

## Métodos de control del desarrollo de floraciones cianobacterianas en ambientes acuáticos. Revisión actualizada

Letizia Bauzá y Leda Giannuzzi

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

### Resumen

La eutrofización de los cuerpos de agua y el consecuente desarrollo masivo de floraciones tóxicas de cianobacterias son un problema en el mundo entero. Para solucionarlo existe un amplio espectro de actividades, desde múltiples cambios en las cuencas, a través del desarrollo de nuevos métodos de restauración de los lagos, hasta la evaluación de los efectos de cianocidas en el medio acuático.

La presente revisión se centra en los métodos de control de las floraciones cianobacterianas en lagos y embalses. La literatura científica actual carece de dicha información, por lo tanto en este capítulo se presenta una visión general sobre los métodos ya desarrollados, su eficacia, ventajas y posibles limitaciones.

**Palabras clave:** control, restauración de lagos.

### 1. Introducción

La falta de agua dulce de buena calidad es uno de los problemas más serios de la actualidad. Los cambios provocados en la naturaleza por la erosión o las actividades humanas así como por los desechos agrícolas y urbanos pueden aumentar el flujo de nutrientes y sustancias orgánicas en el sistema acuático teniendo consecuencias en las características cuali y cuantitativas de los cuerpos de agua.

La eutrofización se ha convertido en un problema en todo el mundo, causando un deterioro en el ambiente acuático y serios problemas para el uso del agua, especialmente en el tratamiento para su potabilización. Si bien la eutrofización es un proceso natural en lagos envejecidos y algunos estuarios, el aumento de la entrada de nutrientes y de sustancias orgánicas en la superficie del agua (eutrofización antropogénica) acelera este proceso, considerándolo como el principal factor responsable de la proliferación masiva de cianobacterias en aguas dulces, salobres y en el ecosistema marino costero.

En un ambiente acuático rico en nutrientes, las cianobacterias periódicamente exhiben un aumento significativo de su velocidad reproductiva y de su biomasa total, conocida como floraciones cianobacterianas, causando impactos negativos en el ambiente tales como oscurecimiento de las aguas, aumento del pH, disminución del oxígeno disuelto debido a la respiración o degradación y a la producción de activas cianotoxinas (1). Estos efectos producen la mortalidad de los organismos acuáticos, disminuyen la biodiversidad de los mismos así como del crecimiento de la vegetación acuática y la estabilidad por interferencias en la dinámica normal de las especies del fitoplancton. Además producen otras consecuencias negativas para el hombre debido a la formación de olores y toxinas en ambientes recreacionales y reservorios para fuentes de agua potable (2).

Las cianobacterias poseen una variedad de mecanismos adaptativos que les permiten sobrevivir en ambientes desfavorables y promover su crecimiento en cuerpos de agua. El proceso de fijación del nitrógeno, la presencia de vesículas de gas, la posibilidad de llevar a cabo un parcial metabolismo heterótrofo y una producción de compuestos alelopáticos son especialmente importantes para la subsistencia de las cianobacterias (algas azul-verdes) (3).

Una de las especie más ampliamente distribuidas es del género *Microcystis*, especialmente *Microcystis aeruginosa*, hallada comúnmente en el mundo y en diversos cuerpos de agua en Argentina. Presenta alta resistencia en lagos y forma grandes colonias rodeadas por un lecho de mucílago que le aporta gran capacidad de sobrevivir durante prolongados períodos de tiempo en los sedimentos (4).

A pesar de la disponibilidad de métodos de control de las floraciones de cianobacterias, todavía no ha sido resuelta la proliferación excesiva de estos organismos tan exitosamente adaptados a nuestro medio.

La efectividad de los métodos de control varían según las circunstancias (tipo y tamaño del lago, tiempo de retención, grado de alteración, cantidad de carga de nutrientes, calidad y cantidad de sedimentos, estación, cantidad de vida acuática, etc.). Estos métodos no son universales y su uso puede estar limitado a casos especiales.

Para prevenir las floraciones cianobacterianas se debe disminuir la entrada de nutrientes de los efluentes, especialmente del fósforo, el cual es la causa principal de la masiva presencia de cianobacterias. Esto incluye la rehabilitación de fuentes puntuales y no puntuales de nutrientes (descargas de efluentes, deriva de sustancias químicas provenientes de la agricultura y erosión de áreas urbanas y forestales).

Existe una gran variedad de métodos que pueden disminuir la disponibilidad de fósforo en los lagos, sin embargo, para la reducción de la entrada de los nutrientes y su acumulación se requieren largos tiempos y costosos métodos de restauración del paisaje y del cuerpo de agua (5). El empleo de sustancias químicas permite en corto tiempo actuar con alto impacto sobre las cianobacterias. Sin embargo, el empleo de la mayoría de los alguicidas usados, tales como sales de cobre no son aceptados debido a su efecto tóxico no selectivo sobre organismos acuáticos no blanco y negativas consecuencias relacionadas con la salud humana (6, 7).

Así, resulta necesario seleccionar o desarrollar nuevos alguicidas específicos para cianobacterias (cianocidas) con bajo impacto negativo sobre el ambiente acuático, así como otros tipos de métodos.

El abundante crecimiento de las cianobacterias en aguas es un problema complejo y su solución no es un tema sencillo. Se requiere un esfuerzo sistemático para disminuir la contaminación ambiental en fuentes acuáticas, así como desarrollar nuevos métodos para combatir el crecimiento cianobacteriano en lagos y reservorios, evaluarlos, probar su efectividad, sus ventajas y limitaciones.

La probabilidad de obtener agua de buena calidad de los lagos hipereutróficos es extremadamente baja, por lo tanto, es necesario aplicar una combinación de los métodos.

Esta revisión describe los métodos que pueden aplicarse para el control del desarrollo de floraciones cianobacterianas en lagos y proporciona información sobre sus ventajas, limitaciones y eficacia. Sin embargo, no deben ser descuidados los métodos aplicados a nivel de cuencas hidrográficas. Por lo tanto, también se agrega una breve descripción de los mismos.

## **2. Tratamientos físicos**

### **2.1. Medidas correctoras a nivel de cuencas**

En la mayoría de los lagos eutróficos afectados por floraciones de cianobacterias, la principal tarea debería ser la disminución de la carga de nutrientes de las cuencas hidrográficas. Esto incluye la carga de nutrientes puntuales y no puntuales.

Entre las principales fuentes no puntuales de fósforo podemos mencionar especialmente las provenientes de la agricultura como las referidas a las escorrentías y la erosión de las zonas urbanas y deforestadas.

Las fuentes puntuales de fósforo más importantes son las aguas residuales municipales y los detergentes con fosfatos. La carga de fósforo puede ser disminuida sustancialmente por la construcción de nuevas plantas depuradoras de aguas residuales o mediante la mejora de las instalaciones existentes, introduciendo la etapa de precipitación y floculación (tratamiento terciario) o ajustando el tratamiento biológico tendiente a eliminar el aumento del fósforo. Centrándonos en los problemas con las floraciones cianobacterianas, resulta importante considerar no solo la concentración de fósforo en el agua, sino también los bajos niveles de Nitrógeno: Fósforo (N: P) que contribuyen al crecimiento de cianobacterias (8, 9).

Las plantas depuradoras de aguas residuales sin tratamiento terciario suelen ser más eficientes en la eliminación de nitrógeno que en fósforo, por lo tanto, aumenta la proporción del mismo. Por otra parte, los nitratos en los lagos pueden ser utilizados como agentes oxidantes y su carencia puede mejorar la descomposición anaeróbica de los sedimentos orgánicos, y por lo tanto, la liberación de fósforo de los sedimentos en el agua. Consecuentemente, los métodos tradicionales de depuración de aguas residuales pueden ser perjudiciales y aumentar el desarrollo de cianobacterias.

Además de las medidas en la cuenca, también existen algunos métodos que pueden ser empleados antes de su llegada al lago o embalse (afluente).

Los nutrientes pueden ser removidos en los llamados métodos pre-reservas. Estos son pequeños embalses superficiales con poco tiempo de retención situados muy cerca y previo al reservorio principal, en donde el fósforo se elimina por acción biológica seguida de sedimentación. La eficiencia del método de pre-reservas depende de su buen diseño y gestión (especialmente el dragado de los sedimentos) (10).

La planta de eliminación de fósforo (PEP) propuesta por Wahnbach, Alemania, es una de las más efectivas (11, 12). El método se basa en la precipitación de fósforo y la floculación mediante iones férrico seguida por la eliminación de los precipitados por filtración. Este método es extremadamente eficiente, capaz de disminuir la concentración de fósforo en el efluente a  $5\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , presentando como desventaja su elevado costo.

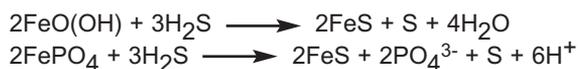
### 2.1.1. Tratamiento de los sedimentos

Los sedimentos del fondo del lago acumulan fósforo durante largos períodos de tiempo, por lo tanto, representan una gran fuente interna del mismo, que puede ser nuevamente liberada en forma lenta al agua. Debido a esto, un cuerpo de agua puede presentar condiciones eutróficas incluso varios años después que la carga de fósforo externa se haya reducido. La liberación de fósforo de los sedimentos a la columna de agua puede ser importante cuando el lago se estratifica presentando condiciones de anoxia en su parte inferior.

En los sedimentos anóxicos, durante la degradación de materia orgánica, el sulfato se reduce a sulfuro de hidrógeno.



El sulfuro de hidrógeno reacciona con el hidróxido y el fosfato de hierro, mientras se forman sulfuro de hierro y se liberan fosfatos libres.



En los sedimentos la población de cianobacterias puede sobrevivir en condiciones adversas durante varios años. Otras circunstancias, como el viento en lagos poco profundos o la turbulencia de los barcos a motor y de peces de fondo, contribuyen a una mayor liberación de nutrientes de los sedimentos del fondo del lago a la columna de agua.

### 2.1.1.1 Remoción de los sedimentos

La remoción de los sedimentos puede ser un método muy eficaz para disminuir el contenido de nutrientes en el lago o embalse. La *eliminación de las capas superiores* de los sedimentos del lago deja al descubierto las capas con mayor capacidad de unir al fósforo. Junto con la eliminación de la capa de sedimentos superior, la mayoría de las cianobacterias también se eliminan.

Los sedimentos pueden ser eliminados o tratados en el lago, esto depende de muchas circunstancias (cantidad y calidad de sedimentos, contenido de nutrientes, contenido de sustancias tóxicas, disponibilidad de la zona de vertido, costos de las técnicas en particular, el estudio limnológico) que deben ser cuidadosamente evaluadas antes de la decisión final sobre la remoción.

El *dragado de los sedimentos* representa una intervención en el ecosistema de la laguna, con posibles aspectos negativos. La destrucción de organismos bentónicos es la más evidente. Si la cuenca del lago es dragada en forma completa, se requieren de 2 a 3 años para restablecer la fauna bentónica (5).

La *eliminación de los materiales de dragado* puede ser problemática. Si el sedimento no contiene compuestos tóxicos, estos pueden ser utilizados con fines agrícolas como fertilizante y ser aplicados directamente en los campos (13).

En los pequeños lagos o estanques, el método más común de remoción es *bajar el nivel del agua* para luego eliminar los sedimentos por secado. Este método muchas veces es imposible debido a la necesidad de la conservación de la vida acuática.

La remoción de sedimentos es un proceso caro que puede presentar alta efectividad y no necesariamente producir los efectos deseados, especialmente si la carga de nutrientes externos sigue siendo lo suficientemente alta para el desarrollo de cianobacterias.

### 2.1.1.2. Nivelación del sedimento

Una alternativa más económica a la remoción de los sedimentos es la nivelación de los mismos. Esta técnica se utiliza especialmente para el tratamiento de sedimentos contaminados con metales tóxicos u otras sustancias tóxicas persistentes y permite reducir la removilización de nutrientes o de cianobacterias en la columna de agua. El concepto de la nivelación *in situ* consiste en la colocación de una cubierta sobre el sedimento para aislar y reducir al mínimo la liberación de contaminantes a la columna de agua. El material de la cubierta sólo puede proporcionar una barrera mecánica o activa.

La *barrera mecánica* (física) puede servir para "limpiar" los sedimentos (sin compuestos tóxicos o nutrientes), se utiliza arena o grava. Este método se utiliza sólo en raras ocasiones debido a las dificultades para crear una capa uniforme y continua con el agua.

Los sistemas de *barrera activa* son generalmente sustancias químicas permeables capaces de desmovilizar los contaminantes activos en el agua por los procesos de adsorción o precipitación. Recientemente se han ensayado una serie de materiales de barrera activos como la calcita ( $\text{CaCO}_3$ ), zeolitas, arcillas, caolín y derivados amorfos (14, 15). No se informaron aspectos negativos de este método.

### 2.1.2. Tratamiento del hipolimnion

El hipolimnion está formado por las capas más profundas del lago que tiene prácticamente la misma temperatura todo el año.

### 2.1.2.1 Retirada del hipolimnion

Este método se basa en la eliminación selectiva de las aguas del hipolimnion de un lago (zona donde la cantidad de oxígeno es baja y rica en fosfato, hierro y manganeso). Sólo es aplicable a los lagos estratificados, donde las mayores concentraciones de fósforo se acumulan en el hipolimnion debido a la fuerte liberación de fósforo de los sedimentos en condiciones de anoxia.

La disminución del fósforo y el consecuente aumento de las concentraciones de oxígeno, podrían limitar el crecimiento de las cianobacterias en particular en los lagos o embalses, donde domina el fósforo de origen interno. El uso de este método también es recomendable para acelerar la restauración del lago después que la carga de fósforo externa haya sido limitada.

El hipolimnion puede ser eliminado preferentemente a través de un sifón, por bombeo (lagos) o por descarga selectiva (embalses). Durante su retirada debe evitarse la desestratificación, ya que aumenta el transporte de nutrientes y agua al epilimnion. Es aplicable sólo si la cantidad de agua descargada puede ser sustituida por el ingreso de suficiente agua para mantener el nivel del lago relativamente constante (5). La ventaja de este método es su bajo costo, pero su uso está limitado a embalses y lagos pequeños y profundos.

Se han descrito casos exitosos en lagos en los EE.UU., Canadá, Finlandia, Alemania y Polonia (5). Podrían presentarse efectos negativos aguas abajo debido a las descargas de agua con una temperatura más baja, así como por el aumento de nutrientes, amoníaco, sulfuro de hidrógeno u otros compuestos tóxicos. Para evitar este impacto negativo, podría emplearse una mezcla con agua epilimnionica. Estos efectos adversos pueden ser atenuados por la precipitación adicional de fósforo en la salida (16).

### 2.1.2.2 Aireación y oxigenación del hipolimnion

El concepto básico del sistema de aireación es mantener continuamente el oxígeno en el fondo del lago, de modo que el hierro permanezca en una forma sólida y se reduzca la liberación de fósforo de los sedimentos a la columna de agua. La ventilación también es compatible con la rápida degradación de los sedimentos orgánicos por las bacterias aeróbicas. Por lo general, la aireación se realiza con compresores que introducen aire en el fondo del lago a través de tubos perforados. Está diseñada para elevar el contenido de oxígeno sin desestratificar la columna de agua o el calentamiento del hipolimnion. La desventaja de este método es la baja eficiencia del intercambio gaseoso.

Puede utilizarse O<sub>2</sub> puro en lugar de aire para aumentar la eficiencia de transferencia de gas, pero esto proporciona menos fuerza de distribución de aire. En algunos casos puede añadirse al aire pequeñas cantidades de ozono para evitar el crecimiento de bacterias y hongos dentro de los tubos de aireación. También puede inyectarse al hipolimnion una mezcla de aire-agua o de agua de la porción superior rica en oxígeno.

La aireación del hipolimnion puede no funcionar satisfactoriamente si la masa de agua es poco profunda (menos de 12 a 15 m.), incluso si existe estratificación. Los aireadores suelen ponerse en circulación después de la primavera y funcionan toda la temporada hasta comienzos de otoño. Puede utilizarse, durante el invierno bajo la cubierta de hielo. Los costos de operación de este método son relativamente altos. No se describen efectos adversos importantes. La sobresaturación del hipolimnion con N<sub>2</sub>, puede producir una enfermedad en los peces (17). La oxigenación del hipolimnion no garantiza que la superficie del sedimento se oxide lo suficiente como para disminuir la liberación de fósforo de los sedimentos. La aireación con oxígeno presenta beneficios secundarios dado que mejora la calidad del agua mediante la disminución del hierro y del manganeso, así como disminuyen los sabores y olores problemáticos para el abastecimiento de agua potable.

### 2.1.3 Medidas técnicas y físicas en el lago

#### 2.1.3.1 Dilución y lavado

En raras ocasiones la calidad del agua en el lago o embalse puede mejorarse por la dilución a través de agua de otras fuentes distintas a la original. Las concentraciones de nutrientes limitantes para el crecimiento de cianobacterias se diluyen y producen una pérdida rápida (lavado) de las algas del lago.

En el lago Moses, en Washington, se ha logrado una reducción significativa de las floraciones cianobacterianas, empleando el método de dilución luego de disminuir el tiempo de retención de agua de 10 a 5 días (18). En el lago Veluwe, en los Países Bajos, se logró la rehabilitación del mismo mediante el lavado con agua de bajo contenido de fósforo, pero alto en nitratos y calcio. Este método es raramente aplicable debido a que requiere una gran cantidad de agua.

#### 2.1.3.2 Desestratificación artificial (mezcla)

La circulación del agua en el lago mejora la oxigenación en la columna con beneficios en un hábitat adecuado para los animales aeróbicos. Asimismo, reduce la liberación de fósforo de los sedimentos oxidados.

La mezcla continua de la columna de agua destruye las condiciones del estratificado pudiendo presentar un favorable impacto directo sobre la biomasa del fitoplancton y su composición. La velocidad de la mezcla debe ser lo suficientemente alta como para superar la velocidad de flotación dinámica de las especies de cianobacterias presentes en el lago. El predominio de cianobacterias se puede desplazar por el de las clorófitas en respuesta a la disminución del pH y el aumento de CO<sub>2</sub> ya que son las condiciones más beneficiosas para estas últimas (19, 20). La circulación también reduce la biomasa del fitoplancton a través de la limitación de la luz. El efecto de la mezcla se produce principalmente en los lagos más profundos. En algunos casos puede funcionar también en lagos poco profundos con mayor turbidez y, por tanto, una mayor extinción de la luz (5).

La mezcla comúnmente se logra mediante la introducción de burbujas de aire en el fondo del lago obteniendo mejores resultados con mezclas intermitentes (períodos de 3 semanas) en lugar de continuo, reduciendo los costos de operación (21). Existen sólo unos pocos ejemplos de informes negativos de desestratificación artificial.

#### 2.1.3.3 Ultrasonido

Las especies más comunes que forman floraciones cianobacterianas son *Microcystis*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon* y *Woronichinia*. La aplicación del ultrasonido (3 segundos, 120 W de potencia de entrada, 28 kHz) induce la ruptura de las vesículas de gas de las cianobacterias y conduce a la precipitación de las células en el fondo del lago. Como ventaja, en contraste con el tratamiento alguicida, el ultrasonido no aumenta la liberación de microcistinas a partir de células (22).

El ultrasonido puede aplicarse directamente al agua, pudiendo presentar efectos nocivos en los peces cuando los parámetros de configuración son inadecuados.

#### 2.1.3.4 Remoción mecánica de la biomasa de cianobacterias

Para la remoción mecánica de la biomasa suelen usarse barreras similares a las utilizadas para recoger los derrames de petróleo. Sólo una parte pequeña de la población de cianobacterias en el lago se puede eliminar mediante la remoción mecánica debido a la presencia de las mismas en la columna de agua y sedimentos. La floculación y la sedimentación de la biomasa de las cianobacterias en el fondo del lago es

una mejor opción que la remoción mecánica. Una pequeña ventaja de ésta última es que elimina también una parte de los nutrientes contenidos en la biomasa. La combinación de ambos métodos se ha informado en el río Swan en Australia.

### 3. Tratamientos biológicos

#### 3.1 Control biológico

##### 3.1.1 Biomanipulación

El término biomanipulación se refiere a los métodos basados en intervenciones biológicas (23, 24). La eficacia del método está limitada en particular en el caso de los lagos hipereutróficos y embalses en los que la concentración de fósforo total es superior a 100 mg.L<sup>-1</sup>.

##### 3.1.2 Peces herbívoros

Otro método potencial para reducir el desarrollo de floraciones de cianobacterias es el uso de peces herbívoros. El fitoplancton es el principal alimento para la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) y la carpa cabezona (*Aristichthys nobilis*) siendo limitado el uso de esta especie tropical para control del crecimiento de cianobacterias en los lagos.

##### 3.1.3 Macrófitas y perifiton

La presencia de macrófitas en los lagos y embalses es beneficiosa por muchas razones, una de ellas es su resistencia al desarrollo dominante de algas o cianobacterias. El lago dominado por macrófitas puede mantener el agua clara, aún en el caso de alta carga de nutrientes, mientras que la calidad del agua en el lago dominado por el fitoplancton no puede mejorar, incluso si las concentraciones de nutrientes se reducen sustancialmente (5). La eliminación del fósforo por perifiton puede ser aun mayor, incluso en ausencia de las macrófitas.

##### 3.1.4 Otros organismos

Muchos organismos acuáticos (virus, bacterias, algas, hongos y protozoos) pueden limitar potencialmente el crecimiento de cianobacterias. Especialmente el parasitismo de las bacterias y los virus parece ser interesante debido a la alta especificidad sólo a determinadas especies de cianobacterias y sin efectos para otros organismos acuáticos. Sin embargo, el cultivo a gran escala de muchos de estos organismos es problemático. Esta revisión sólo hace una breve descripción.

#### **Virus**

Los virus de cianobacterias (cianofagos) se producen comúnmente en el medio acuático marino y en agua dulce, donde juegan un papel importante en la prevalencia de las cianobacterias en la temporada. Numerosos problemas tornan casi imposible el uso de virus en la práctica. Muchas cianobacterias se vuelven resistentes a los cianofagos por lo que el efecto resulta ser temporal (25). Además, un virus es específico de una cepa en particular y a menudo no afecta a las cianobacterias de otras cepas (26).

#### **Bacterias y algas**

Las cianobacterias pueden ser lisadas por enzimas líticas extracelulares de bacterias o por la lisis de contacto. Asimismo, existen metabolitos extracelulares de cianobacterias que pueden causar la inhibición del crecimiento, de la fotosíntesis o el metabolismo. Recientemente se ha encontrado la fuerte inhibición del crecimiento selectivo de la cianobacterias como *Microcystis aeruginosa* y *Anabaena affinis* por surfactina, producida por *Bacillus subtilis* C1 (27). Se ha descrito a *Bacillus cereus* como productor de

una sustancia cianobacteriolítica específica hacia *Aphanizomenon flos-aquae* (28) y a *Streptomyces neyagawaensis* contra *Microcystis aeruginosa* (29). Algunas algas planctónicas también pueden producir compuestos alelopáticos e inhibir el crecimiento de cianobacterias. El extracto del dinoflagelado *Peridinium* produce la inhibición de cianobacterias provocando cambios en la permeabilidad de la membrana de *Microcystis aeruginosa* (30).

## Hongos

Algunos estudios demostraron efectos específicos antagónicos de 62 hongos en *Anabaena flos-aquae* y otras cianobacterias filamentosas o unicelulares (31). Sin embargo, su uso es limitado debido a las dificultades del cultivo a gran escala.

## Protozoos

Dentro de los ecosistemas acuáticos, los protozoos juegan un papel importante en la reducción de la población del fitoplancton por el pastoreo y la fagocitosis. Se ha descrito la depredación de las cianobacterias en el caso de los ciliados *Furgasonia*, *Pseudomicrothorax*, la ameba *Amoeba* y el flagelado *Monas guttula* (32, 33, 34). El uso de los protozoos como agentes de control biológico es muy limitado y cuestionable.

### 3.2 Mineralización de los sedimentos

La degradación microbiana de los sedimentos orgánicos puede ser aumentada por la adición de microorganismos. La mineralización de los sedimentos orgánicos puede tener dos efectos beneficiosos. La disminución del contenido de compuestos orgánicos en los sedimentos disminuye el consumo de oxígeno microbiano que ocurre durante la degradación de la materia orgánica. Por lo tanto, los acontecimientos de anoxia en el fondo del lago seguido por la entrada de fósforo en la columna de agua se producen con menos frecuencia. La mineralización de los sedimentos también puede afectar negativamente a la supervivencia de cianobacterias en los sedimentos.

Recientemente, se han desarrollado biopreparados que contienen microorganismos saprófitos y están comercialmente disponibles. Estos preparados suelen consistir en una selección de cepas bacterianas inmovilizadas en un soporte mineral. También están disponibles enzimas bacterianas como biocatalizadores.

En la mayoría de los casos, la aireación paralela o la oxidación de los sedimentos mediante la adición de otro aceptor de electrones como el nitrato, favorece el crecimiento y la actividad de los microbios inoculados. Se han informado que exudados bacterianos extracelulares pueden inhibir el crecimiento de cianobacterias, aunque la aplicación de estos biopreparados no se encuentra aun disponible comercialmente (35).

## 4. Tratamientos químicos

### 4.1. Oxidación de los sedimentos: Método RIPLOX

El método RIPLOX ha sido utilizado ampliamente en los países escandinavos y Alemania, se centra en la disminución de la liberación de fósforo de los sedimentos mediante su oxidación (36). Este método combina el tratamiento superficial de los sedimentos con el nitrato de calcio, cloruro férrico y cal carbonato de calcio. También puede utilizarse sulfato férrico en lugar de  $\text{FeCl}_3$ .

La aplicación se realiza generalmente a fines de la primavera. Los productos químicos pueden ser aplicados mediante una inyección directa en la capa superior de los sedimentos como se utilizó en el tratamiento del lago Lillesjön. Éste método es muy eficiente, pero caro y únicamente es aplicable a lagos planos poco profundos. La dosis de nitrato aplicada ha sido en el rango de 16 a 140 g N m<sup>-2</sup> (5).

## 4.2. Coagulantes. Precipitación e inactivación de fósforo

Esta técnica se centra en reducir el contenido de fósforo en la columna de agua y retardar la liberación del mismo de los sedimentos móviles del lago. Esto se logra mediante la aplicación de coagulantes. Estos compuestos, cuando se añaden al agua, precipitan en los llamados flóculos. Durante la formación de los flóculos el fósforo es retenido y se convierte en una forma no disponible para el fitoplancton. En la parte inferior del lago, el coágulo aumenta aún más la capacidad de unión de los sedimentos para el fósforo.

La unión del fosfato biodisponible en los flóculos es más fuerte que la unión del fósforo en forma de partículas (materia orgánica, células, etc.). Es mejor llevar a cabo el tratamiento de los lagos con largos tiempos de retención, a finales de otoño hasta principios de la primavera, cuando el fosfato libre está en el nivel máximo, antes que sea incorporado en forma intensiva al crecimiento del fitoplancton (37). La eficacia de este tratamiento es baja en lagos poco profundos debido a la resuspensión de fósforo de los sedimentos por el viento y las olas. Además de los efectos sobre la concentración de fósforo, también existe la posibilidad de utilizar a los coagulantes como una alternativa de los tratamientos alguicidas.

Los coagulantes pueden ser aplicados desde un barco de aplicación en todo el lago o la aplicación puede ser restringida a los lugares seleccionados en la columna de agua.

Existe una serie de compuestos que pueden ser utilizados como coagulantes, entre ellos encontramos a las sales de aluminio, hierro y calcio o sus combinaciones, y algunos materiales de arcilla.

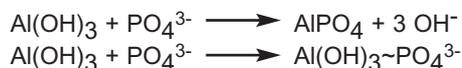
### 4.2.1 Aluminio

El coagulante más utilizado a partir de las sales de aluminio es el sulfato de aluminio (alumbre,  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ). Cuando se añade en el agua, el alumbre forma rápidamente grandes partículas visibles de hidróxido de aluminio no tóxico, que crecen en tamaño y peso.

El pH de la solución determina que los productos de hidrólisis del aluminio dominen según su solubilidad. A pH normal (6-8), los polímeros insolubles de  $\text{Al}(\text{OH})_3$  dominan los procesos de sorción del fósforo.



El fosfato inorgánico soluble se une directamente al aluminio o adsorbe a los flóculos de hidróxido de aluminio (37):



A pH 4-6 pueden estar presentes diversas formas intermedias solubles ( $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Al}(\text{OH})^+$ ...) a pH inferior a 4, predominan los  $\text{Al}^{3+}$  hidratados y solubles.

A niveles de pH > 8.0, como ocurriría durante la fotosíntesis intensa, la solubilidad aumenta y se forma el ion aluminato,  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$  (5), que conduce a un debilitamiento de adsorción de fósforo. Debido a que los iones de hidrógeno se liberan cuando una sal de aluminio se añade al agua, en lagos con moderada o baja alcalinidad (<30-50 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ ), el tratamiento produce una disminución significativa en el pH que puede dar lugar a una concentración cada vez mayor de tóxicos de  $\text{Al}^{3+}$ . La concentración segura de  $\text{Al}^{3+}$  soluble para los organismos acuáticos es hasta 50 mg.L<sup>-1</sup>. Si el pH es inferior a 6.0 (acidificación) se presentan efectos adversos sobre los ecosistemas acuáticos, incluso sin un aumento de  $\text{Al}^{3+}$ .

Estos aspectos del pH limitan la cantidad de alumbre que se puede añadir. Paralelamente, la adición de un buffer puede resolver este problema. Han sido utilizados para este fin el hidróxido de sodio, el hidróxido de calcio, el carbonato de sodio y el aluminato de sodio con la ventaja adicional del alto contenido de aluminio de este último.

Para eliminar con éxito no sólo el fósforo disuelto, sino también el particulado y proporcionar la inactivación suficiente del sedimento de fósforo, el objetivo es aplicar tanto aluminio como sea posible, compatible con la seguridad del medio ambiente. Se han informado concentraciones de 5 a 100 g de Al m<sup>-2</sup> o de 5 a 25 g de Al m<sup>-3</sup> (38, 39).

El fósforo inorgánico se elimina con más eficacia que las partículas de fósforo orgánico (células, detritos) lo que sugiere que el momento más eficaz para el tratamiento con alumbre sería a principios de primavera cuando el contenido de fósforo soluble es más alto. Por otra parte, la coagulación se reduce a bajas temperaturas. Por lo tanto el tratamiento a principios de verano antes de las floraciones cianobacterianas es más adecuado (5).

Resulta más eficaz aplicar el aluminio en forma líquida. Además de sulfato de aluminio o de aluminato de sodio, se utiliza policloruro de aluminio. La ventaja de utilizar las sales de aluminio como coagulantes para el tratamiento de los lagos es que frente a las bajas o nulas concentraciones de oxígeno disuelto no se disuelven los flóculos y no se produce la liberación de fósforo.

El aluminio es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre y también está en alta concentración en los sedimentos. Un tratamiento con alumbre sólo aumenta ligeramente el contenido de aluminio en los sedimentos naturales; si se aplica en dosis razonables no causa la acidificación persistente del agua del lago y su uso es seguro. Normalmente el pH vuelve a aumentar entre media y una hora después de la formación de los flóculos.

La toxicidad para los organismos acuáticos durante la formación de los flóculos se produce sólo en algunos experimentos de laboratorio o cuando se aplica en volúmenes más pequeños. En lagos o embalses, la dosis de alumbre no es totalmente distribuida en el volumen del lago al mismo tiempo (el tratamiento del lago entero dura generalmente varios días), por lo que los organismos pueden no ser afectados (37, 5).

Recientemente, el policloruro de aluminio (nombre comercial PAX18) y sulfato de aluminio se han aplicado en varios embalses en la República Checa. En el embalse Máchovo jezero la aplicación de PAX18 (dosis de 5 mg Al. L<sup>-1</sup>) permitió mantener la concentración de cianobacterias en los límites sanitarios por más de 6 semanas después del tratamiento. Los planes de vigilancia recomiendan la prohibición del baño y la restricción de ciertas actividades náuticas en caso de la presencia de espuma o si la concentración de Microcistinas es superior a 25 µg.L<sup>-1</sup> mientras que el valor elegido de 1 µg.L<sup>-1</sup> es el recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para aguas de consumo humano.

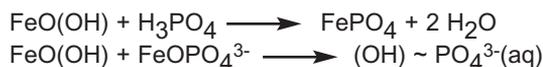
Algunos autores proponen un valor máximo de Microcistina LR de 0.84 µg.L<sup>-1</sup> o aproximadamente de 1 µg.L<sup>-1</sup> que corresponde a 5000 cel.mL<sup>-1</sup> (40).

#### 4.2.2 Hierro

El hierro es generalmente aplicado en forma de FeCl<sub>3</sub>, pudiendo también utilizarse el FeCl<sub>2</sub> o Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>. Durante la aplicación de hierro en el agua, se forman flóculos de hidróxido férrico, los cuales se transforman en una mezcla de óxido e hidróxido:



El fósforo se puede absorber a los flóculos de hidróxido férrico:



En contraste con el alumbre, la estabilidad de los flóculos de hierro es menos dependiente del pH y el hierro no aparece en forma tóxica. Sin embargo, la absorción de  $\text{Fe(OH)}_3$  es mayor a pH 5-7, lo cual no es común en los lagos eutróficos, especialmente si hay gran densidad de fitoplancton. El fósforo puede ser liberado durante los períodos de pH alto. Del mismo modo para el tratamiento con alumbre, se liberan los iones de hidrógeno, lo cual puede conducir a la disminución significativa en el pH y producirse efectos tóxicos para los peces si el pH es inferior a 6.0.

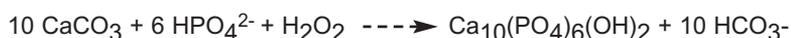
Además, la estabilidad de los compuestos de Fe-P es fuertemente dependiente de los cambios en el estado redox. A medida que el oxígeno disuelto en el agua de los sedimentos cae por debajo de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$ , el hierro se utiliza como aceptor de electrones alternativo. La reducción a iones ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ) lo vuelve soluble y se libera el hierro unido al fósforo. Este cambio se produce rápidamente, de manera que incluso durante breves períodos de anoxia en el fondo del lago se produce una importante liberación de fósforo. Para evitar este efecto, se emplea la aireación en forma paralela a la aplicación de hierro (37). La aplicación continua de hierro durante el período estival se ha utilizado en combinación con desestratificaciones artificiales para evitar las floraciones cianobacterianas en el embalse de Bautzen en Alemania (41). El hierro puede ser también aplicado con éxito combinado con nitrato como aceptor final de electrones en el tratamiento de sedimentos.

Una desventaja del hierro es que une eficazmente sólo al fósforo soluble inorgánico. No puede ser utilizado para flocular las partículas de fósforo y las células. Por lo tanto, la aplicación sólo podrá tener lugar a finales del otoño o principios de la primavera (42).

A las concentraciones aplicadas durante los tratamientos no se observaron efectos tóxicos del  $\text{Fe}^{3+}$  en los organismos acuáticos. Sin embargo, en raras ocasiones el crecimiento de cianobacterias puede ser apoyado por el tratamiento con hierro, cuando el hierro es el elemento limitante en el lago (16). En el caso de aplicación  $\text{FeCl}_3$ , la concentración de cloruros puede llegar a varios cientos  $\text{mg.L}^{-1}$  por lo que las concentraciones de hasta  $500 \text{ mg.L}^{-1}$  no deberían causar ningún daño biológico. La aplicación puede producir color marrón temporal del agua y la natación debe ser restringida durante la aplicación (42).

### 4.2.3 Calcio

El carbonato de calcio (calcita,  $\text{CaCO}_3$ ) o hidróxido de calcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) pueden también ser añadidos al lago como precipitantes del fósforo. La calcita adsorbe al fósforo especialmente cuando el pH es superior a 9.0 y los resultados en la eliminación de fósforo son significativos en la columna de agua. A pH elevado y altas concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  y P soluble, se forma la hidroxiapatita



La hidroxiapatita tiene su menor solubilidad a  $\text{pH} > 9.5$  y el fósforo se fija fuertemente a pH alto (5). Si el pH baja, la solubilidad aumenta bruscamente y conduce a la liberación de fósforo. Esto ocurre especialmente en zonas con una intensa respiración bacteriana y cerca de los sedimentos.

La dosis de aplicación de cal se encuentra en un rango de 25 a  $300 \text{ mg de Ca L}^{-1}$  (42). La ventaja de la cal es su bajo precio y baja toxicidad, pero pueden producirse efectos adversos para los organismos acuáticos, debido al aumento del pH (43). El tratamiento con cal también aumenta temporalmente la turbidez.

#### 4.2.4 Arcillas y productos cerámicos

Materiales de arcilla como las zeolitas, arcillas y caolines modificados pueden ser utilizados para ligar el fosfato del agua. Phoslock™ es una arcilla modificada que mostró unir al fósforo en los ríos de Canning y Vasse en Australia (44). Los materiales de arcilla pueden flocular y eliminar las células cianobacterianas. En el río Swan, Australia, se ha utilizado una mezcla de bentonitas y cloruro de polialuminio para eliminar estas floraciones (45). Sin embargo, no se ha informado tratamientos con arcilla para flocular las células de cianobacterias en los lagos de agua dulce.

#### 4.3 Alguicidas

El tratamiento con alguicidas ha sido uno de los métodos más comúnmente discutido para controlar las floraciones de algas y cianobacterias. En el caso de los compuestos aplicados para inhibir selectivamente el desarrollo de las cianobacterias, es más preciso usar el término cianocida. Existen muchos compuestos tóxicos para las cianobacterias (efectos cianocida) o que inhiben el crecimiento (efectos cianostático). El uso de la mayoría de ellos es limitado debido a sus efectos selectivos sobre las cianobacterias y su toxicidad para otros organismos acuáticos. Los compuestos cianocidas se aplican mejor al comienzo de la temporada, cuando la biomasa de las cianobacterias aun no alcanza el estado de floración y son más vulnerables debido a la mayor ingesta de nutrientes. Esto, junto con una menor densidad de cianobacterias en el agua, también permite aplicar cianocidas en dosis más bajas. Otro problema es que las cianobacterias también pueden tener una resistencia a algunos alguicidas por lo que es necesario un aumento de la dosis de aplicación, siendo sus efectos temporales. Tan pronto como la concentración de cianocida en el agua del lago disminuye (por la degradación o la dilución), las cianobacterias restantes volverán a crecer y llegarán a la densidad original por lo general en unas pocas semanas o incluso días.

La amplia gama de agentes con efectos cianocidas o cianostáticos abarca compuestos orgánicos, inorgánicos o compuestos y materiales de origen natural.

A pesar de presentar muchos inconvenientes y riesgos, los tratamientos con alguicidas, en muchos casos, son la única opción para conseguir el efecto en un tiempo más corto o para obtener algún efecto en el caso de un limitado presupuesto financiero, especialmente en los lagos y depósitos hipereutróficos con una alta carga externa de fósforo. Resulta necesario seleccionar y/o desarrollar nuevos cianocidas con menor impacto negativo en los ambientes acuáticos.

##### 4.3.1 Productos químicos orgánicos

Los compuestos orgánicos presentan la ventaja de ser algunos de ellos biodegradables. Presentan toxicidad no selectiva para los organismos acuáticos así como alto precio en comparación a los agentes inorgánicos. Debido a la dilución continua con afluentes de agua en el lago, la degradación y la pérdida del compuesto en el medio acuático, sólo es de esperar un efecto de corto plazo. La producción y el uso de algunos de ellos han sido prohibidos recientemente.

Se han encontrado muchos pesticidas altamente tóxicos para las cianobacterias, como por ejemplo Reglone A (dicuat-1, 1-etileno-2,2-dibromuro dipiridium, dosis 2-4 mg.L<sup>-1</sup>), Simazin (2-cloro-4,6-bis(etilamino)-s-triazina, dosis 0,5 mg L<sup>-1</sup>), Diuron (DCMU; 3,4-Diclorofenil 1-1 dimetil urea; dosis 0,1 mg.L<sup>-1</sup>), Paraquat (N, N'-dimetil-4, 4'-bipiridina dicloruro, dosis 0.026 mg.L<sup>-1</sup>) y otros (7, 46, 47). Desde el punto de vista toxicológico su uso en el medio ambiente no es seguro.

El cloruro de didecildimetilamonio o el cloruro de n-alkil-dimetil-bencil-amonio y muchos otros compuestos similares son los componentes comunes en los alguicidas a pesar de no ser adecuado su uso en el

ecosistema acuático por su toxicidad para otros organismos acuáticos. El compuesto activo del Roundup es el glifosato; es un biocida generalmente considerado como seguro para el medio ambiente y está registrado como un herbicida de uso terrestre aunque la dosis efectiva para las algas y las cianobacterias es demasiado elevada para ser aplicada.

Compuesto	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Inhibición (%)
Quinona	0.5	100
Hidroquinona	0.5	100
Catecol	5.0	100
3,6-dicloro-2,5-dimetiloxibenzoquinona	16	75
Tetracloro hidroquinona	21	100
1,4-naftoquinona	1	100
2-metilnaftoquinona	1	100
2-dimetilamino-3- cloronaftilquinona	1	100
Quinoneclorimide	0.5	100
2,3-dicloronaftoquinona	0.002	100
9,10-fenantroquinona	0.08	100

El uso de algunos antibióticos puede proporcionar efectos selectivos en las cianobacterias, pero su uso a gran escala no es rentable. Varias quinonas han demostrado ser altamente tóxicas para las cianobacterias (Tabla 1) (48).

**Tabla 1.** Toxicidad de diversos compuestos de quinona hacia *Microcystis sp*

#### 4.3.2 Compuestos y materiales naturales

Existe una amplia gama de compuestos y materiales naturales que exhiben efectos alguicidas. Algunos macrófitos acuáticos pueden liberar compuestos alelopáticos y así suprimir el crecimiento del fitoplancton, muchos compuestos naturales que fueron aislados de diferentes organismos y materiales de las plantas muestran potencia cianocida. Sin embargo, para la mayoría de los compuestos naturales, sólo se han realizado estudios en laboratorios y nunca se han aplicado en la escala del lago.

##### Alelopatía

El término alelopatía se aplica a compuestos liberados por las plantas para suprimir el crecimiento de otras plantas u otros organismos fotosintéticos (49), los efectos pueden ser beneficiosos o perjudiciales. Este principio también puede ser empleado en el control de la proliferación de cianobacterias. Compuestos alelopáticos liberados de macrófitos acuáticos, *Miriophyllum*, afectan negativamente el crecimiento de cianobacterias. Los efectos inhibitorios de otros compuestos de *Miriophyllum* tales como los ácidos grasos también presentan efectos cianostáticos (50). No se conoce si la cantidad de compuestos alelopáticos liberados por los macrófitos acuáticos puede ser suficiente para reducir el crecimiento de las cianobacterias en el lago por lo que se necesita una mayor investigación en condiciones in situ para obtener más información sobre la importancia ecológica y evaluar la eficacia de la inhibición del crecimiento.

##### Paja de cebada

El uso de paja de cebada para inhibir el desarrollo de las floraciones de cianobacterias se conoce sobre todo en Gran Bretaña. Se han informado propiedades de la paja de cebada en descomposición en la inhibición de las algas (18); ésta libera los compuestos con efectos alguistáticos después de 4-6 semanas de la descomposición aeróbica en el agua a unos 10°C. El efecto inhibitor se demostró utilizando extracto de paja de cebada, el cual descompuesto contiene alto contenido de lignina.

A pesar de numerosos estudios, este mecanismo es aún poco conocido. Lo más probable es que el efecto inhibitorio no sea causado por un solo compuesto, sino por el efecto sinérgico de los diferentes componentes de la inhibición en el sistema. Por lo tanto, la paja de cebada debe aplicarse a principios de primavera para ofrecer resultados a partir del inicio del desarrollo de las cianobacterias. La dosis de aplicación varía entre 6-60 g m<sup>-3</sup>. Una dosis más alta puede causar problemas debido a la rápida pérdida de oxígeno o incluso a

la anoxia causada por la degradación bacteriana. Después de 4 (hasta 6) meses la paja en descomposición debe ser retirada y reemplazada por paja nueva. Como ventaja, si se aplica correctamente no tiene ningún impacto negativo en el ecosistema acuático aunque no siempre es eficaz.

### Otros materiales de plantas y la hojarasca

Se han estudiado otros materiales vegetales para explorar los posibles efectos similares a la paja de cebada. Se examinaron 17 extractos de tallos o de hojas de 9 especies de roble (51). Los desechos de coníferas también muestran un potente efecto alguicida. Su efecto se acompaña con la acidificación y el efecto alguicida se mantiene incluso en las soluciones tampón.

Los desechos de paja de cebada, paja de arroz, artemisa y crisantemo mostraron efectos inhibitorios sobre cianobacterias, proponiéndose a la liberación de los compuestos fenólicos como los principales agentes inhibitorios (52).

El efecto fue más fuerte en todos los casos en cianobacteria *Microcystis sp.* que en clorófitas *Scenedesmus sp.*

El crecimiento de *Microcystis aeruginosa* fue fuertemente inhibido por el extracto de paja de arroz en concentraciones de 0.01 a 10 mg.L<sup>-1</sup> (53). El extracto de piel de mandarina fresca, inhibió el crecimiento de *Microcystis aeruginosa* en un estudio de laboratorio (54).

### Compuestos aislados de plantas superiores, algas y bacterias

Cientos de nuevos compuestos aislados de plantas superiores, algas, cianobacterias y bacterias han sido probados por sus potenciales efectos cianocida y cianostático selectivos. Los extractos o los compuestos aislados de una amplia gama de organismos han sido informados por diversos autores (55). Estos compuestos suelen pertenecer a grupos de alcaloides, fenoles y polifenoles, quinonas, terpenos, ácidos orgánicos, etc. Otros compuestos tales como exudados bacterianos, productos químicos orgánicos o compuestos alelopáticos tienen la ventaja de ser de origen natural y presentar capacidad de descomposición. Algunos extractos naturales o compuestos, en concentraciones muy bajas, mostraron toxicidad para las cianobacterias y una menor toxicidad para otras especies acuáticas siendo considerados como compuestos prometedores para el uso como potenciales cianocidas. Los estudios se limitan al uso en el laboratorio sin ser utilizados para el tratamiento de las floraciones de cianobacterias en la práctica, por lo que se deben llevar a cabo muchos más estudios para evaluar su eficacia en las condiciones ambientales y la seguridad para el ecosistema acuático antes de la aplicación práctica en los lagos.

### 4.3.3 Productos químicos inorgánicos

#### Cobre

Probablemente, el alguicida más común es el sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O). Los efectos tóxicos del cobre para las algas y las cianobacterias son las inhibiciones de la fotosíntesis, la absorción de fósforo y la fijación de nitrógeno (56). Las cianobacterias podrían ser suprimidas en concentraciones tan bajas como 5-10 µg Cu L<sup>-1</sup>, sin embargo, en el medio acuático la dosis eficaz es generalmente mucho más alta (alrededor de 1 mg.L<sup>-1</sup>). En el caso de la gran biomasa de cianobacterias, que se acompaña generalmente con pH alto, incluso 30-300 mg Cu L<sup>-1</sup> pueden ser ineficaces. El efecto puede ser disminuido a causa de las precipitaciones debido al agua dura y pH alto, adsorción sobre materiales arcillosos, alcalinidad alta (por encima de 150 mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub>), la captación biológica y posiblemente también debido a la reducción de la toxicidad del cobre por la formación de complejos por exudados de cianobacterias (57). Por otro lado, la formación de complejos mantiene al cobre en solución, que por el contrario aumenta su efecto (5). El sulfato de cobre presenta mayores efectos tóxicos sobre las cianobacterias que en las clorófitas; su acción es rápida y el costo es relativamente barato. Se ha demostrado que las cianobacterias pueden desarrollar resistencia al cobre (58). Este es tóxico para muchos otros organismos acuáticos, incluyendo peces; se acumula en los sedimentos, que puede

afectar a los invertebrados bentónicos y causar problemas más adelante en los proyectos de remoción de sedimentos. Aunque recientemente se han informado algunas aplicaciones exitosas de cobre (59) en general su uso en los lagos no es aceptable y debe ser restringido.

#### Otros productos químicos inorgánicos

Existen otros biocidas inorgánicos altamente tóxicos para las cianobacterias como ser el nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ , con dosis efectiva  $0,04 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (56), el permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ , con dosis efectiva de  $1-3 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (7) y el hipoclorito de sodio ( $\text{NaOCl}$ , con dosis efectiva de  $0,5- 1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (7) Sin embargo, de manera similar como en el caso de sulfato de cobre, su aplicación en el medio acuático natural no es posible debido a su toxicidad no selectiva para muchos organismos acuáticos.

#### 4.3.4 Coagulantes-Alguicidas

Además de la utilización de compuestos que son en cierto modo tóxicos para las cianobacterias, también existe la posibilidad de utilizar coagulantes. Estos compuestos se utilizan comúnmente en las plantas de tratamiento de aguas residuales y también directamente en los lagos para coagular el fósforo del agua. Como ventaja, a diferencia de la aplicación clásica de alguicidas, las células de las cianobacterias no son lisadas, por lo que las toxinas no se liberan en el agua (7). Además de los parámetros químicos (pH del agua, dureza, capacidad buffer), la eficacia de la floculación de cianobacterias depende de su cantidad en el agua, el tamaño de sus colonias y de la densidad de algas. Un tratamiento eficaz puede ser efectivo por varias semanas hasta que las cianobacterias vuelvan a crecer a la densidad original. La floculación no es selectiva.

#### Efectos del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

El  $\text{H}_2\text{O}_2$  es un agente muy conocido con una gran capacidad oxidante, que se emplea comúnmente en la desinfección y tratamiento de aguas. También es un producto fotoquímico natural. El impacto del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en las especies del fitoplancton ha sido extensamente estudiado por varios autores (60).

La dosis efectiva de  $\text{H}_2\text{O}_2$  varía desde  $0.3$  hasta  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ , según las especies de cianobacterias, las cepas (unicelulares x colonias), las condiciones (laboratorio x entornos naturales) y la intensidad de la luz.

Del mismo modo también se puede utilizar  $\text{H}_2\text{O}_2$  en su forma sólida (peroxihidrato de carbonato de sodio,  $2\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}_2$ ). Como ventaja, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  afecta selectivamente a las cianobacterias en contraste con los peces, los macrófitos acuáticos o incluso las clorófitas.

Su utilización en lagos o embalses no conduce a la acumulación de residuos tóxicos en el medio ambiente, siendo un compuesto relativamente barato. También hay muy pocas posibilidades de obtener una resistencia al  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La principal limitación de su aplicación es el efecto a corto plazo.

#### Efectos sobre las especies del fitoplancton

*Microcystis aeruginosa* fue inhibida por concentraciones 10 veces inferiores a las concentraciones tóxicas para *P. subcapitata* y *N. seminulum*. Aunque se aprecian algunas diferencias entre las especies de cianobacterias, los efectos de la exposición del  $\text{H}_2\text{O}_2$  son diferentes en las clorófitas y en las diatomeas. La clorófito Ankistrodesmus fue sensible a dosis de  $6.4$  a  $10.2 \text{ mg de H}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ , mientras que una dosis efectiva para la inhibición del crecimiento de las cianobacterias *Microcystis* y *Raphidiopsis* fue de  $3.4$  y  $1.7 \text{ mg.L}^{-1}$  respectivamente.

Se dispone de escasa información en la literatura acerca de los efectos del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en las diatomeas.

#### Efectos dependientes de la luz

La toxicidad del  $\text{H}_2\text{O}_2$  se ve afectada por varios factores, uno de ellos es la irradiación.

La irradiación normal de la luz del día se encuentra entre 500-2000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y dispone de un amplio espectro de longitudes de onda, incluyendo los UV. Por el contrario, la mayoría de las pruebas de laboratorio se llevan a cabo con irradiación de 20 a 70  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  mediante el uso de lámparas fluorescentes que no emiten rayos UV; esto puede implicar diferencias significativas en los resultados de las pruebas de toxicidad del  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Se han observado efectos tóxicos del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en la oscuridad aunque la luz los aumenta sustancialmente. El efecto de la luz inducida fue más significativo en las pruebas con *M. aeruginosa*, donde la irradiación de 500  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  causó toxicidad del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en concentraciones aproximadamente 20 veces menores que en la oscuridad. Incluso con poca luz (10  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) se observó un aumento de 5 veces la toxicidad del  $\text{H}_2\text{O}_2$  respecto del ensayo en la oscuridad.

La toxicidad dependiente de la luz también se produjo en las clorófitas (*P. subcapitata*) y en diatomeas (*N. seminulum*), aunque de manera menos significativa y en concentraciones mucho más altas de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Por ello, la combinación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  con una alta radiación lumínica aumenta la selectividad de los efectos del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en las cianobacterias.

La mayor toxicidad del peróxido a mayores irradiancias en los organismos fotosintéticos podría ser causada por la co-acción con un aumento del estrés oxidativo interior. Estos resultados sugieren que la posibilidad de obtener una resistencia en las cianobacterias a los peróxidos es limitada.

#### **Modo de acción y causa de los efectos selectivos en las cianobacterias**

El modo de la acción tóxica del  $\text{H}_2\text{O}_2$  es la formación de radicales hidroxilo y posterior oxidación de las biomoléculas en general. Estudios recientes sugieren ciertos mecanismos específicos involucrados en el transporte del  $\text{H}_2\text{O}_2$  a través de las membranas (61).

El efecto selectivo del  $\text{H}_2\text{O}_2$  hacia las cianobacterias está bien establecido. A partir de mediciones realizadas con los parámetros de fluorescencia, se ha evidenciado que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  daña el aparato fotosintético.

La hipótesis para explicar que las cianobacterias son más sensibles al  $\text{H}_2\text{O}_2$  contiene tres elementos.

En primer lugar, las cianobacterias tienen ficobilisomas (complejos supramoleculares) en el exterior de la membrana tilacoidal expuestos directamente al citoplasma. Las ficobilinas sirven como pigmentos captadores de luz.

En segundo lugar, la estructura típica procariota de las cianobacterias hace al aparato fotosintético más susceptible al agregado de reactivos externos que en los organismos con fotosistemas presentes en los cloroplastos.

En tercer lugar, las cianobacterias tienen vías de desintoxicación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  menos elaboradas. En los organismos fotosintéticos el  $\text{H}_2\text{O}_2$  se origina principalmente como un subproducto de la fotosíntesis oxigénica. Estos organismos poseen enzimas que reducen al  $\text{H}_2\text{O}_2$  y previenen los daños causados por este compuesto reactivo. Las principales enzimas de la desintoxicación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en las cianobacterias son la catalasa o la catalasa-peroxidasa, pero en algunas cianobacterias también se han encontrado a la ascorbato peroxidasa, la tioredoxina peroxidasa y el glutatión. Tanto la catalasa o la catalasa-peroxidasa se conocen como enzimas citoplasmáticas capaces de desintoxicar la elevada cantidad de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La inactivación de la catalasa por la luz hace que las cianobacterias sean aún más susceptibles al  $\text{H}_2\text{O}_2$  en altas intensidades de luz. En las clorófitas la principal enzima de desintoxicación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  es, además de la catalasa (presente en los peroxisomas), la ascorbato peroxidasa; esta enzima podría estar presente en el citosol y se asocia con compartimentos celulares y no es inactivada por altas intensidades de luz. También se encontró actividad ascorbato peroxidasa en algunas especies de cianobacterias.

En relación con estos hechos, se supone que la diferencia significativa en la sensibilidad de las cianobacterias en comparación con las clorófitas sólo se aplica al peróxido de hidrogeno y no necesariamente a otras especies reactivas de oxígeno para los que las enzimas de desintoxicación son diferentes.

En cuanto a las diferencias en la estructura de las células cianobacterianas, los tilacoides de las mismas se encuentran en los cloroplastos cerca de la membrana citoplasmática no organizada, que junto con las diferencias en las enzimas de desintoxicación del  $H_2O_2$ , hace al aparato fotosintético de las cianobacterias más susceptibles al ataque externo del  $H_2O_2$ . En las clorófitas, el  $H_2O_2$  añadido externamente es degradado por la ascorbato peroxidasa en otras partes de la célula antes de que pueda llegar en concentración suficiente a las partes sensibles del aparato fotosintético.

### Destino en el medio acuático

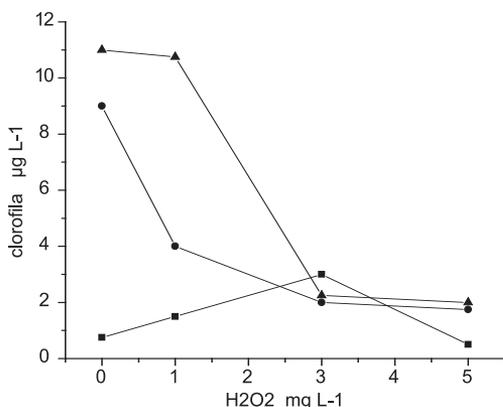
El  $H_2O_2$  en el medio acuático sufre una rápida degradación debido a la exposición a la luz solar y las reacciones con los organismos acuáticos (fito y bacterioplancton) y compuestos orgánicos.

El  $H_2O_2$  es un componente comúnmente encontrado en el medio acuático; además de su degradación también se produce en este medio. En el agua superficial se producen concentraciones entre  $10^{-7}$  a  $10^{-6}$  M, pero puede llegar a concentraciones de  $10^{-5}$  M ( $0.34 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (62). La formación de  $H_2O_2$  y especies reactivas del oxígeno (ROS) en las aguas superficiales es inducida por parte de la radiación UV y la presencia de fotosensibilizadores naturales como el carbono orgánico disuelto y las sustancias húmicas (63). Las diatomeas y las clorófitas son aproximadamente 10 veces menos sensibles al  $H_2O_2$ ; en ocasiones especiales de alta producción de ROS, puede cambiar la representación de las especies del fitoplancton predominando las clorófitas y diatomeas sobre las cianobacterias, aunque algunos autores proponen que la reducción del  $H_2O_2$  en el agua en concentraciones inferiores a  $3 \times 10^{-7}$  M puede promover el desarrollo predominante de las cianobacterias (62). La aparición de especies de fitoplancton en relación con esta baja producción de  $H_2O_2$  no ha sido debidamente estudiada.

### Efectos sobre los organismos acuáticos

La posible aplicación de  $H_2O_2$  en el lago debe basarse en la dosis efectiva conocida no sólo para las cianobacterias, sino también para otros organismos acuáticos. Como se informó anteriormente, la concentración de  $2.5 \text{ mg de } H_2O_2 \text{ L}^{-1}$  afecta en gran medida a las cianobacterias (inhibición cercana al 100%) mientras que produce escaso o nulo efecto en las clorófitas.

La dosis efectiva para matar floraciones naturales de cianobacterias en ambientes naturales es alrededor de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ . Esto se debe a la baja susceptibilidad de las cianobacterias en ambientes debido a la capa de mucílago, a la agregación de colonias y un efecto de la disminución de la eficiencia del  $H_2O_2$  debido a la rápida degradación en la alta irradiación y el agua rica en células del fitoplancton, bacterioplancton y materia orgánica.



**Fig. 1:** Inhibición del crecimiento de tres grupos de fitoplancton en la comunidad mixta natural del fitoplancton después del tratamiento con diferentes concentraciones de  $H_2O_2$  en un estudio de laboratorio: ■ clorófitas, ● cianobacterias, ▲ diatomeas.

Un posible tratamiento cianocida con  $H_2O_2$  en dosis de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  en condiciones naturales puede afectar a algunos individuos o especies del zooplancton sensibles. Sin embargo, el crecimiento del zooplancton es por lo general fuertemente reprimido por la aparición de

floraciones cianobacterianas (64). El efecto global de la aplicación de  $H_2O_2$  en la diversidad y abundancia del zooplancton puede ser bastante beneficioso.

La concentración de  $15 \text{ mg.L}^{-1}$ , no podría tener efectos nocivos en los peces, ni siquiera en el caso de las primeras etapas de la vida (65), en algunas ensayos preliminares, la concentración de  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  no causó ningún efecto en moluscos *Potamopyrgus antipodarum*; en otros ensayos, las macrófitas acuáticas *Elodea canadensis* y *Lemna minor* en concentraciones de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  mostraron la estimulación del crecimiento. En concentraciones de  $5 \text{ mg de } H_2O_2 \text{ L}^{-1}$  no se espera toxicidad para los organismos superiores.

Las bacterias gram-negativas son bastante insensibles al  $H_2O_2$  y son incluso capaces de obtener la resistencia mediante el desarrollo del fenotipo tolerante.

En trabajos llevados a cabo por el grupo de investigación a nivel de laboratorio se evidenció una acción bacteriolítica del agua oxigenada en una dosis de  $3 \text{ mg.L}^{-1}$  en el agua de laguna; el efecto encontrado en los recuentos de coliformes fue la disminución de los valores iniciales de  $10^4 \text{ NMP/100 ml}$  a  $<2 \text{ NMP/100 ml}$  luego de 48 horas de tratamiento (comunicación personal).

#### 4.4. El agua oxigenada como cianocida

Existen posibles limitaciones para el uso del  $H_2O_2$  dadas por los aspectos problemáticos de los tratamientos cianocidas:

##### I) Efectos sobre los otros organismos

Las pruebas de laboratorio mostraron una dosis cianocida efectiva de  $H_2O_2$  de  $0.3 \text{ mg.L}^{-1}$  sin embargo, en condiciones de campo la concentración más baja con efecto tóxico agudo en las floraciones cianobacterianas es de  $3-5 \text{ mg.L}^{-1}$ . En esas concentraciones puede ser perjudicial para algunas otras especies acuáticas, en particular las especies sensibles del zooplancton y fitoplancton, aunque estas especies son suprimidas por el desarrollo de las cianobacterias, por lo tanto la aplicación puede ser bastante beneficiosa para ellos. Si la concentración de  $H_2O_2$  no excede de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ , la aplicación no causa ningún efecto negativo sobre los peces, macrófitos y moluscos, lo cual es una ventaja importante en comparación con los tratamientos de cobre común.

##### II) Descomposición de la biomasa muerta

En general, la lisis celular del ya crecido florecimiento cianobacteriano lleva a la liberación accidental del contenido de la célula (incluyendo las toxinas) en el agua. La rápida degradación bacteriana de grandes cantidades de biomasa muerta puede dar lugar a la anoxia seguida de la muerte de los peces. Estos riesgos pueden ser en general reducidos por los tratamientos al comienzo de la temporada, cuando la biomasa de las cianobacterias no alcanza aún el estado de floración. En cuanto a los problemas con el oxígeno durante la descomposición de la biomasa, hay dos posibles aspectos beneficiosos; el  $H_2O_2$  se descompone en oxígeno y agua, por lo tanto su aplicación, en principio, agrega el oxígeno en el agua y el otro es que su efecto bactericida impide una rápida degradación bacteriana accidental de la biomasa muerta.

##### III) Desarrollo de resistencia

Se ha descrito una respuesta adaptativa al  $H_2O_2$  o a las ROS para las bacterias gram-negativas y cianobacterias respectivamente (66). En los experimentos, no se encontró ninguna evidencia de disminución de la sensibilidad de las cianobacterias al  $H_2O_2$  debido a la adaptación. Por otro lado, el corto tiempo de vida y el efecto a corto plazo del  $H_2O_2$  limita la posibilidad de desarrollar una resistencia. Esto podría ser otra de las ventajas de la aplicación del  $H_2O_2$  en comparación a los tratamientos de cobre común.

##### IV) Efectos temporales

La rápida degradación del  $H_2O_2$  en productos no tóxicos es una ventaja y al mismo tiempo, también

representa la mayor limitación de los tratamientos. El  $H_2O_2$  aplicada en una sola dosis de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  va a desaparecer del agua del lago en un día, probablemente incluso más rápidamente. La posible solución podría ser la aplicación de varias dosis de peróxido durante toda la temporada. Todos los estudios de toxicidad del  $H_2O_2$  se basan en una dosis única o una exposición de pulsos. Resulta necesario evaluar los posibles aspectos negativos de una exposición permanente sobre los organismos acuáticos.

En el caso del peróxido aplicado en una única dosis suficientemente alta, una pequeña porción de las cianobacterias siempre se verá afectada a causa de una desigual distribución del compuesto en el agua del lago o debido a la supervivencia de la población habitual en la capa superior de los sedimentos del lago. Las cianobacterias restantes volverán a crecer y pueden llegar a la densidad original en unas pocas semanas o incluso días. Posiblemente, como una ventaja, el efecto selectivo del  $H_2O_2$  puede apoyar al crecimiento de las clorófitas y evitar o retrasar el nuevo crecimiento de cianobacterias en el lago debido a la competencia por la luz y los nutrientes.

La dosis debe ser elegida con respecto a la densidad de cianobacterias y al fitoplancton en el agua del lago así como también al momento de la temporada. Los estudios experimentales demuestran que a fines del verano la población de cianobacterias (*Microcystis sp.*) es mucho menos vulnerable al  $H_2O_2$  que la población en primavera y principios de verano.

Para finalmente evaluar si el peróxido de hidrógeno es un agente adecuado para el tratamiento de las cianobacterias en los lagos deben llevarse a cabo estudios de campo. En la literatura científica actual existen pocos estudios al respecto. A pesar de los inconvenientes antes mencionados, la sensibilidad específica de las cianobacterias al  $H_2O_2$  ofrece una nueva perspectiva y una mejor alternativa al inaceptable tratamiento con cobre.

## Referencias

1. Chorus I, Bartram J. (Eds.) Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management. WHO & E & FN Spon. London; 1999.
2. Falconer I.R. An overview of problems caused by toxic blue green algae (cyanobacteria) in drinking and recreational water. Environ. Toxicol. 1999; 14:5-12.
3. Mur LR, Skulberg OM, Utkilen H. (edit.) Cyanobacteria in the environment. In: Chorus I y Bartram J. (edit.): Toxic cyanobacteria in water. WHO & E & FN SPON. London and New York; 1999. p.15-40.
4. Reynolds CS, Jaworski GHM, Cmiech HA, Leedale GF. On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz emend Elenkin. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1981; 293:419-445.
5. Cooke GD, Welch EB, Peterson SA, Nichols SA. Restoration and Management of Lakes and Reservoirs. 3rd edition. Editor-Cooke GD, Taylor an Francis, Boca Raton, Florida; 2005. p. 591.
6. Kenefick SL, Hrudey SE, Peterson HG, Prepas EE. Toxin release from *Microcystis aeruginosa* after chemical treatment. Wat. Sci. Tech. 1993; 27:433-440.
7. Lam AKY, Prepas EE, Spink D, Hrudey SE. Chemical Control of Hepatotoxic Phytoplankton Blooms-Implications for Human Health. Water Research. 1995; 29:1845-1854.
8. Smith VH. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. Science. 1983; 221:669-671.
9. Stahl-Delbanco A, Hansson LA, Gyllstrom M. Recruitment of resting stages may induce blooms of *Microcystis* at low N:P ratios. Journal of Plankton Research. 2003; 25(9):1099-1106.
10. Salvia-Castellvi M, Dohet A, Vander Borgh P, Hoffmann L. Control of the eutrophication of the reservoir of Esch-sur-Sure (Luxembourg): evaluation of the phosphorus removal by predams. Hydrobiologia. 2001; 459:61-71.
11. Bernhardt H. Reservoir protection by in-river nutrient reduction. In: Restoration of Lakes and Inland Waters. EPA 440/5-81-010; 1980. p. 272-277.
12. Clasen J, Bernhardt H. Chemical methods of P-elimination in the tributaries of reservoirs and lakes. Schweiz Z. Hydrol. 1987; 49:249-259.

13. Pokorny J, Hauser V. The restoration of fish ponds in agricultural landscapes. *Ecological Engineering*. 2002; 18:555-574.
14. Jacobs PH, Forstner U. Concept of sub aqueous capping of contaminated sediments with active barrier systems (ABS) using natural and modified zeolites. *Water Research*. 1999; 33:2083-2087.
15. Hart B, Roberts S, James R, Taylor J, Donnert D, Furrer R. Use of active barriers to reduce eutrophication problems in urban lakes. *Water Science and Technology*. 2003; 47:157-163.
16. Chorus I, Mur LE. Preventative measures. In: Chorus I y Bartram J. (edit.): *Toxic cyanobacteria in water*. E & FN SPON, London and New York; 1999. p. 235-273.
17. Kortmann RW, Knoecklein GW, Bonnell CH. Aeration of stratified lakes: Theory and practise. *Lake and Reservoir Manage*. 1994; 8:99-120.
18. Welch IM, Barrett PRF, Gibson MT, Ridge I. Barley straw as an inhibitor of algal growth. *Studies in Chesterfield Canal. Journal of Applied Phycology*. 1990; 2:231-239.
19. Shapiro J. Blue green dominance in lakes: The role and management significance of pH and CO<sub>2</sub>. *Int. Rev. ges. Hydrobiology*. 1984; 69:765-780.
20. Deppe T, Ockenfeld K, Meyborn A, Opitz M, Benndorf J. Reduction of *Microcystis* blooms in a hypereutrophic reservoir by a combined ecotechnological strategy. *Hydrobiologia*. 1999; 408/409:31-38.
21. Reynolds CS, Wiseman SW, Clarke MJO. Growth and loss rate responses of phytoplankton to intermittent artificial mixing and their potential application to the control of planktonic algal biomass. *Journal Applied Ecology*. 1984; 21:11-39.
22. Lee TJ, Nakano K, Matsumura M. Ultrasonic irradiation for blue-green algae bloom control. *Environmental Technology*. 2001; 22:383-390.
23. Hrbáček J, Dvorská M, Korínek V, Procházková L. Demonstration of the effect of the fish stock on the species composition of zooplankton and the intensity of metabolism of the whole plankton association. *Verh. Intern. Ver. Limnol*. 1961; 14:192-195.
24. Shapiro J, Lammara V, Lynch M. Biomanipulation: an ecosystem approach to lake restoration. In: Brezonik PL, Fox JF (Eds), *Proceedings of a symposium on water quality management through biological control*. Univ of California, Gainesville; 1975. p 85-96.
25. Cannon RE, Shane MS, Whitaker JM. Interaction of *Plectonema boryanum* (Cyanophyceae) and the LPP-cyanophages in continuous culture. *Journal Phycology*. 1976; 12:418-421.
26. Waterbury JB, Valois FW. Resistance to co-occurring phages enables marine *Synechococcus* communities to coexist with cyanophages abundant in seawater. *Appl. Environm. Microbiol*. 1993; 59:3393-3399.
27. Ahn CY, Jeong SH, Jeon JW y col. Selective control of cyanobacteria by surfactin-containing culture broth of *Bacillus subtilis* C1. *Biotechnology Letters*. 2003b; 25:1137-1142.
28. Shi SY, Liu YD, Shen YW, Li GB, Li DH. Lysis of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacterium) by a bacterium *Bacillus cereus*. *Biological Control*. 2006; 39(3):345-351.
29. Choi HJ, Kim BH, Kim JD, Han MS. *Streptomyces neyagawaensis* as a control for the hazardous biomass of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in eutrophic freshwaters. *Biological Control*. 2005; 33(3):335-343.
30. Wu JT, Kuo-Huang LL, Lee J. Algicidal effect of *Peridinium bipes* on *Microcystis aeruginosa*. *Current Microbiology*. 1998; 37:257-261.
31. Redhead K, Wright SJL. Isolation and properties of fungi that lyse blue-green algae. *Appl. Environ. Microbiol*. 1978; 35:962-969.
32. Pajdak-Stos A, Fialkowska E, Fyda J. *Phormidium autumnale* (Cyanobacteria) defence against three ciliate grazer species. *Aquatic Microbial Ecology*. 2001; 23:237-244.
33. Ho TSS, Alexander M. The feeding of amebae on algae in culture. *J. Phycol*. 1974; 10:95-100.
34. Sugiura N, Inamori Y, Sudo R, Ouchiya T, Miyoshi Y. Degradation of blue green alga, *Microcystis aeruginosa* by Flagellata, *Monas guttula*. *Environmental Technology*. 1990; 11: 739-746.
35. Duval RJ, Anderson LJW. Laboratory and greenhouse studies of microbial products used to biologically control algae. *Journal of Aquatic Plant Management*. 2001; 39:95-98.
36. Ripl W. Sediment treatment. In: Eiseltová M. (Ed.) *Restoration of Lake Ecosystems- A Holistic Approach*; 1994. International Waterfowl and Wetlands Research bureau, Slimbrodge, Gloucester, UK; 1994. p.75-81.

37. Wolter KD. Phosphorus precipitation. In: Eiseltová M. (Ed.) Restoration of Lake Ecosystems; 1994.- A Holistic Approach. International Waterfowl and Wetlands Research bureau, Slimbrodge, Gloucester, UK, 1994; p. 63-68.
38. Welch EB, Cooke GD. Effectiveness and longevity of phosphorus inactivation with alum. Journal of Lake and Reservoir Management. 1999; 15:5-7.
39. Rydin E, Huser B, Welch EB. Amount of phosphorus inactivated by alum treatments in Washington lakes. Limnology and Oceanography. 2000; 45:226-230.
40. Falconer I.R, Burch M, Steffensen D, Choice M, Coverdale OR. Toxicity of the blue-Green alga (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. Environ. Toxicology and Water Quality: An International Journal. 1994; 9: 131-139.
41. Deppe T, Benndorf J. Phosphorus reduction in a shallow hypereutrophic reservoir by in-lake dosage of ferrous iron. Water Research. 2002; 36:4525-4534.
42. Sondergaard M, Wolter KD, Ripl W. Chemical treatment of water and sediments with special reference to lakes; 2002. In: Perrow MR, Davy AJ. (Eds.) Handbook of Ecological Restoration, Volume 1, Cambridge university press; 2002. p.184-205.
43. Yee KA, Prepas EE, Chambers PA, Culp JM, Scrimgeour G. Impact of  $\text{Ca(OH)}_2$  treatment on macroinvertebrate communities in eutrophic hardwater lakes in Boreal Plain region of Alberta: in situ and laboratory experiments. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2000; 57:125-136.
44. Robb M, Greenop B, Goss Z, Douglas G, Adeney J. Application of Phoslock<sup>TM</sup>, an innovative phosphorus binding clay, to two Western Australian waterways: preliminary findings. Hydrobiologia. 2003; 494:237-243.
45. Atkins R, Rose T, Brown RS, Robb M. The *Microcystis* cyanobacteria bloom in the Swan River-February 2000. Water Science and Technology. 2001; 43:107-114.
46. Swain N, Rath B, Adhikary SP. Growth-response of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to herbicides and pesticides. Journal of Basic Microbiology. 1994; 34:197-204.
47. Schrader KK, de Regt MQ, Tidwell PR, Tucker CS, Duke SO. Compounds with selective toxicity towards the off-flavor metabolite-producing cyanobacterium *Oscillatoria cf. chalybea*. Aquaculture. 1998b; 163:85-99.
48. Fitzgerald G.P, Gerloff GC, Skoog F. Studies on chemicals with selective toxicity to blue-green algae. Sewage Ind. Wastes. 1952; 24,888-896.
49. Gross EM. Allelopathy of aquatic autotrophs. Crit. Rev. Plant Sci. 2003; 22:313-339.
50. Nakai S, Yamada S, Hosomi M. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. Hydrobiologia. 2005; 543:71-78.
51. Park MH, Hwang SJ, Ahn CY, Kim BH, Oh HM. Screening of seventeen oak extracts for the growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz. em. Elenkin. Bull. Env. Contam. Toxicol. 2006a; 77:9-14.
52. Choe S, Jung I. Growth inhibition of freshwater algae by ester compounds released from rotted plants. J. Ind. Eng. Chem. 2002; 8(4):297-304.
53. Park MH, Han MS, Ahn CY y col. Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. Letters in Applied Microbiology. 2006b; 43:307-312.
54. Chen J, Liu Z, Ren G, Li P, Jiang Y. Control of *Microcystis aeruginosa* TH01109 with batangas mandarin skin and dwarf banana peel: Technical Note, Water SA. 2004; 30(2):279-282.
55. Nagle DG, Sultana GNN, Schrader KK y col. Secondary metabolites from plants and marine organisms as selective anti-cyanobacterial agents. Off-Flavors in Aquaculture. 2003; 848:179-194.
56. Havens KE. Structural and functional responses of a fresh water plankton community to acute copper stress. Environ. Pollution. 1994; 86:259-266.
57. Stepánek M, Cervenka R. Problémy eutrofizace v praxi. Avicenum. Praha; 1974. p.232.
58. Shavyrina OB, Gapochka LD, Azovskii AI. Development of tolerance for copper in cyanobacteria repeatedly exposed to its toxic effect. Biology Bulletin. 2001; 28(2):183-187.
59. Van Hullebusch E, Deluchat V, Chazal PM, Baudu M. Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: Part II. Case of copper sulfate. Environmental Pollution. 2002; 120:627-634.

60. Drábková, M. Methods for control of the cyanobacterial blooms development in lakes. Dissertation thesis 2007.
61. Bienert GP, Schjoerring JK, Jahn TP. Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta–Biomembranes*. 2006; 1758(8):994-1003.
62. Skurlatov Y, Ernestova LS. The impact of human activities on freshwater aquatic systems. *Acta Hydroch. Hydrob.* 1998; 26(1):5-12.
63. Gjessing ET, Kallqvist T. Algicidal and chemical effect of UV-radiation of water containing humic substances. *Water Res.* 1991; 25(4):491-494.
64. Rohrlack T, Christoffersen K, Dittmann E y col. Ingestion of microcystins by *Daphnia*: Intestinal uptake and toxic effects. *Limnology and oceanography*, 2005; 50(2):440-448.
65. Gaikowski MP, Rach JJ, Ramsay RT. Acute toxicity of hydrogen peroxide treatments to selected lifestages of cold-, cool-, and warm water fish. *Aquaculture*, 1999; 178:191-207.
66. Yousef N, Pistorius EK, Michel KP. Comparative analysis of *idiA* and *isiA* transcription under iron starvation and oxidative stress in *Synechococcus elongatus* PCC 7942 wild-type and selected mutants. *Archives of Microbiology*, 2003; 180(6):471-483.