez y las bajas concentraciones de fósforo y nitrógeno disueltos.

PERSPECTIVAS

Para futuros experimentos de este tipo se debería profundizar en el análisis de toda la comunidad biológica en el mesocosmos, incluyendo así picoplancton, zooplancton y necton y evaluando los flujos de energía entre estas comunidades y el entorno. Se propone también sumar muestreos y/o experimentos capaces de evaluar concretamente la interacción entre el sedimento y el cuerpo de agua, que permitan

detectar el probable intercambio de nutrientes y otras variables que incidan en la interface entre el sedimento y el cuerpo de agua.

AGRADECIMIENTOS

A la UFMG y a la UDELAR, especialmente al programa ESCALAS estudiantil, que me permitió realizar este intercambio. A USIPA, por el apoyo brindado y la posibilidad de alojamiento. A UNILESTE por la infraestructura y los materiales. Al Cuerpo de bomberos de Ipatinga, por la ayuda para armar los tanques. A Cleber Figueredo, quien además de ayudarme en este proceso me recibió como un amigo en Brasil. A Gabriela von Rückert y a Sylvia Bonilla, que sin la ayuda de ellas en un principio y al final, no podría haber llevado a cabo esta tarea. A Claudia Diniz Pinto Coelho Por su apoyo y permiso en USIPA. A Sandra Paula Ferreira de Oliviera, su ayuda en el laboratorio fue invaluable. A Alessandra Giani por permitirme trabajar en su Grupo en la UFMG. A Elenice, Pedro, Priscila, Arthur, Deborah, Fernanda, Juliana, Naíla, Valquíria, Bruno, Andrea, Fatima, Amelia todos grandes compañeros. A Todos los amigos de Brasil, A todos mis amigos de Uruguay, especialmente a la banda de facultad y a los 3 de siempre. A mi novia y a mis padres.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, J. I., & Polimene, L. (2011). Linking physiology to ecology: towards a new generation of plankton models. *Journal of Plankton Research*, 33: 989-997.
- APHA (AmericanPublicHealthAssociation) (2005) Standard methods for the examination of water and waste water, 21th edition American Public Health Association Publications, Washington DC.
- Amaral, V., Bonilla, S., & Aubriot, L. (2014). Growth optimization of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in response to phosphate fluctuations. *European Journal of Phycology*, 49:134-141.
- Bloesch, J., Bossard, P., Bührer, H., Bürgi, H. R., & Uehlinger, U. (1988). Can results from limnocorral experiments be transferred to in situ conditions?. *Hydrobiologia*, 159: 297-308.
- Bolger, T., & Connolly, P. L. (1989). The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. *Journal of Fish Biology*, 34: 171-182.
- Bonilla, S. (2009). *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. Sylvia Bonilla (editora). Documento Técnico PHI-LAC, N° 16, UNESCO, Montevideo.
- Bonilla, S., Aubriot, L., Soares, M. C. S., González-Piana, M., Fabre, A., Huszar, V. L. M., Lürling, M., Antoniadis, D., Padisák, J., & Kruk, C. (2012). What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*?. *FEMS Microbiology Ecology*, 79: 594-607.
- Boström, B., & Pettersson, K. (1982). Different patterns of phosphorus release from lake sediments in laboratory experiments. *Hydrobiologia*, 91: 415-429.
- Boström, B., Andersen, J. M., Fleischer, S., & Jansson, M. (1988). Exchange of phosphorus across the sediment-water interface. *Phosphorus in Freshwater Ecosystems*. Persson and Jansson (eds). Springer Netherlands: 229-244 pp.
- Bouvy, M., Molica, R., De Oliveira, S., Marinho, M., & Beker, B. (1999). Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microbial Ecology*, 20: 285-297.
- Bouvy, M., Pagano, M., & Troussellier, M. (2001). Effects of a cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) on bacteria and zooplankton communities in Ingazeira reservoir (northeast Brazil). *Aquatic Microbial Ecology* 25: 215–227.
- Branco, C. W. C. & Senna, P. A. C. (1996). Phytoplankton composition, community structure and seasonal changes in a tropical reservoir (Paranoá Reservoir, Brazil). *Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes*, 81:69-84.
- Briand, J. F., Leboulanger, C., Humbert, J. F., Bernard, C., & Dufour, P. (2004). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) invasion at mid-latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming? *Journal of Phycology*, 40:231–8.
- Briand, J. F., Robillot, C., Quiblier-Llobéras, C., Humbert, J. F., Couté, A., & Bernard, C. (2002). Environmental context of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) blooms in a shallow pond in France. *Water Research*, 36:3183–92.

- CONAMA - Resolução No 357, 17. (2005). Ministério do Meio Ambiente Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasil.
- Castro, D., Vera, D., Lagos, N., García, C., & Vásquez, M. (2004). The effect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* C10. *Toxicon*, 44:483-489.
- Chorus, I., & Bartram, J. (1999). *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. Chapman & Hall, London.
- Dokulil, M. T., & Teubner, K. (2000). Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia*, 438: 1–12.
- Fabre, A. (2011). *Flexibilidad fenotípica de la cianobacteria invasora Cylindrospermopsis raciborskii en un gradiente lumínico*. Sección Limnología. Montevideo, UdelaR. Tesis de grado: 41 pp.
- Figueredo, C. C., Giani, A., & Bird, D. F. (2007). Does allelopathy contribute to *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) bloom occurrence and geographic expansion? *Journal of Phycology*, 43: 256-265.
- Figueredo, C. C., & Giani, A. (2009). Phytoplankton community in the tropical lake of Lagoa Santa (Brazil): conditions favoring a persistent bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Limnological-Ecology and Management of Inland Waters*, 39: 264–272.
- Figueredo, C. C., Rückert, G., Cupertino, A., Pontes, M. A., Fernandes, L. A., Ribeiro, S. G., & Maran, N. R. (2014). Lack of nitrogen as a causing agent of *Cylindrospermopsis raciborskii* intermittent blooms in a small tropical reservoir. *FEMS Microbiology Ecology*, 87: 557-567.
- Forsell, L. (1998). Migration from the littoral zone as an inoculum for phytoplankton. *Archiv für Hydrobiologie*, 51: 21–3.
- Gaechter, R., Meyer, J. S., & Mares, A. (1988). Contribution of bacteria to release and fixation of phosphorus in lake sediments. *Limnology and Oceanography*, 33: 1542-1558.
- Hallegraeff, G. M. (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase*. *Phycologia*, 32: 79-99.
- Huisman, J., Matthijs, H. C., & Visser, P. M. (2005). *Harmful Cyanobacteria -Aquatic Ecology Series*, Springer, Dordrecht. 67-77: pp.
- Huszar, V. L. M., Silva, L. H. S., Marinho, M. M., Domingos, P., & Sant'anna, C. L. (2000). Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian waters. *Hydrobiologia*, 424:67–77.
- Isvánovics, V., Shafik, H. M., Présing, M., & Juhos, S. (2000). Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshwater Biology*, 43: 257–275.
- Jeffrey, S. W., Mantoura, R. F. C., & Bjørnland, T. (1997). *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*. UNESCO, Paris.
- Jensen, H. S., & Andersen, F. O. (1992). Importance of temperature, nitrate, and pH for phosphate release from aerobic sediments of four shallow, eutrophic lakes. *Limnology and Oceanography*, 37: 577-589.
- Karlsson-Elfgre, I., & Brunberg, A. K. (2004). The importance of shallow sediments in the recruitment of *Anabaena* and *Aphanizomenon* (Cyanophyceae) *Journal of Phycology*, 40: 831–836.

- Kokociński, M., Stefaniak, K., Mankiewicz-Boczek, J., Izydorczyk, K., & Soininen, J. (2010). The ecology of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyta) in two hypereutrophic lakes dominated by *Planktothrix agardhii* (Oscillatoriales, Cyanophyta). *European Journal of Phycology*, 45: 365–374.
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1989). Modern approach to the classification system of cyanophytes. Nostocales 4. *Algological Studies*, 56:247-345.
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (1999). *Cyanoprokaryota. 1. Teil Chroococcales*. In *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (H. Ettl, G. Gärtner, H. Heying & D. Möllenhauer, eds.). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 19:1-548.
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. In *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (Büdel B., Krienitz L., Gärtner G., & Schagerl M., eds.). *Elsevier Spektrum Akademischer Verlag*, München, 19:1-759.
- Kosten, S., Huszar, V. L., Bécares, E., Costa, L. S., Donk, E., Hansson, L. A., Jeppesen E, Kruk C, Lacerot G, Mazzeo N, De Meester L, Moss B, Lürling M, Nöges T, Romo S & Scheffer, M. (2012). Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology*, 18: 118-126.
- Kristensen, P., Søndergaard, M., & Jeppesen, E. (1992). Resuspension in a shallow eutrophic lake. *Hydrobiologia*, 228: 101-109.
- Lagos, N., Onodera, H., Zagatto, P. A., Andrinolo, D., Azevedo, S. M. F. Q., & Oshima, Y. (1999) The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*, 37:1359-1373.
- Lampert, W., & Sommer, U. (2007). *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. Oxford University Press, New York.
- Lee, G. F., Sonzogni, W. C., & Spear, R. D. (1977). Significance of oxic vs anoxic conditions for Lake Mendota sediment phosphorus release. *Interactions between sediments and freshwater*, 294-306.
- Marsden, M. W. (1989). Lake restoration by reducing external phosphorus loading: the influence of sediment phosphorus release. *Freshwater Biology*, 21: 139-162.
- McGregor, G. B., & Fabbro, L. D. (2000). Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanoptokaryota) in Queensland tropical and subtropical reservoirs: implications for monitoring and management. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, 5: 195–205.
- Mills, M. M., Ridame, C., Davey, M., La Roche, J., & Geider, R. J. (2004). Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature*, 429: 292-294.
- Mohamed, Z. A. (2007). First report of toxic *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Raphidiopsis mediterranea* (Cyanoprokaryota) in Egyptian fresh waters. *FEMS Microbiology Ecology*, 59: 749-761.
- Moore, D., O'Donohue, M., Garnett, C., Critchley, C., & Shaw, G. (2005). Factors affecting akinete differentiation in *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria). *Freshwater Biology*, 50: 345–352.
- Mortimer, C. H. (1942). The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. *The Journal of Ecology*, 147-201.
- Moss, B. (1988). *Ecology of fresh waters*, 2nd edn. Man & Medium. Blackwell Scientific, Oxford.

- Mur, L. R., Gons, H. J., & Liere, L. (1977). Some experiments on the competition between green algae and blue-green bacteria in light-limited environments. *FEMS Microbiology Letters*, 1: 335-338.
- Padisák, J. (1997). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch Hydrobiol Supp*, 107: 563–593.
- Padisák, J., & Istvánovics, V. (1997). Differential response of blue-green algal groups to phosphorus load reduction in a large shallow lake: Balaton, Hungary. *Verhandlungen-Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, 26: 574-580.
- Paerl, H. W. (1988). Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnology and Oceanography*, 33: 823-847.
- Paerl, H. W., Hall, N. S., & Calandrino, E. S. (2011). Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Science of the Total Environment*, 409: 1739-1745.
- Paerl, H. W., & Paul, V. J. (2012). Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Research*, 46:1349-1363.
- Petterson, K. (1998). *Mechanisms for internal loading of phosphorus in lakes. In Oceans, Rivers and Lakes: Energy and Substance Transfers at Interfaces*. Springer, Netherlands: 21-25 pp.
- Piccini, C., Aubriot, L., Fabre, A., Amaral, V., González-Piana, M., Gianni, 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: 644–653.
- Posselt, A. J., Burford, M. A., & Shaw, G. (2009). Pulses of phosphate promote dominance of the toxic cyanophyte *Cylindrospermopsis raciborskii* in a subtropical water reservoir. *Journal of Phycology*, 45: 540-546.
- Redfield, A. C. (1958). The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*, 46: 205-221.
- Reis, R. E., Kullander, S. O., & Ferraris, C. J. (2003). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. EDIPUCR, Porto Alegre.
- Reynolds, C. S. (1984). *The ecology of freshwater Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- 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: 417–428.
- Rott, E. (1981). Some results from phytoplankton counting intercalibrations. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie*, 43: 34-62.
- Saker, M. L., & Griffiths, D. J. (2000). The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia*, 39: 349-354.
- Saker, M. L., Nogueira, I. C., Vasconcelos, V. M., Neilan, B. A., Eaglesham, G. K., & Pereira, P. (2003). First report and toxicological assessment of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Portuguese freshwaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55: 243-250.

- Sand-Jensen, K., & Borum, J. (1991). Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany*, 41: 137-175.
- Scheffer, M., Rinaldi, S., Gragnani, A., Mur, L. R. , Van Ness, E. H. (1997). On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology*, 78: 272-282.
- Scheffer, M. (1998). *Ecology of shallow lakes*. London, Chap. and Hall: 357 pp.
- Scheffer, M., & van Nes, E. H. (2007). Shallow lakes theory revisited: various alternative regimes driven by climate, nutrients, depth and lake size. *Hydrobiologia*, 584: 455-466.
- Smayda, T. J. (1997). What is a bloom? A commentary. *Limnology and Oceanography*, 42:1132-1136.
- Søndergaard, M., Jensen, J. P., & Jeppesen, E. (2003). Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia*, 506: 135-145.
- Sterner, R. W. (2008). On the phosphorus limitation paradigm for lakes. *International Review of Hydrobiology*, 93: 433-445.
- Sukenik, A., Hadas, O., Kaplan, A., & Quesada, A. (2012). Invasion of Nostocales (cyanobacteria) to subtropical and temperate freshwater lakes—physiological, regional, and global driving forces. *Frontiers in Microbiology*, 3:86
- Sun, J., & Liu, D. (2003). Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of plankton research*, 25: 1331-1346.
- Tucci, A., Sant'anna, C. L. (2003). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. *Brazilian Journal of Botany*, 26: 97-112.
- Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. *Mitt. int. Ver. theor. angew. Limnol.*, 9: 1-38.
- Vidal, L., & Kruk, C. (2008). *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) extends its distribution to Latitude 34°53'S: taxonomical and ecological features in Uruguayan eutrophic lakes. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3: 142-151.
- von Rückert, G., Martins, J.,A., Gomes Raminho, F., G. (2011). Avaliação da ocorrência de floração de cianobactérias em um sistema de reservatórios em cascata no município de Ipatinga. *XIII Congresso Brasileiro de Limnologia, Natal*. Acesso em <http://www.ablimno.org.br/eventos/xiii-cbl/trabalhos.php?n=879>.
- Whitton, B. A., & Potts, M. (2002). *The Ecology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Wiedner, C., Rucker, J., Brüggemann, R., & Nixdorf, B. (2007). Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. *Oecologia*, 152: 473–484.
- Wetzel, R. G. (1990). Land-water interfaces: Metabolic and limnological regulators. *Verhandlungen Internationalen Vereinigung Limnologie*, 24: 6-24.
- Wu, Z., Shi, J., & Li, R. (2009). Comparative studies on photosynthesis and phosphate metabolism of *Cylindrospermopsis raciborskii* with *Microcystis aeruginosa* and *Aphanizomenon flos-aquae*. *Harmful Algae*, 8: 910-915.

Wu, Y., Wen, Y., Zhou, J., & Wu, Y. (2014). Phosphorus release from lake sediments: Effects of pH, temperature and dissolved oxygen. *KSCE Journal of Civil Engineering*, 18: 323-329.