

Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas

Lorena Rosso y Leda Giannuzzi

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Resumen

Las modificaciones del ambiente influyen sobre las floraciones de cianobacterias y favorecen la permanencia de las poblaciones. En los últimos doscientos años la formación de floraciones se ha incrementado, causando problemas ecológicos, higiénicos y de manejo de aguas. Puede observarse en algunos desarrollos cianobacterianos la influencia de los parámetros físicos y químicos del agua que llevan a pérdidas de la diversidad del ecosistema. Hasta el presente no se ha podido definir con certeza cuáles son los factores ambientales y en qué medida son capaces de formar floraciones y producir toxinas. Este capítulo busca aportar al conocimiento del fenómeno y sus implicancias en el ambiente y el hombre.

Palabras clave: floraciones, cianobacterias, factores ambientales.

1. Bloom o floraciones de cianobacterias. Características generales

Bajo determinadas condiciones ambientales, las cianobacterias y las algas eucariotas del fitoplancton pueden aumentar repentinamente su tasa de crecimiento.

Una de las consecuencias inmediatas y evidentes es la disminución de la diversidad de las comunidades, favoreciendo el incremento de las especies más aptas para crecer en estas condiciones especiales.

Las floraciones de algunos géneros algales, como ser *Microcystis*, *Anabaena* y *Aphanizomenon*, se caracterizan por la agrupación de los organismos formando grandes colonias. Las especies de *Microcystis* spp, *Anabaena* spp, *Aphanizomenon* spp desarrollan floraciones fácilmente visibles debido a que estas se acumulan en la superficie de la columna de agua, formando una franja densa de varios centímetros de espesor de un color verde intenso. Esta característica se debe a la presencia de vesículas de gas (aerotos) que permite a las células ascender a la superficie en un lapso de minutos a horas cuando la columna de agua se estabiliza, situación que suele ocurrir en ambientes poco ventosos. En particular las floraciones de *M. aeruginosa* ocurren generalmente en ambientes con muy poco o ausencia de viento y en un amplio rango de temperatura (1).

Cuando las condiciones ambientales no son favorables, algunos organismos sobreviven durante largos periodos de tiempo (incluso años) como colonias de células vegetativas depositadas en el sedimento, y pueden actuar como iniciadores de nuevos florecimientos cuando las condiciones mejoran (2) y (3). Las floraciones de otras cianobacterias como ser *Planktothrix* spp, *Oscillatoria* spp, *Planktolyngbya* spp, no tienden a acumularse en la superficie sino en zonas más profundas y menos iluminadas, o permanecen dispersas en la columna de agua.

Entre los organismos que habitan los cuerpos de agua, las interacciones tróficas, también juegan un papel importante en el desarrollo de las cianobacterias. Además, las cianobacterias interactúan con otros productores primarios (algas del fitoplancton y plantas sumergidas) compartiendo los mismos recursos.

La eutrofización permite y estimula las floraciones y pueden ser desarrolladas por diversas especies de fitoplancton pertenecientes a las Clases Bacillariophyceae (diatomeas), Chlorophyceae (algas verdes), Dinophyceae (dinoflagelados), Chrysophyceae, Cryptophyceae o Cyanophyceae (cianobacterias).

2. Eutrofización

La eutrofización puede ser definida como es el aumento excesivo de la producción primaria, derivada de la alta tasa de fotosíntesis, que a su vez permite la existencia de zooplancton y peces. Se trata de un proceso natural de envejecimiento de un cuerpo de agua como resultado de la descarga natural de nitrógeno y fósforo, procedente de lluvias (escorrentías) y aguas superficiales, que lavan y erosionan la superficie terrestre. Así lagos oligotróficos como los cordilleranos del sur tienen menos peces por m³ que las lagunas pampeanas eutróficas.

La eutrofización cultural, artificial o antropogénica es causada por el vertido de efluentes domésticos y/o industriales y de la descarga de fertilizantes utilizados en la agricultura, que acelera el proceso de enriquecimiento tanto de las aguas superficiales como subterráneas. Concentraciones de fósforo superior a 0.1 mg.L⁻¹ son suficientes para inducir una floración de cianobacterias.

Los ambientes acuáticos reciben diferentes denominaciones según la concentración de nutrientes y la producción primaria (densidad y biomasa de algas) que presentan:

- Oligotrófico: aguas claras, baja concentración de nutrientes, poco desarrollo planctónico, baja productividad, pocas plantas acuáticas, elevada concentración de oxígeno disuelto.
- Mesotrófico: moderado enriquecimiento con nutrientes, moderado crecimiento planctónico, escasa acumulación de sedimentos en la mayor parte del fondo.
- Eutrófico: elevado enriquecimiento con nutrientes y crecimiento planctónico, alta productividad en relación a las condiciones naturales, baja transparencia, extensas áreas cubiertas con plantas acuáticas, gran acumulación de sedimentos en el fondo, bajos niveles de oxígeno disuelto en el fondo, interferencias en los usos múltiples del agua.
- Hipereutrófico: cuerpo de agua significativamente afectado por las elevadas concentraciones de materia orgánica y nutrientes, floraciones de algas, mortandad de peces, con limitaciones en sus usos.

La eutrofización puede ocasionar cianobacterias visibles o floraciones de algas, espumas superficiales, esteras flotantes de plantas macrofitas y agregaciones bentónicas. La descomposición de esta materia orgánica puede conducir al agotamiento de oxígeno disuelto en el agua, que a su vez puede causar problemas secundarios, como la mortalidad de peces por falta de oxígeno y liberación de sustancias tóxicas o fosfatos que se asocian a los sedimentos oxidados. Los fosfatos liberados de los sedimentos aceleran la eutrofización, cerrando así un ciclo de retroalimentación positiva.

Si bien los aportes derivados de la actividad antropogénica son de fundamental relevancia para disparar el proceso de eutrofización, otros factores pueden modificar la dinámica del fenómeno (4). Entre ellos cuentan: el clima (que puede controlar la productividad al modificar la entrada de energía solar al sistema), la geología, los tipos de suelos de la cuenca y la hidrología (que determinan los aportes de nutrientes a través de la precipitación, la escorrentía o los afluentes).

Otros factores propios del sistema pueden ser relevantes en la evolución del proceso. Una baja transparencia del agua debida a material inorgánico en suspensión (por ejemplo: arcillas) puede reducir la producción

primaria por limitación lumínica. Por el contrario, la liberación interna de fósforo desde los sedimentos por mecanismos físico-químicos que ocurren a bajas concentraciones de oxígeno puede resultar en el efecto inverso. La morfología del sistema y el tiempo de residencia del agua son otros aspectos a tener en cuenta, ya que los lagos someros y pequeños son más susceptibles a la eutrofización por su escaso volumen y capacidad de procesamiento del exceso de materia orgánica. Por su parte, los ecosistemas con bajas tasas de renovación del agua facilitan la acumulación del material en exceso.

La causa primaria que desencadena el pasaje de un estado oligotrófico a uno eutrófico es el aporte de una carga de fósforo y/o nitrógeno en una tasa mayor a la que el sistema acuático puede procesar lo que conduce gradualmente al incremento de la productividad general del ecosistema acuático. El origen es siempre diverso, pero se destacan como aportes puntuales los desechos orgánicos urbanos, domésticos e industriales, y los aportes difusos por escorrentía, mayoritariamente inorgánicos, que provienen de la actividad agrícola-ganadera (5).

3. Condiciones que favorecen el desarrollo de cianobacterias y cianotoxinas

El crecimiento de cianobacterias fitoplanctónicas en los ambientes naturales depende del equilibrio entre la oferta y la demanda de recursos; condición dada por su capacidad de acceso y utilización de los mismos. Los requerimientos necesarios para el crecimiento son la luz, para realizar la fotosíntesis, y los nutrientes (minerales), para la formación de moléculas y/o macromoléculas responsables del metabolismo celular.

La pérdida de biomasa, situación que también aporta al balance de la población de cianobacterias, se debe al pastoreo por zooplancton, principalmente; a la sedimentación hacia zonas de poca o nula iluminación, donde no es posible realizar la fotosíntesis, y el “lavado” por el arrastre de las corrientes de agua.

Las condiciones ambientales más importantes que favorecen el desarrollo de floraciones, son la intensidad de la luz, la temperatura, las características hídricas del cuerpo de agua, la estabilidad de la columna de agua, el pH, los macro y micronutrientes y por último los factores antropogénicos sin descartar otros factores ambientales y biológicos (6).

Estos factores varían en escalas de tiempo diferentes, como ser diarios, estacionales o durante largos periodos de tiempo. En los casos de aguas con alto contenido de nutrientes (eutrofizadas) o contaminadas con residuos químicos, igualmente se altera la composición de la biota residente que conducen a la formación de floraciones de cianobacterias.

A pesar del creciente aumento en los estudios sobre este fenómeno, se desconoce con precisión cual es el factor que desencadena la formación de toxinas durante una floración.

Jiang (7) estudió la influencia de los factores ambientales como ser la intensidad de luz, la temperatura, diferentes concentraciones de nitratos, fosfatos y hierro sobre el desarrollo de una cepa de *M. aeruginosa* en cultivo de laboratorio. Los resultados indicaron que los factores mencionados participan en el crecimiento celular y la producción de microcystina. Sin embargo, el desarrollo de un cultivo en condiciones controladas de laboratorio no siempre representa el comportamiento de los florecimientos naturales.

Para el desarrollo de una floración basta con que estén presentes algunas condiciones favorables que dependen en gran medida de las características naturales del ecosistema. Es importante considerar las diferencias hidrológicas entre ríos, reservorios y lagos que producen consecuencias importantes en la concentración de nutrientes y en el potencial desarrollo de microalgas. Los ríos tienen generalmente una corriente de flujo significativa pudiéndose compararla a un proceso natural de remoción de sustancias indeseables. Sin embargo no se ha logrado eliminar contaminantes que pueden fijarse y acumularse al

sedimento, y que de ser liberados lo harían por arrastre río abajo. Dicho proceso es importante para el depósito natural de fosfato. Generalmente los lagos tienen largos tiempos de retención comparados con los ríos y presentan una tendencia natural a acumular sedimentos y sustancias químicas asociadas a ello.

Por lo tanto, los sedimentos actúan como contenedores de nutrientes importantes como es el fosfato. Sin embargo, si las condiciones cambian, los sedimentos pueden también servir como fuentes, al liberar los nutrientes al agua donde pueden estimular el crecimiento de algas y cianobacterias.

4. Impacto sobre el ecosistema

La liberación de las cianotoxinas provenientes de floraciones a las aguas circundantes, parece ocurrir más frecuentemente durante la senescencia de la célula, muerte o lisis y no por excreción continua, ya que aun no se ha podido demostrar la presencia de un transportador para la toxina. Por estos motivos pueden ser mayores las concentraciones de toxinas disueltas en floraciones envejecidas o en declinación.

Dentro de la población pueden coexisten cepas tóxicas y no tóxicas; si prevalecen cepas tóxicas, entonces dicho florecimiento se vuelve potencialmente muy peligroso. Las cianobacterias pueden producir distintas variantes de toxinas simultáneamente; no obstante, la biosíntesis lleva a la producción de usualmente solo una o dos toxinas, que son dominantes para una cepa específica. Se estima que más del 50 % de las floraciones de cianobacterias de aguas continentales, registradas o no, son tóxicas (8).

La biomasa concentrada en las floraciones, sumada a la presencia de las cianotoxinas, representan un problema para otros organismos que habitan el medio acuático, para la salud y actividades que realiza el hombre. Lo anterior es objeto de estudio del capítulo 6 del presente manual.

5. Factores ambientales y su interrelación

5.1. Efecto de las fuentes de luz sobre el desarrollo de cianobacterias

La luz y su intensidad presentan un efecto directo sobre el metabolismo de las algas, de modo que al aumentar la energía luminosa se incrementa la actividad fotosintética y la demanda de nutrientes. Se produce entonces, un incremento de la biomasa de las células algales y de la tasa de proliferación, que ocasiona el crecimiento en número de las poblaciones de determinadas especies. La alta intensidad de la luz ocurre principalmente en primavera y verano, que asociado generalmente al aumento de la temperatura y la duración del día solar, contribuyen al desarrollo masivo de las algas. Por lo tanto, debe considerarse que en la naturaleza los demás factores siguen estando presentes y ejerciendo su influencia.

La luz participa en el desarrollo de las cianobacterias a través del sistema fotosintético. Ellas tienen como pigmentos fotosintéticos aeróbicos principalmente la clorofila *a*, y una serie de pigmentos accesorios. Existen algunas especies que pueden tener además clorofila *b* existiendo alguna especie de origen marino que presenta clorofila *d*.

Dentro de los pigmentos accesorios se mencionan las ficobilinas, que conforman los ficobilisomas que se encuentran en hilera sobre la superficie exterior de los tilacoides, siendo los responsables del color verde-azul de las cianobacterias.

La subunidad de los ficobilisomas esta compuesta por las ficobiliproteínas: aloficocianina (azul, con máximo de absorbancia de 650 nm), ficocianinas (azul, cuyo máximo es a 620 nm) y ficoeritrina (rojo, máximo de 565 nm). Esta gran estructura fotosintética permite a las cianobacterias colonizar un amplio rango de nichos ecológicos

gracias a su habilidad de crecimiento con luz de distintas zonas del espectro, en presencia de oxígeno. La biosíntesis y proporción de estos pigmentos son particularmente sensibles a la influencia ambiental, específicamente la luz. La adaptación cromática es un extenso atributo de cambio en la relación entre ficocianinas y ficoeritrinas en el ficobilisoma, y aportan a las cianobacterias un beneficio característico respecto de otras especies del fitoplancton; ya que la mayoría de las algas eucarióticas no pueden absorber a esas longitudes de onda.

Las cianobacterias poseen otro componente que resulta de vital importancia para un buen crecimiento, son los carotenoides que pueden también encontrarse en las algas eucariotas.

Las microalgas poseen carotenoides glicosídicos, que son exclusivos de ellas y cumplen principalmente una función de protección para las altas intensidades lumínicas, actuando como antioxidantes al desviar el flujo de electrones en exceso para evitar que se dañen los fotosistemas (9). Muchas cianobacterias, son sensibles a alta intensidad de luz durante largos periodos de tiempo, encontrándose un límite a exposiciones a intensidad de luz de $320 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ por ser letales para muchas especies (10). Sin embargo, si la exposición es intermitente en la intensidad de luz alta, la velocidad de crecimiento de las cianobacterias se puede aproximar a la máxima.

El crecimiento de *Planktothrix agardhii* es inhibido cuando es expuesto por períodos extensos a intensidades de luz de $180 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Las cianobacterias formadores de floraciones superficiales muestran una gran tolerancia a altas intensidades de luz, como por ejemplo *Microcystis spp* que además sintetizan sustancias fotoprotectoras de la luz ultravioleta como los aminoácidos del tipo micosporina (MAA) y los carotenoides que desvían el exceso de energía (11).

El análisis de pigmentos de cianobacterias durante el monitoreo del pantano Choça Queimada (Portugal) determinó que la clorofila y los carotenoides totales son indicativos de una mayor biomasa, al encontrarse en altos valores mayoritariamente en los meses de finales de primavera. Los máximos se observaron en los puntos de muestreo medio y fondo, debido al movimiento de las cianobacterias a lo largo de la columna de agua en busca de las condiciones bioclimáticas óptimas. La dinámica observada en la evolución de los carotenoides totales fue muy similar a la de clorofila, aunque en condiciones de proliferación o dominio de *Microcystis*, los valores de carotenoides obtenidos fueron menores a lo esperado respecto a otras especies de cianobacterias como *Oscillatoria* o *Anabaena*. También se concluyó que las especies de *Microcystis* tendrían una menor capacidad de producción de los carotenoides señalados que otras especies de cianobacterias, por lo que se considera que la zeaxantina y β -caroteno (carotenoides específicos) se podrían utilizar como indicadores mucho más específicos de desarrollos explosivos de especies como *Oscillatoria*, *Anabaena* o formas cocoides de cianobacterias, que de *Microcystis* (12).

Las plantas acuáticas sumergidas en el cuerpo de agua son los productores primarios dominantes en sistemas eutróficos superficiales en donde el sistema acuático se mantiene transparente y con escaso fitoplancton y cianobacterias. Esta colonización exitosa en condiciones particulares, cubre parcial o totalmente la superficie del cuerpo de agua provocando el sombreamiento sobre cianobacterias y microalgas del fitoplancton que se encuentran por debajo en la columna de agua lo que afectará su crecimiento y expansión.

El desarrollo de macrófitas (plantas acuáticas) ocurre mayormente en ecosistemas tropicales y subtropicales de aguas con escasa turbulencia. Ellas pueden producir sustancias alelopáticas que inhiben el desarrollo del fitoplancton debido a su actividad algicida. Pueden afectar al metabolismo celular a nivel de la interacción entre proteínas, inhibición de fosfatasa alcalinas, interrupción de la cadena transportadora de electrones, y daños oxidativos proveniente es de la autooxidación de polifenoles.

En forma inversa, cuando la floración de cianobacteria crece sobre la superficie del cuerpo de agua, se puede producir también un sombreamiento en la columna de agua afectando al resto de las especies dispersas en los niveles inferiores y limitando su crecimiento, debido a la poca luz.

Diversos autores estudiaron la respuesta de poblaciones de distintas especies de microalgas en condiciones de laboratorio empleando alta intensidad lumínica. Se estudiaron las algas verdes *Scenedesmus protuberans* y de las algas verdeazules la cianobacteria *Planktothrix agardhii* (13). Si bien ambos organismos fueron cultivados en forma continua a la misma intensidad de luz baja, *Planktothrix* mostró no competir con *Scenedesmus*.

A alta intensidad de luz, la biomasa del alga verde se incrementa rápidamente, causando un aumento en la turbidez y un decrecimiento en la disponibilidad de la luz. Esta nueva situación favorece el crecimiento y desarrollo de la cianobacteria, que aunque no puede alcanzar el máximo de velocidad de crecimiento del alga verde, a muy baja intensidad de luz su tasa de crecimiento es alta. Por lo tanto, en aguas con turbidez alta las cianobacterias pueden encontrarse en mejores posibilidades de desarrollo que otras especies no competitivas.

Adicionalmente se encontró que, bajo condiciones limitadas de luz, la velocidad específica de crecimiento y el contenido de microcystina celular, se incrementan cerca del doble con el incremento de la intensidad de luz (14). Sin embargo, esa relación no es aplicada a la condición de saturación de luz. A altos niveles de intensidad de luz la velocidad específica de crecimiento permanece constante y el contenido de microcystina celular decrece.

5.2. Relación entre la luz y la zona de mezcla

Las condiciones de luz en el cuerpo de agua determinan la magnitud de las propiedades fisiológicas de las cianobacterias y su competencia con otros organismos del fitoplancton.

Existe una relación entre diferentes zonas de la columna de agua y la intensidad de luz recibida. La zona donde puede realizarse la fotosíntesis es la eufótica (Zeu). Por definición es la capa superior iluminada de la columna de agua que se extiende desde la superficie hasta una altura donde la intensidad de la luz es el 1% de la luz subsuperficial, límite de referencia en el cual se espera que la producción primaria neta sea igual a cero. Esta delimitación puede estimarse midiendo la transparencia con un disco de Secchi y multiplicando la profundidad de Secchi por un factor de 2-3. La zona de mezcla (Zm), es la capa de agua por encima de la termoclina o estratificación térmica del cuerpo de agua, que puede ser mezclada por la acción del viento. La relación entre zona eufótica y zona de mezcla es un indicador del régimen de luz experimentado por los organismos sometidos al movimiento del agua basándose en el cociente Zeu/Zm. Es posible separar ambientes en los que $Zeu \approx Zm$ de aquellos con $Zeu > Zm$ o $Zeu < Zm$.

Muchas especies de algas fitoplanctónicas y cianobacterias tienen muy poco movimiento y son participantes pasivos en la circulación del agua dentro de la zona de mezcla. Bajo estas circunstancias, sólo cuando se mantienen en la zona eufótica pueden efectuar la fotosíntesis. Ejemplos de ello pueden encontrarse en lagos poco productivos, frecuentemente mezclados, en los que generalmente dominan organismos filamentosos no agregados como *Planktothrix agardhii*.

En aguas eutróficas, la biomasa fitoplanctónica es frecuentemente muy alta y causa turbidez sustancial. En tales situaciones, la zona eufótica es a menudo menos profunda que la de mezcla, y la relación Zeu/Zm es < 1 y parte del fitoplancton en el período de luz está en la zona de oscuridad por lo que pueden presentarse situaciones de competencia entre distintos organismos.

Si el cociente Zeu/Zm es ≥ 1 , los organismos estarán circulando en la zona iluminada del lago sin inconvenientes. Cuando ocurren estratificaciones (distintos niveles cada uno con particulares condiciones) por períodos más prolongados, lo que coincide con una mayor profundidad de los sistemas, pueden verse favorecidas formas coloniales mucilaginosas de gran tamaño, como ser *Microcystis aeruginosa*.

En lagos más profundos y menos productivos, la luz alcanza toda la zona de mezcla y suele ocurrir una fuerte estratificación estacional.

La turbulencia de los cuerpos de agua, que generalmente está asociada a la presencia del viento, determina una disminución de la transparencia del agua por aumento de la turbidez en ambientes someros (resuspensión), actuando como un factor controlador de las floraciones, ya que ocasiona una disminución de la tasa de fotosíntesis y de la biomasa algal. Cuando la intensidad del viento ocasiona la mezcla de la columna de agua o cuando hay un bajo tiempo de residencia (< 10 días), se impide la acumulación de las cianobacterias en la superficie y se favorece la resuspensión de los nutrientes. Ejemplos de ello se presentan en los sistemas fluviales (ríos), o los embalses con tasas de renovación altas. Por otra parte, la distribución y ubicación de una floración en un cuerpo de agua tiene relación con la dirección del viento antes y/o durante el acontecimiento. Así las floraciones se acumulan en las bahías hacia donde sopla el viento y/o en las zonas protegidas.

En los sistemas acuáticos con altos tiempos de residencia por ausencia de viento o baja turbulencia (velocidad del viento menor a $3 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$), se acelera el proceso de sedimentación de las partículas, que pueden incluir a otras especies de algas, el agotamiento de los nutrientes, el aumento de la transparencia y la acumulación superficial de las cianobacterias. En algunas situaciones extremas de tiempos muy largos de residencia se produce la anoxia (ausencia de oxígeno) en los niveles más profundos y con ello la liberación de compuestos químicos reducidos desde el sedimento, constituyendo un incremento de la carga interna de nutrientes al sistema.

5.3. Distribución en la columna de agua y su relación con la luz

Para lograr el crecimiento continuo del fitoplancton es imprescindible regular la dinámica de su distribución en la columna de agua y prolongar su permanencia en la zona eufótica o de iluminación.

Mantenerse en la superficie y/o zonas superiores del cuerpo de agua presentan importantes ventajas dadas por prolongar su exposición a la luz, reducir la mortalidad por sedimentación y acceder temporalmente a capas profundas con mayor disponibilidad de nutrientes, que para las especies del plancton es de importancia ecológica. Las cianobacterias contienen vesículas de gas, inclusiones citoplasmáticas con densidad de cerca de un décimo que la densidad del agua, que permiten a las células controlar su posición en la columna de agua.

La flotación puede controlarse por varios mecanismos, entre los que se destaca el número de vesículas intracelulares y la presión citoplasmática, debido a la acumulación de metabolitos de la fotosíntesis (fotosintatos). De este modo, un aumento de la fotosíntesis por mayor exposición a la luz aumenta la presión intracelular por una rápida síntesis de carbohidratos (glucógeno) de alto peso molecular, lo que tiene como resultado el colapso de las vesículas y el consiguiente descenso de las colonias o filamentos en la columna de agua. Estos mecanismos de regulación permiten a las cianobacterias alcanzar profundidades de 2 a 4 m en horas. Cuando ascienden a zonas de intensidad de luz intermedia se logra la flotación intermedia y la posterior formación de nuevas vesículas que llevan a los organismos a la superficie nuevamente. Por ejemplo, las colonias de *Microcystis spp* pueden realizar migraciones diarias en la columna de agua y recuperar la posición vertical luego de eventos de turbulencia. Para muchas especies, el desarrollo de ese ciclo a escala estacional les permite mantener colonias o formas de resistencia, asociadas al sedimento, que pueden retornar a las zonas iluminadas de la columna de agua en condiciones favorables y así volver a desarrollarse. Asimismo, la intensidad de la luz es un factor importante que afecta la actividad fotosintética y la producción de toxinas de cianobacterias. Se determinó que la transcripción del gen de síntesis de Microcystinas (MC) fue regulado por la intensidad lumínica. Se ha informado que la intensidad de luz óptima para el crecimiento de *Microcystis aeruginosa* no es la misma que para la producción de Microcystina. Así la intensidad óptima para el crecimiento de *M. aeruginosa*, se encontraba

en el rango entre 60 a 300 mmol m⁻²s⁻¹ mientras que para la acumulación de MC intracelular y extracelular fue de 40 mmol m⁻²s⁻¹ (14).

5.4. Temperatura

Jiang y cols (7) demostraron que la temperatura es el factor más significativo que produce variaciones en el crecimiento de *M. aeruginosa* en medio cultivo bajo condiciones controladas entre otros factores ambientales testeados. Sin embargo, en este estudio, no se observaron efectos significativos de la temperatura sobre la síntesis de toxina (7). Por lo tanto, no siempre se concluye que un desarrollo masivo de cianobacterias es correspondiente a una mayor toxicidad.

La temperatura del agua por encima de los 20°C es una de las condiciones más favorable para el desarrollo de las cianobacterias, ya que incrementa la tasa de crecimiento y de reproducción celular. En medios de cultivo, el máximo de crecimiento se produce generalmente en el rango de temperatura entre 25 y 30°C (15).

En regiones templadas el avance de las floraciones ocurre frecuentemente en las estaciones de primavera, verano y principios del otoño, pudiendo repetirse cada año.

En cambio, en los cuerpos de agua de climas tropicales, la formación y permanencia puede extenderse a todo el año. Existen ligeras diferencias entre las temperaturas óptimas de crecimiento de diferentes cepas y especies de cianobacterias. Generalmente se considera que las cianobacterias prefieren temperaturas más altas que las algas eucariotas. Sin embargo, los rangos óptimos de temperatura de las cianobacterias no termófilas serían similares a los rangos de las algas eucariotas, por lo que no habría diferencias en cuanto a la preferencia de la temperatura. *M. aeruginosa* puede desarrollar floraciones en ambientes con temperatura menor 20°C (16). Algunas cianobacterias, incluso resultan dominantes en numerosos ecosistemas acuáticos polares, tanto en el bentos como en el fitoplancton, debido a la tolerancia a un amplio rango de temperatura (17). Algunas cianobacterias han podido adaptarse a temperaturas aún mayores de 60°C en aguas termales (18).

Existe una relación directa entre la temperatura y la estratificación de la columna de agua, es así que al incrementarse la temperatura en las capas superiores se forma un gradiente vertical de densidad que resulta en la estratificación de la columna de agua. Esta correlación se ha visto también en otros factores ambientales, y se puede afirmar que las altas temperaturas no serían en sí la causa de una floración, sino que estarían asociadas con otros fenómenos como la estratificación térmica y cambios en la profundidad de la zona de mezcla, lo que puede favorecer el desarrollo de cianobacterias con vesículas de gas.

Estos efectos se podrían ver potenciados en el contexto del cambio climático global, que al presentarse situaciones extremas de luz y temperatura se consigue la supervivencia y permanencia de las microalgas en los cuerpos de agua.

El aumento de la temperatura y los cambios en los patrones de precipitación pueden tener efectos sinérgicos significativos sobre los procesos de eutrofización en los ecosistemas acuáticos. Sin embargo, las evidencias no son definitivas, y mientras algunos estudios informan un posible aumento de la biomasa algal como consecuencia del aumento de la temperatura, otros datos apoyan la posibilidad de que las plantas acuáticas sean favorecidas bajo este escenario.

Estudios en campo en períodos prolongados de tiempo indican que algunas cianobacterias podrían ser beneficiadas por el aumento de la temperatura (15), si bien esto sigue siendo controversial. Otra evidencia indica que, en zonas templadas, el aumento estival de la estabilidad de la columna de agua por el incremento de la temperatura también resultaría en un factor de fomento de la dominancia de cianobacterias.

5.5. Disponibilidad de nutrientes

El protoplasma celular de las algas eucariotas y las cianobacterias, requiere de aproximadamente 20 elementos químicos para la formación de la nueva biomasa, algunos de ellos necesarios en grandes cantidades (H, C, O y N) y otros en cantidades pequeñas (P, S, K, Na, Ca, Mg y Cl). Un conjunto de nutrientes que intervienen en el metabolismo (como por ejemplo la estructura de enzimas) son requeridos en concentraciones traza (Si, Fe, Mn, Mo, Cu, Co, Zn, etc.). Los elementos que generalmente limitan el crecimiento del fitoplancton pueden ser N, P, Fe, (Si, en el caso de las diatomeas) o algún micronutriente. Los distintos factores ambientales intervienen continuamente en el desarrollo de un ecosistema, tanto sea en las poblaciones, el número de individuos como también a nivel celular, en donde ocurre una dependencia cualitativa y/o cuantitativa de la ultraestructura de las cianobacterias.

El metabolismo de las microalgas lleva en determinados casos de disponibilidad de nutrientes, a observarse inclusiones intracelulares de gránulos de polifosfato (depósitos intercelulares de fósforo), gránulos de glicógeno, glóbulos de lípidos, carboxisomas y gránulos de cianofícinas.

El carbono no es el factor limitante para el fitoplancton debido a los aportes de CO_2 atmosféricos y del sedimento aportado por la mayoría de las microalgas que poseen sistemas de transporte activo. Sin embargo, las altas tasas fotosintéticas pueden disminuir la concentración de CO_2 disuelto con lo que el pH aumenta debido a que disminuye el ácido carbónico disuelto. Este aumento de pH genera bicarbonato (HCO_3^-) constituya la forma más abundante de carbono inorgánico. En estos casos puede ocurrir la limitación del crecimiento de las cianobacterias que solo puedan asimilar CO_2 y no otra forma de carbono. Sin embargo, muchas de las cianobacterias y algunas algas eucariotas contienen la enzima anhidrasa carbónica y pueden recurrir al HCO_3^- como fuente alternativa de carbono inorgánico (19). Es así que pueden competir muy bien en lagos eutrofizados donde el pH alto es característico.

Otros factores que contribuyen a un incremento del pH puede estar dado por las características naturales del sistema (aguas duras) o por los efectos del crecimiento de la comunidad fitoplanctónica. En este sentido, la incorporación de CO_2 disuelto en el agua mediante la fotosíntesis por fijación en los carboxisomas y a través de la enzima RuBisCo, determina un cambio en la concentración de iones debido a la disminución del carbono disponible. Las cianobacterias fueron las especies dominantes sobre otras especies al reducir las concentraciones de CO_2 a niveles por debajo de lo que podían utilizar los otros organismos (20).

El nitrógeno es un elemento esencial en la composición de aminoácidos, de bases nitrogenadas y de las reservas celulares que se restringen a proteínas ricas en nitrógeno. También es necesario para la síntesis de las vesículas de gas, lo que no es una dificultad para las especies de cianobacterias que pueden fijar N_2 atmosférico. El nitrógeno puede ser obtenido del agua a través de la incorporación activa como NH_4^+ , NO_2^- y NO_3^- (o nitrógeno inorgánico disuelto, NID). Dependiendo de la fuente de N, la fijación o asimilación puede requerir de varias etapas para reducirlo y es por ello que el NH_4^+ es la fuente de nitrógeno energéticamente menos costosa de metabolizar. El nitrógeno puede escapar del ecosistema hacia la atmósfera como gas (óxido nitroso N_2O o N_2), resultado de la desnitrificación bacteriana producida en ambientes con zonas anóxicas. Como consecuencia el nitrógeno puede ser un limitante del crecimiento fitoplanctónico (21). Además, las cianobacterias tienen un rol crucial como componentes significativos en el ciclo del nitrógeno y productos primarios en muchas áreas de los océanos.

La capacidad de fijar nitrógeno atmosférico es generalmente considerada como una ventaja de las cianobacterias que utilizan esta fuente por sobre las algas eucariotas para crecer en ambientes pobres en nitrógeno. Para la fijación de N_2 se requiere del complejo enzimático nitrogenasa que reduce a NH_4^+ con la incorporación de un grupo amino a la glutamina, y esta localizado en los heterocitos aunque hay algunas especies filamentosas no heterocíticas que también tienen la enzima y podrían fijar N_2 .

Debido a que la enzima nitrogenasa es rica en Fe (22), la fijación de nitrógeno estaría asociada a la disponibilidad de este micronutriente. Por lo tanto, este proceso implica un alto costo energético y la posibilidad de una co-limitación por Fe y fósforo.

Basándose en el desarrollo de experimentos (23), se ha propuesto la hipótesis que la fuente de nitrógeno puede explicar la dominancia de las cianobacterias. De este modo las cianobacterias no fijadoras son favorecidas por el NH_4^+ como es para el caso de *Oscillatoria (Planktothrix)*, en cambio cuando la fuente de nitrógeno es NO_3^- ocurre el desarrollo de fitoplancton eucariótico. Finalmente cuando hay escasez de nitrógeno predomina el crecimiento de cianobacterias fijadoras de nitrógeno. La producción de Microcystina (MC) es también afectado por la velocidad de crecimiento celular. La concentración de MC producida por *Microcystis* bajo una rigurosa limitación de nitrógeno fue cerca de 3 veces menor que el contenido de MC bajo las condiciones de nitrógeno saturable (24).

El fósforo es un componente esencial del metabolismo celular que forma enlaces de alta energía, se libera en reacciones enzimáticas y es un elemento en la estructura de moléculas de ácidos nucleicos y las membranas celulares. Las cianobacterias poseen una gran capacidad de almacenamiento de fósforo, elemento limitante de la producción en sistemas acuáticos continentales. En algunos casos el fósforo almacenado les permite llevar a cabo de 2 a 4 divisiones celulares (25), es por ello que resultan ser enormemente competitivos en estos ambientes.

Los altos requerimientos de fosfato (PO_4^{3-}) del fitoplancton, combinado con un suministro ambiental restringido en relación a los otros nutrientes, determina que el fósforo sea el principal elemento limitante del crecimiento fitoplanctónico en ambientes límnicos. El fosfato disponible es rápidamente incorporado y utilizado por los organismos. Como resultado, la concentración de fosfato ambiental decrece hasta un nivel estacionario, llamado valor umbral.

La incorporación del fosfato a las células y el crecimiento poblacional posterior es posible solo si la concentración ambiental de fosfato excede este valor umbral, el cual se encuentra usualmente en rangos nanomolares, debajo de los límites de detección de los métodos analíticos convencionales.

Cuando el fosfato se incorpora de forma activa, es almacenado mediante su agregación en gránulos de polifosfato. En los periodos de ausencia de fuentes del nutriente, los gránulos formados son la fuente de fósforo intracelular para el crecimiento celular. Al igual que las cianobacterias, las algas eucarióticas tienen la capacidad de acumular polifosfato con rangos parecidos de velocidad de incorporación. Esta capacidad permite que las poblaciones puedan crecer a expensas de bajos o esporádicos aportes del nutriente (26). Se ha establecido que además de las cantidades de nitrógeno y fósforo presentes en el ambiente, Existen distintas consideraciones referidas a la relación Nitrógeno/Fósforo (N/P) dependiendo del autor.

Relaciones bajas con $\text{N/P} < 10$ indican limitación potencial por nitrógeno, mientras que las relaciones altas de $\text{N/P} > 20$ indican limitación potencial por fósforo.

Para Mc Queen y Lean (27) la relación es de 5/1 de N/P por debajo de ella no es probable el desarrollo de floraciones masivos de cianobacterias.

Otro posible cociente es de 10-16/1 de N/P que en relación a las algas eucarióticas de 16-23/1 N/P, muestra que para las primeras las condiciones respecto de los nutrientes son menos exigentes y por ende más favorables (25).

Según Redfield (28), existe una proporción dada por la relación de elementos mayoritarios, carbono, nitrógeno, fósforo que cuando los nutrientes no son limitantes, la relación molar de los elementos C/N/P en la mayoría de fitoplancton es 106/16/1.

Por lo tanto, cuando el suministro de nutrientes desde el ambiente se desvía de esta proporción se produce la deficiencia y posterior limitación del crecimiento celular.

También se ha informado que el crecimiento *Microcystis aeruginosa* y la producción de Microcystina se incrementa con el aumento de las concentraciones de nitrato y fosfato, especialmente cuando la relación de N/P está en el rango entre 16 a 64 (29). Una excelente revisión respecto de los factores que regulan el crecimiento de las cianobacterias puede encontrarse en la recopilación realizada por colegas uruguayos que sufren igualmente este problema (30).

El hierro es un elemento que actúa como limitante en ecosistemas acuáticos, dado que aunque es muy abundante en la naturaleza es de escasa solubilidad y se producen deficiencias en muchos casos. Un experimento de fertilización *in situ* en el océano Pacífico con Fe^{2+} (31), demostró que la adición de este elemento incrementaba fuertemente la biomasa. Los organismos deben controlar muy finamente su incorporación, dado que por un lado resulta beneficioso para su desarrollo pero también puede catalizar la generación de radicales libres. Existe una proteína represora Fur (ferric uptake regulator), que en presencia de hierro regula un gran número de genes en bacterias y cianobacterias. Se trata de una proteína de unión al DNA que reconoce secuencias específicas en los promotores de los genes blanco, y se afecta su transcripción. La supervivencia de muchas bacterias patógenas está limitada por el hierro disponible, y en muchos de esos casos la expresión de algunos factores de virulencia y toxinas está mediada por Fur (32). Se ha propuesto que Fur podría ser un regulon de primera magnitud en los procariotas, controlando rutas clave de su metabolismo. En bacterias heterótrofas patógenas se ha demostrado que la expresión de factores de toxicidad está controlada por la proteína Fur; que ante la escasez de hierro disponible, deja de reprimir una serie de genes que expresan toxinas. En cianobacterias, Fur reprime, entre otros genes, la expresión de la flavodoxina, una flavoproteína de pequeño tamaño que se induce en condiciones de deficiencia de hierro. El hecho demostrado que el hierro es el elemento limitante en ciertas regiones oceánicas llamadas HNLC (high nutrients low chlorophyll, altos nutrientes y baja clorofila) (31), indica que el metabolismo del hierro puede ser crucial en la supervivencia y crecimiento de las cianobacterias.

Existe muy poca información en cuanto a la regulación de la expresión de las enzimas relacionadas con la síntesis de microcistina. Se ha descrito que la luz regula la transcripción del operon *mcy* en *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 (33), pero por el momento no se ha encontrado otro factor de regulación. Asimismo, las cianobacterias tienen mecanismos de adquisición de hierro muy importantes, lo cual les confiere una gran ventaja en cuanto a competencia con otros organismos debido a la producción de sideróforos (compuesto quelante de hierro secretado por microorganismos). El ion hierro Fe^{3+} tiene muy poca solubilidad a pH neutro y por ende no puede ser utilizado por los organismos. Los sideróforos disuelven estos iones a complejos de Fe^{3+} , que pueden ser asimilados por mecanismos de transporte activo. Muchos sideróforos son péptidos no ribosomales.

Estos mecanismos de adquisición de hierro, están regulados también por Fur. En la literatura hay datos contradictorios con respecto a la influencia del hierro y la expresión de toxicidad, aunque hay estudios que demuestran que la deficiencia de hierro da lugar a una mayor producción de microcistina, interpretándolo como respuesta al estrés (34, 35). El sistema de toma de hierro resulta ser más eficiente y la concentración de Fe^{2+} es mayor para cepas tóxicas productoras de Microcystina que para extractos no tóxicos. Entre las posibles funciones que se le atribuye a la Microcystina es de quelante y mantener la concentración de Fe^{2+} baja y así evitar la generación de una gran cantidad de radicales hidróxidos libres dentro de la célula (36).

Un monitoreo realizado por el grupo de trabajo que edita el presente manual ha sido llevado a cabo durante el año 2005 en el Río de Plata en diversos puntos de muestreo. Se analizaron los siguientes parámetros en función del tiempo: Cianobacterias totales, *Microcystis aeruginosa*, Microcystina LR, pH, fósforo total, hierro, coliformes totales y fecales y temperatura, con el objeto de vincular los factores ambientales con el desarrollo de cianobacterias y la producción de toxina.

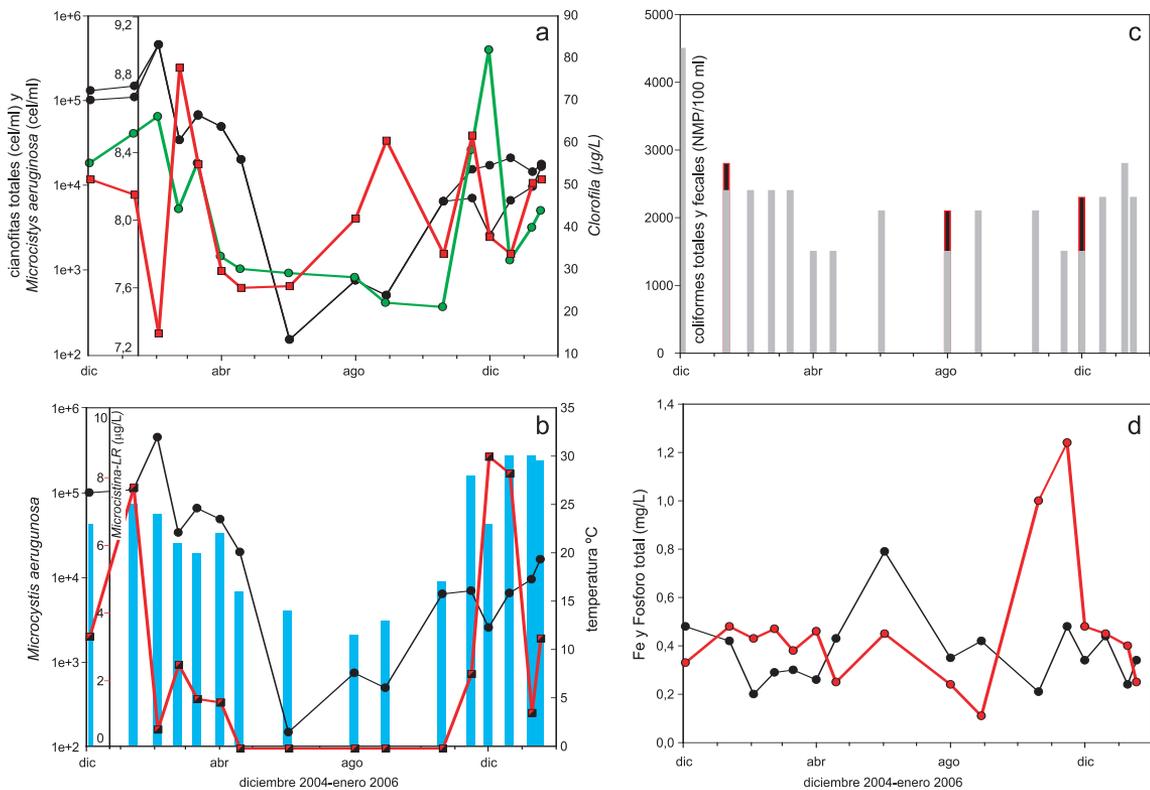


Fig. 1: Monitoreo del Río de La Plata durante el año 2006.

- a) ● Cianofitas totales, ● *Microcystis aeruginosa*, --- ● clorofila, --- ■ pH,
 b) --- ■ *Microcystina LR*, ● *Microcystis aeruginosa*, barras celestes temperatura,
 c) barras grises coliformes totales, barras rojas coliformes fecales
 d) ● hierro, ■ fósforo total

En la Fig. 1 se presentan los resultados encontrados luego de un año de monitoreo en las costas del Río de la Plata (zona Punta Lara). Puede observarse que el desarrollo de cianobacterias, *Microcystis aeruginosa* y la producción de *Microcystina LR* se encuentra muy vinculado a la temperatura. Los coliformes totales y fecales resultan ser altos durante todo el año con solo pequeñas variaciones en época invernal. Además se vinculó el aumento de hierro con las menores contracciones de *Microcystina LR* y los mayores valores de fósforo con los menores niveles de toxina. Asimismo, los valores más altos de pH se vinculan con mayor desarrollo de cianobacterias y producción de toxina que ocurre en la época más cálida.

Similares resultados se presentaron en otros puntos de muestreo en la zona de Ensenada e Isla Santiago. Un análisis estadístico en términos de Análisis de Componentes principales indico las vinculaciones entre temperatura, cianobacterias y toxina (37).

6. Resistencia al pastoreo por zooplancton

El pastoreo por parte de especies del zooplancton permite aportar al mantenimiento del equilibrio ecológico de las distintas comunidades del fitoplancton que componen el cuerpo de agua. Sin embargo se ha informado

que las cianobacterias no son un alimento adecuado para el zooplancton, por lo que la depredación no afectaría negativamente al desarrollo de las floraciones. Estudios más recientes fortalecen esta idea y proponen un mecanismo por el cual las cianobacterias no son una comida atractiva para el zooplancton. La condición de presa es dependiente del tipo de depredador al que se enfrenta, por ello el menor tamaño de la partícula alimenticia está determinado por la capacidad que el depredador tenga de incorporarla. Por ejemplo para *Daphnia*, importante especie del zooplancton, el pastoreo no es eficiente cuando el tamaño de su presa (cianobacterias) es mayor de 50 µm.

No ha sido demostrado que el zooplancton contribuya efectivamente al control del desarrollo de grandes colonias de *Aphanizomenon*, *Anabaena* y *Microcystis*, aunque las cianobacterias individualmente por sus dimensiones sí servirían de alimento. En teoría, las microalgas podrían defenderse a través de la producción de toxinas, las que podrían generar efectos tóxicos sobre el zooplancton. Sin embargo, cepas de *Microcystis aeruginosa* productoras de microcistinas, no inhiben su ingesta por parte de los integrantes del zooplancton (38).

La interrelación entre las poblaciones de los distintos grupos del fitoplancton y zooplancton lleva a una gran presión de consumo sobre los organismos que son palatables para los depredadores, que dejan a las cianobacterias desahucadas y entonces libradas a otros factores que sí son favorables y permiten un crecimiento masivo en biomasa y la formación de floraciones.

7. Factores antropogénicos

Los cambios que sufre la naturaleza encuentran correlación directa con la escala en el tiempo de las actividades humanas. Las consecuencias, tanto para las propiedades cualitativas como cuantitativas de reservorios de aguas, se ven reflejadas en parte por el fenómeno de floraciones masivas de cianobacterias en todo el planeta. Históricamente, el desarrollo de la sociedad involucra un cambio en el uso del agua desde zonas rurales y agrícolas a urbanas e industriales, que se manifiesta en la demanda y contaminación de las aguas. En general, la tendencia muestra un incremento de la urbanización junto con un aumento en la concentración de contaminantes en cuerpos de aguas superficiales. Entre las interferencias del hombre se destacan por exceso de nutrientes, especialmente fosfatos y nitrógeno que conducen a la eutrofización de ecosistemas. Dichos nutrientes provienen principalmente de aguas residuales no tratadas, residuos agrícolas, abonos y otros desechos de agroindustrias (39). Estas condiciones, que llevan a una disminución en la calidad del agua, favorecen el desarrollo y la persistencia de muchas floraciones algales y es una de las razones de la presencia de las mismas en distintas partes del mundo (40).

Aunque la eutrofización es un fenómeno natural, la mayoría de los cuerpos de agua que hoy en día que están en estado trófico responden a un origen antrópico.

Los sistemas de aguas superficiales a nivel mundial son ahora altamente regulados con el objetivo de controlar la disponibilidad de agua, a través del uso directo en irrigación, generación de energía hidrológica o suministro de aguas servidas.

Esta tendencia en la regulación del flujo causa impacto cualitativo y cuantitativo del agua, y lleva a alteraciones del transporte que afectan el sedimento. El incremento del tiempo de retención y de áreas superficiales expuestas a la luz solar, lleva a cambios en las condiciones de crecimiento para los organismos y promueve la oportunidad para el desarrollo de cianobacterias y la formación de floraciones a través de modificaciones en el recorrido de ríos. Para muchos sistemas costeros de estuarios, el impacto humano sobre las condiciones hidrológicas y concentración de nutrientes es también muy extenso.

8. Influencia de los factores ambientales en la producción de toxinas

Las grandes variaciones en las concentraciones de cianotoxinas regionales, estacionales, y temporales indican que la predicción de la ocurrencia de ciertas concentraciones de toxina requiere un conocimiento comprensivo (no solo descriptivo) del desarrollo de las poblaciones en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, así como la variabilidad en la producción de toxinas.

Estudios de laboratorio indican que los contenidos de MC de cianobacterias pueden variar por un factor de 2-3 en respuesta a diferentes condiciones ambientales (24) y (14). Sin embargo, los cambios observados en el contenido de microcystina parecen diferir entre diferentes extractos y en diferentes condiciones ambientales. Esta variabilidad acerca de los extractos complica más a futuro las generalizaciones sobre la respuesta adaptativa del contenido de toxina a los factores ambientales.

Los factores ambientales en que una cianobacteria expresa toxinas es uno de los aspectos más estudiados por los especialistas, pero dista mucho de estar claro. Parece ser que altas temperaturas, alta luminosidad, poco viento (es decir, aguas tranquilas y no aireadas), además de disponibilidad de nitrógeno y fósforo, podrían ser los factores implicados en que una determinada especie se transforme en toxica. También un pH del agua alcalino se ha asociado a la aparición de toxicidad. Se da la paradoja de que en muchos casos resulta bastante difícil hacer expresar la toxicidad en el laboratorio a determinadas cepas, mientras que en condiciones naturales la producción ha sido muy elevada.

Referencias

1. Reynolds C. Cyanobacterial water blooms. *Adv. Bot. Research*. 1987; 5: 13.
2. Reynolds C, Jaworski G, Cmiech H, Leedale G. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin. *Phil. Trans. R. Soc. London*. 1981; 293: 419-477.
3. Reynolds C, Tundisi J, Hino K. Observations on a metalimnetic Lyngbya population in a stably stratified tropical lake (Lagoa Carioca, Eastern Brasil). *Arch. Hydrobiol*. 1983; 97 (1): 7-17.
4. Ryding R. El control de la eutrofización en lagos y pantanos. Ediciones Pirámides S.A. Madrid, 1992; p.375.
5. Kalff J. *Limnology*. USA. Prentice Hall. 2002; p. 256.
6. Shapiro J. Current beliefs regarding dominance by blue-greens: The case for the importance of CO₂ and pH. *Verh. Intern. Verein. Limnol*. 1990; 24:38-54.
7. Jiang Y, Ji B, Wong RNS, Wong MH. Statistical study on the effects of environmental factors on the growth and microcystins production of bloom-forming cyanobacterium—*Microcystis aeruginosa*. *Harmful Algae* 2008; 7: 127–136
8. Laurén-Määttä C, Hietala J, Reinikainen M, Walls M. Do *Microcystis aeruginosa* toxins accumulate in the food web: a laboratory study. *Hydrobiol*. 1995; 304: 23-27.
9. Edge R, McGarvey D, Truscott T. The carotenoids as anti-oxidants-a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1997; 41: 189-200
10. Van Liere L, Mur L. Occurrence of *Oscillatoria agardhii* and some related species, a survey. *Dev. Hydrobiol*.1980; 2: 67-77.
11. Sommaruga R, Chen Y, Liu Z. Multiple Strategies of Bloom-Forming *Microcystis* to Minimize Damage by Solar Ultraviolet Radiation in Surface Waters. *Microbial Ecology*. 2009;57(4):667-74.
12. Lozano F, Domínguez Vargas MJ, Vilchez Lobato C y col. Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de cianobacterias tóxicas en embalses. *Ecosistemas* 2008; 17 (1): 37-45.
13. Van Liere L, Mur LR. Some experiments on the competition between a green alga and a cyanobacterium. In: L. Van Liere, Thesis, University of Amsterdam.1979 Chapter 9.
14. Wiedner C, Visser PM, Fastner J y col. Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003; 69: 1475–1481.
15. Reynolds CS. *Ecology of phytoplankton*. Cambridge, Cambridge University Press: 2006; p. 550.

16. Parra O, Avilés D, Becerra J, Dellarossa V, Montoya R. First toxic blue-green algal bloom recorder for Chile: A preliminary report. *Gayana Bot.* 1986; 43(1-4): 15-17
17. Vincent WF. Cyanobacterial dominance in the polar regions. En: *Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. B. Whitton and M. Potts (Eds.) Dordrecht, Kluwer. Academic Publishers 2000; 321-338.
18. Ward DM, Ferris M, Nold SC y col. Species diversity in hot spring microbial mats as revealed by both molecular and enrichment culture approaches - relationship between biodiversity and community structure. En: *Microbial Mats. Structure, development and environmental significance*. L. J. Stal and P. Caumette (Eds.) Berlin. Springer-Verlag 1994; 35: 33-44.
19. Graham LE, Graham JM, Wilcox LW. *Algae*. San Francisco, Benjamin Cummings 2009.
20. Hyenstrand P, Blomqvist P, Petterson A. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems: a literature review, *Archiv für Hydrobiologie Special Issues Advances in Limnology*. 1998; 51: 41 - 62.
21. Arrigo KR. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*. 2005; 437: 349-355.
22. Karl D, Michaels A, Bergman B y col. Dinitrogen fixation in the world's oceans. *Biogeochemistry*. 2002; 57: 47-98.
23. Blomqvist P, Pettersson A, Hyenstrand P. Ammonium-nitrogen: A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen-fixing cyanobacteria in aquatic systems. *Archiv für Hydrobiologie*. 1994; 132: 141-164.
24. Long BM, Jones GJ, Orr PT. Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001; 67(1): 278-283.
25. Scheurs, H. Cyanobacterial dominance, relation to eutrophication and lake morphology. Thesis, University of Amsterdam . Holland 1992.
26. Aubriot L. Flexibilidad de la cinética de incorporación de fosfato por fitoplancton a las fluctuaciones en el suministro del nutriente. Tesis de Doctorado. PEDECIBA Biología, Opción Ecología. Montevideo, Universidad de la República: 2008; p. 130.
27. McQueen DJ, Lean DRS. Influence of water temperature and nitrogen to phosphorous ratio on the dominance of blue-green alae in Lake St. George, Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1987; 44: 598-604.
- 28 Redfield AC. The biological control of chemical factors in the environment. *American Scientist*. 1958; 46: 205-222.
29. Vezie C, Rapala J, Vaitomaa J, Seitsonen J, Sivonen K. Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations. *Microbial Ecology*. 2002; 43: 443-454.
30. Aubriot L, Bonilla S, Kruk C. Cianobacterias: Factores que regulan su crecimiento Cap.2. En *Cianobacterias Planctónicas del Uruguay. Manual para la identificación y medidas de gestión*. Bonilla Ed. Programa hidrológico Internacional de la UNESCO para America Latina y el Caribe; 2009, p.5-11.
31. Coale KH, Johnson KS, Fitzwater SE, Gordon RM, Tanner S, Chavez FP. A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in equatorial Pacific Ocean. *Nature*. 1996; 383, 495-501.
32. Escolar L, Pérez-Martin J, de Lorenzo V. Opening the iron box: transcriptional metalloregulation by the Fur protein. *J. Bacteriol.* 1999; 181: 6223-6229.
33. Kaebernick M, Dittmann E, Borner T, Neilan BA. Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial nonribosomal peptide. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002; 68: 449-445.
34. Lukac M, Aegerter R. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*. 1993; 31: 293-305.
35. Lyck S, Gjolme N, Utkilen H. Iron starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 228/1 (Chroococcales, Cyanophyceae). *Phycologia*. 1996; 35: 120-124.
36. Utkilen H, Gjolme N. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995; 61: 797-800.
37. Giannuzzi L, Carvajal G, Corradini MG, Araujo Andrade C, Echenique R, Andrinolo D. Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in Río de la Plata estuary, Argentina. Field study and data análisis. *J. Toxicology*, 2011: en prensa.

38. Rohrlack T, Dittmann E, Henning M, Borner T, Kohl JG. Role of microcystins in poisoning and food ingestion inhibition of *Daphnia galeata* caused by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65:737-739.
- 39 Briand J, Jacquet S, Bernard C, Humbert J. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems. *Vertebrate Research.* 2003; 34:361-377.
40. Heisler J, Glibert PM, Burkholder y col. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. *Harmful Algae.* 2008; 8: 3–13.