

A1. FATTORI INERENTI ALLO SVILUPPO DI FIORITURE DI CIANOBATTERI TOSSICI CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A EUTROFIZZAZIONE E CAMBIAMENTI CLIMATICI

Nico Salmaso (a)*, Diego Copetti (b), Licia Guzzella (b), Maura Manganelli (c), Eleonora Masala (d), Luigi Naselli-Flores (e)

(a) Centro Ricerca ed Innovazione, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (TN)

(b) Istituto di Ricerca Sulle Acque, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Brugherio (MB)

(c) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(d) Laboratorio di Prevenzione dell'Azienda Sanitaria Locale della provincia di Lecco, Oggiono (LC)

(e) Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Sezione di Botanica ed Ecologia Vegetale, Università di Palermo, Palermo

*nico.salmaso@fmach.it

A1.1. Introduzione

L'utilizzo delle risorse acquatiche per scopi ricreativi o potabili può essere fortemente compromesso dalla presenza e sviluppo di cianobatteri tossici. I cianobatteri sono un ampio gruppo di batteri fotosintetici ossigenici che hanno iniziato a evolversi almeno 2,5-3 miliardi di anni fa (Schopf, 2012). Questa lunga storia evolutiva è alla base delle elevate capacità competitive che caratterizzano questo gruppo di microrganismi. I cianobatteri sono presenti in gran parte degli habitat acquatici e terrestri, compresi ambienti estremi quali i deserti (Makhalanyane *et al.*, 2013), gli ambienti polari (Kleinteich *et al.*, 2012), e sorgenti calde e ipersaline (Dadheech *et al.*, 2013). In condizioni di elevate concentrazioni di nutrienti, limitato ricambio idrico, elevate temperature e stabilità termica, i cianobatteri possono svilupparsi raggiungendo densità e biomasse molto alte, dando luogo alla formazione di ammassi distribuiti nella zona eufotica o diversamente localizzati negli strati superficiali, subsuperficiali e profondi (Paerl & Huisman, 2009).

La presenza di eccessive proliferazioni cianobatteriche oltre ai disagi conseguenti alla produzione di sostanze maleodoranti (Bowmer *et al.*, 1992), ha importanti conseguenze negative per l'utilizzo delle risorse acquatiche, a causa del rischio connesso con la produzione e rilascio di composti tossici (cianotossine) nelle acque destinate ad uso potabile e ricreativo (Funari & Testai, 2008; Messineo *et al.*, 2010; Cerasino & Salmaso, 2012; Metcalf & Codd, 2012; vedi capitoli A3 e A4), nonché per il trasferimento di tossine lungo le reti trofiche e alimentari (Shams *et al.*, 2014; Sotton *et al.*, 2014). La definizione e la valutazione quantitativa del rischio dipendono dall'autoecologia delle specie cianobatteriche dominanti (e quindi dalle modalità di formazione delle fioriture), dalla presenza di ceppi tossici, dalla tipologia di tossine prodotte, e dalla destinazione d'uso delle risorse acquatiche (Codd *et al.*, 2005a; Dietrich & Hoeger, 2005; Manganelli *et al.*, 2012). A titolo esemplificativo, le implicazioni per l'utilizzo delle acque derivanti dallo sviluppo di popolazioni di *Dolichospermum lemmermannii* e *Planktothrix rubescens* saranno molto diverse a seconda che le acque siano destinate ad uso ricreativo o potabile. La prima specie è in grado di formare estese fioriture superficiali, richiedendo particolare attenzione per la salute dei bagnanti e l'uso ricreativo dei corpi lacustri. Nel corso dei mesi estivi la seconda specie è invece strettamente localizzata negli strati più

profondi, ponendo potenziali problemi soprattutto per l'approvvigionamento di acqua potabile a causa del posizionamento a profondità discrete dei punti di captazione.

Gli effetti negativi e spesso letali determinati dall'ingestione di cianobatteri tossici da parte di diversi gruppi di vertebrati terrestri e organismi acquatici sono stati ampiamente descritti a partire dall'Ottocento (Francis, 1878). A sottolineare l'attenzione che veniva posta a questo problema già dalla metà del secolo scorso, si consideri che l'articolo di apertura del primo numero di *Hydrobiologia*, una delle riviste di punta della ricerca idrobiologica internazionale, aveva come titolo: "Objectionable algae with reference to the killing of fish and other animals" (Prescott, 1948). Una rassegna dei casi di intossicazioni umane – letali e non – causati dalla presenza di diversi tipi di cianobatteri in acque destinate ad uso ricreativo, potabile e sanitario (emodialisi) è riportata nel capitolo A3.

In molti dei casi sopra descritti si fa riferimento agli effetti causati dalla formazione di fioriture cianobatteriche (*cyanobacterial blooms*). In letteratura questo termine è utilizzato in un'accezione molto ampia, comprendendo fenomeni anche molto diversi tra di loro, che includono la formazione di schiume superficiali, lo sviluppo di elevate concentrazioni di cianobatteri nell'intera colonna d'acqua o a profondità discrete (e quindi non rilevabili in superficie). Reynolds & Walsby (1975), in una delle prime importanti rassegne sull'argomento, suggerirono di riservare il termine "fioriture" ai soli accumuli superficiali visibili ad occhio nudo. Fenomeni caratterizzati da elevati sviluppi di cianobatteri, senza manifestazioni visibili, non dovrebbero pertanto essere, a rigore, classificati tra i casi di fioriture algali (Salmaso, 2005). È da tenere comunque presente che nel gergo tecnico-scientifico non è infrequente imbattersi in termini quali, per esempio, "fioriture metalimnetiche" o "fioriture" ad indicare l'addensamento di specie cianobatteriche negli strati metalimnetici (es. alcune Oscillatoriales planctoniche) o epilimnetici, senza alcuna manifestazione visibile sulla superficie dell'acqua.

In questo volume l'attenzione è rivolta ai problemi connessi con l'utilizzo di acque destinate ad uso ricreativo contaminate da popolazioni cianobatteriche. Nel capitolo, particolare enfasi sarà data non solo alla formazione e dinamica delle fioriture in senso stretto, ma anche allo sviluppo massivo di cianobatteri nella colonna d'acqua, senza formazione di fioriture visibili. Questi diversi tipi di manifestazioni, essendo talvolta legati allo sviluppo di specie differenti, richiedono approcci specifici per la valutazione del rischio, anche in relazione alla spiccata dinamicità temporale e spaziale che caratterizza molti cianobatteri. Dopo una breve introduzione alle principali caratteristiche dei cianobatteri e alla moderna tassonomia (paragrafo A1.2), il diverso posizionamento delle popolazioni cianobatteriche in un corpo lacustre sarà esaminato nel paragrafo A1.3. I principali fattori che favoriscono lo sviluppo dei cianobatteri saranno presi in rassegna nel paragrafo A1.4, mentre nel paragrafo A1.5 saranno discusse le condizioni necessarie per la formazione delle fioriture superficiali. La produzione di tossine ed esempi riguardanti la formazione, dinamica e impatto di fioriture superficiali e metalimnetiche saranno considerati rispettivamente nei paragrafi A1.6 e A1.7.

A1.2. Principali caratteristiche dei cianobatteri e cenni di tassonomia

A1.2.1. Caratteristiche principali dei cianobatteri

Le cellule dei cianobatteri sono di tipo batterico (procariote) con una parete di tipo Gram-negativo. A differenza degli eucarioti, questi organismi non posseggono cioè organelli quali nucleo, mitocondri, e cloroplasti. L'assorbimento di energia per la fotosintesi è assicurato dalla

presenza di clorofilla-a associata a tilacoidi liberi nel citoplasma. Carotenoidi (tra cui xantofille e β -carotene) e ficobiliproteine (ficoeritrina e ficocianina) organizzate in ficobilisomi consentono di ottimizzare l'assorbimento della radiazione fotosinteticamente attiva (*Photosynthetically Active Radiation*, PAR), permettendo la colonizzazione di ambienti con diverso regime di illuminazione (Graham *et al.*, 2009). Alcuni generi, un tempo compresi nelle Prochlorophyta (tra cui *Prochloron*), posseggono clorofilla-a e clorofilla-b, e sono privi di ficobilisomi.

Molti cianobatteri presentano all'interno delle singole cellule delle strutture costituite da proteine globulari, spesso chiamate vacuoli gassosi o vescicole gassose. Entrambe le voci sono fuorvianti, in quanto tali strutture non sono circondate da membrane. Essendo ormai entrati nell'uso comune, questi termini saranno tuttavia utilizzati anche in questo lavoro. Al microscopio i gruppi di vacuoli gassosi ("aerotopi") sono visibili come corpi più scuri rotondeggianti o irregolari. Le singole vescicole sono costituite da numerose strutture cilindriche vuote, con lunghezza fino a 1 μm e diametro mediamente pari a 0,075 μm . Questi sottili cilindri sono chiusi da estremità coniche, e sono circondati da un'unica parete di 2 nm di spessore (Walsby, 1994). La robustezza delle vescicole gassose dipende dal diametro e non tanto dalla lunghezza. Possedendo la caratteristica di escludere l'acqua e altri costituenti cellulari, i singoli cilindri sono riempiti pressoché esclusivamente di gas atmosferico, ciò che li rende molto meno densi dell'acqua (120 kg/m³). I vacuoli gassosi sono pertanto delle strutture particolarmente adatte per il movimento verticale dei cianobatteri, e i principali responsabili, a livello cellulare, della formazione delle fioriture (*vedi* paragrafo A1.5).

Diverse specie cianobatteriche, al pari di altri batteri e a differenza di tutte le altre alghe eucariote, sono in grado di trasformare e assimilare l'azoto atmosferico gassoso in ioni ammonio, utilizzati per la sintesi di aminoacidi, proteine e altri costituenti cellulari. La riduzione dell'azoto atmosferico da parte del complesso enzimatico che catalizza il processo di riduzione (nitrogenasi) può avvenire solo in assenza di ossigeno. La fissazione dell'azoto avviene, nella maggior parte dei casi in particolari cellule cianobatteriche specializzate, eterociti ("eterocisti"), che sono in grado di bloccare la diffusione dell'ossigeno al loro interno. Questa caratteristica è dovuta a una serie di modificazioni strutturali e biochimiche, quali la formazione di pareti ispessite avvolte da strati di mucillagine, la presenza di numerosi batteri (che consumano O₂) nelle giunzioni tra le eterocisti e le cellule vegetative e il blocco della produzione di O₂ fotosintetico attraverso l'inibizione del fotosistema II (Graham *et al.*, 2009). Le dimensioni e la posizione lungo i filamenti delle eterocisti sono state ampiamente utilizzate come carattere sistematico. In taluni casi, la loro assenza può precludere l'esatta classificazione delle specie. Per esempio, la posizione relativa degli acineti rispetto alle eterocisti è ritenuta una caratteristica diacritica importante per l'identificazione delle specie all'interno del genere *Dolichospermum* (Komárek & Zapomělová, 2007; Komárek, 2013). Le eterocisti sono presenti in molte specie in grado di formare fioriture superficiali (tra queste *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Nodularia*). La capacità di fissare azoto atmosferico permette ai cianobatteri con eterocisti di evitare limitazioni nella crescita in condizioni di scarse concentrazioni di azoto (*vedi* paragrafo A1.4). Altre specie, soprattutto marine, sia filamentose (come *Tricodesmium* spp., tipica di oceani tropicali) che unicellulari (*Gloeotheca*), non possiedono cellule specializzate, ma fissano l'azoto probabilmente separando temporalmente il processo di fotosintesi (che produce ossigeno, diurno) da quello di fissazione dell'azoto (notturno), oltre a sfruttare un ridotto flusso di O₂ e un elevato tasso di respirazione tipici delle acque calde in cui si trovano (Stal, 2000; Staal *et al.*, 2003).

Altre importanti cellule cianobatteriche specializzate sono gli acineti. Sono cellule con la parete ispessita e ricche di riserve utilizzate per la sopravvivenza dei cianobatteri in condizioni sfavorevoli. Una volta depositati e sepolti nei sedimenti, sono in grado di restare dormienti e

vitali fino ad alcune decine di anni (Livingstone & Jaworski, 1980). Hanno forme e dimensioni piuttosto diversificate e, al pari delle eterociti, sono utilizzati come criterio per la discriminazione delle specie cianobatteriche.

A1.2.2. Approcci tassonomici e ausili per l'identificazione e classificazione delle specie

I nuovi approcci molecolari e la ricollocazione di specie o interi gruppi in nuove classificazioni filogenetiche hanno posto la tassonomia moderna in uno stato di continuo cambiamento (De Clerck *et al.*, 2013). Questa considerazione è ancor più valida per i cianobatteri (Hoffmann *et al.*, 2005; Komárek, 2006; 2009a; 2009b; Krienitz, 2009; Wacklin *et al.*, 2009). A questo si aggiunge che lo studio di tratti adattativi in ceppi di una stessa specie, legati per esempio alla produzione di vacuoli gassosi in *Planktothrix*, ha permesso di evidenziare l'importante ruolo della criptodiversità nella capacità di colonizzazione e adattamento dei cianobatteri a diverse condizioni ambientali (D'Alelio & Gandolfi, 2012; D'Alelio *et al.*, 2013).

La nomenclatura dei cianobatteri è disciplinata sia dal Codice Internazionale di Nomenclatura per le alghe, funghi e piante (ICN) Codice Internazionale di Nomenclatura Botanica (ICBN) sia dal Codice Internazionale di Nomenclatura dei Procarioti (ICNP). Un processo di unificazione dei due codici è iniziato nel 2004 (Krienitz, 2009). Nel recente lavoro di Thomazeau *et al.* (2010), vengono definiti 6 ordini di cianobatteri (*Chroococcales*, *Gloeobaterales*, *Nostocales*, *Oscillatoriales*, *Pseudanabaenales* e *Synechococcales*). È verosimile che nei prossimi anni si assista ad un riarrangiamento delle specie in nuove classificazioni filogenetiche, anche in relazione al progresso delle nuove tecnologie genomiche e bioinformatiche rispetto al più semplice approccio genetico.

Da un punto di vista puramente pratico e finalizzato all'individuazione degli organismi responsabili delle fioriture nei corpi di acqua dolce, il punto di partenza è costituito dai tre manuali pubblicati nella collana Süßwasserflora von Mitteleuropa in conformità con i criteri descritti nel codice ICN, e riguardanti i cianobatteri coccali (*Chroococcales*) (Komárek & Anagnostidis, 1998), filamentosi (*Oscillatoriales*) (Komárek & Anagnostidis, 2005) e specie con eterociti (incluse cioè le *Nostocales*; Komárek, 2013). Questi manuali riportano una notevole ricchezza di specie, in alcune occasioni non sempre facili da discriminare anche a causa dell'influenza dei fattori ambientali sulle caratteristiche morfologiche degli organismi. Nei casi più critici, il ricorso all'identificazione delle specie con metodi molecolari costituisce comunque l'unico approccio risolutivo (Humbert *et al.*, 2010; D'Alelio & Salmaso, 2011). Specialmente nel caso delle specie più diffuse, le guide iconografiche costituiscono un aiuto pratico essenziale per una prima identificazione degli organismi (es. Cronberg & Annadotter, 2006).

Un importante ausilio per un rapido controllo e aggiornamento dello stato tassonomico delle specie e dei gruppi è costituito dalle risorse nel world wide web (web). Tra queste ha assunto importanza *AlgaeBase* (Guiry & Guiry, 2013), un database pubblico che, oltre a provvedere indicazioni aggiornate sulle diverse posizioni tassonomiche, fornisce anche informazioni riguardanti le pubblicazioni correlate e altri riferimenti chiave, elenco di sinonimi, distribuzione geografica e, se disponibili, fotografie e rimandi a database pubblici di sequenze molecolari nel web (*National Center for Biotechnology Information*, NCBI). Altra importante risorsa è costituita da CyanoDB (Komárek & Hauer, 2013). Analogamente ad *AlgaeBase*, il sito fornisce informazioni sullo stato tassonomico delle specie cianobatteriche, principalmente basandosi sul lavoro di Hoffmann *et al.* (2005) e altri lavori tassonomici più recenti.

Una trattazione più approfondita dei vari approcci tassonomici e dei caratteri utili al riconoscimento dei cianobatteri è presentata nel capitolo C2.

A1.3. Localizzazione delle popolazioni cianobatteriche, classificazione delle fioriture, e specie responsabili

La conoscenza delle modalità con cui i cianobatteri si localizzano in un corpo d'acqua è di fondamentale importanza per un'adeguata selezione dei punti da campionare. Una rappresentazione schematica delle potenziali zone di sviluppo e concentrazione dei cianobatteri in relazione alle varie fasi di stratificazione termica e mescolamento è riportata nella Fig. 1. Lo schema fa riferimento a un corpo lacustre (naturale o artificiale) tipico di climi temperati. I casi da 1 a 4 si riferiscono ad addensamenti superficiali o sviluppi lungo la colonna d'acqua comunemente osservati nel periodo estivo, quando le acque sono fortemente stratificate. In queste circostanze si possono avere densi ammassi superficiali localizzati lungo le coste, nelle baie e nei porti riparati dal vento. Nel caso 1 (Figura A1.1) l'accumulo di cianobatteri, spesso in fase di senescenza, non è tanto dovuto alla crescita *in situ*, bensì al trasporto, da parte del vento, di fioriture superficiali che si sono originate nella zona pelagica (caso 2). Le popolazioni possono essere distribuite omogeneamente nello strato superficiale rimescolato (epilimnio; caso 3) oppure, come in alcune Oscillatoriales planctoniche, formare densi strati sub-superficiali non visibili, più o meno strettamente localizzati nel metalimnio e in prossimità della zona eufotica (caso 4). In autunno, con la progressiva erosione del metalimnio e l'espansione dello strato rimescolato, le popolazioni si vengono a disperdere in uno strato più ampio (caso 5). Nel periodo tardo autunnale e invernale, nelle fasi finali del mescolamento, le popolazioni sono disperse fino alla massima profondità lacustre (caso 6) o, nel caso dei laghi più profondi, fino a profondità variabili (generalmente > 100 m) strettamente dipendenti dalle condizioni meteorologiche invernali. Addensamenti specifici possono essere rinvenuti sotto il ghiaccio, come nel caso delle popolazioni di *Aphanizomenon flos-aquae* descritte da Üveges *et al.* (2012) nel Lago Stechlin (caso 7).

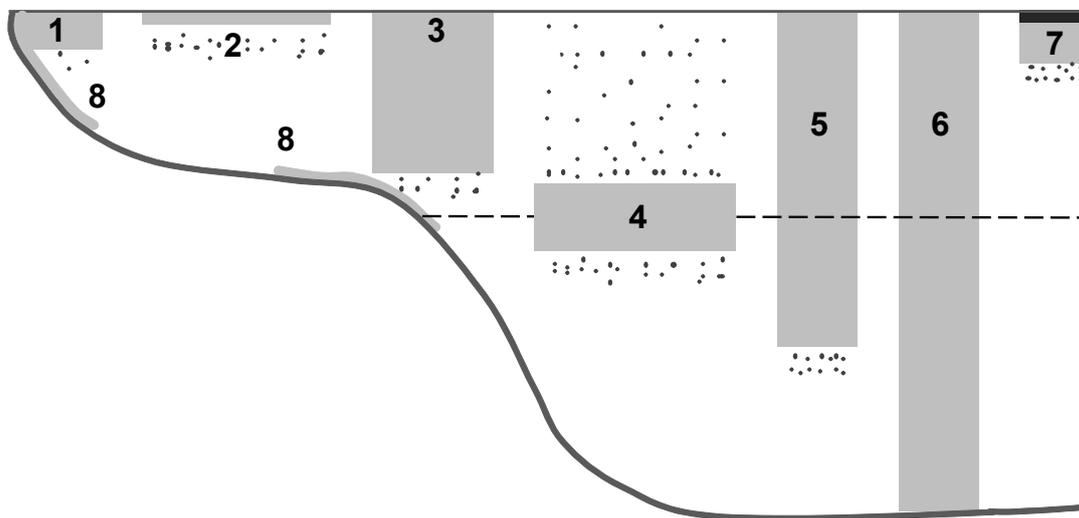


Figura A1.1. Localizzazione degli addensamenti cianobatterici in un corpo lacustre naturale o artificiale tipico di climi temperati (modificato da Lindholm *et al.*, 1989 e Codd *et al.*, 1999) (la linea orizzontale tratteggiata indica il limite inferiore della zona eufotica, che corrisponde allo strato che riceve l'1% della luce incidente sulla superficie del lago)

In aggiunta, come osservato in un piccolo lago eutrofico ungherese, le colonie di *Microcystis* sono in grado di svernare con popolazioni vitali all'interno del ghiaccio (Vasas *et al.*, 2010). Analogamente a molti altri organismi algali, i cianobatteri possono formare strati più o meno spessi (fino a diversi cm) sulla superficie dei sedimenti lacustri e su diverse tipologie di substrati (caso 8), incluse le prese di acqua potabile (Quiblier *et al.*, 2013).

Le implicazioni connesse con la presenza di organismi bentonici cianobatterici è stata fortemente sottovalutata. I tappeti di cianobatteri bentonici sono generalmente costituiti da Oscillatoriales appartenenti ai generi *Lyngbya*, *Leptolyngbya*, *Microcoleus*, *Tychonema*, *Schizothrix*, oltre ad altre Chroococcales e Nostocales. Mez *et al.* (1997; 1998) associarono la morte di un centinaio di capi di bestiame alla presenza di ceppi tossici di *Oscillatoria limosa* e *Phormidium konstantinosum* sulla superficie dei sedimenti e delle rocce sommerse di diversi laghi montani svizzeri.

A1.4. Fattori che favoriscono lo sviluppo dei cianobatteri

I fattori responsabili della distribuzione e sviluppo dei cianobatteri sono stati oggetto di numerosissime ricerche. Rassegne su questa tematica sono state pubblicate, tra gli altri, da Hyenstrand *et al.* (1998), Paerl & Fulton (2006), Paerl (2008) e Oliver *et al.* (2012). L'aumento della frequenza delle fioriture algali dovute allo sviluppo massivo di specie cianobatteriche viene comunemente associato a modifiche riconducibili all'attività umana. Queste comprendono, da una parte, gli effetti dovuti all'aumento dei carichi di nutrienti algali sui corpi lacustri e fluviali, e dall'altra importanti modifiche nella composizione dell'atmosfera con ripercussioni sui bilanci energetici a scala globale. Di fatto, eutrofizzazione e riscaldamento climatico sono considerati i due principali fattori chiave responsabili dell'aumento dello sviluppo dei cianobatteri nei Paesi industrializzati e in via di sviluppo e, più in generale, in aree densamente popolate (O'Neil *et al.*, 2012; Paerl & Paul, 2012). Il potenziale di sviluppo dei cianobatteri e delle fioriture algali è inoltre fortemente influenzato dai tempi di ricambio delle acque e dai processi di mescolamento (Zohary *et al.*, 2010). Altri fattori considerati importanti nello sviluppo e dominanza dei cianobatteri comprendono i rapporti tra azoto e fosforo (N:P), il controllo del galleggiamento, l'elevata competizione per luce e CO₂, la tolleranza alle elevate temperature, la resistenza ai predatori (zooplancton), le elevate capacità di accumulo di riserve di nutrienti, l'azoto-fissazione, l'assimilazione di ammonio e la competizione per elementi in traccia (Hyenstrand *et al.*, 1998).

A1.4.1. Eutrofizzazione: fosforo e azoto, e rapporti azoto:fosforo

Sin dagli anni '60 del secolo scorso il fosforo è stato identificato come la causa principale del deterioramento della qualità delle acque e uno dei principali fattori nel controllo dello sviluppo dei cianobatteri (Ryding & Rast, 1989; Reynolds *et al.*, 2000; Dokulil & Teubner, 2000). Gli studi sinottici condotti nel corso degli ultimi 20 anni hanno permesso di analizzare quantitativamente le relazioni tra le concentrazioni di fosforo (P) e la dominanza dei cianobatteri. Sulla base di uno studio condotto in 91 laghi della zona temperata, Watson *et al.* (1997) confermarono la stretta relazione tra le concentrazioni di P e l'aumento dei cianobatteri e, secondariamente, di diatomee e cloroficee. Tra i gruppi minori, le dinoficee, dopo un rapido aumento, presentavano una stabilizzazione e una diminuzione a concentrazioni di fosforo totale (TP) > 100 µg/L, mentre Chrysophyceae e Cryptophyceae mostravano rispettivamente un

aumento di biomassa solo fino a 10 e 30 $\mu\text{g/L}$. Prendendo in considerazione i dati raccolti in 35 laghi temperati e sub-tropicali, questi risultati furono successivamente confermati da Jeppesen *et al.* (2005). Ad elevate concentrazioni di nutrienti i cianobatteri mostravano un aumento, accompagnato da una riduzione o stabilizzazione rispettivamente di crisofitee e dinofitee. È interessante osservare che per concentrazioni di TP molto elevate ($> 0,5\text{-}1 \text{ mg/L}$), nei laghi poco profondi il contributo percentuale dei cianobatteri tendeva a diminuire a favore delle clorofitee. In un lavoro successivo, basato sull'analisi di campioni raccolti in circa 850 laghi europei, Ptacnick *et al.* (2008) dimostrarono un significativo aumento della frazione dei cianobatteri e una diminuzione delle crisofitee all'aumentare dello stato trofico.

La funzione dell'azoto (N) nel favorire l'eutrofizzazione e un aumento dei cianobatteri appare più controversa. Nei piani di recupero della qualità delle acque, alcuni autori hanno sostenuto la necessità di associare alla riduzione dei carichi di fosforo una simultanea riduzione dei composti dell'azoto (Lewis *et al.*, 2008; Conley *et al.*, 2009). Queste considerazioni sono state aspramente criticate da Schindler (2012), il quale ha ulteriormente ribadito come l'unico metodo che abbia mostrato storicamente un elevato grado di successo nella riduzione dell'eutrofizzazione dei corpi lacustri sia costituito dalla riduzione del fosforo. La discussione ha una valenza estremamente importante per l'implementazione delle politiche di controllo e riduzione delle fonti di nutrienti e dei cianobatteri. D'altra parte, anche prendendo in esame i soli casi studio limitati all'ambito italiano ed europeo, l'efficacia degli interventi di recupero basati sulla riduzione dei composti del fosforo non sembra prestarsi ad equivoci (tra gli altri, laghi Maggiore, Costanza, Ginevra; Mosello *et al.*, 2010; Sommer *et al.*, 1993; Anneville & Pelletier, 2000).

Il rapporto N:P è stato frequentemente utilizzato per valutare il tipo di nutrienti responsabili della limitazione della crescita delle popolazioni algali e cianobatteriche (Oliver *et al.*, 2012). Assumendo rapporti di stechiometria cellulare vicini ai rapporti molari di Redfield (106C:16N:1P), valori di N:P > 16 e N:P < 16 sono comunemente considerati indicativi rispettivamente della limitazione della crescita relativa a fosforo e azoto. Questa idea è stata fortemente messa in discussione da osservazioni sul campo e da studi di laboratorio che hanno dimostrato una forte variabilità nei rapporti elementari (Geider & La Roche, 2002). D'altra parte, considerata anche la presenza di molte specie azoto-fissatrici, rapporti di N:P bassi dovrebbero comunque promuovere la crescita dei cianobatteri. Questa tesi si affermò rapidamente a seguito di uno studio condotto da Smith (1983) in 20 laghi perlopiù nord europei. Il lavoro venne, però successivamente criticato a causa di diverse imprecisioni nell'impostazione della ricerca (Trimbee & Prepas, 1987). Una nuova analisi effettuata sullo stesso archivio e su nuovi dati raccolti in laghi canadesi evidenziò che le variazioni nella dominanza dei cianobatteri potevano essere spiegate meglio dalle variazioni delle concentrazioni assolute di P e N piuttosto che dai rapporti N:P (Trimbee & Prepas, 1987). L'analisi di un dataset molto più ampio e rappresentativo (99 laghi distribuiti globalmente) permise a Downing *et al.* (2001) di confermare quanto anticipato da Trimbee & Prepas (1987). Downing *et al.* (2001) suggerirono che le correlazioni tra N:P e cianobatteri rilevate in diversi lavori potessero essere originate da una forte correlazione negativa tra concentrazioni di nutrienti e N:P. La causa sarebbe dovuta al maggior consumo di N rispetto a P a concentrazioni maggiori a seguito di processi di assimilazione biologica o denitrificazione. Nonostante i fondamenti teorici, il modello stechiometrico sembra pertanto meno efficace rispetto all'utilizzo, come variabili causali, delle concentrazioni assolute di P e N. Questi risultati sono pienamente compatibili con il fatto che non tutti i cianobatteri sono azoto-fissatori. Comunque, l'utilizzo dei rapporti stechiometrici nell'individuazione dei fattori limitanti la crescita dei cianobatteri non può prescindere dall'attenta valutazione della limitazione connessa con le concentrazioni assolute dei singoli nutrienti. In altri termini, concentrazioni molari di N e P

rispettivamente di 300 e 25 mM (4,2 mg N L⁻¹ e 0,78 mg P/L), pur avendo N:P pari a 12, non possono essere considerate indicative di condizioni di limitazione da azoto.

A concretizzare il maggior potere predittivo delle concentrazioni assolute di P, Downing *et al.* (2001) proposero una serie di valori soglia di TP finalizzati alla definizione del rischio di sviluppo di popolazioni cianobatteriche con biomasse > 50% sulla biomassa algale totale (Tabella A1.1). I limiti così definiti forniscono una valutazione sul potenziale grado di dominanza dei cianobatteri rispetto alla comunità fitoplanctonica. Un minore rischio di produzioni cianobatteriche è raggiunto con concentrazioni di TP < 30 µg/L. Questo valore è coerente con i modelli cianobatteri/TP descritti in Watson *et al.* (1997) e Jeppesen *et al.* (2005) che mostrano un deciso aumento del contributo dei cianobatteri con concentrazioni di TP > 20-30 µg/L.

Tabella A1.1. Percentuali di rischio dei corpi d'acqua di sviluppare comunità fitoplanctoniche dominate da cianobatteri in funzione delle concentrazioni di fosforo totale (TP) (secondo Downing *et al.*, 2001)

Fosforo totale (µg P/L)	Rischio di dominanza di cianobatteri (%)
0-30	0-10
30-70	40
70-100	40-80

A1.4.2. Variazioni climatiche a differenti scale temporali

La disponibilità di nutrienti è il fattore di controllo più importante per la crescita delle comunità fitoplanctoniche e cianobatteriche. Tuttavia altri fattori, quali le fluttuazioni climatiche e idrologiche, possono assumere un'importanza fondamentale nel controllo dei livelli di biomassa e nella selezione dei gruppi algali dominanti. L'idrologia, pur essendo legata al clima, in specifici casi appare maggiormente condizionata dalle attività umane (es. nella regimazione dei bacini idroelettrici) e sarà pertanto considerata in un paragrafo dedicato (*vedi* paragrafo A1.4.3).

Il clima esercita i suoi effetti a differenti scale temporali, in un ampio range compreso tra le fluttuazioni meteorologiche a scala giornaliera/settimanale e i cambiamenti climatici misurati su scale decadali e secolari. Condizioni di calma di vento ed elevata insolazione sono essenziali per esempio per lo sviluppo di molti tipi di fioriture cianobatteriche e per il declino delle popolazioni delle grandi diatomee. Su scale temporali più lunghe, i cambiamenti climatici hanno profonde ripercussioni sulla fisica e chimica delle acque e sui cicli vitali degli organismi, causando la scomparsa di specie autoctone e la comparsa di specie aliene, tra cui molti cianobatteri. A questo riguardo, numerose ricerche hanno recentemente evidenziato un nesso causale tra gli effetti provocati dal riscaldamento climatico (George, 2010; Salmaso & Mosello, 2010) e l'aumento dell'importanza dei cianobatteri, anche sotto forma di fioriture (Jöhnk *et al.*, 2008; Paerl & Huisman, 2008; 2009; Wagner & Adrian, 2009; Carey *et al.*, 2012; O'Neil *et al.*, 2012; Paerl & Paul, 2012; Sommer *et al.*, 2012; Winder & Sommer, 2012).

La temperatura dell'acqua ha effetti diretti sugli organismi algali, controllando le velocità di crescita. In coltura, e in condizioni ottimali di luce e nutrienti, il tasso di replicazione di molte specie fitoplanctoniche cresce esponenzialmente con la temperatura, ma con velocità differenti a seconda delle specie. In generale, i cianobatteri presentano tassi di replicazione elevati a temperature relativamente alte, spesso > 25°C. Questa caratteristica è ritenuta da molti autori un tratto competitivo importante (Paerl & Huisman, 2008). Jöhnk *et al.* (2008) hanno per esempio descritto la formazione delle fioriture di *Microcystis* utilizzando un modello che mette direttamente in relazione le velocità di crescita con le temperature dell'acqua. Analogamente, Paerl & Huisman (2009) hanno evidenziato che a temperature elevate la crescita di molti

organismi eucarioti inizia a diminuire, mentre molti cianobatteri raggiungono condizioni di crescita ottimali (Figura A1.2).

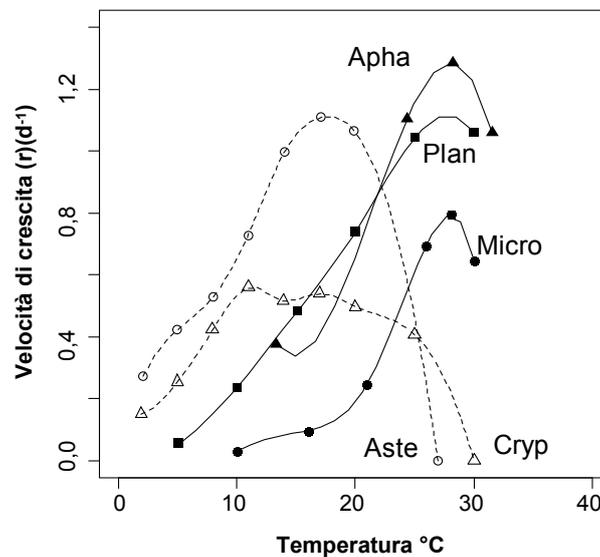


Figura A1.2. Crescita di specie selezionate di diatomee (*Asterionella formosa*, Aste), criptoficee (*Cryptomonas marssonii*, Cryp) e cianobatteri (*Aphanizomenon*, Apha; *Planktothrix agardhii*, Plan; *Microcystis aeruginosa*, Micro) in condizioni di saturazione di luce e concentrazioni non limitanti di nutrienti (modificato da Paerl & Huisman, 2009 e Reynolds, 2006)

Per contro, utilizzando informazioni pubblicate in oltre 60 articoli e procedendo alla loro verifica con nuovi esperimenti di laboratorio, Lüring *et al.* (2013) hanno evidenziato una sostanziale coincidenza negli optimum di temperatura per la crescita di cloroficee e cianobatteri, e maggiori velocità di crescita rilevate nelle cloroficee rispetto ai cianobatteri (Figura A1.3), mettendo pertanto in discussione il ruolo diretto della temperatura nel controllo della competitività di questi ultimi.

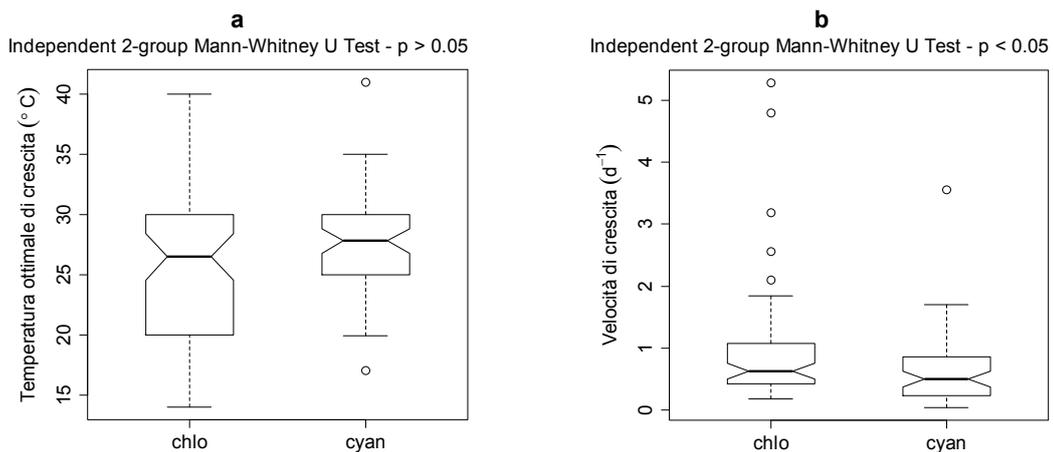


Figura A1.3. Temperature ottimali di crescita (a) e velocità di crescita in condizioni di temperatura ottimale (b) nelle cloroficee (chlo) e cianobatteri (cyan) (dati da Lüring *et al.* 2013)

È da rilevare che le cloroficee sono tra l'altro un diretto competitore dei cianobatteri nel corso dei mesi più caldi, e tra gli organismi più abbondanti in ambienti eutrofici e ipereutrofici.

Analogamente, altri autori, quali Wagner & Adrian (2009) e Sommer *et al.* (2012), hanno suggerito che il vantaggio competitivo dei cianobatteri debba perlopiù essere ascritto a effetti indiretti dell'aumento di temperatura, in primo luogo determinati dall'aumentata stabilità fisica della colonna d'acqua. All'aumentare delle temperature aumenta infatti il grado di separazione tra gli strati superficiali illuminati e poveri di nutrienti e gli strati meta- e ipolimnetici sottostanti poco illuminati ma ricchi di nutrienti. Pur tenendo conto della capacità che hanno i cianobatteri di continuare a crescere in condizioni di basse concentrazioni di nutrienti a seguito del consumo di sostanze di riserva accumulate in precedenza (*luxury uptake*; Carey *et al.*, 2012), queste condizioni sono favorevoli alle specie in grado di spostarsi lungo la colonna d'acqua. È il caso per esempio delle grandi colonie di *Microcystis* e *Dolychospermum*, o dei sottili filamenti di *P. rubescens*, specie in grado di posizionarsi a profondità ottimali di crescita formando intensi addensamenti metalimnetici. Più in generale, un'intensificazione del riscaldamento climatico porterebbe, assieme a una maggiore estensione del periodo vegetativo, ad un maggiore sviluppo ed espansione dei cianobatteri che risulterebbero maggiormente favoriti sia dalle loro elevate velocità di replicazione alle alte temperature sia dalla loro spiccata capacità di migrazione o posizionamento verticale in ambienti stratificati (Paerl & Huisman, 2009). Se, come abbiamo visto, l'elevata velocità di replicazione è una caratteristica condivisa anche con altri gruppi algali, il controllo del galleggiamento in ambienti a bassa turbolenza sembra pertanto costituire un considerevole vantaggio competitivo, con importanti implicazioni per quanto riguarda le possibilità di controllo delle popolazioni attraverso la manipolazione della regimazione idrologica nei corpi lacustri artificiali o ampliati.

A1.4.3. Mescolamento e caratteristiche idrodinamiche

Con il progressivo aumento della turbolenza dell'acqua, il pieno sfruttamento delle capacità di galleggiamento dei cianobatteri gas-vacuolati inizia ad essere impedito del tutto o in parte. In un epilimnio profondo e ben rimescolato (in autunno o primavera, oppure con condizioni meteorologiche instabili, caratterizzate da diminuzione delle temperature e forte vento) gli organismi algali, indipendentemente dalla loro capacità di galleggiamento, tenderanno ad essere ridistribuiti omogeneamente nello strato superficiale, e in alcune occasioni anche ben al di sotto della zona eufotica (casi 3 e 5 in Figura A1.1). Queste condizioni sono del tutto negative per la formazione delle fioriture estive (es. Nostocales). Analogamente, il mescolamento tardo autunnale/primaverile nei laghi profondi costituisce un elemento sfavorevole per lo sviluppo di tutti gli organismi fitoplanctonici (caso 6 in Figura A1.1). Più specificatamente, Reynolds (2006) ha mostrato che per valori nel rapporto tra strato mescolato (z_{mix}) e zona eufotica (z_{eu}) $z_{mix}/z_{eu} > 3$, la crescita del fitoplancton è fortemente inibita a causa del regime di luce insufficiente per compensare i processi respiratori.

Eventi di mescolamento profondo possono incidere pesantemente sulla funzionalità dei vacuoli gassosi, causandone il collasso a seguito delle elevate pressioni idrostatiche (Walsby *et al.*, 1998). Posch *et al.* (2012) hanno sostenuto che l'aumento delle popolazioni di *P. rubescens* nel Lago di Zurigo sia stato determinato da una riduzione dello strato d'acqua interessato dalla completa circolazione primaverile (da ca. >100 m a <80 m) a seguito dall'aumento delle temperature invernali. Ciò avrebbe comportato una corrispondente diminuzione delle pressioni idrostatiche sperimentate dalle cellule di *Planktothrix* e una maggiore sopravvivenza degli inoculi per la crescita delle popolazioni estive. Altre spiegazioni sono tuttavia possibili. Tra queste, come evidenziato da Winder (2012), meriterebbero di essere approfondite le modificazioni nell'intensità della luce (PAR, *Photosynthetically Active Radiation*) negli strati

metalimnetici interessati dagli accumuli di *Planktothrix*. I processi di mescolamento profondo hanno anche effetti indiretti. A seguito del mescolamento degli strati più profondi e ricchi di nutrienti con gli strati più superficiali e illuminati, la circolazione primaverile costituisce un'importante fonte di nutrienti per la crescita delle popolazioni fitoplanctoniche e cianobatteriche nei mesi primaverili ed estivo-autunnali (vedi paragrafo A1.4.4).

Sempre tra i fattori fisici, i cianobatteri sono particolarmente sensibili alla regimazione idrologica e al tempo di ricambio delle acque. Nonostante i maggiori carichi, elevati afflussi di acqua nei bacini idroelettrici o nei laghi di piccole dimensioni sono in grado di rimuovere e diluire le popolazioni cianobatteriche. Esemplicativo il caso del Lago Arancio (Sicilia) dove, nell'estate del 2003, a seguito del continuo riempimento del bacino, le densità di *Microcystis aeruginosa* diminuirono di 5-6 volte rispetto alle settimane precedenti (Naselli-Flores *et al.*, 2007). Per contro, l'alterazione del bilancio idrico dovuto ad un aumento delle temperature e dei tassi di evapotraspirazione nel bacino imbrifero ha fortemente ridotto gli afflussi al Lago Biviere di Gela (Sicilia) che progressivamente, nell'arco di alcuni anni, si è svuotato. Originariamente trasparente e ricco di macrofite, con la riduzione dei livelli e la distruzione della zona litorale il lago si è rapidamente trasformato in un bacino torbido dominato da cianobatteri, quali *Chrysothrix ovalisporum* (*Aphanizomenon ovalisporum*, Zapomelova *et al.*, 2012), *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Pseudanabaena limnetica* (Barone *et al.*, 2010). Casi del tutto simili sono stati documentati anche in altre aree mediterranee (Hoyer *et al.*, 2009; Naselli-Flores, 2011; Rigosi & Rueda, 2012; Romo *et al.*, 2013). È invece interessante sottolineare che nei bacini idroelettrici localizzati in aree climatiche alpine e subalpine la presenza di cianobatteri è generalmente molto ridotta a causa delle minori temperature, elevato ricambio idrico e maggiore turbolenza della colonna d'acqua (Salmaso *et al.*, 1992; Moccia *et al.*, 2000).

A1.4.4. Interazione tra eutrofizzazione e fluttuazioni climatiche

I modelli che finora sono stati utilizzati per studiare l'effetto congiunto della disponibilità di nutrienti e delle temperature dell'acqua sullo sviluppo del fitoplancton hanno indicato una decisiva e maggiore importanza dei carichi di nutrienti sul riscaldamento climatico, e un'ampia dominanza di cianobatteri in scenari caratterizzati da elevate concentrazioni di nutrienti ed elevate temperature (Elliott *et al.*, 2006). Questi risultati, se da una parte confermano l'importanza dei nutrienti (vedi paragrafo A1.4.1), dall'altra evidenziano il ruolo sinergico della temperatura nel favorire la diffusione e consolidamento delle popolazioni cianobatteriche (Salmaso *et al.*, 2012).

L'effetto congiunto delle fluttuazioni del clima e della temperatura dipende strettamente dalle caratteristiche fisiografiche dei corpi lacustri e dalle finestre temporali. Esemplicativo è l'effetto delle fluttuazioni climatiche invernali sulle dinamiche di mescolamento profondo e fertilizzazione delle acque superficiali nei grandi laghi a sud delle Alpi. Analisi condotte sul Lago di Garda e sui laghi d'Iseo, Como, Lugano e Maggiore hanno dimostrato una stretta dipendenza dei processi di mescolamento dall'evoluzione climatica dei mesi invernali e da modi di circolazione atmosferica rilevanti per l'area mediterranea, quali l'*East Atlantic pattern* (EA) e l'*Eastern Mediterranean Pattern* (EMP) (Salmaso *et al.*, 2014). Nello stato rispettivamente negativo e positivo, EA ed EMP sono associati a condizioni di forte afflusso invernale di aria fredda dall'Europa settentrionale e centrale verso l'area mediterranea. In tutti i laghi analizzati questa condizione determina una serie di effetti a cascata che comprendono la diminuzione delle temperature lacustri, la maggiore estensione del mescolamento verticale primaverile e il maggiore rifornimento di nutrienti verso la superficie e di ossigeno verso l'ipolimnio profondo. Nel Garda, dopo lo sviluppo di inverni più freddi e all'aumentare della disponibilità primaverile

di nutrienti, sono stati osservati significativi aumenti nella crescita dei cianobatteri (principalmente *P. rubescens*) nei mesi estivi e autunnali (Salmaso, 2012).

Nonostante un'importante attività di riduzione di N e P (da 750 a 600, e da 100 a 30 µg/L, rispettivamente) iniziata nel 1984, aumenti significativi di *P. rubescens* sono stati osservati anche nel lago subalpino di Bourget (Francia) fra il 1996 e il 2001 (Jaquet *et al.*, 2005). Secondo gli autori, il progressivo riscaldamento osservato fra il 1984 e il 2001 e il conseguente anticipo e prolungamento della stratificazione termica, in coincidenza con una maggiore trasparenza dovuta alla diminuzione del fitoplancton eucariotico a seguito della riduzione dei nutrienti inorganici, avrebbe favorito il successo di *Planktothrix*. Questa specie è infatti in grado di sfruttare irradiazioni luminose basse e di utilizzare il fosforo organico localizzato intorno al metalimnio, caratteristiche che hanno favorito lo sviluppo di fioriture metalimnetiche estive, successivamente disperse lungo la colonna d'acqua al termine della stratificazione termica (*vedi* paragrafo A1.7.1).

A1.4.5. Aumento dell'intensità di inondazioni e diffusione dei cianobatteri tossici in ambienti estuariali

Un effetto significativo dei cambiamenti climatici nelle zone temperate è una diminuzione dei giorni di pioggia, accompagnata però da un aumento del volume medio di acqua trasportato (Bates *et al.*, 2008). Una delle possibili conseguenze dell'aumento del flusso di acqua dolce verso le zone costiere è l'abbassamento di salinità delle zone salmastre e il trasporto a valle, da parte delle acque interne, di inoculi di cianobatteri che tollerano variazioni di salinità e possono dar luogo a fioriture. Per il momento, questo problema sembra riguardare solo *M. aeruginosa*, per la quale sono stati riportati eventi di grandi fioriture in estuari e baie di diverse parti del mondo, tra cui Australia (Robson & Hamilton, 2003) e USA nella baia di San Francisco (Lehman *et al.*, 2005) e nell'estuario del fiume St. Lucie in Florida (Ross *et al.*, 2006). Le grandi fioriture negli estuari sono state innescate non solo da grandi afflussi di acqua dolce, causati da piogge più intense della media, che hanno trasportato inoculi di organismi negli estuari, come sopra descritto, ma anche da altri fattori concomitanti, tra cui temperature elevate associate ad adeguate concentrazioni di nutrienti. In tutti e tre i casi, a seguito delle fioriture, sono state trovate microcistine disciolte in acqua e nei tessuti di alcuni organismi. Nel Santuario Marino Nazionale della baia di Monterey fu segnalata la morte di alcune lontre, attribuita ad una ipotizzata biomagnificazione delle microcistine lungo la catena trofica (Miller *et al.*, 2010). *Microcystis* riesce a crescere in condizioni di salinità crescente, fino a 10 g/L, senza variazioni nei tassi di crescita e di concentrazioni di tossine per cellula (Tonk *et al.*, 2007). Questi esempi mostrano la rilevanza del problema sia per l'ecologia delle zone di transizione sia per i possibili effetti sulla salute umana, in quanto gli organismi marini/salmastri eduli vengono controllati solo per alcune classi di tossine algali, escluse le cianotossine (Funari *et al.*, 2012).

A1.5. Controllo del galleggiamento e velocità di migrazione verticale

Per la formazione delle fioriture superficiali di cianobatteri devono essere soddisfatte contemporaneamente almeno 3 condizioni (Reynolds & Walsby, 1975): 1) la presenza di un adatto inoculo nella colonna d'acqua; 2) la diminuzione della turbolenza dell'acqua; e 3) la diminuzione delle densità intracellulari, con la formazione di popolazioni galleggianti. I primi due punti sono stati analizzati nel paragrafo A1.4, e concorrono al generale sviluppo dei cianobatteri nei corpi lacustri. Di seguito passeremo brevemente in rassegna i meccanismi

fisiologici che permettono ai cianobatteri di regolare la loro posizione verticale lungo la colonna d'acqua, dando luogo alla formazione delle fioriture superficiali (senso stretto, casi 1 e 2 in Figura A1.1) e agli sviluppi sub-superficiali (in particolare caso 4 in Figura A1.1).

A1.5.1. Regolazione della densità intracellulare e controllo del galleggiamento

Il galleggiamento nei cianobatteri è controllato attraverso cambiamenti nella funzionalità e nel numero dei vacuoli gassosi e mediante il bilancio - regolato da fotosintesi e respirazione - tra costituenti cellulari di diversa densità, quali carboidrati e proteine (Oliver *et al.*, 2012). La funzionalità e numero dei vacuoli gassosi dipende dalla pressione di turgore all'interno delle cellule e dalla diluizione a seguito dei processi di divisione cellulare. I vacuoli gassosi possono essere soggetti a collassamento per l'azione congiunta della pressione di turgore (interna) e della pressione idrostatica (esterna). La pressione di turgore può assumere valori tra 0 e 0,4 MPa (Walsby, 1994), mentre lungo la colonna d'acqua la pressione idrostatica aumenta di circa 0,01 Mpa/m. La "pressione critica", p_c , e cioè la pressione oltre la quale le vescicole gassose collassano, presenta valori che sono generalmente compresi tra 0,3 MPa e oltre 1,1 MPa (Walsby, 1994). Questi valori, al netto della pressione di turgore, possono essere raggiunti a profondità variabili, tra < 30 m e ca. 100 m. Il grado di resistenza alla pressione delle vescicole gassose varia inversamente con la loro dimensione. Vescicole gassose più piccole e robuste, pur fornendo una minore galleggiabilità, sono tuttavia più resistenti alla pressione idrostatica (Bright & Walsby, 1999). La dimensione delle vescicole gassose è dovuta a differenze nelle sequenze di aminoacidi che costituiscono le proteine strutturali. Tali differenze sono controllate attraverso l'espressione di diversi geni, in particolare tre varianti del gene *gvpC* che codifica le proteine GvpC che formano lo strato più esterno delle vescicole gassose, controllandone diametro e resistenza. I geni *gvpC* variano non solo tra le diverse specie ma, costituendo un tratto adattativo controllato dalla pressione idrostatica, anche tra ceppi diversi di una stessa specie (Beard *et al.*, 2002). Attraverso l'analisi di 276 ceppi diversi di *Planktothrix rubescens* isolati in 8 laghi sudalpini, D'Alelio *et al.* (2011) hanno dimostrato una chiara relazione tra la profondità dei bacini e lo sviluppo di genotipi diversi caratterizzati da vacuoli gassosi di diversa resistenza. La diversità nei geni *gvpC* favorisce la dispersione dei cianobatteri in ambienti caratterizzati da differenti profondità idrostatiche massime, ottimizzando il rapporto tra grandezza e resistenza delle vescicole, e contribuendo pertanto alla ben nota plasticità di adattamento che caratterizza questo gruppo.

Il galleggiamento ad opera dei vacuoli gassosi viene controbilanciato dalla sintesi di carboidrati ($\rho \sim 1600 \text{ kg/m}^3$) e proteine ($\rho \sim 1300 \text{ kg/m}^3$). Nel complesso, queste molecole costituiscono una sorta di "zavorra" cellulare strettamente regolata dal bilancio tra fotosintesi e respirazione, e quindi dai livelli di illuminazione (*Photosynthetically Active Radiation*, PAR) (Walsby, 1994; Walsby *et al.*, 2006; Oliver *et al.*, 2012). Con illuminazioni elevate, le cellule accumulano carboidrati pesanti, aumentando la loro densità e diminuendo in parte o del tutto la capacità di galleggiamento. In alcune specie (es. *Dolichospermum* spp.) questi cambiamenti possono essere accentuati da una diminuzione nel numero e funzionalità delle vescicole gassose determinata da un aumento della pressione di turgore (Kinsman *et al.*, 1991). A bassi livelli di PAR, il galleggiamento tende ad aumentare a causa del consumo dei carboidrati e della produzione di nuovi vacuoli gassosi (Walsby, 1994). L'alternanza tra la prevalenza dei processi fotosintetici e respiratori può spiegare l'aumento e la diminuzione della galleggiabilità delle cellule rispettivamente di notte e di giorno, contribuendo alla formazione e scomparsa delle fioriture superficiali (Reynolds & Walsby, 1975). Effetti simili possono essere regolati dai cambiamenti di temperatura. Per esempio, l'aumento dei carboidrati intracellulari e la

diminuzione della galleggiabilità nelle colonie di *Microcystis* a temperature comprese nel range inferiore di crescita (12-18°C; Visser *et al.*, 1995) sono stati interpretati sulla base della diversa dipendenza di fotosintesi e respirazione dalla temperatura (Carey *et al.*, 2012).

Oltre che dall'intensità dell'illuminazione, la galleggiabilità è regolata dalla disponibilità di nutrienti (Oliver *et al.*, 2012). Se P e N sono presenti in concentrazioni limitanti per la crescita, i carboidrati tendono ad aumentare, diminuendo la galleggiabilità (Chu *et al.*, 2007) e permettendo alle cellule di sfruttare le potenziali riserve di nutrienti poste a profondità maggiori. Se tutti i nutrienti sono presenti in eccesso, il galleggiamento sarà ampiamente controllato dall'illuminazione; con livelli di PAR inferiori rispetto a quelli richiesti per raggiungere le velocità massime di crescita, le riserve di carboidrati saranno ridotte, con effetti positivi sul galleggiamento. Sempre in assenza di limitazione da nutrienti, popolazioni poste in condizioni saturanti di illuminazione potranno rispondere in modo diverso, mantenendo la galleggiabilità (*M. aeruginosa*), oppure diminuendola o raggiungendo densità neutre (*Aph. flos-aquae*). A complicare questo quadro, si consideri che all'effetto derivato dall'accumulo di carboidrati in condizioni ottimali di nutrienti e illuminazione si può aggiungere una diminuzione nella sintesi dei vacuoli gassosi (Oliver *et al.*, 2012). Per un approfondimento del ruolo e controllo della zavorra cellulare in relazione a diverse condizioni di illuminazione e nutrienti si rimanda a Carey *et al.* (2012) e Oliver *et al.* (2012).

I meccanismi di controllo della galleggiabilità possono essere compromessi o del tutto persi, intrappolando le fioriture sulla superficie dei corpi lacustri. Abbondanti fioriture possono impedire un adeguato rifornimento di risorse (tra cui luce) per la sintesi dei carboidrati, impedendo sia l'aumento della pressione di turgore, sia l'aumento delle densità intracellulari. Oppure le vescicole gassose possono essere troppo robuste per collassare. In questi casi gli organismi cianobatterici riescono a mantenere la loro galleggiabilità per diversi giorni (*overbuoyancy*), dando luogo alla formazione di spesse schiume superficiali. La continua e diretta esposizione alla radiazione solare determinerà un più o meno rapido processo di degradazione delle cellule cianobatteriche, con potenziale rilascio di tossine e consumo di ossigeno disciolto.

A1.5.2. Velocità di migrazione verticale

In condizioni di elevata stabilità termica e flusso laminare, la velocità verticale degli organismi fitoplanctonici è proporzionale al quadrato del raggio equivalente di una sfera di uguale volume (Padisák *et al.*, 2003). Pertanto, le velocità di spostamento verticale, che sono regolate dalle differenze di densità tra le cellule e l'acqua, saranno fortemente amplificate negli organismi di maggiori dimensioni. Organismi senza gas-vacuoli sedimentano con velocità proporzionali al volume occupato; organismi con gas vacuoli si muovono verso l'alto con velocità proporzionali al volume e alla percentuale di citoplasma occupata dai gas-vacuoli. L'ampio range dimensionale, che va dalle piccole cellule picoplanctoniche, del diametro di frazioni di μm , fino alle grandi colonie di *Microcystis*, con dimensioni di alcuni mm, rendono i cianobatteri un gruppo altamente diversificato anche nel controllo del posizionamento verticale.

La differenza nelle velocità verticali tra alcune specie di cianobatteri, e tra questi e alcune specie rappresentative dei dinoflagellati, cloroficee e diatomee è rappresentata nella Figura A1.4. Molte cellule eucariotiche (come nelle cloroficee e diatomee) hanno densità superiori a quelle dell'acqua, e velocità di spostamento verticale negative (Sommer, 1987). Una nota eccezione è costituita da *Botryococcus*, cloroficea che forma fioriture superficiali in virtù della sua capacità di produrre e accumulare sostanze oleose (triterpeni) all'interno delle cellule. Anche i grandi flagellati (quali le dinoficee) possono raggiungere velocità paragonabili a quelle delle grandi colonie cianobatteriche (Salmaso & Tolotti, 2009). Per questa loro caratteristica, le fioriture di *Ceratium* spp. e *Peridinium* spp. sono state documentate in molti corpi lacustri (es.

Hickel & Pollinger, 1988; Nakano *et al.*, 1999; Matsumura-Tundisi *et al.*, 2010). Queste fioriture, pur se non tossiche, possono creare notevoli problemi per l'utilizzo delle acque, causando soprattutto odori sgradevoli. Non devono essere confuse con le fioriture di cianobatteri.

Le velocità di spostamento dei cianobatteri variano tra pochi cm per ora fino ad alcuni m per ora (Figura A1.4). Come atteso, le velocità più elevate (attorno o superiori a $0,5 \text{ m h}^{-1}$) sono raggiunte dalle grandi colonie di *Microcystis* e dagli aggregati di filamenti di *Dolichospermum* e *Aphanizomenon*. Altri dati (non riportati nella Figura A1.4) citati in Paerl (1988), riportano velocità fino a oltre 10 m/h, mentre Oliver *et al.* (2012) indicano velocità massime raggiunte da aggregati di *Dolichospermum circinalis* di oltre 200 m/h. Per contro, le velocità raggiunte dai singoli filamenti sono molto più basse e limitate, nel caso per esempio di *P. rubescens*, a pochi cm per ora (tipicamente 3-5 cm/h). In questa specie velocità molto più elevate possono tuttavia essere raggiunte con l'aggregazione dei filamenti in unità più grandi (Walsby *et al.*, 2006).

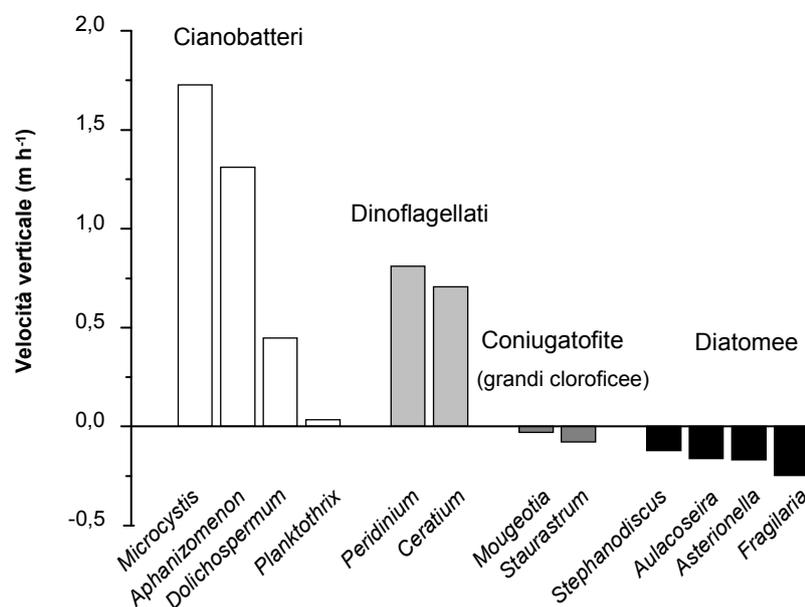


Figura A1.4. Velocità di migrazione verticale di alcuni generi cianobatterici con vacuoli gassosi in relazione alle velocità di spostamento di altri organismi fitoplanctonici provvisti (dinoflagellati) e privi (diatomee e coniugatoficee) di flagelli. Le stime di velocità sono del tutto indicative, dipendendo dalla specie e genotipo, dalla vitalità delle cellule e dalle condizioni di turbolenza della colonna d'acqua (dati rielaborati da Padisák, 2004)

A1.6. Produzione di cianotossine

Lo studio dei fattori che sovrintendono alla sintesi delle cianotossine, e in particolare delle microcistine, ha iniziato ad essere inquadrato correttamente solo nell'ultimo decennio. Nei corpi d'acqua dolce le microcistine (MC) sono presenti con concentrazioni variabili tra meno di $1 \mu\text{g/L}$ a oltre $30000 \mu\text{g/L}$ (Sivonen & Jones, 1999; Naselli-Flores *et al.*, 2007; vedi capitolo A7). Gran parte di questa variabilità è dovuta a differenze nelle abbondanze cianobatteriche, e alla diversa frazione di genotipi tossici nelle popolazioni (Kurmayer *et al.*, 2002; Okello *et al.*, 2010). L'azione dei fattori ambientali sulla regolazione della tossicità a livello fisiologico –

dovuta a luce, ferro, pH ecc. – contribuisce alla regolazione fine del contenuto di tossine nelle cellule (Neilan *et al.*, 2012). Pertanto, l'opinione corrente è che la ragione della forte variabilità nella produzione di tossine per unità di densità o biomassa da parte di una stessa specie (la cosiddetta “quota” cellulare) sia da ricercare principalmente nell'esistenza di sub-popolazioni costituite da ceppi tossici e non-tossici. Tali considerazioni sembrano essere confermate anche da un recente studio condotto sui laghi di Garda e Ledro (Salmaso *et al.*, 2013). I due laghi, vicini, e connessi da una condotta d'acqua utilizzata per la produzione di energia idroelettrica, ospitano popolazioni di *P. rubescens* con la stessa quota cellulare di MC (0,53 e 0,51 $\mu\text{g}/\text{mm}^3$, rispettivamente), suggerendo la presenza di genotipi tossici simili e una produzione costitutiva di tossine. Tuttavia la percentuale relativa di individui tossici non è costante, e variazioni anche sostanziali possono verificarsi in un arco di tempo anche limitato, contribuendo a modificare la quota cellulare e a far sì che le sole densità cellulari non siano sempre indicative della reale tossicità della fioritura (Manganelli *et al.*, 2010). L'argomento è stato oggetto di numerose pubblicazioni, nonché di ampie rassegne (Kardinaal & Visser, 2005; Neilan *et al.*, 2012), ed è stato più estesamente trattato nel capitolo A7, cui si rimanda. Di seguito riportiamo solo alcuni esempi di studi svolti sull'argomento.

Durante le fioriture di *Microcystis* la produzione di MC sembra positivamente correlata al tasso di crescita e quindi, indirettamente, ai fattori che limitano/stimolano i tassi di crescita (Orr & Jones, 1998; Oh *et al.*, 2000). Altri autori ritengono più importante l'abbondanza relativa del ceppo tossico (Hotto *et al.*, 2008; Okello *et al.*, 2010), che a sua volta sembra favorito da concentrazioni elevate di N e P inorganico (Davis *et al.*, 2010). Anche nel caso di *Planktothrix* spp. è stato suggerito che l'abbondanza relativa del genotipo tossico sia legata alla maggiore concentrazione di N e P (Briand *et al.*, 2008a; Manganelli *et al.*, 2010). La produzione di cilindrospermopsina (CYN) da parte di *Aph. ovalisporum* sembra invece stimolata da basse concentrazioni di P inorganico (Bar-Yosef *et al.*, 2010).

Per quanto riguarda la temperatura non sembrano esserci effetti omogenei sul controllo dei livelli di tossicità. Nel caso di *Planktothrix agardhii* un aumento delle temperature potrebbe avere effetti positivi da un punto di vista della gestione dei cianobatteri tossici, dato che i ceppi tossici sembrano favoriti in condizioni di bassa luce e bassa temperatura, condizioni ritenute limitanti per questa specie (Briand *et al.*, 2008b). Nel caso di *Microcystis* sembra vero l'opposto: dall'analisi dei dati relativi a fioriture in 4 laghi negli Stati Uniti Nord Orientali, risulta che elevate temperature, insieme a elevate concentrazioni di fosforo, favoriscono il successo dei ceppi tossici rispetto a quelli non tossici (Davis *et al.*, 2009). Relativamente alla produzione di CYN, alcuni dati sperimentali indicano che all'aumentare della temperatura la produzione della tossina diminuisce. Questo è stato osservato in ceppi tropicali di *Cylindrospermopsis*, per i quali un aumento di temperatura da 25°C a 35°C aumentava il tasso di crescita ma inibiva completamente la produzione di CYN (Saker & Griffiths, 2000). In un ceppo di *Aph. flos-aquae* di acque temperate di laghi tedeschi, Preußel *et al.* (2009) hanno trovato una correlazione negativa fra la temperatura e la produzione di tossine, nel range 16-25°C. Questi dati vanno interpretati con una certa cautela, sia per la presenza di variabili confondenti negli studi ambientali, sia per le diverse risposte fisiologiche di ceppi adattati a specifiche condizioni ambientali (Üveges *et al.*, 2012).

A1.7. Innesco delle fioriture di cianobatteri: casi studio

Di seguito riporteremo una descrizione delle principali tipologie di fioriture rilevate nei corpi lacustri italiani. L'obiettivo è di fornire un collegamento tra quanto riportato a livello perlopiù descrittivo nei paragrafi precedenti e quanto effettivamente osservato negli studi sul campo. Una rassegna completa dei casi di fioriture rilevate in ambito italiano è riportata nel capitolo A7.

A1.7.1. Sviluppi metalimnetici e superficiali di *Planktothrix rubescens*

P. rubescens è una specie cianobatterica diffusa su tutto il territorio nazionale. Le cellule presentano un diametro di pochi μm , mentre i filamenti possono superare il mm di lunghezza ed essere quindi visibili anche ad occhio nudo. Nel nord Italia è presente sia nei grandi laghi a sud delle Alpi (Ravera & Vollenweider, 1968; Salmaso *et al.*, 2012) sia in ambienti di medie dimensioni, quali i laghi di Pusiano (Legnani *et al.*, 2005), Ledro (Salmaso *et al.*, 2013) e Varese. La specie è stata riscontrata anche in diversi ambienti dell'Italia centrale (Messineo *et al.*, 2006; Manganelli *et al.*, 2010; Funari *et al.*, 2011) e insulare (Naselli-Flores *et al.*, 2007). Nell'Italia meridionale fioriture associate a questa specie sono state recentemente documentate nel Lago Occhito (Assennato *et al.*, 2010, Bogianni *et al.*, 2013), un invaso strategico per la Regione Puglia destinato principalmente a uso potabile e irriguo. A differenza di altre specie cianobatteriche, *P. rubescens* predilige ambienti a trofia intermedia (mesotrofici) e viene descritta come una specie che spesso si sviluppa durante il processo di oligotrofizzazione (Ernst *et al.*, 2009). Nel Lago di Pusiano, ad esempio, questa specie è comparsa all'inizio degli anni 2000 (Legnani *et al.*, 2005) a seguito del progressivo collettamento dei reflui urbani nel bacino imbrifero e della conseguente riduzione delle concentrazioni di fosforo nelle acque (Vuillermotz *et al.*, 2006). Queste caratteristiche sono dovute alle particolarità ecologiche di questa specie. Per svilupparsi con popolazioni consistenti, *P. rubescens* necessita infatti di condizioni caratterizzate dalla presenza di un metalimnio debolmente illuminato. La fotosintesi netta in questa specie è possibile con valori di intensità luminosa fino a 3-4 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$. Se si considera che all'1% dell'intensità luminosa generalmente corrispondono valori di illuminazione attorno a 2-20 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$, lo strato al limite della zona eufotica presenta ancora condizioni ottimali per la crescita di *P. rubescens* (Walsby & Schanz, 2002; Salmaso *et al.*, 2012). Nel metalimnio i cianobatteri possono sfruttare le maggiori concentrazioni di nutrienti disponibili rispetto agli strati più superficiali (Dokulil & Teubner, 2012). D'altra parte, un eccessivo aumento di stato trofico, causando una diminuzione drastica dell'illuminazione metalimnetica, è in grado di determinare una conseguente riduzione di *Planktothrix*. Situazioni di questo tipo sono state per esempio documentate nei laghi di Zurigo e Bourget (Lampert & Sommer, 1997; Jacquet *et al.*, 2005).

In *P. rubescens* il galleggiamento è perlopiù controllato dalla frazione di carboidrati (zavorra) prodotti all'interno della cellula. Negli strati più superficiali, e in condizioni di illuminazione superiori a quelle presenti nello strato metalimnetico, il galleggiamento operato dalle vescicole gassose è controbilanciato da una maggiore produzione di carboidrati e da un conseguente appesantimento delle cellule. A basse intensità luminose la produzione di carboidrati è inferiore e le cellule, diminuendo di densità, si posizionano nello strato metalimnetico (Walsby & Schanz, 2002) (caso 4 in Figura A1.1), ad una profondità definita di galleggiamento neutro, z_n (Walsby *et al.*, 2006). A titolo esemplificativo, filamenti isolati dal Lago di Zurigo presentavano un galleggiamento neutro dopo essere stati sottoposti in coltura a illuminazioni PAR di 6,5 $\mu\text{mol m}^2/\text{s}$ e fotoperiodo di 12 ore di luce e 12 di buio, corrispondenti ad un'illuminazione giornaliera per il galleggiamento neutro (Q_n) di 0,28 mol/m^2 (Walsby *et al.*, 2004; Walsby *et al.*, 2006). I valori z_n tenderanno pertanto ad aumentare e diminuire in condizioni rispettivamente di maggiore e minore insolazione.

Nel periodo autunnale/invernale *P. rubescens* può dare luogo a spettacolari fioriture, molte delle quali documentate anche in molti laghi italiani, tra cui i grandi laghi sudalpini (Garibaldi *et al.*, 2000), e i laghi di Pusiano (Legnani *et al.*, 2005; Carraro *et al.*, 2012), Occhito (Assennato *et al.*, 2010; Copetti *et al.*, 2011) e Ledro (Salmaso *et al.*, 2013). Gli addensamenti superficiali presentano un caratteristico colore rosso dovuto alla presenza di ficoeritrina nelle cellule. Le fioriture prendono avvio da una contemporanea e progressiva diminuzione della profondità di galleggiamento neutro, z_n , causata dalla diminuzione della durata e intensità

dell'illuminazione giornaliera, e da un aumento della profondità dello strato rimescolato, z_m . Quando $z_m > z_n$, i filamenti sono trascinati verso la superficie (Walsby & Schanz, 2002), sperimentando una maggiore insolazione media giornaliera nello strato rimescolato (Q_v) e diminuendo la capacità di galleggiamento. Con il progressivo raffreddamento delle acque e all'aumentare di z_m , l'insolazione giornaliera media Q_v diminuisce, fino ad assumere, a specifici valori di profondità critica per il galleggiamento (z_q), valori equivalenti a Q_n , e rendendo i filamenti in grado di galleggiare formando, in condizioni di calma di vento e minore turbolenza, fioriture superficiali (Walsby *et al.*, 2006) (caso 2 in Figura A1.1). Pertanto, fioriture superficiali di *P. rubescens* potranno essere osservate in laghi con una profondità tale da permettere non solo lo sviluppo metalimnetico estivo dei filamenti, ma anche il raggiungimento di profondità di mescolamento richieste per il galleggiamento neutro $z_q \gg z_n$. Una volta in superficie, e in presenza di brezze leggere, i filamenti possono essere trasportati piuttosto rapidamente dalla zona pelagica verso le zone litorali (con spostamenti fino a 160 m h^{-1} ; Oliver & Ganf, 2000). Nei laghi profondi *Planktothrix* può subire una completa diluizione lungo tutta la colonna d'acqua nel caso di completo rimescolamento invernale (caso 6 in Figura A1.1). Il periodo autunnale/invernale rappresenta un momento critico del ciclo annuale, in cui la specie viene dispersa su un volume più ampio rispetto ai mesi estivi. L'intensità dell'inoculo invernale è cruciale per il successo della popolazione nella stagione successiva (Dokulil & Teubner, 2012).

Le proliferazioni metalimnetiche di *P. rubescens* possono raggiungere valori di biomassa consistenti. Nel Lago di Occhito, nel giugno del 2009, dopo la fioritura documentata nell'inverno precedente, le densità nella stazione di centro lago presentavano valori superiori a 34.000 cell/mL (Copetti *et al.*, 2011). Nello stesso campionamento, dati raccolti lungo il thalveg con il fluorimetro FluoroProbe (Beutler *et al.*, 2002), hanno evidenziato uno strato ben differenziato tra i 7 e i 14 m di profondità (al limite della zona eufotica) ed esteso per tutta la lunghezza dell'invaso (circa 13 km), con valori di clorofilla-a associati a *Planktothrix* intorno a $20 \mu\text{g/L}$ (Copetti *et al.*, 2010). In primavera, in condizioni di debole stratificazione termica, la specie può invece distribuirsi in uno strato superficiale di spessore variabile (caso 3 in Figura A1.1) con valori di biomassa anche consistenti. Sempre nel Lago Occhito i dati raccolti sottodiga nell'aprile 2009 indicavano valori di densità medi superiori a 80.000 cell/L (Copetti *et al.*, 2011), con un picco di circa 95.000 cell/L situato a 5 m di profondità nell'incipiente termoclino.

Poiché durante il periodo estivo la popolazione di *P. rubescens* si posiziona in corrispondenza del salto termico (mentre tende a essere dispersa in superficie in periodi dell'anno in cui le acque lacustri non vengono utilizzate dai bagnanti), l'impatto delle fioriture di questa specie sulla balneabilità delle acque risulta sicuramente inferiore rispetto a quello di altre specie cianobatteriche potenzialmente tossiche, mentre risulta più critico in riferimento ad altri usi della risorsa idrica, quali la captazione di acqua per l'approvvigionamento idrico o l'utilizzo irriguo. In questi casi, il cono di risucchio creato dalle opere di presa dell'acqua potabile o per uso irriguo può coinvolgere un ampio strato della colonna d'acqua lacustre in un intervallo compreso tra 10 e 30 metri di profondità, di fatto facilitando l'estrazione della fioritura di *P. rubescens* dal lago, con evidente impatto sanitario sull'uso della risorsa acquatica.

A1.7.2. Fioriture superficiali di *Dolichospermum lemmermannii*

Le fioriture di *D. lemmermannii* rappresentano tipici esempi di fioriture superficiali che si manifestano sotto forma di sottili (1-2 cm) strie giallo-verdi galleggianti sulla superficie dell'acqua in condizioni di elevata stabilità termica (caso 2 in Figura A1.1) e in zone sottovento e riparate (litorali e porti), dando luogo alla formazione di spesse coltri di schiume maleodoranti (caso 1 in

Figura A1.1). Nei grandi laghi italiani a sud delle Alpi, dove questa specie è comparsa dai primi anni '90 del secolo scorso; Salmaso *et al.*, 1994), lo sviluppo delle fioriture è generalmente compreso tra giugno e ottobre, con il massimo dei casi localizzato nei tre mesi più caldi (tra luglio e settembre). In diverse occasioni (es. con continua calma di vento), le fioriture di questa specie presentano una ciclicità di 24 ore, comparando nelle prime ore del giorno e svanendo nelle ore pomeridiane. Il genere *Dolichospermum* presenta vescicole gassose meno rigide e maggiormente suscettibili all'aumento della pressione di turgore. I valori di "pressione critica" p_c sono dell'ordine di 0,20-0,56 Mpa (*D. flos-aquae*; Hayes *et al.*, 1992). Secondo quanto riportato in Reynolds (2006), *D. lemmermannii* presenterebbe tuttavia vescicole gassose più robuste rispetto alle altre specie dello stesso genere (0,93 MPa). Di giorno la fotosintesi e il turgore cellulare aumentano, le vescicole gassose collassano e le cellule aumentano di densità, sedimentando. A basse illuminazioni il ciclo si inverte e le cellule, di notte, iniziano a risalire. L'accumulo e la respirazione di carboidrati nel controllo del galleggiamento in *Dolichospermum* sembrerebbero di minore importanza rispetto all'azione esercitata dalle variazioni della pressione di turgore (Oliver & Walsby, 1984). Come evidenziato nel paragrafo A1.5, le sottili striscie e mazzature sono il risultato di un veloce accumulo in superficie di popolazioni già presenti nello strato trofogenico, e non tanto di uno sviluppo abnorme nello strato più superficiale. Il numero di cellule presenti nelle fioriture può arrivare a valori molto alti ($\gg 100.000$ cell/mL) (Salmaso, 2000). D'altra parte, essendo strettamente localizzati nei primissimi centimetri della colonna d'acqua, gli episodi osservati trasmettono una falsa impressione di abbondanza algale. Questo appare del tutto evidente se si confrontano le abbondanze relative (in termini di densità o biomassa) di *Dolichospermum* con le altre specie fitoplanctoniche. Nelle normali indagini condotte dal 1993 nello strato 0-20 m del Lago di Garda, questa specie è sempre stata rilevata con biomasse $< 50 \text{ mm}^3/\text{m}^3$ (640 cell/mL), corrispondenti a una frazione sul totale della comunità sempre inferiore a ca. il 5%. In considerazione della scarsa abbondanza areale, le fioriture pelagiche di *Dolichospermum* sono state descritte con il termine *fioriture oligotrofe* (Salmaso, 2000). Per converso, le fioriture pelagiche, dopo essere state trasportate da venti leggeri e correnti, possono essere accumulate lungo i litorali dando luogo, specialmente nelle baie e porti riparati, a irregolari e più compatti (fino ad alcuni cm) addensamenti di filamenti. Situazioni di questo tipo, documentate per esempio nel porto di Bardolino (Garda) nell'agosto del 2002, sono diventati episodi non così infrequenti anche nei laghi d'Iseo, Como e Maggiore, così come in altri laghi di medie e piccole dimensioni. In questa tipologia di bacini, le fioriture di *D. lemmermannii* possono formare spessi addensamenti lungo ampie zone di costa, con profonde ripercussioni sull'intero sistema lacustre (caso 1 in Figura A1.1).

La formazione delle fioriture pelagiche di *Dolichospermum* richiede una colonna d'acqua stabile e assenza di vento. Elevati livelli di turbolenza tenderebbero infatti a ridistribuire gli organismi lungo la colonna d'acqua. In particolare, è stato osservato che la formazione delle fioriture è particolarmente favorita in presenza di spiccati gradienti termici superficiali e in assenza di evidenti strati epilimnetici, in presenza cioè di un "metalimnio superficiale" (Salmaso, 2005). Strati epilimnetici ben rimescolati, anche se di ridotta estensione (3 m), rappresentano una condizione sfavorevole per l'innescio delle fioriture di *Dolichospermum*. Le condizioni meteorologiche pertanto sono essenziali nel controllo delle fioriture, che potranno essere osservate solo in condizioni favorevoli di tempo atmosferico, temperature stabili ed elevate, e calma di vento. Venti continui attorno a 3-4 m/s sono in grado di formare e mantenere strati rimescolati con spessori di 1 m. Queste intensità di vento costituiscono un valore limite oltre il quale iniziano a formarsi increspature nell'acqua (Webster & Hutchinson, 1994).

A1.7.3. Fioriture di *Microcystis aeruginosa*

In *M. aeruginosa* le vescicole gassose sono più resistenti rispetto a *Dolichospermum* e il controllo del galleggiamento si esplica soprattutto attraverso l'accumulo e la degradazione di carboidrati (Thomas & Walsby, 1985). Il genere *Microcystis* è estremamente diffuso nelle acque superficiali di tutta Italia. La presenza di *Microcystis* è concentrata prevalentemente nel periodo estivo e autunnale negli strati superficiali e può dare origine anche ad intense fioriture con produzione di cianotossine. Il genere può essere classificato tra i cianobatteri tipici di ambienti eutrofici. A titolo esemplificativo, intense fioriture di *Microcystis* sono state osservate nel corso degli anni '80 nel Lago di Como, in coincidenza con il raggiungimento del massimo livello trofico del bacino (Mosello *et al.*, 1991; Mosello *et al.*, 2010). Dal 2007, durante i monitoraggi quindicinali effettuati ai fini della valutazione della balneabilità, seppur in presenza di popolazioni misurabili di *Planktothrix*, nei laghi di Como e Lugano non sono state osservate fioriture. Al contrario, nei laghi minori, quali il Montorfano (Como), *Microcystis* ha dato luogo a fioriture anche intense.

Il Lago di Montorfano è un lago dimittico e poco profondo. Nel 2009 si sono verificate due fioriture di *Microcystis* spp., a luglio e a settembre. In entrambi i casi le densità erano di gran lunga superiori a 100.000 cell/mL. Nei campioni superficiali raccolti a 1 m dalla riva le fioriture erano dovute all'addensamento di *M. aeruginosa* e *M. wesenbergii*. La fioritura ha interessato prevalentemente i primi 3-4 metri di costa (caso 1 in Figura A1.1) e l'acqua ha acquisito un'intensa colorazione verde per la presenza di agglomerati cellulari di varie dimensioni visibili ad occhio nudo. Anche al termine delle fioriture la densità delle cellule di *Microcystis* spp. si è mantenuta su livelli elevati (> 10.000 cell/mL) per tutto il periodo estivo e autunnale.

Una serie di osservazioni condotte sui bacini artificiali siciliani ha permesso di mettere in relazione le fioriture di *Microcystis* spp. e le oscillazioni di livello cui questi ambienti sono soggetti a causa del clima mediterraneo (inverni piovosi ed estati asciutte) e dell'insularità della regione (reticolo fluviale per lo più formato da corsi d'acqua temporanei). In particolare l'utilizzo estivo delle acque invase per far fronte alle necessità irrigue e idropotabili causa un rapido abbassamento della quota del pelo libero. L'abbassamento del livello lacustre e il contemporaneo trascinarsi verso il basso del termoclino causa un'immissione negli strati trofogenici di nutrienti di provenienza ipolimnetica (a causa del regime temporaneo degli immissari, nessun afflusso idrico proviene dal bacino nei periodi secchi). Esso inoltre può, in casi estremi, causare la rottura anticipata del termoclino e una circolazione delle acque "fuori stagione" (Naselli-Flores, 2003, 2014; Naselli-Flores & Barone, 2003, 2005, 2007). Peraltro, le elevate temperature estive possono instaurare fenomeni di atelomissi (stratificazione giornaliera) con la creazione di un termoclino effimero e poco profondo ma sufficiente, nei bacini più produttivi, a generare fenomeni di anossia ipolimnetica con la conseguente mobilitazione di fosforo dai sedimenti. La rottura del termoclino e il concomitante sprofondamento repentino della zona di mescolamento alterano i rapporti tra zona di mescolamento e zona eufotica e generano una condizione simile a quella che si ha in ecosistemi profondi durante la circolazione. Quando il rapporto z_{mix}/z_{eu} supera il valore di 3, il bilancio tra fotosintesi e respirazione delle alghe fitoplanctoniche diventa negativo, non consentendo un loro ulteriore sviluppo (Reynolds, 2006). Queste condizioni ambientali, frequentemente riscontrate nei bacini artificiali siciliani, operano come meccanismi di selezione nei confronti di quelle alghe fitoplanctoniche che, a causa di valori di densità delle cellule inferiori a quelli dell'acqua, e delle grandi dimensioni, sono in grado di galleggiare sfuggendo al trascinarsi operato dalle masse d'acqua circolanti; tra queste i grandi cianobatteri planctonici gas-vacuolati, e in particolare *Microcystis* spp.. L'abbassamento del livello della superficie lacustre favorisce inoltre il reclutamento delle colonie di *Microcystis* che trascorrono i periodi avversi (p.es. la

stagione invernale) adagiate sui sedimenti lacustri profondi, prive di vescicole gassose (overwintering), e che necessitano di un adeguato stimolo luminoso per tornare a produrre le strutture di galleggiamento (Reynolds, 2006).

A1.7.4. Altri tipi di fioriture

Tra le Nostocales planctoniche, oltre a specie del genere *Dolichospermum*, *C. (Aph.) ovalisporum* fiorisce frequentemente in area mediterranea in un'ampia varietà di ambienti acquatici. Questa specie, registrata in uno stagno siciliano (Biviere di Gela) a partire dal 2002 con densità pari a circa 500×10^3 cell/mL, fu osservata formare fioriture per la prima volta nel 1994 in Israele nel Lago Kinneret (Pollinger *et al.*, 1998). Successivamente è stata rinvenuta in alcuni laghi greci e in bacini artificiali spagnoli (Gkelis *et al.*, 2005; Quesada *et al.*, 2006). Più in generale, assieme a *C. raciborskii*, nel corso degli ultimi 2-3 decenni l'areale geografico di questa specie ha mostrato una rapida espansione nei laghi situati nelle zone climatiche temperate e subtropicali (Sukenik *et al.*, 2012). La sua abbondante presenza in questi ambienti è stata generalmente messa in relazione con le elevate temperature estive dell'acqua e i ceppi rinvenuti hanno sempre mostrato di produrre CYN (Codd *et al.*, 2005b).

Nel Biviere di Gela, *Aph. ovalisporum* fiorisce irregolarmente in estate quando la temperatura dell'acqua supera i 27°C. Come accennato in precedenza, la specie ha cominciato a manifestarsi quando la vegetazione acquatica del lago, a causa di una alterazione del bilancio idrico, si è estinta trasformando il lago da un ambiente dominato da piante acquatiche e caratterizzato da elevati valori di trasparenza ad un ambiente torbido dominato dal fitoplancton (Barone *et al.*, 2010). I periodi tardo estivi (fine agosto-settembre) sono generalmente dominati da *C. raciborskii* con valori di biovolume al di sotto di 10 mm³/L. In accordo con Reynolds *et al.* (2002), la regolare comparsa nello stagno di quest'ultima specie è favorita dalle condizioni di bassa disponibilità luminosa, scarsa disponibilità di azoto e assenza di turbolenza nella colonna d'acqua che si realizzano a fine estate.

Negli ambienti temperati, *C. raciborskii* è prevalentemente diffusa in laghi poco profondi, dove le temperature estive dei sedimenti raggiungono valori \geq a 22-25°C, in grado di far germogliare gli acineti che superano l'inverno nel sedimento. Lo sviluppo di acineti da parte di *C. raciborskii* come strategia di sopravvivenza all'inverno o alle basse temperature, è stato osservato solo nelle zone temperate, dove questa specie può raggiungere concentrazioni molto più elevate di quanto osservato in ambienti tropicali, ma solo durante il periodo estivo (Padisák, 1997). Le fioriture sembrano favorite da condizioni di bassa disponibilità luminosa, scarsa disponibilità di azoto e assenza di turbolenza nella colonna d'acqua che si realizzano a fine estate (Reynolds *et al.*, 2002). Si sviluppano generalmente lungo la colonna d'acqua, senza quasi mai dare luogo a schiume superficiali, ma provocano un lieve cambiamento di colorazione dell'acqua, rendendo meno efficace l'ispezione visiva. Inoltre, i ceppi europei di *Cilindrospermopsis* sono risultati tossici ma non è ancora stata individuata la sostanza responsabile (Fastner *et al.*, 2003), non sembrando produrre (pur con alcune eccezioni, Messineo *et al.*, 2010) né cilindrospermopsina né tossine PSP (*paralytic shellfish poisoning*), come invece avviene per i ceppi australiano e americano, rispettivamente.

A1.8. Conclusioni

La conoscenza dei fattori che favoriscono la crescita dei cianobatteri e il loro sviluppo in forma massiva è essenziale per poter predisporre adeguate misure volte a contrastare e minimizzare i

rischi connessi con la comparsa di genotipi tossici nelle acque destinate ad uso ricreativo e potabile. Nel corso degli ultimi anni, a seguito della maggiore disponibilità di informazioni ottenute nell'ambito delle numerose ricerche scientifiche condotte a livello internazionale, alcuni dei paradigmi su cui si fondavano le tecniche di recupero e salvaguardia dei corpi lacustri si sono andati rapidamente modificando. Se, da una parte, la riduzione dei carichi di fosforo (e in casi specifici azoto) rimane spesso l'unico intervento utile per favorire la riduzione dei cianobatteri, dall'altra parte è aumentata la consapevolezza circa le notevoli differenze nelle risposte delle singole specie di cianobatteri alle modificazioni nelle concentrazioni di nutrienti. Mentre alcune specie sono indicative di condizioni di elevata trofia (*Microcystis* spp.), altre specie, per le loro specifiche caratteristiche autoecologiche, si ritrovano solo in laghi oligo-mesotrofici e mesotrofici (*P. rubescens*) caratterizzati da specifiche caratteristiche fisiografiche e climatiche. Generalizzazioni non sono possibili nemmeno a livello di genere in quanto, per esempio, *P. agardhii* è una specie che, a differenza di *P. rubescens*, predilige laghi mescolati e torbidi.

Su questo quadro, già di per sé articolato, si sovrappongono gli effetti generati dalle variazioni climatiche a diverse scale temporali – da giornaliere a secolari. Le fluttuazioni del clima a livello locale e a scala giornaliera (fluttuazioni meteorologiche) controllano strettamente lo sviluppo delle fioriture (senso stretto) superficiali e, più in generale, la distribuzione delle microalghe nello strato epilimnetico. I cambiamenti climatici su scale decadali e secolari, caratterizzate nel corso dell'ultimo secolo da un significativo aumento delle temperature, sembrerebbero essere strettamente legate all'espansione degli areali di distribuzione di specifici gruppi cianobatterici, e in particolare delle Nostocales. La colonizzazione di *D. lemmermannii* nel Lago di Garda e negli altri grandi laghi a sud delle Alpi sembra avere preso avvio in modo indipendente dallo stato trofico dei bacini. La comparsa di questa specie nel Lago Maggiore, giusto al termine del lungo processo di oligotrofizzazione iniziato negli anni '80 del secolo scorso, e in piene condizioni di oligotrofia, è stato un fatto del tutto inatteso e poco prevedibile, almeno secondo gli standard interpretativi di un decennio fa. D'altra parte, è da sottolineare la necessaria distinzione tra comparsa di nuove specie e intensità di sviluppo. Almeno nei laghi più profondi e con un livello trofico meno accentuato, lo sviluppo di *Dolichospermum* nella colonna d'acqua è sempre molto limitato. Per converso, una volta concentrate nei primi centimetri della colonna d'acqua, o lungo i litorali e baie riparate, le colonie di questa specie costituiscono strati più o meno spessi, con evidenti problemi per l'utilizzo delle acque a scopo ricreativo (compresi gli sport acquatici nelle zone centrali dei corpi lacustri).

La forte variazione esistente nel contenuto di tossine per unità di cellula o biovolume (fino a diversi ordini di grandezza) richiede di essere adeguatamente considerata quando le densità o le biomasse sono utilizzate come criterio per la valutazione del potenziale tossico delle popolazioni cianobatteriche. In un approccio del tutto conservativo, nello spirito della salvaguardia della salute dei bagnanti e in assenza di informazioni sul potenziale di tossicità, le popolazioni cianobatteriche andrebbero considerate costituite interamente da ceppi tossici. La conoscenza delle dinamiche delle popolazioni cianobatteriche permette di inquadrare la dimensione del problema e, attraverso la conoscenza dell'autoecologia delle specie, di prevederne la possibile evoluzione nel tempo. Sulla base di queste premesse, l'utilizzo di valori predeterminati di quote cellulari di tossine potrebbe, nella peggiore delle ipotesi, sottostimare gravemente l'entità del rischio.

L'analisi diretta delle cianotossine costituisce d'altra parte l'unico sistema diretto di valutazione del rischio, che tanto impulso ha avuto relativamente alla definizione delle strategie di monitoraggio con lo sviluppo di tecniche analitiche commerciali di facile applicazione e rapida risposta costituite dalle tecniche ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) di analisi immunoenzimatica. Sul fronte dello studio dello sviluppo dei cianobatteri, un cambiamento di paradigma nel prossimo futuro sarà quanto mai opportuno, richiedendo di spostare la valutazione, interpretazione e gestione del rischio dal livello di *specie e popolazione* al livello di *genotipo*

(ceppo). In questa prospettiva, il livello di innovazione nella definizione del rischio in ambienti contaminati da cianobatteri sarà strettamente connesso con lo sviluppo di nuove tecnologie che, nel caso dell'identificazione di genotipi tossici o dell'espressione della tossicità in tempo reale, sono in una fase di differente sviluppo, a seconda del tipo di tossine analizzate (Humbert *et al.*, 2010; Kaushika & Balasubramanian, 2013; Srivastava *et al.*, 2013; Weller, 2013).

Bibliografia

- Anneville O, Pelletier JP. Recovery of Lake Geneva from eutrophication: quantitative response of phytoplankton. *Arch Hydrobiol* 2000;148:607-24.
- Assennato G, Blonda M, Cudillo B, Gifuni S, Petruzzelli MR, Pastorelli AM, Ungaro N. Cyanobacteria bloom in the Occhito artificial lake (southern Italy): relationship between *Planktothrix rubescens* density and microcystin concentration. *Fresen Environ Bull* 2010;19:1795-801.
- Bar-Yosef Y, Sukenik A, Hadas O, Viner-Mozzini Y, Kaplan A. Enslavement in the water body by toxic *Aphanizomenon ovalisporum*, inducing alkaline phosphatase in phytoplanktons. *Curr Biol* 2010;20(17):1557-61.
- Barone R, Castelli G, Naselli-Flores L. Red sky at night cyanobacteria delight: the role of climate in structuring phytoplankton assemblage in a shallow, Mediterranean lake (Biviere di Gela, southeastern Sicily). *Hydrobiologia* 2010;639:43-53.
- Bates BC, Kundzewicz ZW, Wu S, Palutikof JP (Ed.). *Climate change and water. Technical paper of the intergovernmental panel on climate change*. Geneva: IPCC Secretariat; 2008 p. 210.
- Beard SJ, Handley BA, Walsby AE. Spontaneous mutations in gas vesicle genes of *Planktothrix* spp. affect gas vesicle production and critical pressure. *FEMS Microbiol Lett* 2002;215:189-95.
- Beutler M, Wiltshire KH, Meyer B, Moldaenke C, Lüring C, Meyerhöfer M, Hansen UP, Dau H. A fluorometric method for the differentiation of algal populations *in vivo* and *in situ*. *Photosynth Res* 2002;72:39-53.
- Bogialli S, Nigro di Gregorio F, Lucentini L, Ferretti E, Ottaviani M, Ungaro N, Abis PP, Cannarozzi de Grazia M. Management of a toxic cyanobacterium bloom (*Planktothrix rubescens*) affecting an Italian drinking water basin: A case study. *Environ Sci Technol* 2013;47:574-83.
- Bowmer KH, Padovan A, Oliver RL, Korth W, Ganf GG. Physiology of geosmin production by *Anabaena circinalis* isolated from the Murrumbidgee River, Australia. *Water Sci Technol* 1992;25:259-67.
- Briand E, Gugger M, Francois JC, Bernard C, Humbert JF, Quiblier C. Temporal variations in the dynamics of potentially microcystin-producing strains in a bloom-forming *Planktothrix agardhii* (Cyanobacterium) population. *Appl Environ Microbiol* 2008a;74(12):3839-48.
- Briand E, Yepremian C, Humbert JF, Quiblier C. Competition between microcystin- and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environ Microbiol* 2008b;10(12):3337-48.
- Bright DI, Walsby AE. The relationship between critical pressure and width of gas vesicles in isolates of *Planktothrix rubescens* from Lake Zürich. *Microbiology* 1999;145:2769-75.
- Carey CC, Ibelings BW, Hoffmann EP, Hamilton DP, Brookes JD. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Res* 2012;46:1394-407.
- Carraro E, Guyennon N, Hamilton D, Valsecchi L, Manfredi EC, Viviano G, Salerno F, Tartari G, Copetti D. Coupling high-resolution measurements to a three dimensional lake model to assess the spatial and temporal dynamics of the cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in a medium-sized lake. *Hydrobiologia* 2012;698:77-95.

- Cerasino L, Salmaso N. Diversity and distribution of cyanobacterial toxins in the Italian subalpine lacustrine district. *Oceanol Hydrobiol Studies* 2012;41:54-63.
- Chu Z, Jin X, Yang B, Quigru Z. Buoyancy regulation of *Microcystis flos-aquae* during phosphorus limited and nitrogen limited growth. *J Plankton Res* 2007;29:739-45.
- Codd GA, Chorus I, Burch M. Design of monitoring programmes. In: Chorus I, Bartram J (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, New York: E&FN Spon; 1999. (Published on behalf of WHO). p. 313-28.
- Codd GA, Lindsay J, Young FM, Morrison LF, Metcalf JS. Harmful cyanobacteria. From mass mortalities to management measures. In: Huisman J, Matthijs HTP, Visser PM. *Harmful cyanobacteria*. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2005a.
- Codd GA, Morrison LF, Metcalf JS. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharm* 2005b;203:264-72.
- Conley DJ, Paerl HW, Howarth RW, Boesch DF, Seitzinger SP, Havens KE, Lancelot C, Likens GE. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Science* 2009;323:1014-5.
- Copetti D, Guzzella L, Mingazzini M, Vignati D, Mastroianni D, Tartari G, Palumbo MT, Valsecchi L, Guyennon N, Ghislanzoni L, Legnani D, Pozzoni F. *Studio limnologico e valutazione della produzione di microcistine associate a una intensa fioritura di P. rubescens nel Lago Occhito. Rapporto Finale*. Roma: IRSA-CNR; 2010.
- Copetti D, Valsecchi L, Ghislanzoni L, Pozzoni F, Carraro E, Guyennon N, Tartari G, Guzzella L. Intense *Planktothrix rubescens* blooms in a South Italy multiple-uses reservoir and their impact on the agricultural irrigation network. In: *Program and book of abstracts of the 16 the Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP)*. San Michele all'Adige (Trento). 21-28 August, 2012, 27.
- Cronberg G, Annadotter H. *Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and synopsis of their toxicology*. Copenhagen: ISSHA and IOC of UNESCO; 2006.
- D'Alelio D, Gandolfi A. Recombination signals in the *rpoC1* gene indicate gene-flow between *Planktothrix* (cyanoprokaryota) species. *J Phycol* 2012;48:1424-32.
- D'Alelio D, Gandolfi A, Boscaini A, Flaim G, Tolotti M, Salmaso N. *Planktothrix* populations in subalpine lakes: selection for strains with strong gas vesicles as a function of lake depth, morphometry and circulation. *Freshwater Biol* 2011;56(8):1481-93.
- D'Alelio D, Salmaso N. Occurrence of an uncommon *Planktothrix* (Cyanoprokaryota, Oscillatoriales) in a deep lake south of the Alps. *Phycologia* 2011;50(4):379-83.
- D'Alelio D, Salmaso N, Gandolfi A. Frequent recombination shapes the epidemic population structure of *Planktothrix* (cyanoprokaryota) in Italian sub-alpine lakes. *J Phycol* 2013;49:1107-17.
- Dadheech PK, Glöckner G, Casper P, Kotut K, Mazzoni CJ, Mbedi S, Krienitz L. Cyanobacterial diversity in the hot spring, pelagic and benthic habitats of a tropical soda lake. *FEMS Microbio Ecol* 2013;85:389-401.
- Davis TW, Berry DL, Boyer GL, Gobler CJ. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae* 2009;8(5):715-25.
- Davis TW, Harke MJ, Marcoval MA, Goleski J, Orano-Dawson C, Berry DL, Gobler CJ. Effects of nitrogenous compounds and phosphorus on the growth of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacterial blooms. *Aquat Microb Ecol* 2010;61(2):149-62.
- De Clerck O, Guiry MD, Leliaert F, Samyn Y, Verbruggen H. Algal taxonomy: a road to nowhere? *J Phycol* 2013;49(2):215-25.

- Dietrich D, Hoeger S. Guidance values for microcystins in water and cyanobacterial supplement products (blue-green algal supplements): A reasonable or misguided approach? *Toxicol Appl Pharm* 2005;203(3 SPEC. ISS.):273-89.
- Dokulil M, Teubner K. Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 2000;438:1-12.
- Dokulil M, Teubner K. Deep living *Planktothrix rubescens* modulated by environmental constraints and climate forcing. *Hydrobiologia* 2012;698:29-46.
- Downing JA, Watson SB, McCauley E. Predicting Cyanobacteria dominance in lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 2001;58:1905-8.
- Elliott JA, Jones ID, Thackeray SJ. Testing the sensitivity of phytoplankton communities to changes in water temperature and nutrient load, in a temperate lake. *Hydrobiologia* 2006;559:401-11.
- Ernst B., Hoeger SJ, O'Breien E, Dietrich DR. Abundance and toxicity of *Planktothrix rubescens* in the pre-alpine Lake Ammersee, Germany. *Harmful Algae* 2009;8:329-42.
- Fastner J, Heinze R, Humpage AR, Mischke U, Eaglesham GK, Chorus I. *Cylindrospermopsis* occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* 2003;42:313-21.
- Francis G. Poisonous Australian lakes. *Nature* 1878;18:1-12.
- Funari E, Manganelli M, Scardala S, Stefanelli M, Palazzo F, Testai E, Gemma S, Vichi S. *Indagine per approfondire gli aspetti sanitari associati alle fioriture di Planktothrix rubescens nel Lago di Vico. Relazione finale*. Roma: Istituto Superiore di Sanità, Provincia di Viterbo; 2011.
- Funari E, Manganelli M, Sinisi L. Impact of climate change on waterborne diseases. *Ann Ist Super Sanità* 2012;48(4):473-83.
- Funari E, Testai E. Human health risk assessment related to cyanotoxins exposure. *Crit Rev Toxicol* 2008;38:97-125.
- Garibaldi L, Buzzi F, Morabito G, Salmaso N, Simona M. I cianobatteri fitoplanctonici dei laghi profondi dell'Italia Settentrionale. In: Funari E (Ed.). *Aspetti sanitari della problematica dei cianobatteri nelle acque superficiali italiane*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2000. (Rapporti ISTISAN 00/30). p. 117-35.
- Geider RJ, La Roche J. Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *Eur J Phycol* 2002;37:1-17.
- George G (Ed.). *The impact of climate change on European lakes*. Dordrecht: Springer, 2010.
- Gkelis S, Moustaka-Gouni M, Sivonen K, Lanaras T. First report of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* Forti in two Greek lakes and cyanotoxin occurrence. *J Plankton Res* 2005;27:1295-300.
- Graham LE, Graham JM, Wilcox LW. *Algae*. 2nd edition. San Francisco: Benjamin Cummings; 2009.
- Guiry MD, Guiry GM. *AlgaeBase* [Internet]. Galway: National University of Ireland; 1996-2015. Disponibile all'indirizzo: www.algaebase.org; ultima consultazione 17/12/2014.
- Hayes P K, Buchholz B, Walsby AE. Gas vesicles are strengthened by the outer-surface protein, GvpC. *Arch Microbiol* 1992;157:229-34.
- Hickel B, Pollinger U. Identification of the bloom-forming *Peridinium* from Lake Kinneret (Israel) as *P. gatunense* (Dinophyceae). *Brit J Phycol* 1988;23:115-9.
- Hoffmann L, Komarek J, Kastovsky J. System of cyanoprokaryotes (cyanobacteria) state in 2004. *Algol Stud* 2005;117:95-115.
- Hotto AM, Satchwell MF, Berry DL, Gobler CJ, Boyer GL. Spatial and temporal diversity of microcystins and microcystin-producing genotypes in Oneida Lake, NY. *Harmful Algal* 2008;7(5):671-81.

- Hoyer AB, Moreno-Ostos E, Vidal J, Blanco JM, Palomino-Torres RL, Basanta A, Escot C, Rueda FJ. The influence of external perturbations of the functional composition of phytoplankton in a Mediterranean reservoir. *Hydrobiologia* 2009;636:49-64.
- Humbert JF, Quiblier C, Gugger M. Molecular approaches for monitoring potentially toxic marine and freshwater phytoplankton species. *Anal Bioanal Chem* 2010;397:1723-32.
- Hyenstrand P, Blomquist P, Pettersson A. Factors determining cyanobacterial success in aquatic systems – a literature review. *Arch Hydrobiol, Spec Issues Advanc Limnol* 1998;51:41-62.
- Jaquet S, J. Briand F, Leboulanger C, Avois-Jacquet C, Oberhaus L, Tassin B, Vinçon-Leite B, Paolini G, Druart JC, Anneville O, Humbert J-F. The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae* 2005;4:651-72.
- Jeppesen E, Søndergaard M, Jensen JP, Havens KE, Anneville O, Carvalho L, Coveney MF, Deneke R, Dokulil MT, Foy B, Gerdeaux D, Hampton SE, Hilt S, Kangur K, Köhler J, Lammens EHHR, Lauridsen TL, Manca M, Miracle MR, Moss B, Nöges P, Persson G, Phillips G, Portielje R, Romo S, Schelske CL, Straile D, Tatrai I, Willén, E, Winder M. Lake responses to reduced nutrient loading - An analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biol* 2005;50(10):1747-71.
- Jöhnk KD, Huisman J, Sharples J, Sommeijer B, Visser PM, Stroom JM. Summer heat waves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Glob Change Biol* 2008;14:495-512.
- Kardinaal WE, Visser PM. Dynamics of cyanobacterial toxins. Sources of variability in microcystin concentrations. In: Huisman J, Matthijs HCP, Visser PM (Ed.). *Harmful cyanobacteria*. Dordrecht: Springer; 2005. p. 41-63.
- Kaushika R, Balasubramanian R. Methods and approaches used for detection of cyanotoxins in environmental samples: a review. *Crit Rev Env Sci Tec* 2013;43:1349-83.
- Kinsman R, Ibelings BW, Walsby AE. Gas vesicle collapse by turgor pressure and its role in buoyancy regulation by *Anabaena flos-aquae*. *J Gen Microbiol* 1991;137:1171-8.
- Kleinteich J, Wood SA, Küpper FC, Camacho A, Quesada A, Frickey T, Dietrich DR. Temperature-related changes in polar cyanobacterial mat diversity and toxin production. *Nature Climate Change* 2012;2:356-60.
- Komárek J. Cyanobacterial taxonomy: current problems and prospects for the integration of traditional and molecular approaches. *Algae* 2006;21:349-75.
- Komárek J. Modern taxonomic revision of planktic nostocacean cyanobacteria: a short review of genera. *Hydrobiologia* 2009a;639(1):231-43.
- Komárek J. Recent changes (2008) in cyanobacteria taxonomy based on a combination of molecular background with phenotype and ecological consequences (genus and species concept). *Hydrobiologia* 2009b;639(1):245-59.
- Komárek J. *Süßwasserflora von Mitteleuropa: Bd. 19/3. Cyanoprokaryota 3. Teil. Heterocytous Genera*. Heidelberg: Springer Spektrum; 2013.
- Komárek J, Anagnostidis K. *Süßwasserflora von Mitteleuropa: Bd. 19/1 Cyanoprokaryota 1. Teil: Chroococcales*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 1998.
- Komárek J, Anagnostidis K. *Süßwasserflora von Mitteleuropa: Bd. 19/2. Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2005.
- Komárek J, Hauer T. *CyanoDB.cz - On-line database of cyanobacterial genera* [Internet]. České Budějovice, Třeboň (Czech Republic): University of South Bohemia & Institution of Botany; ultimo aggiornamento 2014. Disponibile all'indirizzo: www.cyanodb.cz; ultima consultazione 17/12/2014.
- Komárek J, Zapomělová E. Planktic morphospecies of the cyanobacterial genus *Anabaena* subg. *Dolichospermum* – 1. part: coiled types. *Fottea* 2007;7:1-31.

- Krienitz L. Algae. In: Likens GE (Ed.) *Encyclopedia of inland waters*. vol 1. Oxford: Elsevier; 2009. p. 103-13.
- Kurmayer R, Dittman E, Fastner J, Chorus I. Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* spp. in lake Wannsee (Berlin, Germany). *Microbial Ecol* 2002;43:107-18.
- Lampert W, Sommer U. *Limnoecology. The ecology of lakes and streams*. New York: Oxford University Press; 1997.
- Legnani E, Copetti D, Oggioni A, Tartari G, Palumbo MT, Morabito G. *Planktothrix rubescens*' seasonal and spatial distribution in Lake Pusiano (North Italy). *J Limnol* 2005;64:61-73.
- Lehman PW, Boyer G, Hall C, Waller S, Gehrts K. Distribution and toxicity of a new colonial *Microcystis aeruginosa* bloom in the San Francisco Bay Estuary, California. *Hydrobiologia* 2005;541(1):87-99.
- Lewis Jr WM, Wurtsbaugh WA. Control of lacustrine phytoplankton by nutrients: erosion of the phosphorus paradigm. *Int. Rev. Hydrobiologia* 2008;93:446-65.
- Lindholm T, Eriksson JE, Meriluoto JAO. Toxic cyanobacteria and water quality problems - Examples from a eutrophic lake on Åland, South West Finland. *Water Res* 1989;23:481-6.
- Livingstone D, Jaworski GHM. The viability of akinetes of blue-green algae recovered from the sediments of Rostherne Mere. *Brit Phycol J* 1980;15(4):357-64.
- Lürling M, Eshetel F, Faassen EJ, Kosten S, Huszar VLM. Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biol* 2013;58:552-9.
- Makhalanyane TP, Valverde A, Lacap DC, Pointing SB, Tuffin MI, Cowan DA. Evidence of species recruitment and development of hot desert hypolithic communities. *Environ Microbiol Reports* 2013;5:219-24.
- Manganelli M, Scardala S, Stefanelli M, Palazzo F, Funari E, Vichi S, Buratti FM, Testai E. Emerging health issues of cyanobacterial blooms. *Ann Ist Super Sanità* 2012;48(4):415-28.
- Manganelli M, Scardala S, Stefanelli M, Vichi S, Mattei D, Bogialli S, Ceccarelli P, Corradetti E, Petrucci I, Gemma S, Testai E, Funari E. Health risk evaluation associated to *Planktothrix rubescens*: An integrated approach to design tailored monitoring programs for human exposure to cyanotoxins. *Water Res* 2010;44(5):1297-306.
- Matsumura-Tundisi T, Tundisi JG, Luzia AP, Degani RM. Occurrence of *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans 1925 bloom at the Billings Reservoir, São Paulo State, Brazil. *Braz J Biol* 2010;70:825-9.
- Messineo V, Bogialli S, Melchiorre S, Sechi N, Lugliè A, Casiddu P, Mariani MA, Padedda BM, Di Corcia A, Mazza R, Carloni E, Bruno M. Cyanobacterial toxins in Italian freshwaters. *Limnologica* 2009;39(2):95-106.
- Messineo V, Mattei D, Melchiorre S, Salvatore G, Bogialli S, Salzano R, Mazza R, Capelli G, Bruno M. Microcystin diversity in a *Planktothrix rubescens* population from Lake Albano (central Italy). *Toxicon* 2006;48:160-74.
- Messineo V, Melchiorre S, Di Corcia A, Gallo P, Bruno M. Seasonal succession of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon ovalisporum* blooms with cylindrospermopsin occurrence in the volcanic lake Albano, Central Italy. *Environ Toxicol* 2010;25:18-27.
- Metcalf JS, Codd GA. Cyanotoxins. In: Whitton BA (Ed.). *Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. Dordrecht: Springer; 2012. p. 651-75.
- Mez K, Beattie KA, Codd GA, Hanselmann K, Hauser B, Naegeli H, Preisig HR. Identification of a microcystin in benthic cyanobacteria linked to cattle deaths on alpine pastures in Switzerland. *Eur J Phycol* 1997;32(2):111-7.

- Mez K, Hanselmann K, Preisig HR. Environmental conditions in high mountain lakes containing toxic benthic cyanobacteria. *Hydrobiologia* 1998;368(1-3):1-15.
- Miller MA, Kudela RM, Mekebri A, Crane D, Oates SC, Tinker MT, Staedler M, Miller WA, Toy-Choutka S, Dominik C, Hardin D, Langlois G, Murray M, Ward K, Jessup DA. Evidence for a novel marine harmful algal bloom: cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. *PLoS ONE* 2010;5(9):e12576.
- Moccia A, Decet F, Salmaso N. Plankton and nutrients evolution of a piedmont reservoir in Northern Italy (L. Santa Croce). *Verhandlungen der IVL* 2000;27:2929-33.
- Mosello R, Ambrosetti W, Arisci S, Bettinetti R, Buzzi F, Calderoni A, Carrara E, De Bernardi R, Galassi S, Garibaldi L, Leoni B, Manca M, Marchetto A, Morabito G, Oggioni A, Pagnotta R, Ricci D, Rogora M, Salmaso N, Simona M, Tartari G, Veronesi M, Volta P. Evoluzione recente della qualità delle acque dei laghi profondi sudalpini (Maggiore, Lugano, Como, Iseo e Garda) in risposta alle pressioni antropiche e alle variazioni climatiche. *Biologia Ambientale* 2010;24:167-77.
- Mosello R, Ruggiu D, Pugnetti A, Moretti M. Observed trends in the trophic conditions and possible recovery of the deep subalpine Lake Como (Northern Italy). *Memorie dell'Istituto italiano di Idrobiologia* 1991;49:79-98.
- Nakano S, Nakajima T, Hayakawa K, Kumagai M, Jiao C. Blooms of the Dinoflagellate *Ceratium hirundinella* in large enclosures placed in Lake Biwa. *Jpn J Limnol* 1999;60:495-505.
- Naselli-Flores L. Man-made lakes in Mediterranean semi-arid climate: the strange case of Dr Deep Lake and Mr Shallow Lake. *Hydrobiologia* 2003;506/509:13-21.
- Naselli-Flores L. Mediterranean climate and eutrophication of reservoirs: limnological skills to improve management. In: Ansari AA, Gill SS, Lanza GR, Rast W (Ed.). *Eutrophication: causes, consequences and control*. Dordrecht: Springer; 2011. p. 131-42.
- Naselli-Flores L. Morphological analysis of phytoplankton as a tool to assess ecological state of aquatic ecosystems. The case of Lake Arancio, Sicily, Italy. *Inland Waters* 2014;4:15-26.
- Naselli-Flores L, Barone R. Steady-state assemblages in a Mediterranean hypertrophic reservoir. The role of *Microcystis* ecomorphological variability in maintaining an apparent equilibrium. *Hydrobiologia* 2003;502:133-43.
- Naselli-Flores L, Barone R. Water-level fluctuations in Mediterranean reservoirs: setting a dewatering threshold as a management tool to improve water quality. *Hydrobiologia* 2005;548:85-99.
- Naselli-Flores L, Barone R. Pluriannual morphological variability of phytoplankton in a highly productive Mediterranean reservoir (Lake Arancio, Southwestern Sicily). *Hydrobiologia* 2007;578:87-95.
- Naselli-Flores L, Barone R, Chorus I, Kurmayer R. Toxic cyanobacterial blooms in reservoirs under a semiarid Mediterranean climate: the magnification of a problem. *Environ Toxicol* 2007;22:399-404.
- Neilan BA, Pearson LA, Muenchhoff J, Moffitt MC, Dittmann E. Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environ Microbiol* 2013;15:1239-53.
- Oh H-M, Lee SJ, Jang M-H, Yoon B-D. Microcystin Production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Appl Environ Microbiol* 2000;66(1):176-9.
- Okello W, Ostermaier V, Portmann C, Gademann K, Kurmayer R. Spatial isolation favours the divergence in microcystin net production by *Microcystis* in Ugandan freshwater lakes. *Water Res* 2010;44(9):2803-14.
- Oliver RL, Ganf GG. Freshwater blooms. In: Whitton BA, Potts M (Ed.). *The ecology of cyanobacteria*. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2000. p. 149-94.
- Oliver RL, Hamilton DP, Brookes JD, Ganf GG. Physiology, blooms and prediction of planktonic cyanobacteria. In: Whitton BA. (Ed.). *Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. Dordrecht: Springer; 2012. p. 155-94.

- Oliver RL, Walsby AE. Direct evidence for the role of light mediated gas vesicle collapse in the buoyancy regulation of *Anabaena flos-aquae* (Cyanobacteria). *Limnol Oceanogr* 1984;29:879-86.
- O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 2012;14:313-34.
- Orr PT, Jones GJ. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnol Oceanogr* 1998;43(7):1604-14.
- Padisák J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch Hydrobiol Suppl* 1997;107:563-93.
- Padisák J. Phytoplankton. In: O'Sullivan PE, Reynolds CS (Ed.). *The lakes handbook, vol. 1, Limnology and limnetic ecology*. Malden: Blackwell Publishing; 2004. p. 251-308.
- Padisák J, Soróczki-Pintér E, Reznér Z. Sinking properties of some phytoplankton shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton-an experimental study. *Hydrobiologia* 2003;500:243-57.
- Paerl HW. Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (Cyanobacteria). In: Sandgren CD. (Ed.). *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press; 1988. p. 261-315.
- Paerl H. Nutrient and other environmental controls of harmful cyanobacterial blooms along the freshwater-marine continuum. In: Hudnell HK (Ed.). *Cyanobacterial harmful algal blooms: State of the science and research needs*. New York: Springer; 2008. p. 217-37.
- Paerl HW, Fulton RS. Ecology of harmful cyanobacteria. In: Granéli E, Turner JT (Ed.). *Ecology of harmful algae. Ecological Studies Series*. Heidelberg: Springer-Verlan 2006;189(8):95-109.
- Paerl HW, Huisman J. Climate: Blooms like it hot. *Science* 2008;320(5872):57-8.
- Paerl HW, Huisman J. Climate change: A catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ Microbiol Rep* 2009;1(1):27-37.
- Paerl HW, Paul VJ. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Res* 2012;46(5):1349-63.
- Pollinger U, Hadas O, Yacobi Y Z, Zohary T, Berman T. *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti) in Lake Kinneret, Israel. *J Plank Res* 1998;20:1321-39.
- Posch T, Köster O, Salcher MM, Pernthaler J. Harmful filamentous cyanobacteria favoured by reduced water turnover with lake warming. *Nature Climate Change* 2012;2:809-13.
- Prescott GW. Objectionable algae with reference to the killing of fish and other animals. *Hydrobiologia* 1948;1(1-4):1-13.
- Preußel K, Wessel G, Fastner J, Chorus I. Response of cylindrospermopsin production and release in *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) to varying light and temperature conditions. *Harmful Algae* 2009;8(5):645-50.
- Ptácnik R, Lepistö L, Willén E, Brettum P, Andersen T, Rekolainen S, Lyche Solheim A, Carvalho L. Quantitative responses of lake phytoplankton to eutrophication in Northern Europe. *Aquat Ecol* 2008;42:227-36.
- Quesada A, Moreno E, Carrasco D, T Paniagua, Wormer L, De Hoyos C, Sukenik A. Toxicity of *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanobacteria) in a Spanish water reservoir. *Eur J Phycol* 2006;41:39-45.
- Quiblier C, Wood S, Echenique-Subiabre I, Heath M, Villeneuve A, Humbert J-F. A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria: ecology, toxin production and risk management. *Water Res* 2013;47:5464-79.

- Ravera O, Vollenweider RA. *Oscillatoria rubescens* D.C. as an indicator of Lago Maggiore eutrophication. *Schweizerische Zeitschrift für Hydrologie-Swiss J Hydrol* 1968;30:374-80.
- Reynolds CS. *The ecology of phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006.
- Reynolds CS, Dokulil M, Padisák J (Ed.). *Development in hydrobiology. The trophic spectrum revisited*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2000.
- Reynolds CS, Huszar VL, Kruk C, Naselli-Flores L, Melo S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *J Plank Res* 2002;24:417-28.
- Reynolds CS, Walsby AE. Water blooms. *Biol Rev* 1975;50 (4):437-81.
- Rigosi A, Rueda FJ. Hydraulic control of short-term successional changes in the phytoplankton assemblage in stratified reservoirs. *Ecol Eng* 2012;44:216-26.
- Robson BJ, Hamilton DP. Summer flow event induces a cyanobacterial bloom in a seasonal Western Australian estuary. *Mar Freshwat Res* 2003;54(2):139-51.
- Romo S, Soria J, Fernández F, Ouahid Y, Barón-Solá A. Water residence time and the dynamics of toxic cyanobacteria. *Freshwater Biol* 2013;58(3):513-22.
- Ross C, Santiago-Vázquez L, Paul V. Toxin release in response to oxidative stress and programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat Toxicol* 2006;78(1):66-73.
- Ryding S-O, Rast W (Ed.). *The control of eutrophication of lakes and reservoirs*. Paris: UNESCO & The Parthenon Publishing Group; 1989.
- Saker ML, Griffiths DJ. The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia* 2000;39(4):349-54.
- Salmaso N. Factors affecting the seasonality and distribution of cyanobacteria and chlorophytes: a case study from the large lakes south of the Alps, with special reference to Lake Garda. *Hydrobiologia* 2000;438:43-63.
- Salmaso N. Fioriture di cianobatteri nei laghi profondi dell'Italia settentrionale. In: Mattei D, Melchiorre S, Messineo V, Bruno M (Ed.). *Diffusione delle fioriture algali tossiche nelle acque italiane: gestione del rischio ed evidenze epidemiologiche*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/29). p. 30-48.
- Salmaso N. Influence of atmospheric modes of variability on the limnological characteristics of a deep lake south of the Alps. *Climate Research* 2012;51:125-33.
- Salmaso N, Boscaini A, Shams S, Cerasino L. Strict coupling between the development of *Planktothrix rubescens* and microcystin quota in two nearby lakes south of the Alps (lakes Garda and Ledro). *Annales de Limnologie - Int J Limnol* 2013;49:309-18.
- Salmaso N, Buzzi F, Cerasino L, Garibaldi L, Leoni B, Morabito G, Rogora M, Simona M. Influence of atmospheric modes of variability on the limnological characteristics of large lakes south of the Alps: a new emerging paradigm. *Hydrobiologia* 2014;731:31-48.
- Salmaso N, Buzzi F, Garibaldi L, Morabito G, Simona M. Effects of nutrient availability and temperature on phytoplankton development: A case study from large lakes south of the Alps. *Aquat Sci* 2012;74:555-70.
- Salmaso N, Cavolo F, Cordella P. Fioriture di *Anabaena* e *Microcystis* nel Lago di Garda. Eventi rilevati e caratterizzazione dei periodi di sviluppo. *Acqua Aria* 1994;1:17-28.
- Salmaso N, Miola A, Cordella P. Phytoplankton succession in the euphotic zone of Lake Corlo (Northern Italy) during summer stratification. *Giornale Botanico Italiano* 1992;126:463-80.
- Salmaso N, Mosello R. Limnological research in the deep southern subalpine lakes: synthesis, directions and perspectives. *Adv Oceanogr Limnol* 2010;1:29-66.

- Salmaso N, Tolotti M. Other phytoflagellates and groups of lesser importance. In: Likens GE (Ed.). *Encyclopedia of inland waters, vol 1*. Oxford: Elsevier; 2009. p. 174-83.
- Shams S, Cerasino L, Salmaso N, Dietrich DR. Experimental models of microcystin accumulation in *Daphnia magna* grazing on *Planktothrix rubescens*: Implications for water management. *Aquatic Toxicol* 2014;148:9-15.
- Schindler DW. The dilemma of controlling cultural eutrophication of lakes. *P Roy Soc Lond B Bio* 2012;279(1746):4322-33.
- Schopf JW. The fossil record of cyanobacteria. In: Whitton BA (Ed.). *Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time*. Dordrecht: Springer; 2012. p. 15-36.
- Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London, New York: E&FN Spon; 1999. (Published on behalf of WHO). p. 41-111.
- Smith VH. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue green algae in lake phytoplankton. *Science* 1983;221(4611):669-71.
- Sommer U. Factors controlling the seasonal variation in phytoplankton species composition. A case study for a deep, nutrient rich lake. *Prog Phyc Res* 1987;5:123-78.
- Sommer U, Adrian R, Bauer B, Winder M. The response of temperate aquatic ecosystems to global warming: Novel insights from a multidisciplinary project. *Mar Biol* 2012;159(11):2367-77.
- Sommer U, Gaedke U, Schweizer A. The first decade of oligotrophication of Lake Constance II. The response of phytoplankton taxonomic composition. *Oecologia* 1993;93:276-84.
- Sotton B, Guillard J, Anneville O, Maréchal M, Savichtcheva O, Domaizon I. Trophic transfer of microcystins through the lake pelagic food web: evidence for the role of zooplankton as a vector in fish contamination. *Sci Total Environ* 2014;466-467:152-163.
- Srivastava A, Singh S, Ahn C-Y, Oh H-M, Asthana R.K. Monitoring approaches for a toxic cyanobacterial bloom. *Environ Sci Technol* 2013; 47(16):8999-9013. DOI: 10.1021/es401245k
- Stal LJ. Cyanobacterial mats and stromatolites. In: Whitton BA, Potts M (Ed.). *The ecology of cyanobacteria*. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2000. p. 61-120.
- Staal M, Meysman FJ, Stal LJ. Temperature excludes N₂-fixing heterocystous cyanobacteria in the tropical oceans. *Nature* 2003;425:504-7.
- Sukenik A, Hadas O, Kaplan A, Quesada A. Invasion of Nostocales (cyanobacteria) to subtropical and temperate freshwater lakes – Physiological, regional and global driving forces. *Front Microbiol* 2012;3:86.
- Thomas RH, Walsby AE. Buoyancy regulation in a strain of *Microcystis*. *J Gen Microbiol* 1985;131:799-809.
- Thomazeau S, Houdan-Fourmont A, Couté A, Duval C, Couloux A, Rousseau F, Bernard C. The contribution of sub-Saharan African strains to the phylogeny of cyanobacteria: focusing on the Nostacaceae (Nostocales, Cyanobacteria). *J Phycol* 2010;46(3):564-79.
- Tonk L, Bosch K, Visser PM, Huisman J. Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat Microb Ecol* 2007;46(2):117-23.
- Trimbee AM, Prepas EE. Evaluation of total phosphorus as a predictor of the relative biomass of blue-green algae with emphasis on Alberta lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 1987;44(7):1337-42.
- Üveges V, Tapolczai K, Krienitz L, Padisák J. Photosynthetic characteristics and physiological plasticity of an *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria, Nostocaceae) winter bloom in a deep oligo-mesotrophic lake (Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 2012;698(1):263-72.

- Vasas G, Bácsi I, Surányi G, Hamvas M, Máthé C, Nagy S, Borbély G. Isolation of viable cell mass from frozen *Microcystis viridis* bloom containing microcystin-RR. *Hydrobiologia* 2010;639(1):147-51.
- Visser PM, Ibelings BW, Mur LR. Autumnal sedimentation of *Microcystis* is the result of an increase in carbohydrate ballast, triggered by a decrease in water temperature. *J Plankton Res* 1995;17:919-33.
- Vuillermoz E, Legnani E, Copetti D, Tartari G. Thirty-years of Lake Pusiano (North Italy) evolution. *Verh Internat Verein Limnol* 2006;29:2009-14.
- Wacklin P, Hoffman L, Komárek J. Nomenclatural validation of the genetically revised cyanobacterial genus *Dolichospermum* (Ralfs ex Bornet et Flahault) comb. nova. *Fottea* 2009;9:59-64.
- Wagner C, Adrian R. Cyanobacteria dominance: Quantifying the effects of climate change. *Limnol Oceanogr* 2009;54:2460-8.
- Walsby AE. Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94-144.
- Walsby AE, Avery A, Schanz F. The critical pressures of gas vesicles in *Planktothrix rubescens* in relation to the depth of winter mixing in Lake Zurich, Switzerland. *J Plankton Res* 1998;20:1357-75.
- Walsby AE, Ng G, Dunn C, Davis PA. Comparison of the depth where *Planktothrix rubescens* stratifies and the depth where the daily insolation supports its neutral buoyancy. *New Phytologist* 2004;162:133-45.
- Walsby AE, Schanz F. Light-dependent growth rate determines changes in the population of *Planktothrix rubescens* over the annual cycle in Lake Zürich, Switzerland. *New Phytologist* 2002;154:671-87.
- Walsby AE, Schanz F, Schmid M. The Burgundy-blood phenomenon: a model of buoyancy change explains autumnal water blooms by *Planktothrix rubescens* in Lake Zürich. *New Phytologist* 2006;169(1):109-22.
- Watson SB, McCauley E, Downing JA. Patterns in phytoplankton taxonomic composition across temperate lakes of differing nutrient status. *Limnol Oceanogr* 1997;42:487-95.
- Webster IT, Hutchinson PA. Effect of wind on the distribution of phytoplankton cells in lakes revisited. *Limnol Oceanogr* 1994;39:365-73.
- Weller MG. Immunoassays and biosensors for the detection of cyanobacterial toxins in water. *Sensor* 2013;13:15085-112.
- Winder M. Limnology: Lake warming mimics fertilization. *Nature Climate Change* 2012;2:771-2.
- Winder M, Sommer U. Phytoplankton response to a changing climate. *Hydrobiologia* 2012;698:5-16.
- Zapomelová E, Skaácelová O, Pumann P, Kopp R, Janecek E. Biogeographically interesting planktonic Nostocales (Cyanobacteria) in the Czech Republic and their polyphasic evaluation resulting in taxonomic revisions of *Anabaena bergii* Ostenfeld 1908 (*Chrysosporum* gen. nov.) and *A. tenericaulis* Nygaard 1949 (*Dolichospermum tenericaule* comb. nova). *Hydrobiologia* 2012;698:353-65.
- Zohary T, Padišák J, Naselli-Flores L (Ed.). Phytoplankton in the physical environment: papers from the 15th workshop of the International Association for Phytoplankton Taxonomy and Ecology (IAP) held at the Ramot Holiday Resort on the Golan Heights, Israel, 23-30 November 2008. *Hydrobiologia* 2010;639(1).