

El hierro como factor promotor del crecimiento de poblaciones naturales de *Microcystis aeruginosa* (Embalse San Roque, Córdoba, Argentina).

Luciana Mengo^{1,2}, Aldana Cativa¹, Florencia Ullmer¹, Flavia Garnero¹, Daniela Arán³, María Inés Rodríguez¹, Marcia Ruiz^{1,4} & Silvana Halac^{1,2}.

¹ Instituto Nacional del Agua. (INA), Centro de la Región Semiárida (CIRSA).

² Centro de Investigaciones en Ciencias de la Tierra (CICTERRA) CONICET-UNC.

³ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV) CONICET-UNC.

⁴ Universidad Católica de Córdoba- Facultad de Ciencias Químicas (UCC-FCQ)

E-mail: luci.92.22@gmail.com

RESUMEN

La eutrofización de los sistemas acuáticos es una problemática relacionada con el aporte de nutrientes inorgánicos (P y N), lo que produce el aumento de las floraciones de cianobacterias. El Embalse San Roque (ESR) es un sistema eutrofizado, donde el P y N no representan un factor limitante y el Fe presenta valores bajos en el epilimnion. Sin embargo, en condiciones de anoxia, este micronutriente puede ser liberado desde los sedimentos. Este trabajo tuvo como objetivos corroborar si el Fe es un factor promotor de floraciones de cianobacterias y establecer diferencias entre distintas concentraciones y pulsos de Fe. Se realizaron dos experimentos con *Microcystis aeruginosa* del ESR donde el primero tuvo los tratamientos: Control, y con adición de Fe: TI: +250, TII: +500 y TIII: +1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$; mientras que en el segundo los tratamientos fueron: Control; con adición de Fe: T1: +500 $\mu\text{g. L}^{-1}$, el primer día y T2: 250 $\mu\text{g. L}^{-1}$ el primer día (primer pulso), y 250 $\mu\text{g. L}^{-1}$ el noveno día (segundo pulso). Los resultados del Experimento 1 mostraron que el rango óptimo de Fe para el crecimiento de *M. aeruginosa*, bajo estas condiciones, es de 500-1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$, ya que en TII y TIII las tasas de crecimiento fueron significativamente mayores al resto. Mientras que en el Experimento 2 las tasas de crecimiento fueron superiores en T1 y T2 con respecto al control. Esto indicaría que *M. aeruginosa* responde de manera similar bajo condiciones iniciales de disponibilidad de Fe menores a la óptima (250 $\mu\text{g. L}^{-1}$) como a concentraciones mayores (500 $\mu\text{g. L}^{-1}$), si después de un período hay disponibilidad de Fe por un segundo pulso. Se requieren más estudios donde se comparen diferentes lapsos entre los pulsos de Fe, que profundicen sobre el rol regulador del Fe sobre el crecimiento de *M. aeruginosa*.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas acuáticos continentales de la Región Semiárida de la Argentina, presentan en su gran mayoría la problemática de eutrofización cultural, como consecuencia del aporte de nutrientes inorgánicos (P y N) de

origen antrópico. Este fenómeno produce el aumento en la frecuencia y duración de las floraciones de cianobacterias. En particular, el Embalse San Roque (ESR; Córdoba, Argentina) presenta un estado eutrófico a hipereutrófico y floraciones recurrentes de cianobacterias toxigénicas (principalmente *Microcystis aeruginosa* y *Dolichospermum spp.*) desde hace varias décadas (Scarafia 1995; Rodríguez 2003; Rodríguez & Ruiz 2016).

Diversos autores han reportado que la condición óptima para el crecimiento de *M. aeruginosa* es a intensidades de luz de 60 a 300 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y temperaturas dentro de un rango de 25-32 °C (Oberholster *et al.*, 2004; Jiang *et al.*, 2008; Pavlova *et al.*, 2010). Ambos factores están asociados a condiciones de estratificación de la columna de agua, que es más favorable para el crecimiento de poblaciones de *M. aeruginosa* que la condición de mezcla (Rodríguez & Ruiz, 2016). Bajo condiciones óptimas de luz y temperatura se ha observado que las floraciones de *M. aeruginosa* pueden ser reguladas por la concentración de P y N (Jiang *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2014; Gobler *et al.*, 2016).

En condiciones de eutrofia (e.g., ESR), las concentraciones de P y N presentan valores superiores a los requeridos, por lo que otros elementos podrían adquirir importancia como nutrientes reguladores. En el caso de las cianobacterias, el hierro (Fe) es uno de los micronutrientes que tiene más altos requerimientos. Este metal es incorporado a las células por la mayoría de las algas en forma de Fe^{+2} , ya que de esta manera puede ser transportado a través de su membrana. Sin embargo, algunas especies de cianobacterias presentan mecanismos de incorporación del Fe^{+3} , forma más común en el medio acuático, pero poco soluble (Molot *et al.*, 2014).

En el ESR, el Fe Total (FeT) en las capas sub-superficiales, presenta valores bajos (20- 40 $\mu\text{g. L}^{-1}$), mientras en capas profundas cercanas al sedimento (hipolimnion) se han registrado concentraciones de FeT hasta de 3000 $\mu\text{g. L}^{-1}$ (Rodríguez & Ruiz, 2016). Lo anterior se debería a la liberación de Fe^{+2} desde el sedimento a la columna de agua, proceso que es favorecido por condiciones de anoxia y pH bajos (Wetzel, 1981). Esta variación en la concentración de Fe en la columna de agua, puede ser aprovechada por especies con la capacidad de trasladarse a diversas profundidades (e.g., *M. aeruginosa*; Walsby & McAllister, 1987); siendo el aumento repentino de la disponibilidad de este micronutriente interpretado como pulsos del mismo (Molot *et al.*, 2014).

Al respecto, algunos trabajos comprobaron que, frente a diversos pulsos de P en un cierto período, *Cylindrospermopsis sp* y *Planktothrix sp* presentan tasas de crecimiento diferentes (Aubriot *et al.*, 2011; Amaral *et al.*, 2014). Sin embargo, no se conocen estudios sobre pulsos de Fe, por variaciones a lo largo del tiempo o por desplazamiento de las células a zonas de mayor concentración. Por lo anterior, el estudio de la respuesta de poblaciones naturales de *M. aeruginosa* ante diferentes escenarios de concentración y pulsos de Fe, es de gran importancia para entender la dinámica de las floraciones de esta especie en el ESR.

Los estudios realizados hasta el momento sobre especies de cianobacterias del ESR y sus eventos de floración

consisten en monitoreos de seguimiento de sus poblaciones en campo, no existiendo hasta actualmente trabajos experimentales con especies de cianobacterias locales. Por lo anterior, esta investigación se propuso poner a prueba mediante experimentos de microcosmos algunos factores que podrían ser los promotores de las floraciones de cianobacterias en el ESR. Para ello, se tomaron en cuenta los datos de variables ambientales y cuantificación de cianobacterias obtenidos de la actividad permanente “*Monitoreo del Embalse San Roque y Gestión de Información de Calidad de Aguas y Cianobacterias*” llevada a cabo por el Área de Limnología Aplicada y Calidad del Agua del INA-CIRSA desde 1999 hasta la actualidad. A partir del análisis de dichos datos, se planteó la hipótesis que el Fe es un factor promotor del crecimiento de poblaciones naturales de *M. aeruginosa* del ESR, cuando la temperatura, radiación y P se mantienen en los rangos óptimos para su desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y muestreo

Se llevaron a cabo dos experimentos con poblaciones naturales de *M. aeruginosa* provenientes de los Embalse San Roque y Embalse Los Molinos, uno realizado desde el 31 de Marzo al 24 de Abril de 2017 y otro desde el 10 de Abril al 4 de Mayo de 2018. Los experimentos tuvieron una extensión de 26 (D1-D26) y 25 días (D1-D25) respectivamente. En ambos casos se utilizaron microcosmos, los cuales permiten simular las condiciones naturales donde estas poblaciones se encuentran, y a la vez controlar algunas variables ambientales en su interior (Belzile *et al.*, 2006; Halac *et al.*, 2011).

Los microcosmos se construyeron con bolsas de polietileno transparentes al espectro de radiación solar y fueron llenados con agua del ESR esterilizada mediante autoclave entre 1,2-2,5 L. En el primer experimento, las condiciones de radiación y temperatura fueron las ambientales, para todos los microcosmos (fotoperiodo 11 L:13 O). En tanto en el segundo experimento se estableció un sistema controlado de radiación y temperatura mediante un arreglo de tubos fluorescentes ($43,53 \pm 3,17 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$) conectado a un temporizador con un fotoperíodo 12 L: 12 O. La temperatura fue controlada mediante un calentador de agua sumergible (Aqua Zonic AZ Easy Heather) ($27,00 \pm 0,08 \text{ }^\circ\text{C}$).

Experimento 1 (E1)

Se establecieron 4 tratamientos (2 réplicas cada uno) con diferentes concentraciones de Fe: sin adición de Fe: 1) Control (*c.a.* concentración subsuperficial en el ESR= $30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); con adición de Fe: 2) TI: $+250 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 3) TII: $+500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y 5) TIII: $+1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). En todos los casos se agregó $105 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de P, con el fin de evitar limitación de P por consumo. Los tratamientos de adición de Fe se establecieron en un rango superior a las concentraciones de la mediana ($>100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y en el máximo ($1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) que se presentan en las capas subsuperficiales de la columna de agua (epilimnion) del ESR, en verano. La concentración de P agregada corresponde al valor de la mediana en el epilimnion del ESR en verano (Rodríguez & Ruiz, 2016).



Figura 1. Diseño experimental del Experimento 1: cuatro tratamientos de adición de Fe y dos réplicas de cada uno.

Experimento 2 (E2)

En base al Experimento 1 (E1), se determinó que el crecimiento óptimo se produjo en las poblaciones con adición de concentraciones de $\text{Fe} \geq 500 \mu\text{g. L}^{-1}$. A partir de esto, se diseñaron tres tratamientos con 3 réplicas cada uno, 1) Control (concentración subsuperficial en ESR); con adición de Fe: 2) T1: $+500 \mu\text{g. L}^{-1}$, en D1 (único pulso) y T2: $250 \mu\text{g. L}^{-1}$ en D1 (primer pulso), y $250 \mu\text{g. L}^{-1}$ en D9 (segundo pulso).

En ambos experimentos, se midieron *in situ* con una sonda multiparamétrica (YSI modelo 556 MPS) los parámetros físico-químicos: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), conductividad (mS.cm^{-1}), pH y oxígeno disuelto (OD; mg. L^{-1}) en todo el período. Asimismo, se tomaron muestras de agua para la determinación de abundancia celular de cianobacterias (30 mL), absorbancia (Abs), P soluble (PRS; 25 mL) y Fe soluble (Fe Soluble; 15 mL).



Figura 2. Diseño experimental del Experimento 2: tres tratamientos de adición de Fe con tres réplicas cada uno.

Determinación de parámetros biológicos y factores ambientales

Evolución de poblaciones de *M. aeruginosa*

Para el recuento de las poblaciones de *M. aeruginosa*, las muestras se conservaron con formol (0,01 %; v/v) y se mantuvieron en oscuridad a 4°C. Se tomaron tres alícuotas que fueron homogeneizadas y dispuestas en cámaras de Fuchs–Rosenthal (Marienfeld, Germany) y Sedgwick Rafter y observadas para su identificación y cuantificación con un microscopio óptico (Zeiss modelo D-7082, Germany). Se midieron las dimensiones de cada colonia, para calcular el área correspondiente, y se promedió el área de al menos 10 células individuales. A partir de estos valores se estimó la abundancia celular y los resultados se expresaron en cél. mL⁻¹.

Asimismo, se realizó el seguimiento de las poblaciones de *M. aeruginosa* midiendo la absorbancia (Abs) de las muestras *in vivo* correspondientes a cada tratamiento y día de muestreo. La Abs se leyó el mismo día de muestreo en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1700) a 750 nm. Esta medición sólo se realizó en E2.

Variación en la concentración de Fósforo Reactivo Soluble (PRS) y Hierro Soluble (FeS)

El contenido de PRS se determinó por medio del método del ácido ascórbico (APHA, 2012: 4500 P.E.), en muestras previamente filtradas (Millipore, 0,45 µm de diámetro de poro) y conservadas a -10 °C. Posteriormente se agregó 4 mL de reactivo color a 25 mL de muestra, dejando reposar 10 min para el desarrollo del color (azul). Las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1700) a 880 nm.

La determinación del Fe soluble se realizó por la técnica de espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin–Elmer AA3110). Las muestras se filtraron (Millipore, 0,45 µm de diámetro de poro) y se conservaron en HCl (1%; v/v) a 4°C, previamente a las mediciones.

Análisis de datos

Los datos fueron expresados como media aritmética y desviación estándar de duplicados y triplicados de tratamientos, para cada tratamiento de adición de Fe y control.

La abundancia celular fue estimada a partir del duplicado de observación de cada réplica experimental, en base al área de las colonias y células según la siguiente fórmula:

$$\text{Abundancia celular (cél. mL}^{-1}\text{)} = (\Sigma \text{áreas colonia} / \bar{X} \text{área célula}) / \text{Volumen cámara cuantificado} \quad (1)$$

La tasa intrínseca de crecimiento (μ) de las poblaciones de cianobacterias fue calculada a partir de la abundancia celular según:

$$\mu \text{ (d}^{-1}\text{)} = \text{Ln} (N_f / N_i) / (t_f - t_i) \quad (2)$$

donde N_f y N_i son la abundancia celular del último y del primer día respectivamente de la fase de crecimiento exponencial; $(t_f - t_i)$ es la duración de esta fase en días.

La tasa de decaimiento del Fe soluble se determinó a partir de la pendiente de la ecuación de la recta ajustada. Para determinar las diferencias entre los tratamientos se usó el nivel de significancia (α) de 0,05 para todas las comparaciones (Zar, 1984). Para establecer si las diferencias en las variables físico-químicas, abundancia de cianobacterias, fueron significativamente diferentes entre los tratamientos, se aplicó un ANAVA con un factor. Posteriormente se realizó un test de Tukey para distinguir los tratamientos que tuvieron efectos significativamente diferentes. Para todos los análisis estadísticos se utilizó InfoStat/P software (Di Rienzo, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las variables físico-químicas muestran que tanto las condiciones iniciales como del desarrollo del experimento fueron similares para todos los tratamientos aplicados. Con respecto a la temperatura, en el E1 se registró una disminución de 5 °C desde D1 hasta el D26 (de 24,4 °C a 19,4 °C), en tanto que en E2 los valores de temperatura oscilaron entre 26,5 °C y 27,3 °C, sin una tendencia de disminución en el tiempo (Figura 3 A; C). En ambos experimentos los valores de pH se mantuvieron en el rango 7-8,4 a lo largo del experimento, sin mostrar variación significativa en el tiempo ni entre tratamientos. (Figura 3 B; D). Las mejoras que se produjeron en el diseño experimental en T2, permitieron disminuir las fluctuaciones en la temperatura, mantener la temperatura óptima para el crecimiento de *M. aeruginosa* y estandarizar el ciclo de radiación en 12 L:12 O.

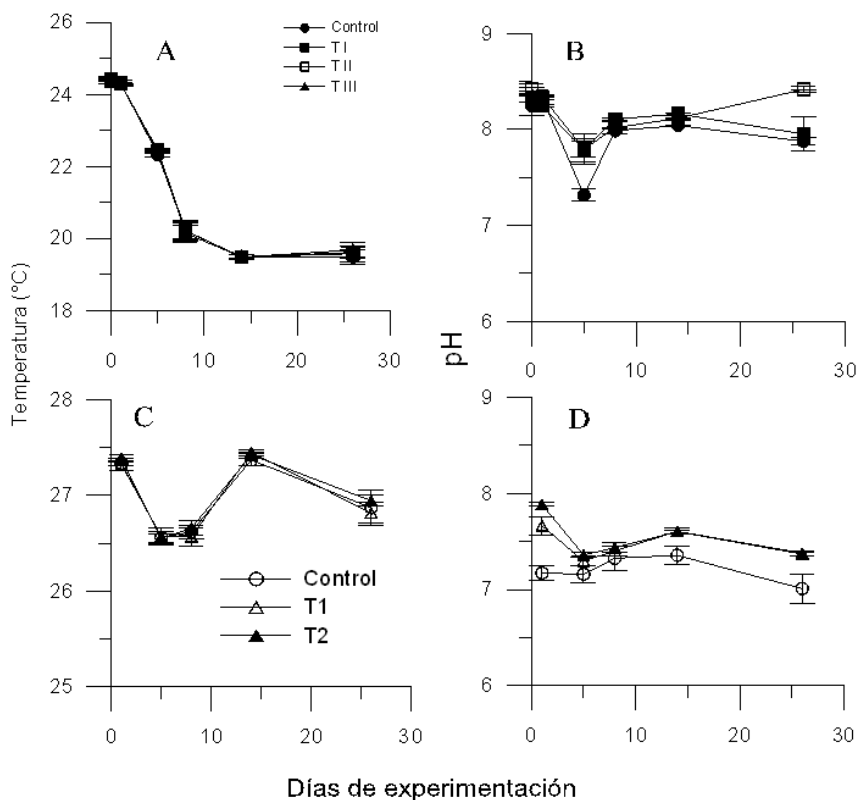


Figura 3. Variables físico-químicas *in situ* registradas en los experimentos. A-B: Variables de Experimento 1. C-D: Variables de Experimento 2. A-C: Temperatura. B-D: pH.

Con respecto al crecimiento de las poblaciones de *M. aeruginosa* a lo largo de los experimentos, los resultados de abundancia celular y absorbancias muestran que se produjo un aumento exponencial a lo largo de los experimentos (Fig. 4). La abundancia celular aumentó aproximadamente 1 orden de magnitud en E1. Aunque no se comprobaron diferencias significativas, se observó que la mayor abundancia celular en D26 fue en TII (Fig. 4 A). Asimismo, las tasas de crecimiento durante la fase exponencial fueron más altas en TII y TIII en comparación al resto (Tabla 1).

En base a los resultados obtenidos se definió que el rango de concentración óptima de Fe para el crecimiento de *M. aeruginosa*, bajo las condiciones de experimentación, es de 500-1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$.

Por otro lado, en el E2 la abundancia celular reflejó un incremento de la biomasa superior en el T1 y T2 con respecto al control a lo largo de todo el experimento (Fig. 4 B). Estas diferencias sólo fueron significativas el último día (D25). Lo mismo se observó en las tasas de crecimiento durante la fase exponencial, T1 y T2 mostraron valores significativamente más altos que el control (Tabla 1).

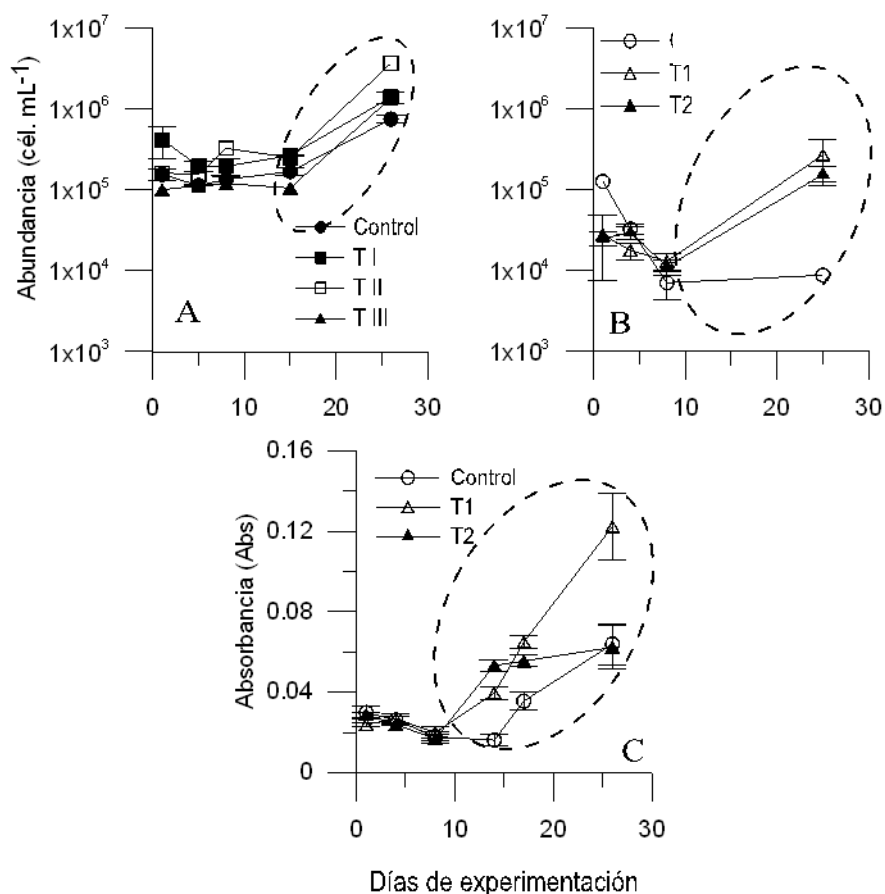


Figura 4. Abundancia de *M. aeruginosa* en los distintos experimentos. A: Abundancia celular en el Experimento 1. B: Abundancia celular en el Experimento 2. C: Absorbancias en el Experimento 2. La línea punteada indica la fase exponencial de las curvas de crecimientos.

Tabla 1. Tasas de crecimiento (μ) de *M. aeruginosa* en fase exponencial de los experimentos 1 y 2. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

Experimento 1	
Tratamientos	x Tasas de crecimiento (μ) (d ⁻¹)
Control	0,135 ± 0,001 (a)
T I (250 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,147 ± 0,030 (a)
T II (500 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,243 ± 0,001 (b)
T III (1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,232 ± 0,001 (b)
Experimento 2	
Tratamientos	x Tasas de crecimiento (μ) (d ⁻¹)
Control	0,044 ± 0,003 (a)
T1 (+500 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,172 ± 0,030 (b)
T2 (+250 $\mu\text{g.L}^{-1}$ +250 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	0,154 ± 0,009 (b)

Lo anterior indicaría que la especie *M. aeruginosa* responde de manera similar tanto a condiciones iniciales de disponibilidad de Fe menores a la óptima (250 $\mu\text{g. L}^{-1}$) como a concentraciones más altas (500 $\mu\text{g. L}^{-1}$), si después de un período hay nuevamente disponibilidad de Fe (*i.e.*, 250 $\mu\text{g. L}^{-1}$) por la ocurrencia de un segundo pulso. Esto podría demostrar que las colonias de *M. aeruginosa* que se desplazan a profundidades donde la disponibilidad de Fe es mayor en comparación a las capas subsuperficiales, se beneficiarían con los “pulsos” de este micronutriente, lo que podría reflejarse en un mayor crecimiento de sus poblaciones.

Con respecto al PRS, se observó una disminución desde D4 hasta el D26 en el E1, llegando a consumirse entre el 66% y el 79% el último día, sin diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 5A). En cuanto al E2 el consumo de PRS fue menor en comparación a E1, registrándose disminuciones entre el 23% al 40%; T1 y T2 presentaron un consumo significativamente mayor que el control al final del experimento (Fig. 5 B). Las diferencias de consumo de PRS entre ambos experimentos, podrían deberse a que la población inicial de *M. aeruginosa* en E1 fue aproximadamente un orden de magnitud mayor que en E2 (Fig. 4). A partir de estos resultados se confirma que el P no fue un factor limitante de crecimiento de las poblaciones de *M. aeruginosa* en ninguno de los dos experimentos, ya que no fue consumido en su totalidad.

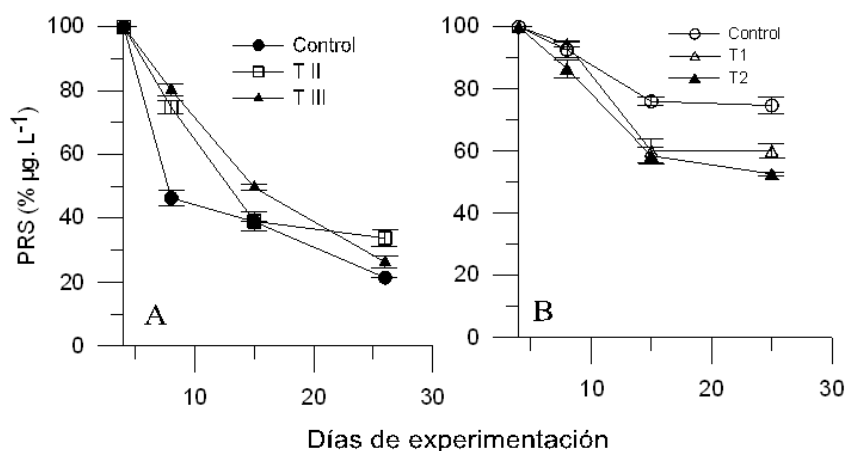


Figura 5. Porcentaje de concentración de PRS con respecto a la concentración inicial bajo los distintos tratamientos a lo largo de los experimentos. A: PRS Experimento 1. B: PRS Experimento 2.

Asimismo, el Fe Soluble mostró un patrón de decaimiento en todos los tratamientos en E1 (Fig. 6). TII y TIII presentaron una tasa de decaimiento significativamente más alta con respecto al control (Tabla 2), indicando un consumo mayor de Fe en los tratamientos con mayor adición del mismo. Lo anterior indicaría que en las capas subsuperficiales del ESR las concentraciones de Fe durante la mayor parte del tiempo (c.a. 30-100 $\mu\text{g. L}^{-1}$) no son las óptimas para el crecimiento de *M. aeruginosa* y que la disponibilidad mayor de Fe en capas más profundas (c.a. 500-1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$) podría ser un recurso importante para el crecimiento de sus poblaciones.

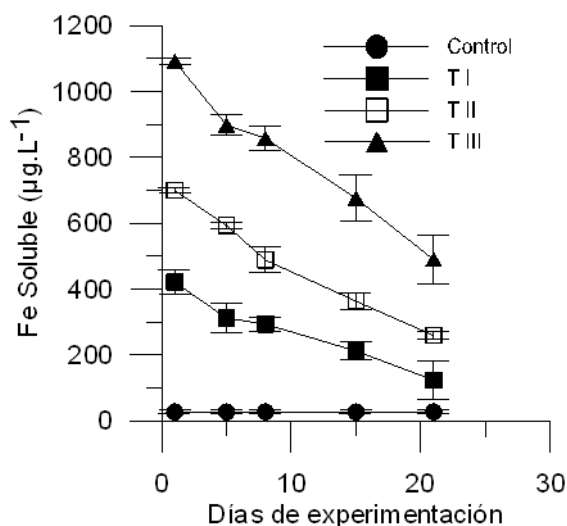


Figura 6. Concentraciones de Fe soluble bajo los distintos tratamientos a lo largo del Experimento 1.

Tabla 2. Tasas de decaimiento del Fe soluble para los distintos tratamientos en el Experimento 1. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos.

Tratamientos	Tasas de decaimiento de Fe
Control	0 (a)
TI (250 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	-13,76 \pm 6,56 (a,b)
TII (500 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	-21,77 \pm 0,46 (b)
TIII (1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$)	-28,37 \pm 6,89 (b)

CONCLUSIONES

En este trabajo se corroboró que el Fe es un factor promotor del crecimiento de *M. aeruginosa* en condiciones óptimas de luz y temperatura. El rango óptimo de concentración de Fe para el crecimiento de *M. aeruginosa* fue de 500-1000 $\mu\text{g. L}^{-1}$. Además, se confirmó que el crecimiento de *M. aeruginosa* es muy similar cuando la disponibilidad de Fe es alta y en un solo pulso en comparación a la disponibilidad en dos pulsos de menor concentración realizados de manera sucesiva.

Este trabajo contribuye al entendimiento de los factores que intervienen en la ocurrencia de floraciones de *M. aeruginosa* y su relación con la dinámica de los mismos en el ESR. Se requieren más estudios donde se comparen diferentes lapsos entre los pulsos de Fe, que permitan confirmar el efecto de los mismos sobre el crecimiento de *M. aeruginosa*. A partir de esto, se podrían plantear diversos escenarios de concentración de

Fe en sistemas naturales eutrofizados (*i.e.*, diferentes profundidades) y sus efectos en la dinámica de las poblaciones de *M. aeruginosa*.

Agradecimientos. Se agradece la colaboración de la Dra. Raquel Bazán y el Dr. Abel López ya que sus aportes logísticos y de material permitieron que este trabajo se llevara a cabo. La realización de este trabajo fue posible gracias a FONCYT que proveyó los fondos a través del PICT-2014 3298.

REFERENCIAS

- 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(1), 134-141.
- APHA (American Public Health Association). 2012. Parte 4500 P E: Método del Ácido Ascórbico en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (22nd Ed.), Washington, D.C.
- Aubriot, L., Bonilla, S., & Falkner, G. 2011. Adaptive phosphate uptake behaviour of phytoplankton to environmental phosphate fluctuations. *FEMS microbiology ecology*, 77(1), 1-16.
- Belzile C, Demers S, Ferreyra GA, Schloss I, Nozais C, Lacoste K, Mostajir B, Roy S, Gosselin M, Pelletier E, GianeseSMF, Vernet M. 2006. UV Effects on marine planktonic food webs: A synthesis of results from mesocosm studies. *Photochemistry and photobiology*, 82(4), 850-856.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat, version 2012, InfoStat Group, FCA - UNC, Argentina.
- Gobler, C. J., Burkholder, J. M., Davis, T. W., Harke, M. J., Johengen, T., Stow, C. A., & Van de Waal, D. B. 2016. The dual role of nitrogen supply in controlling the growth and toxicity of cyanobacterial blooms. *Harmful Algae*, 54, 87-97.
- Halac SR, Villafañe VE, Gonçalves RJ & Helbling EW. 2011. Long-Term UVR Effects Upon Phytoplankton Natural Communities of Patagonian Coastal Waters, Libro 2 de *Remote sensing of biomass: Principles and applications*. Intech Open Access Publishers, [http://www.intechweb.org].
- Jiang, Y., Ji, B., Wong, R. N. S., & Wong, M. H. 2008. Statistical study on the effects of environmental factors on the growth and microcystins production of bloom-forming cyanobacterium—*Microcystis aeruginosa*. *Harmful algae*, 7(2), 127-136.
- Ma, J., Brookes, J. D., Qin, B., Paerl, H. W., Gao, G., Wu, P., ... & Xu, H. 2014. Environmental factors controlling colony formation in blooms of the cyanobacteria *Microcystis* spp. in Lake Taihu, China. *Harmful algae*, 31, 136-142.
- Walsby, A. E., & McAllister, G. K. 1987. Buoyancy regulation by *Microcystis* in Lake Okaro. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 21, 521-524.
- Molot I.A., Watson S.B., Creed I.F., Trick C.G., McCabe S.K., Verschoor M.J., Sorichetti R.J., Powe C., Venkiteswaran J.J. & Schiff I. 2014. A novel model for cyanobacteria bloom formation: the critical role of anoxia and ferrous iron. *Freshwater Biology* 59(1), 1323–1340.
- Oberholster, P. J., Botha, A. M., & Grobbelaar, J. U. 2004. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water. *African Journal of Biotechnology*, 3(3), 159-168.
- Pavlova, V., Furnadzhieva, S., Rose, J., Andreeva, R., Bratanova, Z., & Nayak, A. 2010. Effect of temperature and light intensity on the growth, chlorophyll a concentration and microcystin production by *Microcystis aeruginosa*. *General and Applied Plant Physiology*, 36(3-4), 148-158.
- Rodríguez, M.I. 2003. Estudio de la problemática de eutrofización en el Embalse San Roque (Córdoba), *Tesis de Maestría*, Universidad Nacional de Córdoba (Argentina).
- Rodríguez M.I. & Ruiz M. 2016. Limnology of the San Roque Reservoir”, Cap. 2 de *The Environmental Handobook of Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Alemania.

Scarafia, M.E., Agnesse, A.M. & Cabrera, J.L. 1995. *Microcystis aeruginosa*: Behaviour and toxic features in San Roque dam (Argentina). *Natural toxins*, 3(2), 75-77.

Wetzel, R. 1981. *Limnología*. Ed. Omega, Barcelona, España.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*, Ed. Prentice Hall, New Jersey, USA.