



Implementación de un protocolo de gestión de riesgo por presencia de ficotoxinas en la laguna de Baconao, Santiago de Cuba

Implementation of a risk management protocol for phycotoxins occurrence in the Baconao Lagoon, Santiago de Cuba

Liliana Gómez Luna^{1*}, Alejandro Zapata Palanqué², Zelma Celia Corona Ochoa²

0000-0002-1282-3392

0000-0002-9341-5437

0000-0001-8086-7832

Yailyn Álvarez Arencibia², José Antonio Bouza Alonso³, Alberto Beyris Mazar⁴

0000-0003-4597-4098

0000-0002-5554-4107

0000-0003-1753-8299

1. Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). Ave. de Las Américas s/n Esqu. I. Campus J. A. Mella, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba. lilianag@uo.edu.cu*
 2. Delegación del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medioambiente (CITMA), Santiago de Cuba, Cuba.
 3. Empresa de Flora y Fauna. Delegación Santiago de Cuba, Santiago de Cuba, Cuba.
 4. Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO), Santiago de Cuba, Cuba.
- * Autor de correspondencia

RESUMEN

La laguna de Baconao es una laguna tropical costero-litoral, con constantes perturbaciones antrópicas y naturales; escenario que favorece la eutrofización, con tendencia a la proliferación del fitoplancton. El desarrollo de esta investigación comienza con un registro de muerte masiva de peces en la laguna, en mayo de 2017, siendo el objetivo principal documentar la implementación de un protocolo de gestión del riesgo por contaminación con ficotoxinas, adaptado a las condiciones del ecosistema, a partir de la caracterización de la situación de riesgo, enfocado a la mitigación y prevención de impactos negativos. Se confirma la existencia de una Floración Algal Nociva (FAN) mixta en remisión, con implicaciones negativas en todo el ecosistema, así como la presencia de células vivas de *Gymnodinium* sp., *Karlodinium micrum*, y abundantes restos de células de otros dinoflagelados; altos valores de clorofila *a*, con una concentración máxima de $20,37 \pm 0,04 \mu\text{gL}^{-1}$; bajos valores de oxígeno disuelto y elevada contaminación bacteriana, con predominio de cianobacterias. Se documenta la implementación de un protocolo de gestión del riesgo con importantes pautas metodológicas a seguir para el manejo de similares eventos de riesgo, donde la alianza intersectorial constituyó un factor clave de éxito.

PALABRAS CLAVE: Cianobacterias, Floraciones Algales Nocivas (FAN), *Gymnodinium* sp., *Karlodinium micrum*, Laguna de Baconao.

ABSTRACT

The Baconao Lagoon is a tropical, coastal and littoral ecosystem which receives continuous natural and human perturbations; favoring the eutrophication process, and consequently, the phytoplankton proliferation. The starting point of this research begins with a massive fish kill report into the lagoon on May 2017, being the main objective to document the implementation of a risk management protocol for the phycotoxin presence, adapted to the ecosystem conditions, considering the characterization of the risk event, focusing on mitigation and prevention of negative impacts. The presence of a mix Harmful Algal Bloom (HAB) in remission was confirmed, with negative implications to the entire ecosystem. It was identified the presence of abundant motile cells of *Gymnodinium* sp., *Karlodinium micrum* and dinoflagellate cells rests, as well as high values of chlorophyll *a*, being the highest concentration $20.37 \pm 0.04 \mu\text{gL}^{-1}$; low values of dissolved oxygen, and an important bacterial contamination, with the dominance of cyanobacteria. The implementation of a risk management protocol was documented with important methodological guidelines to follow to the management of similar risk events, where the intersectoral alliance performs a key success factor

KEYWORDS: Cyanobacteria, Harmful Algal Bloom (HAB), *Gymnodinium* sp., *Karlodinium micrum*, Baconao Lagoon.

DOI: <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2021.50.1.980>

Publicado por INVEMAR

Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual

Published by INVEMAR

This is an open Access article under the CC BY-NC-SA

INTRODUCCIÓN

El desarrollo socioeconómico de las ciudades costeras produce un impacto negativo significativo sobre la calidad de los recursos y servicios que ofrecen los ecosistemas. Especialmente las bahías y lagunas costeras constituyen ecosistemas en conflicto, ya que sirven como receptores de residuales, lo que les hace ser sistemas muy vulnerables al estar sometidos a una gran presión antrópica y a un acelerado ritmo de deterioro (Gómez, 2013), a la vez que desde el punto de vista estético juegan un papel relevante, constituyendo elementos clave de la paisajística local. Estos ecosistemas sustentan actividades turísticas y recreativas, así como el desarrollo de numerosas industrias y actividades costero-dependientes relacionadas con la comunicación, el turismo y el comercio marítimo.

La eutrofización es uno de los mayores problemas que enfrentan los ecosistemas acuáticos, entendida ésta como el proceso natural y/o antropogénico que consiste en el enriquecimiento de las aguas con nutrientes, a un ritmo tal que no puede ser compensado por la mineralización total. De esta manera la descomposición del exceso de materia orgánica produce una disminución progresiva del oxígeno disuelto, con implicaciones en la trama trófica y la salud ecosistémica. Las aguas eutróficas tienen un alto nivel de productividad y de biomasa en todos los niveles tróficos, favoreciendo la proliferación de algas; las aguas profundas se tornan pobres en oxígeno y hay un crecimiento intenso de las plantas acuáticas (Arce, 2006). Lo anterior impacta negativamente los servicios ecosistémicos, afectando los distintos usos que el hombre hace de éstos.

Entre los efectos colaterales de la eutrofización pueden mencionarse las Floraciones Algales Nocivas (FAN); eventos naturales multicausales, cada vez más registrados a nivel mundial en aguas superficiales (Carmichael, 2001; Anderson *et al.*, 2008; Alawadi, 2010; Verity, 2010; Calandrino y Paerl, 2011), cuya diversidad e impacto representan un reto para el manejo de recursos costeros amenazados (Anderson, 2004).

Los organismos fitoplanctónicos causales de FAN incluyen dinoflagelados, cianobacterias, diatomeas y otros grupos del fitoplancton (prymnesiophytas y raphidophytas) de menor importancia. De manera general, existen los que producen toxinas y por lo tanto, pueden contaminar los alimentos marinos o producir mortandad de peces, y los que no las producen pero causan otros efectos nocivos, tales como mortandad de organismos por anoxia, mortandad de peces por daño físico a sus branquias u otros órganos, y producción

INTRODUCTION

The socio-economic development of coastal cities produces a significant negative impact on the quality of the resources and services offered by ecosystems. In particular, bays and coastal lagoons constitute conflicted ecosystems since they act as waste receptors, which makes them very vulnerable, given that they are subjected to a high anthropic pressure and an accelerated pace of deterioration (Gómez, 2013). At the same time, these ecosystems play a relevant role in constituting key elements of the local landscape. They support touristic and recreational activities, as well as the development of numerous coast-dependent industries and activities related with communication, tourism, and maritime trade.

Eutrophication is one of the most serious problems faced by aquatic ecosystems, and it is understood as the natural or anthropogenic process consisting of enriching water with nutrients at such a pace that it cannot be compensated by total mineralization. In this way, the decomposition of the excess organic matter produces a gradual decrease in dissolved oxygen, with implications for the trophic web and ecosystem health. Eutrophic waters have a high productivity and biomass content on all trophic levels, thus favoring the proliferation of algae; deep waters become oxygen-poor, and there is an intense growth in aquatic plants (Arce, 2006). The above has a negative impact on ecosystem services, thus affecting humanity's different uses for them.

Among the collateral effects of eutrophication, Harmful Algal Blooms (HAB) can be mentioned. These are natural, multicausal events that are increasingly being reported worldwide in surface waters (Carmichael, 2001; Tomlinson *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2008; Alawadi, 2010; Verity, 2010; Calandrino and Paerl, 2011), whose diversity and impact represent a challenge for the management of threatened coastal resources (Anderson, 2004).

Phytoplanktonic organisms that cause HAB include dinoflagellates, cyanobacteria, diatoms and other phytoplankton groups (prymnesiophyta and raphidophyta) with less relevance. There are generally those that produce toxins and therefore may contaminate seafood or produce fish mortality, and those that do not produce them but have other harmful effects, such as organism mortality by anoxia, fish mortality by physical damage to their gills or other organs, and production of mucilage or other metabolites that affect the environmental quality (Carreto *et al.*, 2007).

de mucílagos u otros metabolitos que afectan la calidad del ambiente (Carreto *et al.*, 2007). La mayor parte de las especies están asociadas a los eventos no tóxicos, mientras que solo unas pocas docenas producen toxinas (Anderson, 2004).

En Cuba, las FAN constituyen un problema que necesita ser aún más estudiado, si bien en el oriente cubano han sido objeto de investigación desde 2001 en varios ecosistemas, destacando las bahías de Santiago de Cuba y Guantánamo (Gómez *et al.*, 2001, 2006, 2007, 2014; Gómez, 2007; CITMA, 2011), el río San Juan (Echavarría *et al.*, 2002), reservorios de agua de abasto a la población (Gómez *et al.*, 2010, 2011; Rodríguez-Tito *et al.* 2017), y desde 2011, la laguna de Baconao.

La laguna de Baconao es una laguna tropical costero-litoral, ubicada en la costa suroriental de Cuba; separada del mar por un cordón litoral y un canal estrecho, con altos niveles de azolvamiento debido a constantes perturbaciones antrópicas y naturales. Dichas características imponen al ecosistema una dinámica que afecta el tiempo de residencia del agua, y por tanto, el gradiente de gases y nutrientes, la productividad primaria y la producción orgánica total. Este escenario favorece la eutrofización, con tendencia a la proliferación de especies fitoplanctónicas, que encuentran en estas aguas las condiciones tróficas, de iluminación y temperatura ideales. Las FAN han ocurrido en este ecosistema de forma recurrente desde 2011, acompañadas de discoloración de las aguas y muerte de peces en 2011, 2012, 2014 y 2017, identificándose en todos los casos la presencia de dinoflagelados tóxicos (Gómez *et al.*, datos no publicados). La presencia recurrente de indicadores de riesgo hacen que este ecosistema necesite un sistema de control y seguimiento que permita tomar medidas efectivas, siendo importante el desarrollo de una cultura temprana a través de la percepción, que permita comprender el riesgo de manera integrada (Gómez, 2013). El desarrollo de esta investigación comienza con un registro de muerte masiva de peces en la laguna de Baconao en mayo de 2017; ante esta situación la Delegación del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medioambiente (CITMA) en Santiago de Cuba, toma la decisión de convocar a la Empresa Flora y Fauna, perteneciente al Ministerio de la Agricultura, con responsabilidad en el manejo del ecosistema; y al Laboratorio de Ecotoxicología y Servicios Ambientales (LESA), perteneciente al Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), entidad de ciencia e innovación tecnológica (ECIT) adscrita a la Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba, con experiencia en la caracterización y manejo de FAN.

Most species are associated with non-toxic events, whereas a few dozen produce toxins (Anderson, 2004).

In Cuba, HAB constitute a problem that requires further study, although they have been research subject in eastern Cuba since 2001 in several ecosystems, among which Santiago de Cuba and Guantánamo bays stand out (Gómez *et al.*, 2001, 2006, 2007, 2009, 2014; Gómez, 2007; CITMA, 2011), as well as the San Juan river (Echavarría *et al.*, 2002), water reservoirs to drinking water supply (Gómez *et al.*, 2010, 2011; Rodríguez-Tito *et al.* 2017), and, since 2011, the Baconao Lagoon.

The Baconao Lagoon is a tropical, coastal-littoral lagoon located on the southwestern coast of Cuba; separated from the sea by a coastal barrier and a narrow channel with a high siltation level due to constant anthropic and natural disturbances. These characteristics impose dynamics on the ecosystem which affect the water residence time and, therefore, the gas and nutrient gradient, primary productivity, and total organic production. This scenario favors eutrophication, with a tendency for the proliferation of phytoplankton species, which find the ideal trophic, light, and temperature conditions in these waters. HAB have repeatedly occurred in this ecosystem since 2011, together with water discoloration and fish kills in 2011, 2012, 2014, and 2017, along with the identification of the presence of toxic dinoflagellates in all cases (Gómez *et al.* unpublished data). The recurring presence of risk indicators cause this ecosystem to need a control and monitoring system that allows taking effective measures, along with the development of an early culture through the perception, which allows for an integrated understanding of the risk (Gómez, 2013). The development of this research starts with a report involving the massive fish kills in the Baconao Lagoon in May of 2017. In light of this situation, the Delegation of the Ministry of Science, Technology, and Environment (CITMA) in Santiago de Cuba decides to summon the Flora y Fauna enterprise, belonging to the Ministry of Agriculture, in charge of managing the ecosystem; as well as the Ecotoxicology and Environmental Services Laboratory (LESA), belonging to the National Center for Applied Electromagnetism (CNEA), a science and technological innovation entity (ECIT), associated with Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba, with experience in HAB characterization and management.

The general objective of this study consists of establishing the scientific and methodological basis for

El objetivo general de este estudio consiste en establecer las bases científicas y metodológicas para la implementación de un protocolo de gestión del riesgo por contaminación con ficotoxinas marinas, adaptado a las características del ecosistema, estableciendo pautas metodológicas para su generalización. Se consideran como objetivos específicos: 1) caracterizar la situación de riesgo que dio origen al evento, 2) definir el procedimiento específico para la toma de decisiones, y 3) definir la metodología necesaria para la implementación del protocolo.

ÁREA DE ESTUDIO

La laguna de Baconao está localizada en el municipio Santiago de Cuba, a unos sesenta kilómetros de la ciudad (Latitud: 19,9097°, Longitud: -75,4667°) (Figura 1). Este es un ecosistema semicerrado con una superficie aproximada de 4 km², que recibe la influencia del río Baconao y el influjo de las mareas, con una heterogeneidad espacial visible y una profundidad media de 6 m. La laguna se ubica en los límites de la Reserva de la Biosfera homónima, situada en el macizo montañoso Sierra Maestra, con categoría 2 según el Sistema de Categorías de la UICN y clasificada como Área Protegida de Recursos Manejados (CNAP, 2004).

La laguna es un biotopo frágil, vulnerable a eventos extremos como huracanes, sequías, abundantes lluvias, aumento de la irradiación solar por pérdida de cobertura vegetal, alterándose no solo parámetros fisicoquímicos, sino la trama ecológica del acuatorio. Esta laguna sostiene una importante diversidad biológica, con elementos destacados como los manglares circundantes, afectados por variables ambientales y por la presión antrópica, por lo que han sido seleccionados como objetos de conservación (Figueredo y Acosta, 2008). El nivel de afectación antrópica que han recibido los manglares del área se debe fundamentalmente al vertimiento de residuales líquidos y sólidos, producidos por las comunidades cercanas, y la actividad turística, con implicaciones en sus procesos fisiológicos. Asimismo, la pérdida de hábitat, que se manifiesta en la reducción del área ocupada, es la amenaza que más afecta a los manglares, lo que se asocia fundamentalmente con la tala para la conversión de los sitios en zonas turísticas (Figueredo y Acosta, 2008), entre otros usos, observándose una disminución de la superficie total de la laguna.

Entre los principales usos del ecosistema se encuentra el recreacional, asociado a actividades de paseo y visualización; actividades de conservación, agricultura, así como la cría y reproducción del delfín *Tursiops truncatus*

the implementation of a risk management protocol for the contamination with marine phycotoxins, which is adapted to the ecosystem's features by establishing methodological guidelines for its generalization. The following are considered as specific objectives: 1) to characterize the risk situation that cause the event, 2) to define the specific procedure for decision making, and 3) defining the necessary methodology for the implementation of the protocol.

AREA OF STUDY

The Baconao Lagoon is located in the municipality of Santiago de Cuba, about sixty kilometers away from the city (Latitude: 19,9097°, Longitude: -75,4667°) (Figure 1). It is a semi-closed ecosystem with an approximate surface area of 4 km², which is influenced by the Baconao river and the tides influx, with a visible spatial heterogeneity and a mean depth of 6 m. The lagoon is located at the boundary of the biosphere reservation with the same name, in the Sierra Maestra mountain range, and it belongs to category 2 according to the UICN's Category System. It is classified as a Protected Area of Managed Resources (CNAP, 2004).

The lagoon is a fragile biotope, vulnerable to extreme events such as hurricanes, droughts, abundant rains, and increases in solar irradiation due to vegetation cover loss, which not only alters its physicochemical parameters, but also the ecological interactions of the aquatic habitats. This lagoon holds a significant biological diversity, with prominent elements such as the surrounding mangroves, affected by environmental variables and anthropic pressure, which is why they have been selected as objects of conservation (Figueredo and Acosta, 2008). The degree of anthropic-related effects that the mangroves in the area have received is fundamentally due to the dumping of solid and liquid wastes produced by the nearby communities and touristic activities, with implications for the physiological processes of this ecosystem. Similarly, the loss of habitat, which is evidenced by the reduction of the occupied area, is the threat that most affects the mangroves, which is fundamentally associated with logging activities to turn the sites into tourist zones (Figueredo and Acosta, 2008), among other uses, where a decrease in the total surface of the lagoon is observed.

Among the main uses of the Baconao Lagoon's ecosystem are recreational activities related to walks and sightseeing, as well as preservation activities, agriculture, and the breeding and reproduction of the dolphin *Tursiops truncatus* (an introduced species), which adds another

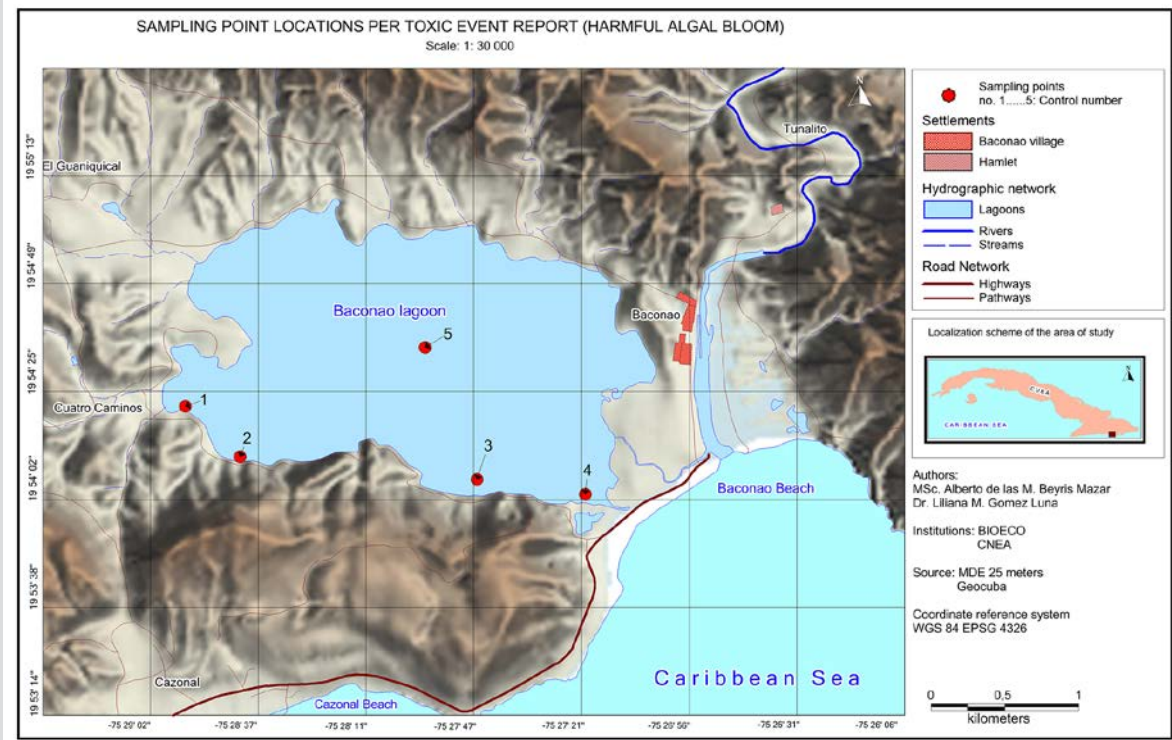


Figura 1. Laguna de Baconao y ubicación de los puntos de muestreo.

Figure 1. Baconao Lagoon and location of sampling points.

(especie introducida), lo que añade otro conflicto de uso al ecosistema, con implicaciones en los planes de manejo; además de un criadero de cocodrilos (*Crocodylus acutus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración e implementación del protocolo de gestión del riesgo

El referente metodológico utilizado para la elaboración del protocolo de gestión de riesgo por contaminación con ficotoxinas es el establecido por Gómez *et al.* (2012) (Figura 2), a partir del cual se elabora un esquema general de trabajo que se presenta como resultado de esta investigación. El protocolo incluye indicadores primarios y secundarios que, si bien no pueden sustituir la detección de toxinas, son análisis complementarios obligatorios, de gran valor para la implementación de cualquier alternativa de manejo basada en el principio precautorio, sobre todo en aquellos contextos donde no sea viable la detección de toxinas. Es importante considerar ambos indicadores ya que no todos los eventos causados por algas nocivas están asociados al desarrollo de grandes acumulaciones de biomasa capaces de producir un cambio de color en las aguas; existen especies que son nocivas aún en muy bajas concentraciones (Carreto *et al.*, 2007). Las

conflict to the use of the ecosystem, with implications for management plans. There is also a breeding of crocodiles (*Crocodylus acutus*).

MATERIALS AND METHODS

Elaboration and implementation of the risk management protocol

The methodological reference used for the elaboration of the risk management protocol for the contamination with phycotoxins is the one established by Gómez *et al.* (2012) (Figure 2), based on which a general work scheme is elaborated, which is presented as the result of this research. The protocol includes primary and secondary indicators that, although they cannot substitute the detection of toxins, they constitute imperative complementary analyses, valuable for the implementation of any management alternative based on the precautionary principle, mainly in those contexts where the toxins detection is not viable. It is important to consider both indicators, given that not all events caused by harmful algae are related to the development of large biomass accumulations capable of producing a water discoloration; there are species that are harmful even at very low concentrations (Carreto *et al.*,

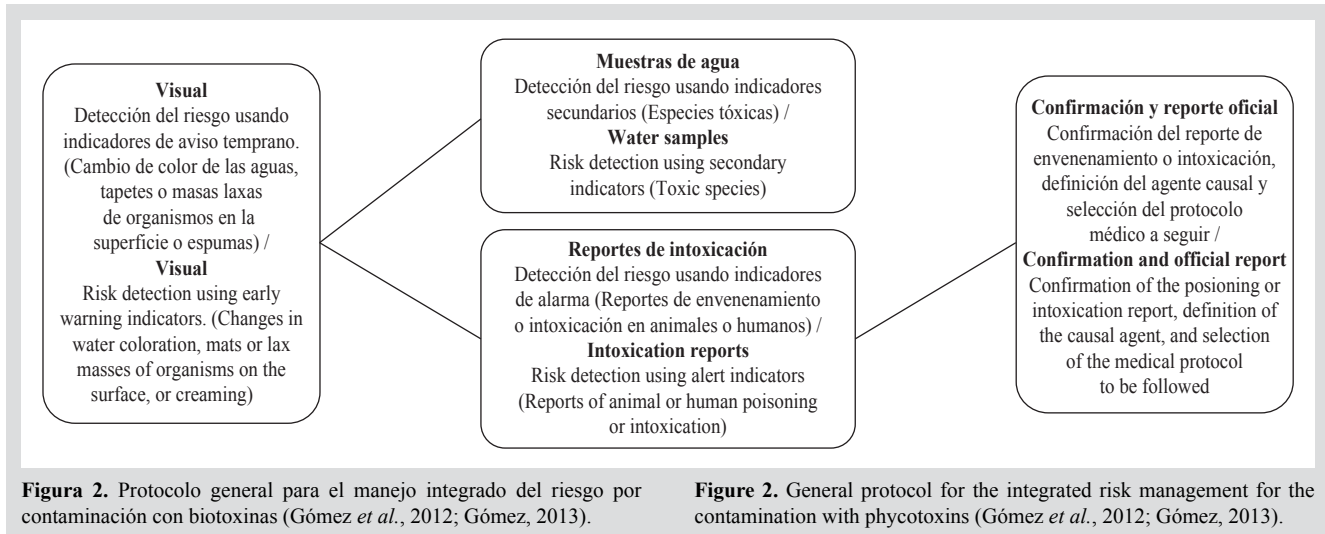


Figura 2. Protocolo general para el manejo integrado del riesgo por contaminación con biotoxinas (Gómez *et al.*, 2012; Gómez, 2013).

Figure 2. General protocol for the integrated risk management for the contamination with phycotoxins (Gómez *et al.*, 2012; Gómez, 2013).

FAN pueden alcanzar concentraciones del orden de 10^6 célL⁻¹ e incluso superiores; sin embargo, ha sido reportado que un episodio tóxico puede afectar a concentraciones celulares del orden de 10^2 célL⁻¹ (Sar *et al.*, 2002), lo que justificaría la necesidad de implementación del protocolo de gestión de riesgo en caso de presencia de especies potencialmente tóxicas.

Metodología de muestreos y análisis cualitativos

Para los análisis de caracterización del riesgo fueron procesadas, en primera instancia, muestras obtenidas por terceros (especialistas del CITMA y Flora y Fauna) en el momento del primer aviso al Laboratorio de Ecotoxicología y Servicios Ambientales (LESA). Estas muestras fueron tomadas directamente en botellas de borosilicato sin preservar para observaciones en fresco. En el laboratorio se realizaron análisis cualitativos (identificación de especies fitoplanctónicas, y quistes de dinoflagelados) para elaborar un informe de inmediatez y garantizar la implementación de la primera fase del protocolo.

Posteriormente se realizaron análisis cuantitativos (recuento de fitoplancton, análisis de parámetros fisicoquímicos del agua) para caracterizar la situación de riesgo a partir de muestras tomadas por los expertos en puntos de muestreo específicos. Dichos puntos fueron establecidos a partir de un viaje exploratorio realizado al ecosistema, ubicándolos en los sitios donde se registró cambio de coloración o muerte de peces, así como puntos de referencia de otros estudios realizados en la laguna por intereses sectoriales, considerando para su selección criterios relacionados con los usos y posibles vertidos puntuales. Se incluye un punto de muestreo localizado en la vertical de la parte más profunda de la masa de agua (Punto 5, Figura 1).

HAB can reach concentrations of the order of 10^6 cellL⁻¹, and even higher. However, it has been reported that a toxic episode may affect cellular concentrations of the order of 10^2 cellL⁻¹ (Sar *et al.*, 2002), which justifies the need to implement the risk management protocol in case of the presence of potentially toxic species.

Methodology for sampling and qualitative analysis

For the risk characterization analyses, samples obtained by third parties were first analyzed (CITMA specialists and Flora y Fauna) at the moment of the first notice to the Ecotoxicology and Environmental Services Laboratory (LESA). These samples were taken directly in borosilicate bottles without preserving for fresh observations. In the lab, qualitative analyses were performed (identification of phytoplankton species and dinoflagellate cysts) to elaborate an immediacy report and guarantee the implementation of the first phase of the protocol.

Quantitative analyses were later performed (phytoplankton count and an analysis of the physicochemical parameters of the water) to characterize the risk situation from samples taken by experts at specific sampling points, which were established based on an exploratory trip to the ecosystem. They were located where changes in coloration or fish kills were reported, including reference points from other studies conducted in the lagoon for sectorial interests, which considered criteria related to the particular uses and potential dumping. A sampling point located on the vertical line of the deepest part of the water mass is included (Point 5, Figure 1).



Se establecen cinco puntos de muestreo: 1. El Fanguito 1; 2. El Fanguito 2; 3. Patana; 4. Canal y 5. Centro de la laguna. Otros muestreos fueron incorporados durante los días subsiguientes, en relación con la evolución de la FAN, la presencia de espumas, o zonas con discoloración intensa. Se analizaron, además, muestras biológicas (branquias) pertenecientes a peces muertos recogidos en las orillas del acuatorio como evidencia de la situación de riesgo.

La toma de muestras se realizó en horas de la mañana (8:00-9:00 am). Se realizó de forma directa en los primeros 30 cm de la columna de agua en cada uno de los puntos de muestreo, tomando tres muestras integradas (De la Cruz, 1984; Venrick, 1995). Para ayudar en la identificación del fitoplancton se realizó además un muestreo cualitativo con una red de 20 μm de luz de malla con un diámetro de 24 cm y 1 m de profundidad, con colector de PVC de 250 mL con ventanas laterales recubiertas de malla. Previamente se determinó la profundidad del punto de muestreo, con ayuda de una sonda YSI Pro DSS (USA), para evitar la remoción de sedimento durante el muestreo. La red se arrastró verticalmente en la columna de agua, hasta conseguir un filtrado visible.

Durante todo el muestreo se usaron las medidas de protección pertinentes (botas, guantes, nasobucos y gafas), considerando la situación de riesgo potencial. Las muestras fueron recolectadas en frascos de borosilicato estériles de 250 a 500 mL con tapas de rosca, dejando un espacio entre la superficie de la muestra y el tapón o cierre, para permitir el intercambio gaseoso, según sugieren diferentes protocolos de muestreos de fitoplancton (FWE *et al.*, 2005; Greenberg *et al.*, 2008). Convenientemente etiquetadas y fijadas con solución de Lugol (manteniendo al menos una muestra por punto sin fijar) las muestras fueron trasladadas al laboratorio en completa oscuridad, guardando las medidas asepticas pertinentes para no propiciar su contaminación, procediéndose de inmediato a su recuento y análisis. Toda la manipulación de las muestras se realizó con guantes de látex, siguiendo las medidas higiénico-sanitarias y de bioseguridad correspondientes.

Identificación de especies fitoplanctónicas

Se realizaron observaciones en fresco o de muestras fijadas (Lugol neutro al 1 %), utilizando un microscopio óptico Motic B profesional vertical (Alemania). Se observaron muestras concentradas a partir de la resuspensión en 1 mL de un filtrado de 20 mL, el que se realizó con ayuda de membranas filtrantes de acetato de celulosa de 25 mm y 0,2 μm , además de las tomadas con la red. Se incluyeron en estos análisis muestras previamente incubadas durante siete días

Five sampling points are established: 1. El Fanguito 1; 2. El Fanguito 2; 3. Patana; 4. Channel, and 5. Lagoon center. Other samplings were incorporated in the following days, according to the evolution of the HAB, the presence of foams, or zones with intense discoloration. Additionally, biological samples (gills) were analyzed, which belonged to fish kills collected on the shores of the lagoon, as evidence of the risk situation.

Sampling was conducted during the morning hours (8:00-9:00 am). It was carried out directly within the first 30 cm of the water column at each of the sampling points, taking three integrated samples (De la Cruz, 1984; Venrick, 1995). To support the phytoplankton identification, qualitative sampling was performed by means of a net with a 20 μm mesh sieve, a 24 cm diameter, and a 1 m depth, with a PVC 250 mL collector with mesh-coated lateral windows. The depth of the sampling point was determined beforehand with a YSI Pro DSS probe (USA), in order to avoid the removal of silt during sampling. The net was vertically dragged along the water column until a visible filtration was obtained.

During the entirety of the sampling process, the applicable protective measures were used (boots, gloves, face masks, and goggles), considering the potential risk. The samples were taken in sterilized borosilicate vials with 250-500 mL capacity and screw caps, leaving a gap between the surface of the sample and the cap or closure to allow for gaseous exchange, as is suggested by different phytoplankton sampling protocols (FWE *et al.*, 2005, Greenberg *et al.*, 2008). After being conveniently labeled and fixed with a Lugol solution (maintaining at least an unfixed sample per point), the samples were transported to the lab in complete darkness, observing the relevant aseptic measures so as not to cause their contamination, and proceeding immediately to their count and analysis. Every manipulation of the samples was performed with latex gloves, in compliance with the corresponding medical sanitary and biosafety measures.

Identification of phytoplankton species

Observations were performed on fresh and fixed samples (neutral Lugol at 1 %) using a Motic B professional vertical optical microscope (Germany). Concentrated samples were observed from resuspension in 1 mL of a 20 mL filtration, carried out with the aid of 25 mm and 0.2 μm cellulose acetate filter membranes, besides the ones taken with the net. These analyses included samples previously incubated during seven days after being enriched

después de haber sido enriquecidas con medio f2, mantenidas en condiciones de luz continua Day Light, Philips 40 W (TLT 40 W/54 RS), a una intensidad de $58,59 \text{ mE m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y una temperatura de $20,12 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Se colocaron 2 a 3 gotas de cada muestra en un portaobjeto para su observación al microscopio óptico, observando y fotografiando al menos cinco réplicas panorámicas por muestra, y fotografías individuales, mediante una cámara digital Panasonic DMC-LC50 de 3,2 Mpix con 3X de zoom óptico y 9X de zoom digital.

A partir de estas observaciones se identificaron las microalgas presentes hasta especie, siempre que fuera posible, utilizando varias claves dicotómicas y criterios taxonómicos (Bold y Wynne, 1978; Biagini, 1980; Dillard, 1999; Faust y Gullede, 2002; Wher y Sheath, 2003); además de consultas on-line en diferentes sitios: Infoseek (Japón), la galería de especies fitoplanctónicas del MIT (EUA); y las bases on-line: AlgaeBase y Algaterra (Yasumoto *et al.*, 1980; Balech, 1988; Vasconcelos, 2001; Adolf *et al.*, 2006; Brand, 2006; Badylak *et al.*, 2007; Comas, 2007; Guiry y Guiry, 2014).

Complementariamente se realizaron tinciones con Lugol y observaciones de la estructura de las tecas de los dinoflagelados mediante tinción con Calcofluor White (Fritz y Triemer, 1985); realizando observaciones con un microscopio invertido equipado con epifluorescencia (Zeiss, Axiovert A1, Alemania). La longitud y ancho de las células en preparaciones en fresco o fijadas fueron medidos con un ocular previamente calibrado en el caso del microscopio Motic B, o usando el software Zeiss Auxiovision (Zeiss, Alemania) en el caso del microscopio invertido.

Análisis cualitativo de quistes de dinoflagelados

Se identifican quistes de dinoflagelados presentes tanto en la columna de agua como en el sedimento, con el objetivo de entender la dinámica y recurrencia del fenómeno. Las muestras de sedimento se tomaron en zonas someras con menos de 2 m de profundidad en los puntos 1, 2 y 3, con una sonda ligera de gravedad TCO (Matsuoka y Fukuyo, 2000). Se recolectaron tres muestras por punto, para un total de nueve. Cada muestra se fragmentó utilizándose los 2 cm superficiales de sedimento, los que se envasaron en recipiente plástico, utilizando como preservativo formol neutro al 10 %. Estos puntos de muestreo fueron seleccionados para el análisis de sedimentos ya que debido a la dinámica del ecosistema presentan mayores tasas de sedimentación.

La limpieza y tamizado de los quistes se realizó siguiendo la técnica descrita por Matsuoka y Fukuyo (2000). Para la identificación de los quistes se realizó observación

in an f2 medium, where continuous daylight conditions were maintained using a Philips 40 W DayLight (TLT 40 W/54 RS), at an intensity of $58.59 \text{ mE m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and a temperature of $20.12 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Two to three drops of each sample were placed on a slide for their observation under the optical microscope, observing and taking photographs of at least five panoramic replicas per sample, as well as individual photographs by means of a Panasonic DMC-LC50 digital camera (3.2 Mpix with a 3X optical zoom and a 9X digital zoom).

During these observations, the present microalgae were identified, till specie when it was possible, using several dichotomic keys and taxonomic criteria (Bold and Wynne, 1978; Biagini, 1980; Dillard, 1999; Faust and Gullede, 2002; Wher and Sheath, 2003), as well as online searches on different websites: Infoseek (Japan), the MIT phytoplankton species gallery (USA), and the online AlgaeBase and Algaterra databases (Yasumoto *et al.*, 1980; Balech, 1988; Vasconcelos, 2001; Adolf *et al.*, 2006; Brand, 2006; Badylak *et al.*, 2007; Comas, 2007; Guiry and Guiry, 2014).

As a complement, Lugol staining and observation of dinoflagellate thecal structures by means of staining with Calcofluor White (Fritz and Triemer, 1985) were conducted; the observations were made with an inverted epifluorescence microscope (Zeiss, Axiovert A1, Germany). The length and width of the cells in fresh or fixed preparations were measured with a previously calibrated lens, in the case of the Motic B microscope, or by using the Zeiss Auxiovision software (Zeiss, Germany) for the inverted microscope.

Qualitative analysis of dinoflagellate cysts

Dinoflagellate cysts are identified both in the water column and the sediment, in order to understand the dynamics and recurrence of this phenomenon. Sediment samples were taken in shallow areas with less than 2 m in depth at points 1, 2, and 3 with a light OCT gravity probe (Matsuoka and Fukuyo, 2000). Three samples were collected per point, for a total of nine. Each sample was fragmented using the upper 2 cm of the surface silt, which were packed in a plastic container using neutral formalin at 10 %. These sampling points were selected for the analysis of sediments since, given the ecosystem's dynamics, they have the highest sedimentation rates.

Cleaning and sieving of the cysts were performed following the technique described by and Matsuoka and Fukuyo (2000). For the identification of the cysts, direct observation was conducted, considering aspects such as the



directa considerando aspectos como la forma del cuerpo principal, ornamentación, estructura, procesos, y color de la pared, según criterios de Matsuoka y Fukuyo (2000).

Metodología para analizar evolución de floraciones algales

Además de considerar los análisis cualitativos y cuantitativos, se realizaron entrevistas a voluntarios, y tomadores de decisión que visitaron el ecosistema durante el evento nocivo, basadas en preguntas abiertas orientadas al tiempo de evolución, evidencias generales y primeras evidencias. De forma complementaria se realizaron análisis de laboratorio confirmatorios, para poder describir los hechos con las evidencias correspondientes. Los indicadores primarios y los datos meteorológicos de 15 a 20 días antes y durante el evento, fueron considerados para este análisis.

Metodología para el recuento del fitoplancton

Se realizó el recuento total del fitoplancton (cél mL^{-1}) utilizando una cámara de recuento hematológico "Neubauer improved" ($2,5 \times 10^4 \mu\text{L}$). Las muestras fueron fijadas con Lugol, realizando las diluciones pertinentes cuando fuese necesario. Se realizó, además, el recuento diferenciado de cianobacterias. En caso de presencia de una floración algal se realizó el recuento de especies dominantes (mayor del 50 %).

Análisis de muestras biológicas

Se analizaron branquias de seis peces con tallas entre 5 y 19 cm ($n = 12$), realizando observaciones de preparaciones histológicas directas en fresco del tejido branquial, frotis de secreciones y del filtrado del agua de tres lavados sucesivos del tejido branquial, con el objetivo de buscar evidencias de la presencia de células de especies fitoplanctónicas potencialmente tóxicas y mucus. Se utilizaron un microscopio óptico Motic B profesional vertical (Alemania) y un estereoscopio (URA Technic, Zuzi; CE).

Parámetros fisicoquímicos

Se determinaron parámetros fisicoquímicos *in situ* en los primeros 50 cm de la columna de agua con un medidor multiparamétrico YSI Pro DSS (USA): temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxígeno disuelto (mg L^{-1}), salinidad, pH, conductividad (μScm^{-1}). A las muestras de agua tomadas por terceros y las colectadas en los diferentes puntos durante el seguimiento del evento, se les realizaron determinaciones de oxígeno disuelto (mg L^{-1}) con un medidor de Oxígeno Mettler Toledo (Alemania); además de conductividad (μScm^{-1}), pH y salinidad mediante un medidor de pH y conductividad Mettler Toledo (Alemania). Fue determinada además la concentración

shape of the main body, ornamentation, structure, processes, and wall color, according to Matsuoka and Fukuyo's criteria (2000).

Methodology to analyze the evolution of algal blooms

In addition to considering the quantitative and qualitative analyses, interviews were carried out with volunteers and decision makers who visited the ecosystem during the harmful event. These interviews were based on open-ended questions oriented towards the evolution time, general and first evidences. As a complement, laboratory confirmatory analyses were performed to be able to describe the facts with the corresponding evidence. The primary indicators and the meteorological data from 15-20 days before and during the event were considered for this analysis.

Methodology for phytoplankton count

The total phytoplankton counting (cell mL^{-1}) was carried out using a Neubauer improved hematological counting chamber ($2,5 \times 10^4 \mu\text{L}$). The samples were fixed with Lugol, performing the corresponding dilutions when necessary. Additionally, a differential cyanobacteria count was performed. In case of algal bloom occurrence, the dominant species counting was conducted (greater than 50 %).

Analysis of biological samples

Gills from six fish between 5 and 19 cm ($n = 12$) were analyzed, performing observations in fresh directly from histological preparations of gill tissue, secretion smear, and water filtration from three successive washes of the gill tissue, with the objective of looking for evidence of the presence of potentially toxic phytoplankton species cells and mucus. A Motic B professional upright optical microscope (Germany) and a stereoscope were used (URA Technic, Zuzi; CE).

Physicochemical parameters

Physicochemical parameters were determined *in situ* within the first 50 cm of the water column using a multiparametric YSI Pro DSS measuring device (USA): temperature ($^{\circ}\text{C}$), dissolved oxygen (mg L^{-1}), salinity, pH, conductivity (μScm^{-1}). Using a Mettler Toledo oxygen meter (Germany), dissolved oxygen determinations (mg L^{-1}) were conducted on water samples taken by third parties and those taken at the different points during the monitoring of the event, as well as conductivity (μScm^{-1}), pH, and salinity by means of a pH-meter and a Mettler Toledo conductivity measuring device. Additionally, chlorophyll *a* concentration

de clorofila *a* ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) con un fluorímetro digital portátil Aquaflor (EUA), realizando los ajustes pertinentes mediante un factor de corrección para la clorofila *a in vivo*.

Cálculo de índices tróficos

A partir de los valores de clorofila *a* se calculó el TSI (Trophic State Index, por sus siglas en inglés) según la OCDE (1982) (Ecuación 1).

$$\text{TSI} = 9,81 \cdot \ln(\text{Clorofila } a) + 30,6 \text{ (Ecuación 1)}$$

A partir de este índice se clasifica el acuatorio según su estado trófico, considerando diferentes criterios (OCDE, 1982; Vollenweider y Kerekes, 1982; Contreras-Espinosa *et al.*, 1994).

Análisis estadísticos

Se realizaron análisis de medias, desviaciones estándar y varianza (ANOVA, prueba de Tukey) considerando un valor de significancia de $p = 0,05$, utilizando el programa R Studio (Versión 1.1.456).

RESULTADOS

Procedimiento general para la toma de decisiones: aspectos metodológicos para su implementación

El procedimiento general para la toma de decisiones y la implementación posterior del protocolo de gestión del riesgo por contaminación con cianobacterias y cianotoxinas en la laguna de Baconao, se presenta en la figura 3, con los detalles metodológicos necesarios para su implementación. Se consideró como primera actividad la inspección visual, realizada en conjunto entre los actores clave del ecosistema, liderados por el CITMA (Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medioambiente), teniendo en cuenta su encargo social.

Al ser positivo el análisis de los indicadores primarios o de aviso temprano, el protocolo se implementó de inmediato; involucrando al personal de atención primaria de salud desde las acciones tempranas. La implementación consta de cuatro subprocesos fundamentales: aplicación de medidas restrictivas; revisión y reelaboración de los planes de contingencia, implementación de una estrategia de comunicación y sensibilización, enfocada a mitigar impactos sobre el ecosistema, y diseño e implementación de plan de monitoreo para detección de indicadores secundarios.

Los indicadores tempranos de aviso predefinidos para activar el protocolo para la toma de decisiones ante la contaminación con ficotoxinas fueron: cambios de color del agua, presencia de natas, manchas o masas laxas de

was determined ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) with an Aquaflor portable digital fluorometer (USA), performing the relevant adjustments with a correction factor for chlorophyll *a in vivo*.

Calculation of trophic indexes

From the chlorophyll *a* values, the Trophic State Index (TSI) was calculated according to the OCDE (1982) (Equation 1).

$$\text{TSI} = 9.81 \cdot \ln(\text{Chlorophyll } a) + 30.6 \text{ (Equation 1)}$$

From this index the aquatic habitat is classified according to its trophic state, considering different criteria (OCDE, 1982, Vollenweider and Kerekes, 1982; Contreras-Espinosa *et al.*, 1994).

Statistical Analyses

Mean, standard deviation, and variance (ANOVA, Tukey test) analyses were performed, considering a significance value of $p = 0.05$, with the R Studio software (Version 1.1.456).

RESULTS

General decision-making procedure: methodological aspects for its implementation

The general decision-making procedure and the subsequent implementation of the risk management protocol for the occurrence of cyanobacteria and cyanotoxin contamination in the Baconao Lagoon is presented in figure 3, along with the necessary methodological details for its implementation. Visual inspection was deemed to be the first activity, carried out jointly between the key actors of the Ecosystem, led by the CITMA (Ministry of Science, Technology, and Environment), considering their social commitment.

Since the analysis of the primary or early warning indicators was positive, the protocol was immediately implemented, involving the primary health care staff from the early actions. The implementation consists of four fundamental sub-processes: the application of restrictive measures; the review and redrafting of contingency plans; the implementation of a communication and awareness strategy, focused on mitigating impacts on the ecosystem; and the design and implementation of a monitoring plan for the detection of secondary indicators.

The early warning indicators predefined to activate the decision-making protocol in the face of phycotoxins contamination were changes in the color of the water, the

organismos en la superficie, fetidez, muerte de peces, comportamiento alterado de algunas especies presentes en el ecosistema (peces, mamíferos, aves), presencia de espumas; luminiscencia nocturna y/o alteraciones en el cuadro de salud de la población asentada en el ecosistema o usuaria de este. Los indicadores secundarios definen la existencia de una situación de contingencia y la extensión de la situación de riesgo que, de mantenerse, debe seguir activado el protocolo; de lo contrario, debe mantenerse la vigilancia sistemática del ecosistema, con el consiguiente fortalecimiento de la red de actores.

La creación de un grupo de trabajo para situaciones ambientales emergentes es una iniciativa necesaria ante el creciente impacto de las fluctuaciones drásticas del clima.

presence of mats, stains, or lax masses of organisms on the surface; stench; fish kills, altered behavior of some species in the ecosystem (fish, mammals, birds); the presence of foams; nocturnal luminescence, and/or alterations in the health status of the population that has settled in the ecosystem or uses it. The secondary indicators define the existence of a contingency and the extent of the risk situation, which, if maintained, the protocol must still be activated. Otherwise, systematic vigilance of the ecosystem must be maintained, with the subsequent strengthening of the actor network.

The creation of a work group for emergent environmental situations is a necessary initiative in light of

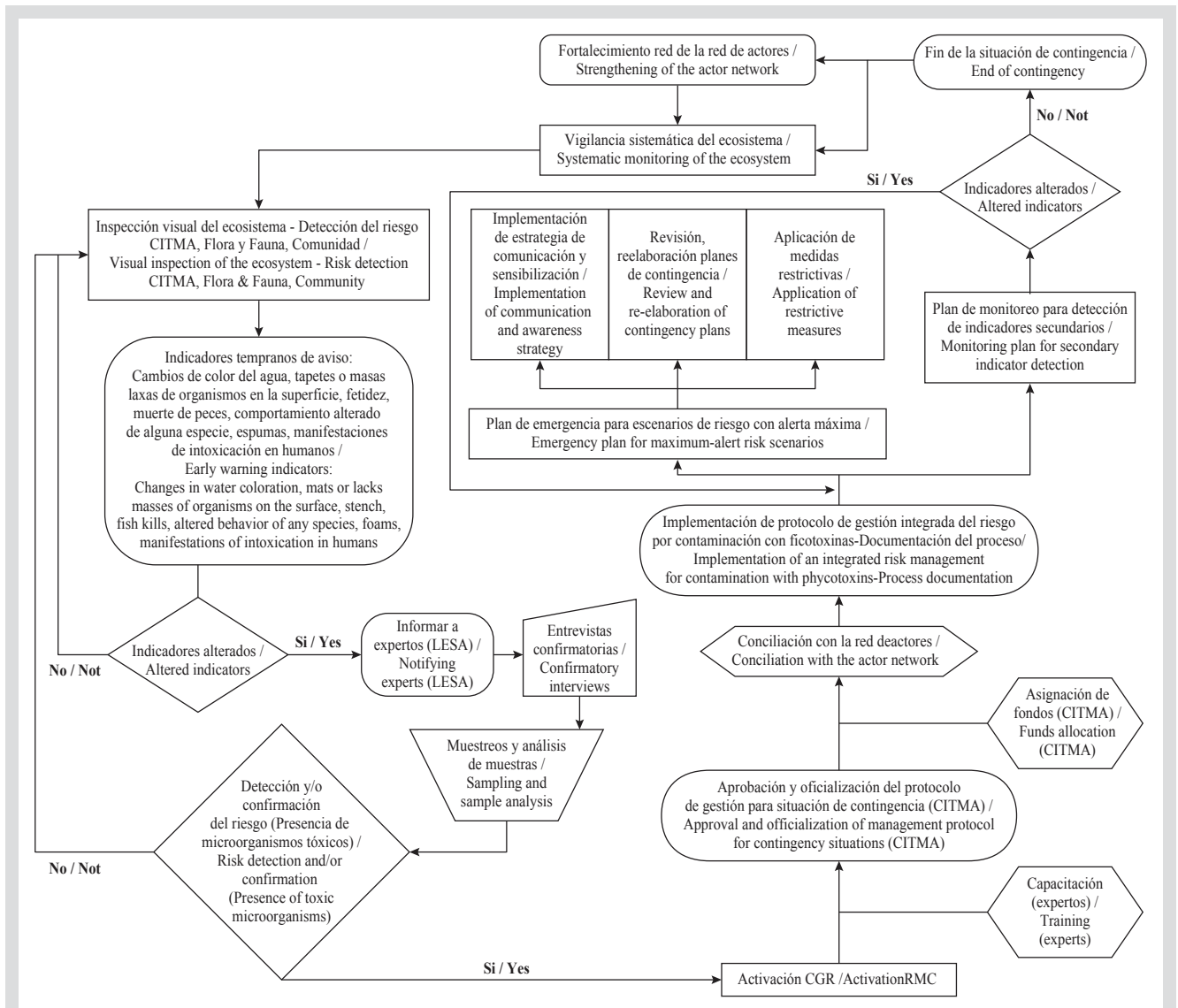


Figura 3. Protocolo general para la toma de decisiones e implementación de un protocolo de manejo integrado del riesgo por contaminación con ficotoxinas en la laguna de Baconao.

Figure 3. General decision-making protocol and implementation of an integrated risk management protocol for phycotoxins contamination in the Baconao Lagoon.

Este grupo o comisión creado para la gestión de riesgos (CGR) debe integrar armónicamente a los actores del ecosistema, contribuyendo con la capacitación de la red de actores y de los especialistas involucrados a corto y largo plazo, para garantizar la sostenibilidad de las iniciativas propuestas. La CGR debe involucrar, fortalecer y consolidar la red de actores, realizando capacitaciones, conciliaciones, alianzas estratégicas; además de contribuir a la sensibilización de actores clave y tomadores de decisión. La capacitación en aspectos relacionados con la gestión del riesgo es relevante en el marco del nuevo escenario ambiental. En este contexto, implementar la legislación ambiental vigente y las buenas prácticas, constituye un ejercicio obligatorio y necesario, de manera que el coste ambiental de las actividades humanas sea mínimo.

Documentación de la implementación del protocolo de gestión de riesgo en la laguna de Baconao

Activación del protocolo

El 29 de mayo de 2017 se activa el protocolo de toma de decisión, a partir de un aviso de cambios de indicadores primarios en el ecosistema (cambio de color de las aguas y existencia de peces muertos) en las orillas y en la superficie del agua, notificados por la empresa de Flora y Fauna al CITMA.

Confirmación del riesgo

Para confirmar el riesgo se realizaron entrevistas confirmatorias, así como el análisis de las primeras muestras entregadas por el CITMA y Flora y Fauna a LESA. Se confirma el riesgo a través de los siguientes indicadores tempranos de aviso: coloración pardo-rojiza y verdosa que ocupa aproximadamente 30 % del ecosistema; peces muertos de varias especies y tallas en la superficie y orillas de la laguna; marcada fetidez; características del sedimento alteradas con zonas coloreadas de verde intenso o verde-pardo, olor a azufre y fetidez; presencia de espumas y masas laxas flotando en la superficie del agua.

Como dato adicional a través de la observación y entrevistas al médico veterinario a cargo de la cría de delfines, se constató un discreto cambio de conducta en estos animales, mostrándose apáticos y poco activos, por lo que estuvieron monitoreados de forma intensiva. Estos se mantuvieron cerca de la margen contraria en la que se ubican los puntos de muestreo, prácticamente durante todo el evento.

Actores clave involucrados

En la primera inspección visual participaron tres actores clave: CITMA, Flora y Fauna, y miembros de las

the growing impact of drastic fluctuations on the climate. This group or commission created for risk management (RMC) must harmonically integrate the actor network and the specialists involved in the short and long term to guarantee the sustainability of the proposed initiatives. The RMC must involve, strengthen, and consolidate the actor network, performing training, conciliations, strategic alliances, as well as contributing to raising the awareness of key actors and decision makers. Training in aspects related to risk management is relevant within the framework of the new environmental scenario. In this context, implementing the current environmental regulations and good practices constitutes a mandatory and necessary exercise, so that the environmental cost of human activities is minimal.

Documentation for the implementation of the risk management protocol in the Baconao Lagoon

Protocol activation

On May 29, 2017, the decision-making protocol is activated, in response to a warning regarding changes in the ecosystem's primary indicators (change in water coloration and the fish kills) on the shores and the surface of the water. This was notified by the Flora y Fauna enterprise to CITMA.

Risk confirmation

To confirm the risk, confirmatory interviews were conducted, as well as the analysis of the first samples delivered by CITMA and Flora y Fauna to LESA. The risk is confirmed through the following early warning indicators: brown-reddish and greenish coloration occupying approximately 30 % of the ecosystem; fish kills of several species and sizes on the surface and shores of the lagoon; a strong stench; altered features of the sediment, with zones colored with intense green or green-brown, the smell of sulfur, and a stench; the presence of foams and lax masses floating on the surface of the water.

As additional information, through observation and interviews with the veterinarian in charge of dolphin breeding, a discrete change in the behavior of these animals was verified, which seemed apathetic and rather inactive, which is why they were intensively monitored. They stuck to the margin opposite to the sampling point during almost the whole event.

Key actors involved

Three key actors participated in the first visual inspection: CITMA, Flora y Fauna, and members of the



comunidades cercanas al ecosistema. Inmediatamente después de la inspección se involucraron otros actores: LESA, por su experticia en FAN, y el Acuario de Baconao (perteneciente a Flora y Fauna) por sus intereses en el ecosistema, específicamente en relación con la cría y mantenimiento de delfines en cautiverio.

Luego de confirmar el riesgo se crea la CGR, que comunica sobre la situación de riesgo a los actores clave (directivos de establecimientos gastronómicos, líderes comunitarios, pescadores, guías de turismo, PNR (Policía Nacional Revolucionaria), médicos encargados de la atención primaria, trabajadores de negocios privados y personas naturales con participación en la cadena de comercialización formal e informal de recursos del ecosistema). Durante el proceso de sensibilización se consideraron en primera instancia los directivos y especialistas de gestión ambiental de las empresas ubicadas en las cercanías del ecosistema, así como las entidades usuarias del ecosistema de forma directa o indirecta.

Los directivos de estas empresas fueron convocados a:

- Evaluar alternativas para el desarrollo del proceso productivo en caso de situaciones de riesgo.
- Actualizar los planes de gestión de riesgo, incluyendo el riesgo de contaminación con ficotoxinas.
- Revisar los planes de contingencia incluyendo acciones de mitigación en caso de emergencias relacionadas con las FAN y sus impactos.
- Documentar en un registro de incidencias las situaciones enfrentadas durante el evento de riesgo.
- Implementar programas de educación ambiental y/o capacitación relacionados con la presencia de ficotoxinas.
- Implementar una estrategia de comunicación que permita informar rápidamente a involucrados en caso de situación de riesgo.
- Realizar análisis innovadores que garanticen la calidad y seguridad del producto que ofertan, considerando indicadores específicos del riesgo por presencia de ficotoxinas.

Acciones estratégicas tempranas

A partir de la confirmación de presencia de organismos potencialmente tóxicos se desarrollan acciones estratégicas tempranas, entre las que se consideró la elaboración de un informe oficial con inmediatez (en menos de 1h) para declarar la existencia de un riesgo inminente. Este informe, además de verificar los indicadores primarios, busca de forma prioritaria constatar la presencia de especies potencialmente tóxicas,

communities near the ecosystem. Immediately after the inspection, other actors were involved: LESA, given their expertise in HAB, and the Baconao Aquarium (belonging to Flora y Fauna), for their interests in the ecosystem, specifically regarding the breeding and maintenance of dolphins in captivity within the area.

After risk confirmation, the RMC is created, which warns the key actors about the risk situation (executives of gastronomic establishments, community leaders, fishermen, tourist guides, the PNR (National Revolutionary Police), doctors in charge of primary healthcare, employees of private businesses, and legal persons participating in the formal and informal market chain of the ecosystem's resources). During the awareness process, the executives and environmental management specialists of the businesses located in the vicinity of the ecosystem were considered, as well as the entities that use it directly or indirectly.

The executives of these businesses were called upon to:

- Evaluate alternatives for the development of their productive process in the case of risk situations;
- Update the risk management plans, including the risk of contamination by phycotoxins;
- Review the contingency to include mitigation actions in case of emergencies related to HAB and their impacts;
- Document the situations arising from the risk events in incident records;
- Implement environmental education and/or training programs related to the presence of phycotoxins;
- Implement a communication strategy that allows to rapidly inform those involved in case of a risk situation;
- Perform innovative analyses to guarantee the quality and safety of the offered product, considering specific indicators of the risk derived from phycotoxins presence.

Early strategic actions

Starting from the confirmation of the presence of potentially toxic organisms, early strategic actions are developed, among which the elaboration of an immediate official report (in less than 1 h) was considered to declare the existence of imminent risk. This report, in addition to verifying the primary indicators, seeks to confirm the presence of potentially toxic species or the existence of excessive growth of any phytoplanktonic species.

o la existencia de crecimiento excesivo de alguna especie fitoplanctónica.

Inmediatamente después de la confirmación del riesgo se procede a la activación de la CGR, a la cual los expertos y el CITMA le presentan el informe y se procede a su capacitación intensiva, considerando elementos clave que contribuirán de forma favorable a la implementación del protocolo de gestión, una vez aprobado y asignados los fondos. En este punto, el liderazgo del CITMA fue relevante, al ser su encargo gubernamental velar por la calidad ambiental de los ecosistemas.

La CGR estableció un sistema de inspección ambiental integrado para la gestión del riesgo, a través de alianzas y conciliaciones, garantizando el monitoreo sistemático del ecosistema. La celeridad de las acciones estratégicas es lo que en última instancia garantizará la efectividad del manejo de la situación de riesgo.

Implementación del proceso

Para esta fase se consideran los cuatro subprocesos clave antes descritos, siendo relevante el diseño e implementación de un plan de monitoreo, liderado por expertos, con la participación de la CGR y otros actores clave. Se considera el muestreo participativo, previa capacitación de involucrados.

Los muestreos para el seguimiento se realizaron cada tres días durante veinticuatro días consecutivos, considerando los indicadores de aviso preestablecidos; paralelamente se efectuó la inspección visual del ecosistema (Figura 4). A los veinticinco días se consideró dar fin al proceso de contingencia, de acuerdo con los resultados del monitoreo realizado. Se mantienen a partir de este momento inspecciones visuales semanales durante dos meses, recomendándose realizar monitoreos mensuales para el seguimiento, considerando la posible recurrencia de la situación de riesgo.

Durante esta fase se elaboró el plan de emergencia para escenarios de riesgo con alerta máxima. Se restringen usos como la navegación, el baño, la pesca y la recreación, para evitar la exposición no solo directa sino a los aerosoles en las inmediaciones del ecosistema, por treinta días. Se revisaron y reelaboraron los planes de contingencia del acuario, en coordinación con el Acuario de Baconao, estableciendo con antelación, las medidas necesarias en caso de evacuación de los delfines. Se incluyeron acciones relacionadas con el seguimiento de la conducta de los animales.

Por último, en esta fase se consideró la implementación de una estrategia de comunicación y

Immediately after the confirmation of the risk, the RMC was activated, to which the experts and CITMA present the report for subsequent intensive training, considering key elements that will favorably contribute to the implementation of the management protocol, once the funds were approved and allocated. In this regard, CITMA's leadership was relevant, given that their governmental mandate is to watch over the environmental quality of ecosystems.

The RMC established an integrated risk management system, through alliances and reconciliations, this guaranteeing the systematic monitoring of the ecosystem. The celerity of the strategic actions is what will ultimately ensure the effectiveness of the risk management situation.

Implementation of the process

For this phase, the four previously described key subprocesses are considered, with the design and implementation of a monitoring plan being relevant, which is led by experts, with the participation of the RMC and other key actors. Participative sampling is considered with prior training of those involved.

The sampling for monitoring was conducted every three days during 24 consecutive days, considering the preestablished warning indicators. In parallel, a visual inspection of the ecosystem was performed (Figure 4). On the 25th day, declaring the end of the contingency was considering, in accordance with the results of the performed the monitoring. From then on, weekly visual inspections were maintained during two months, and it was recommended that monthly monitoring be performed, considering the possible recurrence of the risk situation.

During this stage, the emergency plan for risk scenarios involving maximum alert was elaborated. Uses of the ecosystem were restricted, such as navigation, bathing, fishing, and recreation, in order to prevent not only direct exposure, but also exposure to sprays in the vicinity of the ecosystem. All this, for 30 days. The aquatic habitat's contingency plans were reviewed and redrafted, while coordinating with the Baconao Aquarium, thus establishing the necessary measures in the case of dolphin evacuation. Actions related with the monitoring of animal behavior were included.

Finally, during this stage, the implementation of a communication and awareness strategy was considered to mitigate the impact on the ecosystem, thus guaranteeing

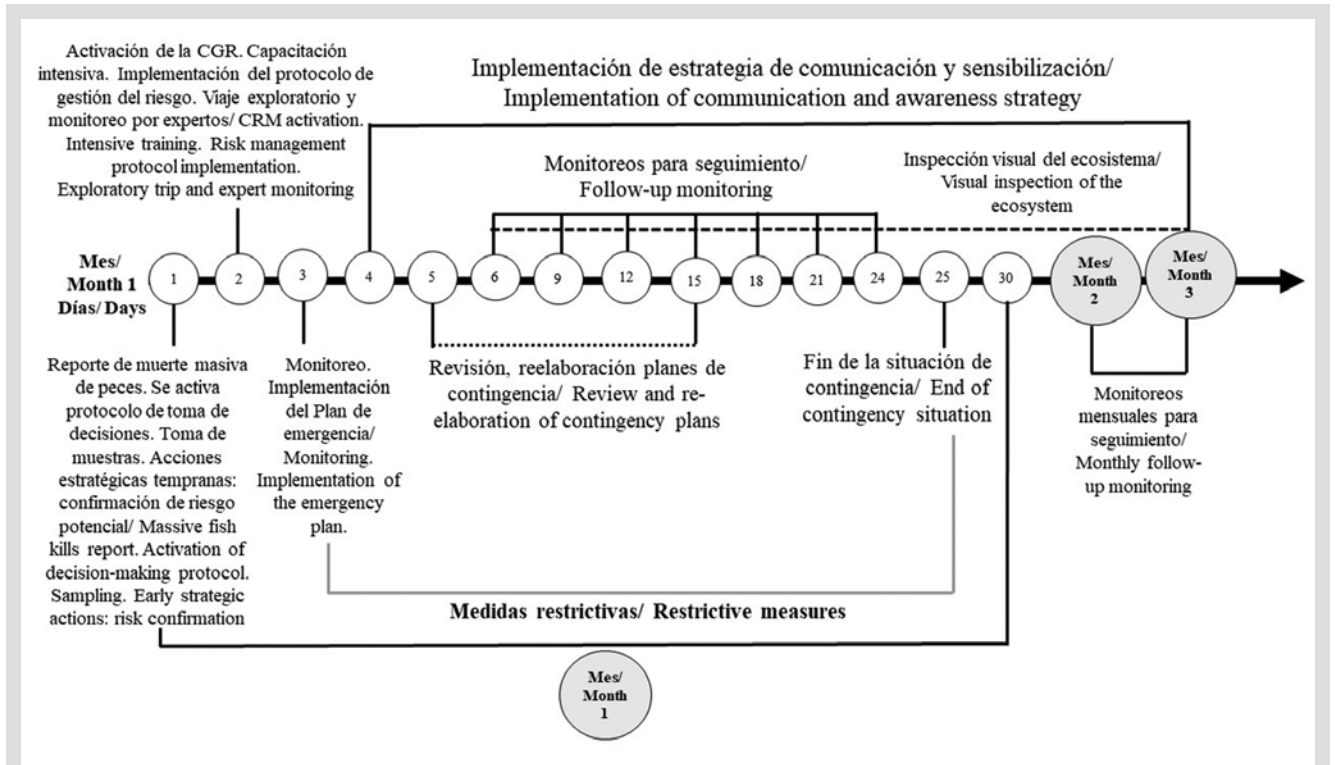


Figura 4. Temporalidad de las acciones desarrolladas para la implementación del protocolo de gestión del riesgo por contaminación con ficotoxinas en la laguna de Baconao.

Figure 4. Timeline of the actions taken for the implementation of the risk management protocol for phycotoxins contamination in the Baconao Lagoon.

sensibilización, para mitigar impactos sobre el ecosistema, garantizando la información sistemática a las comunidades y autoridades locales; el contacto con actores clave, así como la comunicación directa con tomadores de decisión y líderes comunitarios. Durante el tiempo de implementación del protocolo se consideró el pronóstico meteorológico para la toma de decisiones, en estrecha coordinación con el INSMET (Instituto Nacional de Meteorología) en Santiago de Cuba. Resultó relevante crear alianzas con expertos para propiciar una dinámica adecuada en el proceso de toma de decisiones, lo que devino en factor clave de éxito al implementar el protocolo de gestión del riesgo, así como el liderazgo del CITMA.

Resultados de los análisis de las muestras: caracterización del riesgo

Identificación de especies fitoplanctónicas

Los análisis permiten afirmar que las muestras analizadas son positivas a la presencia de dinoflagelados y cianobacterias, con abundantes quistes en algunos puntos de muestreo. Se identifican en total 19 especies fitoplanctónicas en todo el acuario, de ellas 10 de cianobacterias, 7 potencialmente tóxicas, además de 6 de dinoflagelados, una

systematic reports to the community and local authorities, as well as contact with key actors and direct communication with decision makers and community leaders. During the time of the protocol implementation, the meteorological forecast was considered for the decision-making process, in close coordination with INSMET (the National Meteorological Institute) in Santiago de Cuba. In addition to CITMA's leadership, creating alliances with experts was relevant to promoting adequate dynamics in the decision-making process, which constituted a key success factor in implementing the risk management protocol.

Sample analysis results: risk characterization

Identification of phytoplankton species

The analyses allow stating that the analyzed samples are positive for the presence of dinoflagellates and cyanobacteria, with abundant cysts at some sampling point. A total of 19 phytoplankton species were identified in the entirety of the aquatic habitat, which include 10 cyanobacteria species, seven of which were potentially toxic; and six dinoflagellate species, one of which is an ichthyotoxin producer: *Karlodinium micrum* and another one associated with the production of ciguatoxins

de ellas productoras de ictiotoxinas: *Karlodinium micrum* y otra asociada a la producción de ciguatotoxina o Veneno Ciguatérico de los Peces (VCP): *Coolia* sp. Se detectan además dos especies de heterokontophyta, una de ellas asociada a la producción del VCP: *Coccinodiscus* sp. y una Chrysophyta (Tabla 1).

Es importante señalar que, de las 19 especies identificadas, 12 son recurrentes (63 %), siendo en su mayoría cianobacterias. Asimismo, los géneros *Microcystis* y *Karlodinium* presentan también recurrencia.

Tabla 1. Identificación de especies fitoplanctónicas durante la situación de riesgo en la laguna de Baconao (+ indicador cualitativo de abundancia, * especies previamente identificadas).

or Ciguatera Fish Poison (CFP) (*Coolia* sp.). Two heterokontophyte species were also detected, one of which is associated with the production of CFP, as well as one Chrysophyta (Table 1).

It is important to point out that, 12 of the 19 identified species, are recurrent (63 %) and mostly cyanobacteria. Similarly, genera *Microcystis* and *Karlodinium* are also recurrent.

Table 1. Phytoplankton species identification during the risk situation in the Baconao Lagoon (+ abundance qualitative indicator, * previously identified species).

Géneros y especies fitoplanctónicas / Phytoplankton genus and species	P1	P2	P3	P4	P5	Sedimento / Sediment P1, 2 y 3
Cyanophycophyta						
<i>Anabaena</i> sp.*	x	x	x+	x	x	
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.+++*	x++	x++		x+++	x++	
<i>Microcystis wesenbergii</i> ++	x++	x+	x++	x++		
<i>Oscillatoria formosa</i> +++*	x++	x++	x+		x+	x+
<i>Oscillatoria limosa</i> ++++*	x++	x++	x+++	x	x	x+++
<i>Oscillatoria princeps</i> *		x	x+		x	x
<i>Oscillatoria nigro-viridis</i> *	x	x	x		x+++	
<i>Spirulina</i> sp.+	x		x++			
<i>Synechocystis</i> sp.++*	x++	x++				
<i>Synechococcus</i> sp.++*	x++	x++		x+		
Chrysophycophyta						
<i>Chrysochromulina</i> sp,			x			
Dinophyta						
<i>Ceratium furca</i> *			x	x		
<i>Coolia</i> sp.				x	x	
<i>Gymnodinium</i> sp.*	x	x	x	x+	x	
<i>Karlodinium micrum</i> ++++	x++++	x++		x	x+++	
<i>Protoperidinium</i> sp.*			x	x		
<i>Pyrophacus</i> sp.	x	x	x			
Restos de dinoflagelados / Rest of dinoflagellates					x	x+
Quistes dinoflagelados / Cysts of dinoflagellates	x		x+	x	x+	x++
Heterokontophyta						
<i>Coccinodiscus</i> sp.*			x			x
<i>Cylindrotheca closterium</i>				x	x	
Contaminación bacteriana / Bacterial contamination	x+++	x+++	x+++	x+++	x+++	x+++

Resultados de los análisis de las muestras biológicas

Se pudo confirmar en las muestras de branquias la presencia de células móviles de *Karlodinium micrum* (n = 10), y restos *Oscillatoria nigro-viridis* (n = 4), *O. limosa* (n = 8), *Cylindrospermopsis* sp. (n = 10) y *Microcystis wesenbergii* (n = 7). Si bien la presencia de especies potencialmente tóxicas podría explicar la muerte de los peces, es importante señalar que se confirma la presencia de abundante mucus, lo que puede ser indicador de muerte por asfixia. En la tabla 2 se presentan las toxinas potenciales de acuerdo con las especies fitoplanctónicas presentes en el ecosistema (Cronberg, 1999; Minillo *et al.*, 2000; Vasconcelos, 2001; Moreno *et al.*, 2003; Aboal, 2005; Cameán *et al.*, 2005; Delgado, 2005; Jos *et al.*, 2005; Adolf *et al.*, 2006; CDCP, 2006; Cronberg y Annadotter, 2006; Delgado *et al.*, 2006; Andrinolo *et al.*, 2007; Carrasco *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2008; Da Silva, 2009; Faust, 2009; Moraes, 2009; Golubic *et al.*, 2010).

Tabla 2. Toxinas potencialmente presentes en la laguna de Baconao, de acuerdo con el listado de especies fitoplanctónicas y clasificación según sus posibles efectos.

Toxina / Toxin	Género productor / Producer genus	Clasificación / Classification
Microcistina / Microcystin	<i>Anabaena, Microcystis, Oscillatoria</i>	Hepatotoxina / Hepatotoxin
Debromoaplisiatoxina, Oscillatoxina a / Debromoaplysiatoxin, Oscillatoxin	<i>Oscillatoria</i>	Dermatotoxinas (posible efecto tumorigénico e inflamatorio) / Dermatotoxin (possible carcinogenic and inflammatory effect)
Anatoxina / Anatoxin	<i>Anabaena</i>	Neurotoxina / Neurotoxin
Saxitoxina / Saxitoxin	<i>Anabaena, Cylindrospermopsis</i>	Neurotoxina / Neurotoxin
Cilindrospermopsina / Cylindrospermopsin	<i>Anabaena, Cylindrospermopsis</i>	Citotoxina / Cytotoxin
Microcistina y Homoanatoxina a / Microcystin and Homoanatoxin a	<i>Oscillatoria (O. formosa)</i>	Hepatotoxina, Neurotoxina / Hepatotoxin, Neurotoxin
Karlotoxina / Karlotoxin	<i>Karlodinium</i>	Ictiotoxina / Ichthyotoxin
VPP / PSP	<i>Cylindrospermopsis</i>	Toxina paralizante letal para peces / Paralytic toxin with lethal effect on shellfish
VCP / CFP	<i>Coccinodiscus</i> sp., <i>Coolia</i>	Veneno ciguatérico de peces / Ciguateric fish poison

Durante los análisis microscópicos de las muestras de agua se observaron además restos celulares de dinoflagelados. Por otra parte, se observó abundante contenido expuesto de color pardo-rojizo con apariencia oleosa, y abundante materia micro-particulada de color pardo rojizo intenso.

Descripción de la evolución de la floración algal basada en evidencias

El evento debió manifestarse en un principio con discoloración marrón, con prevalencia de dinoflagelados; y parches verdes hacia la orilla en varias zonas de la laguna,

Biological sample analysis results

In the gill samples, the presence of mobile *Karlodinium micrum* cells (n = 10) could be confirmed, as well as the presence of *Oscillatoria nigro-viridis* (n = 4), *O. limosa* (n = 8), *Cylindrospermopsis* sp. (n = 10), and *Microcystis wesenbergii* (n = 7). Although the presence of potentially toxic species could explain the fish kills, it is important to point out that the presence of abundant mucus is confirmed, which could be evidence of death by asphyxiation. In table 2, potential toxins are presented according with the phytoplankton species present in the ecosystem (Cronberg, 1999; Minillo *et al.*, 2000; Vasconcelos, 2001; Moreno *et al.*, 2003; Aboal, 2005; Cameán *et al.*, 2005; Delgado, 2005; Jos *et al.*, 2005; Adolf *et al.*, 2006; CDCP, 2006; Cronberg y Annadotter, 2006; Delgado *et al.*, 2006; Andrinolo *et al.*, 2007; Carrasco *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 2008; Da Silva, 2009; Faust, 2009; Moraes, 2009; Golubic *et al.*, 2010).

Table 2. Toxins potentially present in the Baconao Lagoon according to the list of phytoplankton species and their classification with regards to their possible effects.

During the microscopical analyses of the water samples, cellular dinoflagellate cell rests were also observed. On the other hand, abundant brown-reddish contents with an oily appearance were observed, as well as abundant micro-particulate matter with an intense brown-reddish coloration.

Description of the evolution of the algal bloom based on evidence

The event must have manifested at first with a brown discoloration and the prevalence of dinoflagellates and green patches towards the shore in several areas of the lagoon,

constatándose la presencia de cianobacterias filamentosas en la zona intermareal en los puntos 1 y 2. La proliferación de dinoflagelados debe haber ocurrido unas dos semanas antes del reporte de la situación de riesgo, ya que se observan células envejecidas con abundante contenido celular y otras lisadas, con exposición del material celular.

Es importante considerar que en el ecosistema han ocurrido otros eventos similares desde 2011, siendo este un antecedente relevante para los análisis de caracterización del riesgo. En la tabla 3 se presentan los resultados de reportes previos de discoloración de las aguas en el ecosistema, obtenidos por LESA, con los organismos tóxicos involucrados.

Tabla 3. Antecedentes de floraciones algales en el ecosistema obtenidos por LESA (+: indicador cualitativo de abundancia).

Géneros y especies de fitoplancton / Phytoplankton genus and species	2011		2012	2014	
	20.05.2011	10.10.2011	28.04.2012	21.04.2014	27.09.2014
Cyanophycophyta					
<i>Anabaena</i> sp.	x	x	x	x	x
<i>Cylindrospermopsis</i> sp.+					x+
<i>Microcystis</i> sp.	x	x	x	x	x
<i>Oscillatoria formosa</i> +	x+	x+	x+	x+	x+
<i>Oscillatoria limosa</i> +	x+	x+	x+	x+	x+
<i>Oscillatoria princeps</i>		x		x	
<i>Oscillatoria nigro-viridis</i>	x		x	x	
<i>Synechocystis</i> sp.++	x+	x++	x++	x++	x
<i>Synechococcus</i> sp.++	x++	x++	x	x	x
Dinophyta					
<i>Ceratium furca</i>	x	x	x	x	x
<i>Gymnodinium catenatum</i>	x+	x	x+		
<i>Gymnodinium</i> sp.	x	x	x	x	x
<i>Gyrodinium</i> sp.		x		x	
<i>Karlodinium</i> sp.					x
<i>Gonyaulax</i> sp.	x+	x+	x+		
<i>Prorocentrum</i> sp.			x		x
<i>Protoperdinium</i> sp.	x	x			
Heterokontophyta					
<i>Coccolodiscus</i> sp.	x		x	x	
Contaminación bacteriana / bacterial contamination	x+++	x+++			x+++
Muerte de peces / Fish kill	x		x	x	

which confirms the presence of filamentous cyanobacteria in the intertidal zone at points 1 and 2. Dinoflagellate proliferation must have taken place about two weeks before the risk situation report, given that aged cells with abundant cellular contents are observed, as well other lysed cells with cellular material exposition.

It is important to consider that similar events have occurred in the ecosystem since 2011, which constitutes relevant background for risk characterization analyses. In table 3, the results of previous water discoloration reports in the ecosystem obtained by LESA are presented along with the toxic organisms involved.

Table 3. Algal bloom history in the ecosystem obtained by LESA (+: qualitative abundance indicator).

Estos antecedentes han condicionado el análisis sistemático de la laguna, por intereses fundamentalmente sectoriales, y resultan importantes para poder entender la dinámica y/o recurrencia de estos eventos.

Los registros previos indican la presencia en el ecosistema de al menos 18 especies fitoplanctónicas, de ellas al menos 12 con potencial tóxico. Seis especies se mantienen en las floraciones previas desde 2011: *Oscillatoria formosa*, *O. limosa*, *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Ceratium furca* y *Gymnodinium* sp.

Especies relevantes por su abundancia y toxicidad

Cuatro especies destacan por su abundancia y toxicidad: *Cylindrospermopsis raciiborsky*, *Microcystis wesenbergii*, *Karlodinium micrum* y *Oscillatoria limosa*. Su concentración en los diferentes puntos de muestreo se presenta en la figura 5.

Estas especies forman floraciones multispecíficas en todo el acuario, con variaciones entre los diferentes puntos de muestreo. La concentración de *C. raciiborsky* varió entre los diferentes puntos con valores entre 10×10^3

This background has conditioned the systematic analysis of the lagoon due to fundamentally sectorial interests, and it plays an important role in understanding the dynamics and/or occurrence of these events in the lagoon.

Previous records indicate the presence of at least 18 phytoplankton species in the ecosystem, out of which at least 12 have toxic potential. Six species are also present in previous blooms since 2011: *Oscillatoria formosa*, *O. limosa*, *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., *Ceratium furca*, and *Gymnodinium* sp.

Relevant species due to their abundance and toxicity

Four species stand out for their abundance and toxicity: *Cylindrospermopsis raciiborsky*, *Microcystis wesenbergii*, *Karlodinium micrum*, and *Oscillatoria limosa*. Their concentration at different sampling points is shown in Figure 5.

These species form multispecific blooms throughout the aquatic habitat, with variations among the different sampling points. The concentration of *C. raciiborsky* varied between the different points with values

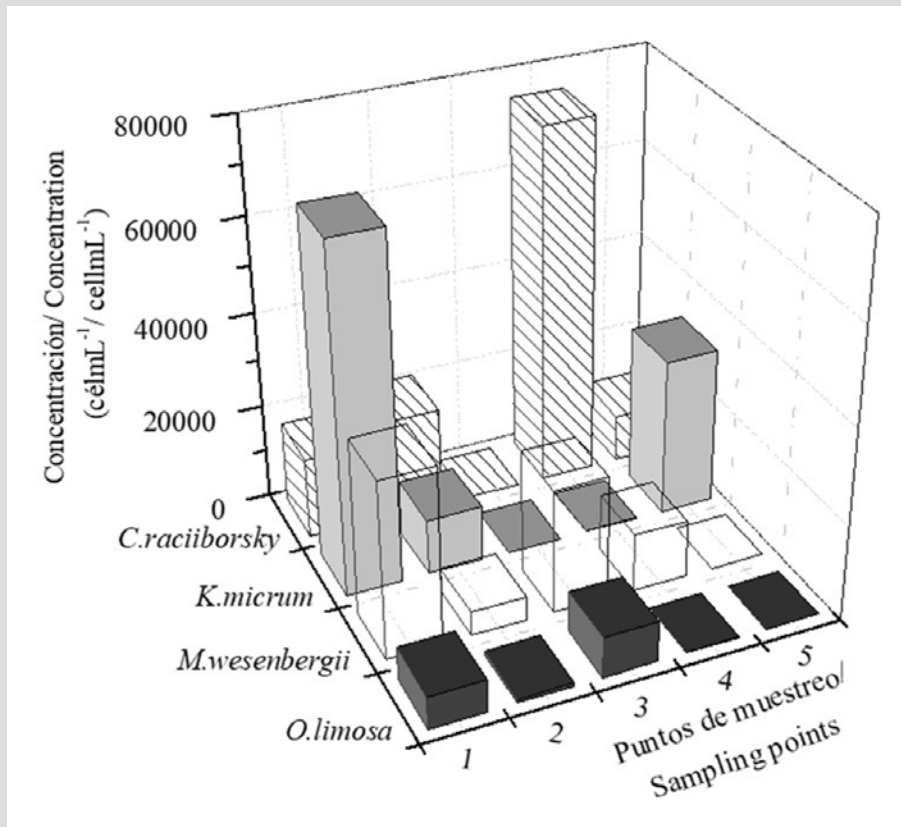


Figura 5. Variación de la concentración de las especies relevantes en los diferentes puntos de muestreo.

Figure 5. Concentration variation of relevant species at the different sampling points.

y 75×10^3 célmL⁻¹. Esta especie no fue detectada en el punto 3 (Figura 5). A los 24 días, su presencia en el sitio de mayor concentración (Punto 4) disminuyó a 120 célmL⁻¹.

Karlodinium micrum se presentó en mayor concentración en los puntos 1 y 5 (33×10^3 y 72×10^3 célmL⁻¹, respectivamente) (Figura 5), siendo su mínima concentración 93 célmL⁻¹ en el punto 4. No se detecta en el punto 3. A los 24 días su presencia en el punto 1 disminuyó hasta 50 célmL⁻¹.

Respecto a *M. wesenbergii* (Figura 6A) se observan en el ecosistema células deformadas, probablemente por efecto de la salinidad, lo que puede indicar el aporte fluvial. Su concentración varió entre los diferentes puntos de muestreo entre 5×10^3 y 37×10^3 célmL⁻¹, siendo el punto 1 el de mayor concentración. No se detecta en el punto 5. A los 24 días, su presencia en el punto 1 disminuyó hasta 11 célmL⁻¹.

Las células de *Oscillatoria limosa* (Figura 6A) presentan en la mayoría de los puntos abundantes burbujas de aire, con un aspecto granuloso, típico de las masas o natas flotantes. En el punto 3 aparece en mayor concentración ($8,6 \times 10^3$ célmL⁻¹), detectándose la menor concentración en el punto 5 (93 célmL⁻¹). A los 24 días su concentración en el punto 3 fue de 22 célmL⁻¹.

En los puntos 1 y 2 estas cuatro especies forman una floración mixta con *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., y *O. formosa*, siendo la especie mayoritaria en el punto 1 *K. micrum*; mientras que en el punto 2 es mayoritaria *C. raciiborsky*.

En el punto 3, *M. wesenbergii* y *O. limosa* formaron una floración con *Spirulina subsalsa*, con predominio de la primera; mientras que en el punto 4 están presentes las cuatro especies, pero solo *C. raciiborsky* y *M. wesenbergii*, formaron una floración, con *Gymnodinium* sp. y *Synechococcus* sp., siendo notable el predominio de *C. raciiborsky*.

En el punto 5 se identificó una floración con presencia de tres de las cuatro especies: *K. micrum*, *C. raciiborsky* y *O. limosa*, con *O. formosa* y *Oscillatoria nigro-viridis*, siendo predominante *K. micrum*.

Resultado de los análisis del sedimento

En las muestras de sedimento analizadas se identificaron de forma mayoritaria especies de *Oscillatoria* (*O. limosa*, *O. formosa* y *O. princeps*). Se observan además células aisladas de *Coccinodiscus* sp., así como restos y quistes de dinoflagelados.

between 10×10^3 and 75×10^3 cellmL⁻¹. This species was not detected at point 3 (Figure 5). After 24 days, its presence at the site of highest concentration (point 4) decreased to 120 cellmL⁻¹.

Karlodinium micrum appeared with its highest concentration at points 1 and 5 (33×10^3 and 72×10^3 cellmL⁻¹, respectively) (Figure 5), with a minimum concentration of 93 cellmL⁻¹ at point 4. It was not detected at point 3. After 24 days, its presence at point 1 decreased to 50 cellmL⁻¹.

Regarding *M. wesenbergii* (Figure 6A), deformed cells are observed in the ecosystem, probably due to the effect of salinity, which may indicate a fluvial contribution. Its concentration varied among the different sampling points between 5×10^3 and 37×10^3 cellmL⁻¹, with point 1 having the highest concentration. It was not detected at point 5. After 24 days, its presence at point 1 decreased to 11 cellmL⁻¹.

Oscillatoria limosa cells (Figure 6A) have abundant gas vesicles at most points. These bubbles have a granular appearance, which is typical of floating masses or mats. It appears that point 3 has its highest concentration ($8,6 \times 10^3$ cellmL⁻¹), and its lowest concentration was detected at point 5 (93 cellmL⁻¹). After 24 days, its concentration at point 3 was of 22 cellmL⁻¹.

At points 1 and 2, these four species form a mixed bloom with *Synechocystis* sp., *Synechococcus* sp., and *O. formosa*, with *K. micrum* being the most abundant species at point 1, whereas *C. raciiborsky* constitutes the majority at point 2.

At point 3, *M. wesenbergii* and *O. limosa* formed a bloom with *S. subsalsa*, with the first being prevalent; whereas, at point 4, all four species were present, but only *C. raciiborsky* and *M. wesenbergii* formed a bloom with *Gymnodinium* sp. and *Synechococcus* sp. The prevalence of *C. raciiborsky* was noteworthy.

At point 5, a bloom was identified with the presence of three out of the four species: *K. micrum*, *C. raciiborsky* and *O. limosa* with *O. formosa* and *Oscillatoria nigro-viridis*, with the prevalence of *K. micrum*.

Sediment analysis results

In the analyzed sediment samples, *Oscillatoria* species were mostly (*O. limosa*, *O. formosa*, and *O. princeps*). Isolated *Coccinodiscus* sp. cells were also observed, as well as dinoflagellate cells rests and cysts.

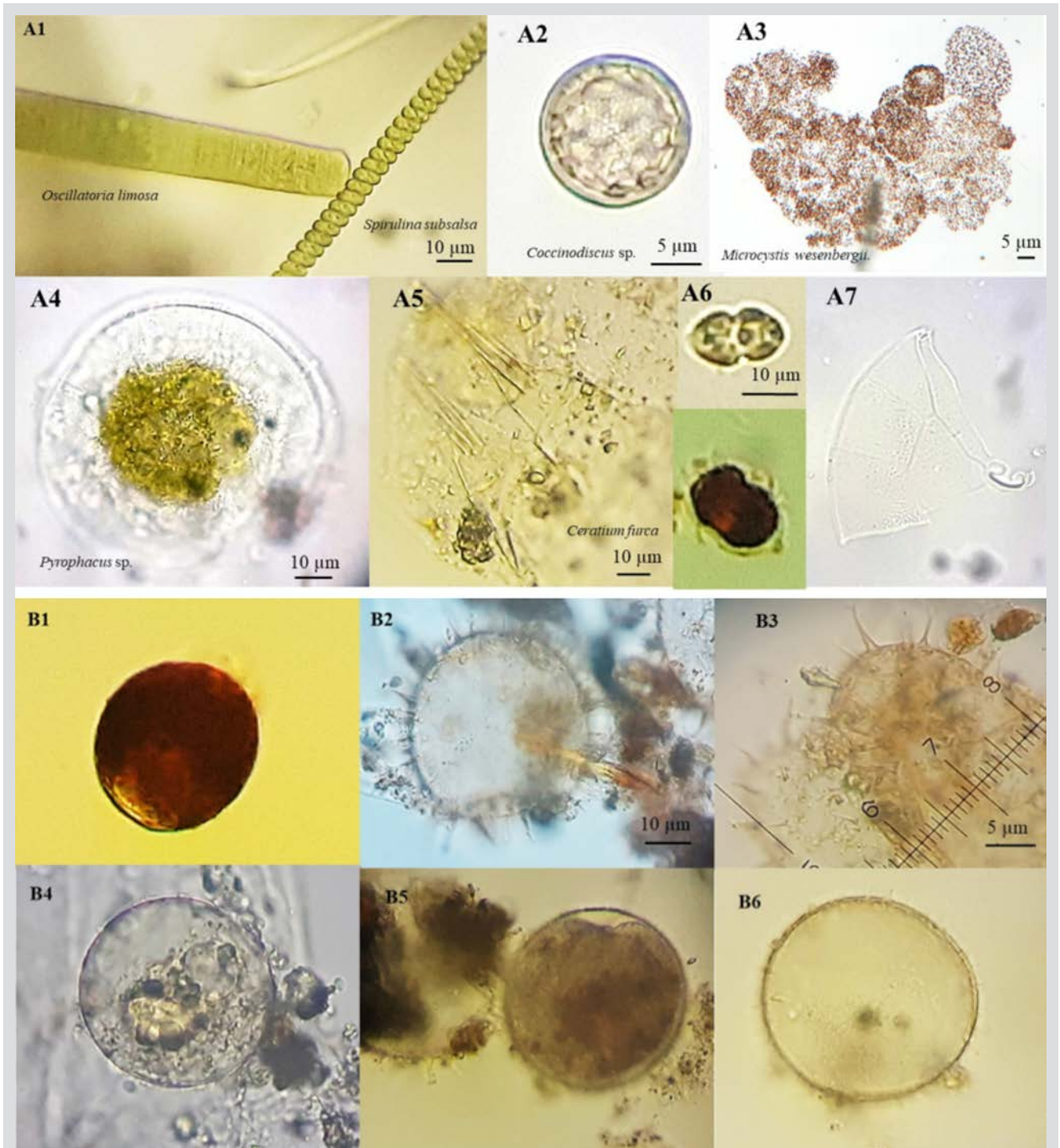


Figura 6. A. Imágenes de especies identificadas; B. Quistes de dinoflagelados. A1. Cianobacterias: *Oscillatoria limosa* y *Spirulina subsalsa*. A2. *Coccinodiscus* sp. A3. *Microcystis wesenbergii*. A4. *Pyrophacus* sp. A5. *Ceratium furca*. A6. *Karlodinium micrum* (arriba apariencia normal, abajo *K. micrum* teñido con Lugol). A7. Resto de dinoflagelado. B1. Quiste compatible con *Gymnodinium catenatum*. B2. Quiste compatible con *Protoperidinium conicum*. B4. Quiste compatible con *Alexandrium affine*. B3, B5-6 Otros quistes.

Figure 6. A. Images of identified species; B. Dinoflagellate cysts. A1. Cyanobacteria: *Oscillatoria limosa* and *Spirulina subsalsa*. A2. *Coccinodiscus* sp. A3. *Microcystis wesenbergii*. A4. *Pyrophacus* sp. A5. *Ceratium furca*. A6. *Karlodinium micrum* (normal appearance above, Lugol-stained *K. micrum* below). A7. Dinoflagellate cell rest. B1. Cyst compatible with *Gymnodinium catenatum*. B2. Cyst compatible with *Protoperidinium conicum*. B4. Cyst compatible with *Alexandrium affine*. B3, B5-6 Other cysts.

Al menos seis tipos diferentes de quistes fueron observados tanto en el sedimento como en la columna de agua:

1. Quistes con características distintivas como la forma esférica, carencia de ornamentos, color pardo oscuro de su envoltura, y apariencia ligeramente reticulada compatibles con los descritos para *Gymnodinium catenatum*.
2. Abundantes quistes ornamentados con envoltura y procesos en forma de espinas puntiagudas, con compresión anteroposterior compatibles con *Protoperidinium conicum* (Matsuoka y Fukuyo, 2000).
3. Quistes elipsoidales con ornamentos y procesos espinosos alargados, con puntas bifurcadas, y envoltura color pardo claro.
4. Quistes esféricos, sin ornamento, pared transparente, superficie lisa, compatible con *Alexandrium affine*.
5. Quistes esféricos con más de una capa, color pardo oscuro y arqueopilo apical con finos procesos en forma de agujas de pequeño tamaño en la pared ornamentada.
6. Quistes con más de una capa, envoltura color amarillo pálido, esféricos, con pequeños procesos en forma de espinas (Figura 6B).

Análisis fisicoquímicos de la columna de agua

Los resultados de los análisis realizados se presentan en la tabla 4. Los valores de oxígeno disuelto (OD) en el acuatorio fueron en general bajos, siendo los puntos más afectados 2, 3 y 4, con valores de $1,25 \pm 0,01$; $1,44 \pm 0,01$ y $1,34 \pm 0,00 \text{ mgL}^{-1}$, respectivamente, los que fueron significativamente mayores que los valores obtenidos en los puntos 1 y 5. Los máximos valores detectados se encuentran por debajo de lo regulado para cuerpos de agua de interés pesquero NC 25:1999, de lo que se infiere que el agua tiene calidad dudosa ($2\text{-}5 \text{ mgL}^{-1}$), a mala ($<2 \text{ mgL}^{-1}$).

Los valores de pH tuvieron poca variación, manteniéndose en el rango de 8 a 8,40; lo que resulta adecuado para estos cuerpos de agua. La temperatura del agua mantuvo valores entre 25 y 25,9 °C. En el caso de la salinidad esta mantuvo valores entre 22 y 30 ups en todo el acuatorio, siendo mínima en el punto 3, lo que podría estar relacionado con vertimientos puntuales; mientras que en el punto 4 se registran los valores máximos.

At least six different types of cysts were observed both in the sediment and the water column:

1. Cysts with distinctive characteristics, such as a spherical shape, a lack of ornaments, the dark brown coloration of its wall, and its fine reticulated appearance, which match those described for *Gymnodinium catenatum*.
2. Abundant ornamented cysts with a wall and spinate processes in the shape of pointy thorns, as well as antero-posterior compression. These match *Protoperidinium conicum* (Matsuoka and Fukuyo, 2000).
3. Ellipsoidal cysts with ornaments and spinate elongated processes, with bifurcated tips and a light brown wall.
4. Spherical cysts without ornaments, a colorless wall, and a flat surface, which matches *Alexandrium affine*.
5. Spherical cysts with more than one layer, a dark brown coloration, and an apical archeopyl with fine processes in the shape of small-sized needles on the ornamented wall.
6. Cysts with more than one layer, a pale-yellow wall, a spherical shape, and small spinate processes (Figure 6B).

Physicochemical analysis of the water column

The results of the analyses are presented in table 4. The dissolved oxygen values (DO) in the aquatic habitat were generally low. Points 2, 3, and 4 were the most affected, with values of 1.25 ± 0.01 , 1.44 ± 0.01 , and $1.34 \pm 0.00 \text{ mgL}^{-1}$, respectively. These values were significantly higher than those obtained at points 1 and 5. The maximum detected values are below limits stated by the regulations for fishing interest water bodies NC 25:1999, which is why it is inferred that the water quality ranges from dubious ($2\text{-}5 \text{ mgL}^{-1}$) to bad ($<2 \text{ mgL}^{-1}$).

The pH values had little variation, and may remain within the range of 8-8.40, which is adequate for these water bodies. The water temperature had values between 25 and 25.9 °C. Salinity values remained between 22 and 30 ups throughout the ecosystem, with its minimum values at point 3, which could be related with specific dumping; whereas the maximum values were recorded at point 4.

Tabla 4. Resultados de análisis fisicoquímicos *in situ*. Se presentan los valores medios y desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p = 0,05$).

Puntos de muestreo / Sampling points	Oxígeno disuelto / Dissolved oxygen (mgL^{-1})	Conductividad / Conductivity (μScm^{-1})	pH	T ($^{\circ}\text{C}$)	Salinidad / Salinity	Clorofila <i>a</i> / Chlorophyll <i>a</i> (μgL^{-1})	Cianobacterias / Cyanobacteria (No. cell $\text{mL}^{-1} \times 10^4$)
1	2.21 ± 0.01^b	1371.00 ± 11.20^a	8.08 ± 0.05^a	25.8 ± 0.00^a	24.00 ± 1.00^e	14.56 ± 1.00^f	6324 ± 110^e
2	1.25 ± 0.01^a	1371.00 ± 1.22^a	8.12 ± 0.01^a	25.0 ± 0.01^a	26.00 ± 1.00^a	19.01 ± 0.02^b	4753 ± 93^d
3	1.44 ± 0.01^a	1371.00 ± 0.00^a	8.38 ± 0.01^b	25.9 ± 0.01^a	22.00 ± 2.00^c	20.37 ± 0.04^b	12000 ± 210^a
4	1.34 ± 0.00^a	1372.00 ± 12.00^a	8.28 ± 0.00^b	25.7 ± 0.00^a	30.00 ± 1.00^b	3.97 ± 1.22^g	6295 ± 87^c
5	2.59 ± 0.03^b	1370.00 ± 6.15^a	8.31 ± 0.02^b	25.9 ± 0.02^a	26.00 ± 1.00^e	18.89 ± 0.04^b	9098 ± 99^b

Table 4. Results of *in situ* physicochemical analyses. Mean values and standard deviations are presented. Different letters indicate significant differences ($p = 0.05$).

Según los resultados obtenidos en los puntos 2, 3 y 5 la concentración de clorofila no varía significativamente; sin embargo, la concentración celular de cianobacterias difiere significativamente en cada uno de estos puntos, siendo el más afectado el punto 3, con los más altos niveles de clorofila *a* y cianobacterias ($p = 0,05$), seguido por el punto 5. Visualmente se detectó una masa laxa color verdoso de grandes dimensiones en el punto 3 y bajos valores de oxígeno disuelto. Los puntos 3 y 5 están comparativamente más afectados que el resto, en relación con los parámetros analizados. Los valores más bajos de clorofila *a* se registran en el punto 4 ($3,97 \pm 1,22 \mu\text{gL}^{-1}$) ($p = 0,05$).

Evaluación de las condiciones tróficas del acuatorio

En la tabla 5 se presentan los valores de TSI y la clasificación del estado trófico del ecosistema, considerando diferentes criterios (OCDE, 1982; Vollenweider y Kerekes, 1982; Contreras-Espinosa *et al.*, 1994). El punto con menores valores de TSI fue el punto 4, siendo los valores altos en todos los puntos muestreados ($p = 0,05$), lo que permite su clasificación como ecosistema eutrófico.

Tabla 5. Clasificación del estado trófico de la Laguna de Baconao.

Puntos de muestreo / Sampling points	TSI	Clasificación según Contreras / Classification according to Contreras (1994)	OCDE (1982)
1	56.87 ± 3.66^b	beta-mesotrófico / beta mesotrophic	eutrófico / eutrophic
2	59.49 ± 1.42^b	beta-mesotrófico / beta mesotrophic	eutrófico / eutrophic
3	60.17 ± 1.53^b	beta-mesotrófico / beta mesotrophic	eutrófico / eutrophic
4	44.13 ± 4.02^c	alfa-mesotrófico / alfa mesotrophic	mesotrófico / mesotrophic
5	59.43 ± 1.56^b	beta-mesotrófico / beta mesotrophic	eutrófico / eutrophic
Valor medio / Mean value	56.02		
DE / SD	6.77		
Clasificación general / General classification		beta-mesotrófico / beta mesotrophic	eutrófico / eutrophic

According to the results obtained at points 2, 3, and 5, the chlorophyll concentration does not vary significantly. However, the cellular cyanobacteria concentration differs significantly at each point, with 3 being the most affected, it has the highest levels of chlorophyll *a* and cyanobacteria ($p = 0.05$), followed by point 5. A lax mass was detected at point 3 with a greenish coloration and large dimensions, as well as low dissolved oxygen values. Points 3 and 5 have been the most affected in comparison with regard to the analyzed parameters. The lowest chlorophyll *a* were recorded at point 4 ($3.97 \pm 1.22 \mu\text{gL}^{-1}$) ($p = 0.05$).

Evaluation of the trophic conditions of the aquatic habitat

In table 5, the TSI values and the classification of the trophic state of the ecosystem are presented considering different criteria (OCDE, 1982; Vollenweider y Kerekes, 1982; Contreras-Espinosa *et al.*, 1994). The point with the lowest TSI values was point 4. All values were high at all sampled points ($p = 0.05$), which allows to classify the ecosystem as eutrophic.

Table 5. Classification of the trophic state of the Baconao Lagoon.

DISCUSIÓN

Diagnóstico general

El creciente deterioro de los ecosistemas costeros involucra la calidad de sus aguas, la biodiversidad, el paisaje, tanto sumergido como emergido, y en general compromete sus servicios, generando conflictos de uso, además del impacto directo sobre los valores estéticos, los recursos pesqueros, la infraestructura y el patrimonio construido (Gómez, 2013).

La laguna de Baconao es un ecosistema de interés para el turismo local que debe ser observado sistemáticamente para evitar impactos negativos no deseados sobre la salud humana. Las FAN impactan la vida marina de este ecosistema, siendo uno de los indicadores de alerta la muerte de peces. Debido a los usos del ecosistema (turismo, recreación) estos eventos ponen en riesgo tanto la salud humana, como al propio ecosistema, relacionado ello con las condiciones anóxicas, fetidez y presencia de espumas.

Las evidencias permiten afirmar que el ecosistema es una laguna costera eutrófica en riesgo por contaminación con ficotoxinas, asociada a la presencia de especies formadoras de FAN, fundamentalmente cianobacterias y dinoflagelados, destacando la presencia de cuatro especies relevantes, potencialmente tóxicas, formadoras de FAN, lo que indudablemente tiene relación con la situación de riesgo identificada:

- *Cylindrospermopsis raciiborsky*, especie invasora, cosmopolita, halotolerante, con preferencia por ambientes anóxicos y ricos en fósforo; productora de cilindrospermopsina, asociada a muerte de peces por parálisis, por presentar Veneno Paralítico de Peces (VPP), además de neo-saxitoxina, y saxitoxina (Antunes, 2015; EOL, 2017).
- *Microcystis wesenbergii*, especie cosmopolita potencialmente tóxica, productora de microcistinas (Boyer *et al.*, 2004; Beresovsky *et al.*, 2006; Belykh *et al.*, 2011, 2013; Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2011) que crece en ecosistemas eutróficos, y se asocia a floraciones algales (Cronberg y Annadotter, 2006).
- *Karlodinium micrum*, dinoflagelado móvil de pequeño tamaño; especie fitoplanctónica común en ecosistemas costeros. Usualmente presente en bajas concentraciones (10^2 - 10^3 célmL⁻¹), pero capaz de formar floraciones algales (10^4 - 10^5 célmL⁻¹). Su presencia está asociada a muerte de peces por la producción de ictiotoxinas y

DISCUSSION

General diagnosis

The increasing deterioration of coastal ecosystems involves the quality of their waters, biodiversity, and landscape (both submerged and emerged). In general, this compromises the services, which generates use conflicts, in addition to the direct impact on aesthetic values, fishing resources, infrastructure, and built heritage (Gómez, 2013).

The Baconao Lagoon is an ecosystem of interest for local tourism that must be systematically observed to prevent negative undesired impacts on human health. HAB affect the sea life of this ecosystem; one of the alert indicators is fish kills. Due to the uses of the ecosystem (tourism, recreation), these events constitute a risk both human health and the ecosystem itself, which is related to anoxic conditions, stench, and the presence of foams.

The evidence allows stating that the ecosystem is a coastal eutrophic lagoon at risk by contamination with phycotoxins, which is associated with the presence of species that cause HAB, fundamentally cyanobacteria and dinoflagellates, highlighting the presence of four relevant, potentially toxic, HAB-causing species, which is undoubtedly related to the identified risk situation:

- *Cylindrospermopsis raciiborsky*, an invasive, cosmopolitan, halotolerant species with a preference for anoxic and phosphorus-rich environments; it is also a cylindrospermopsin producer, which is associated with fish kills by paralysis, given that it contains Paralyzing Shellfish Poison (PSP), as well as neo-saxitoxins and saxitoxins (Antunes, 2015; EOL, 2017).
- *Microcystis wesenbergii*, a potentially toxic, microcystin-producer cosmopolitan species (Boyer *et al.*, 2004; Beresovsky *et al.*, 2006; Belykh *et al.*, 2011, 2013, Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2011) that grows in eutrophic ecosystems and is associated with algal blooms (Cronberg y Annadotter, 2006).
- *Karlodinium micrum*, a mobile small-sized dinoflagellate, a common phytoplankton species in coastal ecosystems. It is usually present in low concentrations (10^2 - 10^3 cellmL⁻¹), but it is able to form algal blooms (10^4 - 10^5 cellmL⁻¹). Its presence is associated with fish kills due to the production of ichthyotoxins and cytotoxins, generally called karlotoxins (Adolf *et al.*, 2007).
- *Oscillatoria limosa*, a toxigenic, benthic species that

citotoxinas, generalmente denominadas karlotoxinas (Adolf *et al.*, 2007).

- *Oscillatoria limosa* especie toxigénica bentónica productora de microcistinas (Cronberg y Annadotter, 2006).

Especialmente toda la laguna tiene un alto potencial de riesgo para la ocurrencia de FAN; específicamente la margen donde se establecen los puntos de muestreo, ya que de acuerdo con dinámica del ecosistema es la más vulnerable por ser zonas de remanso, con un lento recambio de las aguas. Sin embargo, es importante destacar el comportamiento heterogéneo de las especies en los diferentes puntos, formando floraciones diversas. Por otra parte, las evidencias indican que los dinoflagelados forman floraciones de forma recurrente en la laguna, contribuyendo a la productividad primaria, por lo que constituyen un componente importante del plancton.

Atendiendo a los registros meteorológicos este ecosistema recibió una perturbación por aportes pluviales desde la segunda decena de abril, con lapsos de calma, lo que pudo haber favorecido el evento de riesgo; acompañado de altas temperaturas y elevadas tasas de evapotranspiración, que caracterizan a la región.

En 2017, las precipitaciones estuvieron por encima de la norma en todo el país, constituyendo el quinto año más lluvioso de los últimos 57 años. Este comportamiento estuvo asociado a los acumulados de lluvia registrados en la región central y oriental del país, en las que constituyó el sexto y quinto año más lluvioso desde 1961 hasta la fecha, respectivamente (INSMET, 2017a). En la segunda decena del mes abril, destaca la ocurrencia de abundantes lluvias en todo el país. Por otra parte, abril y mayo registraron valores de temperatura por encima de la media histórica, con valores mínimos alterados desde la segunda quincena de abril hasta mayo; reportándose además valores de temperatura en la última decena del mes de mayo, por encima de los 31 °C (INSMET, 2017b; Fonseca-Rivero, 2018).

Las altas temperaturas reportadas durante el 2017, con condiciones particularmente cálidas durante el período lluvioso, corresponden a la tendencia al calentamiento observada en Cuba en los últimos años y a la tendencia global de calentamiento a largo plazo (Fonseca-Rivero, 2018) lo que, sin duda, favorece los eventos de riesgo por presencia de proliferaciones de especies fitoplanctónicas (Paerl *et al.*, 2011).

Aunque el ecosistema es una típica laguna costera, dominada por condiciones costero-marinas, todo parece

produce microcystin (Cronberg and Annadotter, 2006).

In spatial terms, the whole lagoon has a high-risk potential for the occurrence of HAB, specifically along the margin where sampling points were established, given that, according to ecosystem dynamics, it is the most vulnerable, as they are backwater areas with a slow water exchange. However, it is important to highlight the heterogeneous behavior of species at the different sampling points, thus forming diverse blooms. On the other hand, evidence indicates that dinoflagellates form recurrent blooms in the lagoon, which contributes to primary productivity, which is why they constitute an important component of the plankton.

Considering the meteorological reports, this ecosystem was disturbed by the influence of rainwater after the first 20 days of April with some calm periods, which may have favored the risk event, in addition to the high temperatures and the high evapotranspiration rates that characterize the region.

In 2017, rainfalls were above normal throughout the country, thus constituting the fifth rainiest year in the last 57 years. This behavior was associated with the accumulated rain reported in the central and eastern regions of Cuba, which constituted the sixth and fifth rainiest years since 1961 (INSMET, 2017a). In the second ten-day period of April, the abundant rainfall stood out throughout the country. On the other hand, April and May reported temperature values above the historic mean, with alternative minimum values from the second half of April up until; while temperature values above 31 °C were also reported for the last decade of night (INSMET, 2017b; Fonseca-Rivero, 2018).

The high temperatures reported during 2017, with particularly warm condition during the periods of rain, correspond to the tendency towards warming observed in Cuba in recent years and the global long-term warming tendency (Fonseca-Rivero, 2018), which undoubtedly favors risk events due to the proliferation of phytoplankton species (Paerl *et al.*, 2011).

Although the ecosystem is a typical coastal lagoon dominated by coastal-marine conditions it appears that, due to the close marine relations and the channel conditions, there is significant pluvial and fluvial influence on the lagoon's process dynamics, whereupon a 3-2 % variation in salinity was determined, which confers oligohaline characteristics on the ecosystem.

indicar que, debido a la estrecha conexión marina y las condiciones del canal, hay una influencia pluvial y fluvial importante, sobre la dinámica de los procesos de laguna, constatándose una variación de la salinidad de 3 a 2 ‰, que le confiere al ecosistema características oligohalinas.

Esta investigación permite confirmar una situación de contingencia ante la presencia de una floración algal multiespecífica prácticamente en todo el ecosistema, con varios microorganismos potencialmente tóxicos implicados, siendo las principales evidencias: la muerte de peces, alta concentración de cianobacterias, presencia de masas laxas verdosas en la superficie del acuatorio, presencia de varios microorganismos tóxicos asociados a la producción de ictiotoxinas, veneno ciguatérico y paralizantes de peces; fetidez, bajos valores de oxígeno disuelto y alta concentración de clorofila *a*.

En algún momento debió haber una transición de la marea roja o parda a una marea verde, con especies tóxicas y no tóxicas de cianobacterias, esta última con más potencial letal al combinar la acción tóxica con las condiciones anóxicas del ecosistema, lo que justificaría la presencia de mucus en las branquias de peces, constatado en todas las muestras analizadas.

Contrastando los análisis realizados, la FAN pudo ocasionar la muerte de peces, previo registro, lo que pudo estar relacionado con cambios bruscos en las condiciones climatológicas, con aportes pluviales y fluviales al ecosistema, que propiciaron la proliferación de especies fitoplanctónicas. La muerte de peces pudo producirse por efecto de las toxinas y/o por asfixia ya que, si bien se corroboró la presencia de especies ictiotóxicas, en las branquias de los peces analizados se detectó, además, abundante secreción de mucus. La ingestión de peces muertos por los delfines pudo ocasionar su cambio de conducta.

Hay que destacar la presencia a partir del 16 de marzo de 2017 de una nube de polvo del desierto del Sahara sobre el área del Caribe, con persistencia hasta finales del mes de abril, según se pudo constatar después del análisis de las imágenes satelitales y el análisis de los boletines informativos del Instituto Nacional de Meteorología (INSMET, 2017a). Este polvo finamente particulado, viene cargado de hierro y tiene una coloración rojiza compatible con los restos de materia roja micro y nano particulada observados. Por lo que no se descarta una sinergia debido a la fertilización de las aguas por la presencia del polvo del Sahara (Walsh y Steidinger, 2001; Dorta *et al.*, 2002; Sellner *et al.*, 2003; Langlois *et al.* 2012), con los factores climáticos

This research allows confirming a contingency situation in light of the presence of a multi-specific algal bloom almost all over the ecosystem, with several potentially toxic microorganisms involved. The main evidence for this is as follows: fish kills, a high cyanobacteria concentration, the presence of lax greenish masses on the surface of the lagoon, the presence of several toxic microorganisms associated with the production of ichthyotoxins, ciguateric and shellfish paralytic poison, stench, low dissolved oxygen values, and a high chlorophyll *a* concentration.

At some point, there must have been a transition from a red or brown tide to a green one with toxic and non-toxic cyanobacteria species, the latter being more potentially lethal when combining its toxic action with the anoxic conditions of the ecosystem, which may justify the presence of mucus in fish gills, which was verified in all analyzed samples.

By comparing the performed analyses, the HAB may have caused the fish kills, according to the report, which may be related to abrupt changes in weather conditions, with pluvial and fluvial contributions which favored the proliferation of phytoplankton species. The fish kills may have been caused by the effect of toxins and/or by asphyxiation, given that, even though the presence of ichthyotoxin species was corroborated, abundant mucus secretion was also detected in the gills of the analyzed fish. The ingestion of dead fish by the dolphins may have caused the change in their behavior.

It is worth highlighting the presence of a dust cloud from the Sahara Desert over the Caribbean region from March 16, 2017, which persisted until the end of April, as it was verified after the analysis of satellite images and information bulletins of National Meteorological Institute (INSMET, 2017a). This fine-particulate dust is loaded with iron and has a reddish coloration, which is compatible with the traces of red micro and nano particulate matter observed, which is why a synergy due to the water fertilization by the presence of Saharan dust is not discarded (Walsh and Steidinger, 2001; Dorta *et al.*, 2002; Sellner *et al.*, 2003; Langlois *et al.* 2012), along with the conditioning weather factors that jointly allowed the accelerated growth of the phytoplankton species present in the ecosystem, which is eutrophic *per se*. All this, together with the temperature values recorded in the ecosystem, which was above 25 °C, thus favoring the proliferation of phytoplankton species and cyanobacteria (Kosten *et al.*,

condicionantes, que de conjunto permitieron el crecimiento acelerado de especies fitoplanctónicas presentes en el ecosistema, eutrófico *per se*. Todo ello unido a los valores de temperatura del agua registrados en el ecosistema, los que están por encima de 25 °C, favoreciendo la proliferación de especies fitoplanctónicas y cianobacterias (Kosten *et al.*, 2012; Rosso y Giannuzzi, 2015; Yan *et al.*, 2017; Nalley *et al.*, 2018).

Los valores más bajos de clorofila *a* registrados en los puntos 1 y 4 podrían estar relacionados en el punto 1 con la cercanía a dos arroyos (Figura 1) y en el punto 4, posiblemente la cercanía a la entrada de agua proveniente del mar. Es importante señalar que los valores de la concentración de la clorofila *a* en la columna de agua van desde cantidades pequeñas (excepcionalmente 0,01 mgm⁻³) hasta cercanas a los 100 mgm⁻³. Si bien en algunos ecosistemas se han obtenido las máximas concentraciones puntuales que rebasan dichos límites (ej. 126 mgm⁻³) (Contreras-Espinosa *et al.*, 1994).

Los mecanismos que pudieron estar relacionados con la remisión de la FAN pudieron ser los cambios de las condiciones climáticas, la propia dinámica del ecosistema, las pérdidas directas por herbivorismo, constatado a través de la presencia del abundante y diverso zooplancton.

Sobre la implementación del protocolo de gestión de riesgo

El protocolo de gestión de riesgo propuesto para la contaminación por ficotoxinas estuvo enfocado en la mitigación y prevención de impactos negativos; este tuvo como objetivo prioritario proteger la salud humana, considerando la existencia de actividades de turismo y la pesca furtiva de peces, mariscos y portúnidos, en dicho ecosistema; además de fortalecer la red de actores, con alternativas sostenibles a partir de la creación de un grupo de trabajo que incluyó directivos, técnicos a cargo del seguimiento al evento de riesgo, y personal científico o expertos en el tema (equipo interdisciplinario), siendo relevante la presencia de entidades como el gobierno, representado por el CITMA, los responsables del área (Flora y Fauna), la comunidad y las autoridades sanitarias.

La alianza estratégica intersectorial entre el CITMA, Flora y Fauna, y la Universidad (LESA) constituyó un factor clave para el éxito de la implementación del protocolo, lo que permitió la actuación conjunta y rápida de todos los actores, liderados por el CITMA; la aprobación del protocolo por las autoridades locales y la elaboración de

2012; Rosso and Giannuzzi, 2015; Yan *et al.*, 2017; Nalley *et al.*, 2018).

The lowest chlorophyll *a* recorded at points 1 and 4 may be related, at point 1, with two nearby streams (Figure 1) and, at point 4, with the proximity to the inflow of water from the sea. It is important to point out that the chlorophyll *a* concentration values in the water column range from small amounts (exceptionally 0.01 mgm⁻³) to amounts nearing 100 mgm⁻³, even though the specific maximum concentrations that exceed said limits have been obtained in some ecosystems (e.g. 126 mgm⁻³) (Contreras-Espinosa *et al.*, 1994).

The mechanisms that may have been related with the occurrence of the HAB could have been the changes in weather conditions, the ecosystem's own dynamics, and the direct losses by herbivorism, confirmed through the presence of the abundant and diverse zooplankton.

On the implementation of the risk management protocol

The proposed risk management protocol for phycotoxins contamination was focused on mitigating and preventing negative impacts. Its primary objective was to protect human health, considering the existence of tourism activities and fish, shellfish, and Portunidae illegal fishery in the ecosystem, as well as strengthening the actor network, with sustainable alternatives based upon the creation of a workgroup that included executives, technicians in charge of monitoring the risk event, and scientific personnel or experts in HAB (interdisciplinary team), where the presence of entities such as the government was relevant. It was represented by CITMA, those responsible to the area (Flora y Fauna), the community, and sanitary authorities.

The inter-sectorial strategic alliance between CITMA, Flora y Fauna, and the University (LESA) constituted a key factor for the successful implementation of the protocol, which allowed for the joint and rapid action by all parts with the leadership of CITMA. The approval of the protocol by local authorities and the elaboration of a timely communication system also constitute success factors. On the other hand, it was relevant to involve the primary and secondary health care personnel to be able to manage the risk situation and its potential impact on neighboring communities. In general, the actions taken contributed to the knowledge of the ecosystem in terms of its sustainable management, as well as to improving, among the key actors, the perception of the risk by the presence of phycotoxins.

un sistema de comunicación oportuno también constituyen factores de éxito. Por otra parte, resultó relevante involucrar al personal médico de atención primaria y secundaria para poder manejar la situación de riesgo y su impacto potencial en las comunidades aledañas. En general, las acciones desarrolladas contribuyeron al conocimiento del ecosistema en función de su manejo sostenible y a mejorar la percepción del riesgo por presencia de ficotoxinas entre los actores clave.

La primera etapa del protocolo se caracterizó por la detección visual del riesgo a través de indicadores primarios (nivel 1), e indicadores de alarma, como los reportes de toxicidad (nivel 2). Fue esencial a partir de este paso la coordinación con la red de actores, garantizando el flujo de la comunicación de los resultados de la caracterización del riesgo.

Considerando que estos eventos pueden ser recurrentes en el ecosistema es necesario implementar herramientas de control soportadas por las normativas correspondientes, cuestión que en la actualidad no está bien establecido a nivel país, en relación con el riesgo por FAN, lo que puede tener grandes impactos negativos de índole ambiental, económico y social (Anderson, 2009, Anderson *et al.*, 2012).

En el caso que se documenta, no se registran afecciones en humanos, lo que constituye un aspecto a favor del protocolo de gestión implementado; sin embargo, debe garantizarse la preparación y asistencia médica en caso de intoxicación por este tipo de toxinas.

Los parámetros básicos que complementan la vigilancia sistemática deben ser de naturaleza física, química y biológica, tanto cualitativos como cuantitativos. Asimismo deben considerarse las variables meteorológicas, ya que el escenario de riesgo hay que verlo en su totalidad, considerando además que este tipo de evento es multicausal (Anderson *et al.*, 1998, 2002; Ajani *et al.*, 2001; Burkholder *et al.*, 2008; Burns, 2008; Adolf *et al.*, 2009). La dinámica de los episodios nocivos y/o tóxicos varía dependiendo de muchos factores, no sólo las características hidrogeográficas y topográficas de la zona, sino aspectos ecológicos y biológicos del o los organismos involucrados, así como las condiciones socioambientales del entorno.

Entre los factores físicos es relevante tener en cuenta los datos meteorológicos de la zona de estudio; las variables climáticas como vientos, precipitaciones, horas de insolación y nivel de irradiancia promedio; temperatura del agua, turbidez, régimen de mareas e incluso la presencia de

The first stage of protocol was characterized by the visual detection of risk through primary indicators (level 1), as well as alert indicators such as toxicity reports (level 2). Coordination with the actor network was essential in this stage, thus guaranteeing the communication flow of the results of the risk characterization.

Considering that these events may be recurrent in the ecosystem, it is necessary to implement control tools supported by the applicable regulations, a matter that, as of now, is not well established at the national level regarding the risk by HAB, which may have great negative environmental, economic, and social impacts (Anderson, 2009, Anderson *et al.*, 2012).

In the documented case, no diseases are reported in humans, which constitute a favorable aspect of the management protocol implemented. However, medical preparation and assistance must be guaranteed in case of intoxication due to this type of toxins.

The basic parameters that complement the systematic monitoring must be of a physical, chemical, and biological nature, both qualitative and quantitative. Similarly, meteorological variables must be considered since the risk scenario must be observed in its entirety, also taking into account that this kind of event is multicausal (Anderson *et al.*, 1998, 2002; Ajani *et al.*, 2001; Burkholder *et al.*, 2008; Burns, 2008; Adolf *et al.*, 2009). The dynamics of the harmful and/or toxic episodes varies depending on many factors, not only on the hydrographical and topographical features of the area, but also on ecological and biological aspects of the organisms involved, as well as the social-environmental conditions of this setting.

Among the physical factors it is relevant to consider the meteorological data of the study area: climatic variables such as winds, rainfall, sunstroke hours, and the average irradiance level, as well as water temperature, turbidity, tidal regime, and even the presence of Saharan dust (Sellner, 1997; Walsh and Steidinger, 2001, Sellner *et al.*, 2003, Thomazeau *et al.*, 2010; Rijkenberg *et al.*, 2011), since, when atmospheric parameters are conditioned, the rainfall regime, thunderstorms, and the cyclogenesis and evolution of tropical cyclones are modulated (López *et al.*, 2015). Among the chemical indicators, the pigments concentration, especially chlorophyll *a*, as well as salinity and nutrient concentrations, namely nitrates, phosphates, ammonia, iron, and silicates. Biological analyses must be focused on phytoplankton and phyto-benthos, considering qualitative and quantitative aspects.

polvo del Sahara (Sellner, 1997; Walsh y Steidinger, 2001; Sellner *et al.*, 2003; Thomazeau *et al.*, 2010; Rijkenberg *et al.*, 2011), ya que al condicionar los parámetros de la atmósfera, modula el régimen de lluvia, las tormentas eléctricas, la ciclogénesis y la evolución de los ciclones tropicales (López *et al.*, 2015). Entre los indicadores químicos resultan relevantes la concentración de pigmentos, especialmente la clorofila *a*; así como los valores de salinidad y nutrientes, específicamente nitratos, fosfatos, amonio, hierro y silicatos. Los análisis biológicos deben estar enfocados al fitoplancton y al fitobentos, considerando aspectos cualitativos y cuantitativos.

La documentación es un proceso clave durante la implementación del protocolo de gestión de riesgo; en este caso permitió describir detalladamente el episodio, complementado con el uso de instrumentos específicos como encuestas, entrevistas, grupos focales, entre otros, para poder entender la dinámica y estimar la duración del fenómeno a partir de su establecimiento inicial, y la percepción del fenómeno por los usuarios del ecosistema.

Al confirmarse la presencia de organismos potencialmente tóxicos, se deben establecer de inmediato medidas de restricción de usos del ecosistema. Es necesario interrumpir cualquier uso que pueda generar daños colaterales en personas o animales, y que comprometa el equilibrio y servicios del ecosistema; esto constituyó un elemento esencial para prevenir intoxicaciones en humanos.

A continuación, se exponen algunas recomendaciones importantes para entidades costero-dependientes ante el nuevo escenario ambiental y el riesgo que representa la contaminación por ficotoxinas, específicamente para ecosistemas costeros vinculados a la actividad turística, la pesca y/o actividades de ocio o recreativas:

- Es un imperativo la búsqueda de indicadores tempranos que alerten sobre la contaminación del ecosistema con especies potencialmente tóxicas.
- Deben establecerse programas de monitoreo y control para cada acuatorio con este tipo de evento o situación de riesgo.
- La descripción hidromorfológica del acuatorio y un diagnóstico general de sus usos y conflictos deben complementar los análisis de riesgo.
- Algunas especies producen potentes toxinas que pueden ser acumuladas por los organismos marinos filtradores, especialmente por los moluscos bivalvos.

Documentation is a key process during the implementation of the risk management protocol. In this case, it allowed for a detailed description of the episode, complemented by the use of specific instruments such as surveys, interviews, focus groups, among others, to be able to understand dynamics and estimate the duration of the phenomenon from its initial establishment, as well as its perception by the users of the ecosystem.

When the presence of potentially toxic organisms is confirmed, restrictive measures on the uses of the ecosystem must be immediately established. It is necessary to interrupt any use that may generate collateral damage to people or animals or compromises the balance and services provided by the ecosystem. This constituted an essential element to prevent human intoxication.

Hereafter, some important recommendations for coastal-dependent entities are presented in light of the new environmental scenario and the risk due to the phycotoxin contamination, specifically for coastal ecosystems related to touristic activities, fishing, and/or recreational or leisure activities:

- The search for early indicators that warn about contamination of the ecosystem with potentially toxic species is imperative.
- Monitoring and control programs must be established for each aquatic habitat regarding this kind of event or any risk situation.
- A hydromorphological description of the aquatic ecosystem and a general diagnosis of its uses and conflicts must complement the risk analyses.
- Some species produce potent toxins that may be accumulated by filtering marine organisms, especially by bivalve mollusks. Gastropods, crabs, and certain fish are capable of trophically accumulating toxins. Their ingestion has originated and is the cause of very serious human intoxications which may lead to death in some cases (Carreto *et al.*, 2007). Therefore, the systematic risk analyses and timely control measures must be guaranteed to prevent negative impacts.
- Decision-makers must be directly advised by experts; only experts can confirm the total remission of algal bloom and the end of the emergency phase.
- When establishing regulations, the importance of indicators for risk detection from early stages through visual supervision must be considered.

Los gasterópodos, cangrejos y ciertos peces tienen capacidad de acumular toxinas por la vía trófica. Su ingestión ha originado y es la causa de intoxicaciones humanas de suma gravedad que pueden llevar en algunos casos a la muerte (Carreto *et al.*, 2007), por lo que debe garantizarse la sistematicidad en los análisis de riesgo y medidas de control oportunas para evitar impactos negativos.

- Los tomadores de decisión deben estar asesorados directamente por expertos; sólo estos pueden confirmar la remisión total de una floración algal y el final de la fase de emergencia.
- Al establecer regulaciones se debe tener en cuenta la importancia de los indicadores para la detección del riesgo desde etapas tempranas, durante la supervisión visual.
- La capacitación y la comunicación deben formar parte de estrategias específicas que deben ser desarrolladas, con enfoque de sostenibilidad en función del manejo del ecosistema.

Debe considerarse de forma complementaria un cuadro para la toma de decisiones en caso de contaminación con ficotoxinas, el que debe considerar que las especies tóxicas pueden pertenecer a seis grupos diferentes, los que difieren en sus características morfológicas, fisiológicas y ecológicas (Okaichi, 2003). Atendiendo a que los microorganismos más abundantes en el ecosistema en cuanto a diversidad y densidad total fueron las cianobacterias se presenta un cuadro de decisión para el nivel de alerta, en caso de floraciones de cianobacterias, que complementa el protocolo de gestión del riesgo (Tabla 6).

En todos los casos se sugiere, si se cuenta con los recursos necesarios, realizar análisis de toxicidad en vectores (mariscos, peces, bivalvos), el perfil de toxinas de la biomasa fitoplanctónica y del agua; realizar ensayos de toxicidad, como el de inhibición de la fosfatasa alcalina, e incluso se pueden aislar especies y establecer cultivos monoalgales para su estudio, aspectos que también han sido sugeridos previamente (Sar *et al.*, 2002). El cuadro incluye la etapa de vigilancia y debe ser implementado por tomadores de decisión a diferentes niveles. Para cada nivel de acción se establecen tres condiciones (A, B y C), siendo la condición C la transición al próximo nivel.

- Training and communication must be a part of specific strategies that need to be developed with a focus on sustainability as a function of ecosystem management.

To complement the above, a decision-making chart for cases of phycotoxins contamination must be considered, which must state that the toxic species may belong to six different groups that differ in their morphological, physiological, and ecological characteristics (Okaichi, 2003). Taking into account that the most abundant microorganisms in the ecosystem in terms of diversity and total density were cyanobacteria; a decision-making matrix is presented for the alert level in case of cyanobacteria blooms, which complements the risk management protocol (Table 6).

In all cases, it is suggested, if the necessary resources are available, that a vector analysis be performed (shellfish, fish, bivalves), as well as the toxin profile of the water's phytoplankton biomass, toxicity tests (such as the alkaline phosphatase test), and even the isolation of species and the establishment of monoalgal cultures for study. These aspects have also been previously suggested (Sar *et al.*, 2002). The chart includes the monitoring stage and must be implemented by decision-makers at different levels. For each action level, three conditions are established: A, B, and C, with the latter being a transition to the next level.

Tabla 6. Cuadro de decisión para el nivel de alerta en caso de floraciones de cianobacterias planctónicas modificado para lagunas costeras (Gómez *et al.*, 2012).

Table 6. Decision chart for the alert level in case of planktonic cyanobacterial blooms modified to coastal lagoons (Gómez *et al.*, 2012).

Niveles de acción / Action levels	Acciones concretas / Concrete actions
<p>Vigilancia / Monitoring</p> <p>Condición A: La concentración total de células fitoplanctónicas no excede las 1 500 célmL⁻¹. No se detectan cianobacterias tóxicas. / Condition A: The total phytoplankton cell concentration does not exceed 1,500 cellmL⁻¹. Toxic cyanobacteria are not detected.</p> <p>Condición B: La concentración total de cianobacterias no excede los 375 célmL⁻¹ (25 % del recuento total de fitoplancton). No se detectan cianobacterias tóxicas. / Condition B: The total cyanobacteria concentration does not exceed 375 cellmL⁻¹ (25 % of the total phytoplankton count). Toxic cyanobacteria are not detected.</p> <p>Condición C: La concentración total de cianobacterias es alrededor de 500 célmL⁻¹ (≥ 30 %) y no supera el orden de 10³ cél. mL⁻¹. No se detectan cianobacterias tóxicas. / Condition C: The total cyanobacteria concentration is around 500 cellmL⁻¹ (≥ 30 %) and does not exceed the order of 10³ cellmL⁻¹. Toxic cyanobacteria are not detected.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar inspección visual mensual de cuerpos de agua, incluyendo sitios clave del proceso productivo atendiendo a los indicadores de aviso (Figura 2). / Carrying out monthly visual inspections of water bodies, including key locations for the productive process while considering the warning indicators (Figure 2). • Muestrear al menos cuatro meses por año. / Sampling for at least four months during a year. • Notificar a expertos en caso de indicadores visuales alterados. / Notifying experts in case of altered visual indicators.
<p>Alerta / Alert</p> <p>Condición A: El número de células fitoplanctónicas está entre 20 y 100 × 10³ célmL⁻¹. Color de las aguas afectado visiblemente en partes del acuatorio. Cianobacterias presentes en una concentración del orden de 10³ célmL⁻¹, con tendencia a su dominancia (≥ 40 % de cianobacterias). Se detecta una FAN con presencia de una o más especies de cianobacterias. No se detectan cianobacterias tóxicas. / Condition A: The number of phytoplankton cells is between 20 and 100 × 10³ cellmL⁻¹. Visibly affected water coloration in parts of the aquatic ecosystem. Cyanobacteria presence in a concentration of the order of 10³ cellmL⁻¹, with a dominance tendency (≥ 40 % cyanobacteria). HAB is detected with the presence of one or more cyanobacteria species. Toxic cyanobacteria are not detected.</p> <p>Condición B: El color de las aguas visiblemente afectado en parte del acuatorio. Las cianobacterias están en una concentración en el orden de 10³ célmL⁻¹ y su concentración representa más del 50 % del total de células del fitoplancton. Se detecta una FAN con presencia de una o más especies de cianobacterias. No se detectan cianobacterias tóxicas. Condition B: Water coloration visibly affected in parts of the aquatic ecosystem. Cyanobacteria concentration are in the order of 10³ cellmL⁻¹, and their concentration represents within 50 % of the total phytoplankton cells. HAB will be detected with the presence of one or more cyanobacteria species. Toxic cyanobacteria are not detected.</p> <p>Condición C: Color de las aguas afectado visiblemente. Dominancia de cianobacterias. Se detecta al menos una especie de cianobacteria tóxica y su concentración supera las 100 célmL⁻¹. Condition C: Water coloration visibly affected. Cyanobacterial dominance. At least one toxic cyanobacteria species is detected, and its concentration exceeds 100 cellmL⁻¹.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Incrementar la frecuencia de muestreo (al menos semanalmente), incluyendo el 60 % del proceso productivo en caso de empresas costero- dependientes como salineras, piscifactorías u otras que utilicen agua directamente del ecosistema. / Increasing the sampling frequency (at least weekly) including 60 % of the productive process in the case of coastal-dependent businesses such as salt producers, fish farms, and others which make direct use of the ecosystem's water. • Implementar supervisión diaria del ecosistema o proceso. / Implementing daily supervision of the ecosystem or processes. • Activar Comisión de Gestión de Riesgo. / Activating the Risk Management Commission. • Convocar a la red de actores. / Summoning the actor network. • Notificar a autoridades sanitarias y a los responsables de la gestión del ecosistema. / Notifying the sanitary authorities and those responsible for ecosystem management. • Reportar al gobierno local. / Reporting to the local government. • Inspeccionar y muestrear en al menos tres sitios para determinar la extensión del problema. / Inspecting and sampling activities in at least three sites to determine the reach of the problem. • Poner señalética advirtiendo sobre la situación de riesgo. / Putting up signs warning about the risk situation. • Coordinar con los órganos de control local de la ciudadanía. / Coordinating with citizen local control agencies. • Notificar a expertos para identificar toxinas asociadas a la especie de cianobacteria y tomar las medidas pertinentes en coordinación con las autoridades sanitarias. / Notifying experts to identify toxins associated with cyanobacteria species and take appropriate measures in coordination with sanitary authorities. • Implementar un sistema de alerta epidemiológica temprana para rastreo de síntomas relacionados con la toxina. / Implementing an early epidemiological alert system to track symptoms related to the toxin. • Documentar la situación de riesgo, especificando fechas, y condiciones ambientales, así como todas las evidencias posibles. / Documenting the risk situation specifying dates, environmental conditions, and as much evidence as possible.

Niveles de acción / Action levels	Acciones concretas / Concrete actions
<p>Alerta máxima - Contingencia / Maximum alert - Contingency</p> <p>Condición A: Discoloración del agua en gran parte del acuatorio. Concentración fitoplanctónica en el orden de 10^4 o 10^5 célmL⁻¹. Existe al menos una especie de cianobacteria potencialmente tóxica y su concentración excede el orden de 10^3 célmL⁻¹. Se confirma la presencia de una FAN. Existe al menos un reporte de efecto tóxico documentado en humanos o animales (muerte de peces, o manifestaciones clínicas en humanos por exposición al agua). / Condition A: Water discoloration in most of the aquatic habitat. Phytoplankton concentration in the order of 10^4 or 10^5 cellmL⁻¹. There is at least one potentially toxic cyanobacteria species, and its concentration exceeds the order of 10^3 cellmL⁻¹. The presence of HAB is confirmed. There is at least one report of toxic effects documented in humans or animals (fish kills, clinical manifestations in humans due to water exposure).</p> <p>Condición B: Espumas consistentes, masas verde-azules flotando en el ecosistema; tapetes verdes en el sedimento o en las márgenes del acuatorio. La concentración de al menos una especie de cianobacterias es mayoritaria y está en el orden de 10^4 célmL⁻¹. El ecosistema está afectado por una FAN en una extensión considerable ($\geq 60\%$). Existen algunos reportes de efecto tóxico documentado en humanos o animales (muerte de peces, o manifestaciones clínicas en humanos por exposición al agua). Condition B: Consistent foams, green-blue masses floating in the ecosystem, green mats on the sediment or the margins of the ecosystem. The concentration of at least one cyanobacteria species is predominant and of the order of 10^4 cellmL⁻¹. The ecosystem is affected by HAB to a considerable extent ($\geq 60\%$). There are some reports of toxic effects documented in humans or animals (fish kills or clinical manifestations in humans is due to water exposure).</p> <p>Condición C: Discoloración persistente de las aguas. La concentración de al menos una especie de cianobacteria es mayoritaria y excede el orden de 10^4 célmL⁻¹. Muerte de animales o humanos. Daños extensos, afectaciones permanentes al ecosistema, muerte de varias especies acuáticas. Existencia de otros microorganismos tóxicos (ej. dinoflagelados, diatomeas) en altas concentraciones ($\geq 10^3$ célmL⁻¹). Presencia de espumas, masas laxas flotantes. Fetidez. Condition C: Persistent water discoloration. The concentration of at least one cyanobacteria species is predominant and exceeds the order of 10^4 cellmL⁻¹. Death of animals or humans. Extensive damage, permanent damage to the ecosystem, death of several aquatic species. The existence of other toxic microorganisms (e.g. dinoflagellates, diatoms) in high concentrations ($\geq 10^3$ cellmL⁻¹). Presence of foams, floating lax masses. Stench.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Restringir usos del ecosistema por al menos 30 días (pesca, baño, ocio). / Restricting the uses of the ecosystem for at least 30 days (fishing, bathing, leisure). • Documentar la situación de riesgo, especificando fechas, y condiciones ambientales, recogiendo todas las evidencias posibles. / Documenting the risk situation specifying dates, environmental conditions, and as much evidence as possible. • Implementar supervisión visual del ecosistema diariamente durante al menos 30 días. / Implementing daily visual supervision of the ecosystem for at least 30 days. • Incrementar frecuencia de muestreo (cada 3 o 5 días). / Increasing the sampling frequency (every three or five days). • Establecer al menos cinco sitios de muestreo para poder caracterizar el riesgo y evaluar el impacto en el ecosistema. / Establishing at least five sampling sites to be able to characterize the risk and evaluate its impact on the ecosystem. • Implementar de inmediato el protocolo de gestión del riesgo, en caso de no haberlo hecho con antelación. / Immediately implementing the risk management protocol, in case it has not been done in advance. • Desarrollar una estrategia de comunicación pública que integre varios medios. / Developing a public communication strategy that integrates several media. • Las autoridades sanitarias y los actores clave deben garantizar acciones conjuntas. / Sanitary authorities and key actors must guarantee joint actions. • Señalizar el ecosistema, advirtiendo sobre el riesgo inminente para la vida. / Putting up signs in the ecosystem that warn about the imminent risk to life. • Controlar las restricciones de uso a través de acciones conjuntas con el gobierno y las autoridades competentes. / Controlling use restrictions rejoined actions with the government and competent authorities. • Crear puestos médicos para evaluar daños a la población. / Setting up medical outposts to evaluate damage to the population. • Garantizar la vigilancia del ecosistema al menos 35 días y hasta 3 meses. / Guaranteeing the monitoring of the ecosystem for at least 35 days and up to three months. • Analizar y aplicar alternativas para la recuperación del ecosistema. / Analyzing and applying alternatives for the recovery of the ecosystem.

El balance entre análisis de riesgos y la relación costo-beneficio, siempre va a estar presente en entidades que operan en ecosistemas contaminados, específicamente en aquellos donde existe documentación previa de floraciones algales recurrentes o brotes tóxicos. Sin embargo, debe entenderse que operar en condiciones de riesgo, implica un compromiso de los actores clave y tomadores de decisión, ya que ello puede implicar severos daños a la salud humana, además del deterioro progresivo del ecosistema hasta la total invalidez de sus servicios, de lo que ya existen casos documentados a nivel mundial (Murugan *et al.*, 2013).

The balance between the risk analyses and the cost-benefit relationship will always be present in entities operating in contaminated ecosystems, specifically in those where there is previous documentation of recurring algal blooms or toxic outbreaks. However, it must be understood that operating under risk conditions implies compromise from key actors and decision-makers, given that it may imply severe damage to human health, in addition to the progressive deterioration of the ecosystem up to the total unfeasibility of its services, of which there are already documented cases at the global level (Murugan *et al.*, 2013).



CONCLUSIONES

La laguna de Baconao es un ecosistema eutrófico en riesgo latente por la presencia de FAN. La presencia de una FAN mixta de cianobacterias y dinoflagelados tóxicos condicionó la muerte masiva de peces, implementándose de inmediato un procedimiento de toma de decisiones y un protocolo de gestión de riesgo enfocado en la mitigación y prevención de impactos negativos en las especies marinas y las comunidades aledañas.

Se desarrollaron acciones inmediatas entre las que destacan: la creación de una comisión de gestión del riesgo multisectorial e interdisciplinaria, la restricción de usos del ecosistema, la comunicación a todos los actores, la revisión y reelaboración de los planes de contingencia de entidades con intereses en el acuatorio y el desarrollo de un plan de monitoreo intensivo que permitió la participación de expertos y su interacción directa con tomadores de decisión.

La acción coordinada entre actores clave y el liderazgo del CITMA garantizó el éxito de la implementación del protocolo para una situación de contingencia. El protocolo implementado y el cuadro de decisión para el nivel de alerta en caso de floraciones de cianobacterias planctónicas modificado para lagunas costeras puede ser aplicado en cualquier ecosistema con esta situación de riesgo.

En los ecosistemas donde las FAN son eventos recurrentes, la vigilancia debe ser sistemática; lo que se logra a través del fortalecimiento de la red de actores; la alianza entre los actores clave facilita el intercambio y la cooperación permanente, y la acción rápida durante la situación de contingencia, con la participación comunitaria.

CONCLUSIONS

The Baconao Lagoon is a eutrophic ecosystem at latent risk of HAB. The presence of a mixed HAB involving toxic cyanobacteria dinoflagellates conditioned the massive fish kills, in response to which a decision-making procedure and a risk management protocol focused on mitigating and preventing negative impacts on marine species and neighboring communities were immediately implemented.

Immediate actions were developed, among which the following stand out: the creation of the multi-sectorial and interdisciplinary risk management commission, the restriction of ecosystem uses, communication with all actors, the review and re-elaboration of the contingency plans of entities with interests on the aquatic habitat, and the development of an intensive monitoring plan that allowed the participation of experts in their direct interaction with the decision-makers.

Coordinated action between key actors and CITMA's leadership guaranteed the successful implementation of the protocol for a contingency situation. The implemented protocol and the decision matrix for the alert level in case of planktonic cyanobacterial blooms modified for coastal lagoons may be applied on any ecosystem under these risk conditions.

In ecosystems where HAB are recurring events, monitoring must be systematic, which is achieved through the strengthening of the actor network; the alliance between key actors facilitates exchange and permanent cooperation, as well as rapid action during contingency situations, along with community participation.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Aboal, M.S. 2005. Producción de microcistinas en ecosistemas de regiones áridas: factores ambientales y efectos biológicos. I Jorn. Esp. Est. Microcistinas, Univ. Zaragoza, 37 p.
- Adolf, J.E., T.R. Bachvaroff, D.N. Krupatkina, H. Nonogaki, P.J.P. Brown, A.J. Lewitus, H. R. Harvey and A.R. Place. 2006. Species specificity and potential roles of *Karlodinium micrum* toxin. Afr. J. Mar. Sci., 28(2): 415-419. <https://doi.org/10.2989/18142320609504189>
- Adolf, J.E., D. Krupatkina, T. Bachvaroff and A.R. Place. 2007. Karlotoxin mediates grazing by *Oxyrrhis marina* on strains of *Karlodinium veneficum*. Harmful Algae, 6(3): 400-412. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2006.12.003>.
- Adolf, J.E., T. R. Bachvaroff and A. R. Place. 2009. Environmental modulation of Karlotoxin levels in strains of the cosmopolitan dinoflagellate, *Karlodinium veneficum* (Dinophyceae). J. Phycol., 45(1): 176-192. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00641.x>.
- Ajani, P., G. Hallegraeff and T. Pritchard. 2001. Historic overview of algal blooms in marine and estuarine waters of New South Wales, Australia. Proc. Linn. Soc. NSW, 123, 1-22.
- Alawadi, F. 2010. Detection of surface algal blooms using the newly developed algorithm surface algal bloom index (SABI). Rem- Sens. Oc., Sea Ice, Large Water Reg., 7825. <https://doi.org/10.1117/12.862096>.
- Anderson, A.D. Cembella and G.M. Hallegraeff (Eds.). 1998. Physiological ecology of harmful algal bloom. Springer-Verlag, Heidelberg. 600 p.

- Anderson, A.D., Cembella and G.M. Hallegraeff. 2012. Progress in understanding harmful algal blooms: paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. *Ann. Rev. Mar. Sci.*, 4: 143-176.
- Anderson, D.M. 2004. Prevention, control and mitigation of harmful algal blooms: multiple approaches to HAB management. *Harmful Algae Mana. Mitig.*, 123-130.
- Anderson, D.M. 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs). *Oc. Coast. Manag.*, 52(7): 342-347.
- Anderson, D.M., P.M. Gilbert and J.M. Burkholder. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: Nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25: 704-726.
- Anderson D.M., J.M. Burkholder, W.P. Cochlan, P.M. Glibert, C.J. Gobler, C.A. Heif, R.M. Kudelag, M.L. Parsonsh, J.E. Renseli, D.W. Townsend, V.L. Trainerk and G.A. Vargol. 2008. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States *Harmful Algae. HABs Eutroph.*, 8(1): 39-53.
- Andrinolo, D., P. Pereira, L. Giannuzzi, C. Aura, S. Massera, M. Caneo, J. Caixach, M. Barco and R. Echenique. 2007. Occurrence of *Microcystis aeruginosa* and microcystins in Rio de la Plata river (Argentina). *Acta Toxicol. Arg.*, 15(1): 8-14.
- Antunes, J.T., P.N. Leão and V.M. Vasconcelos. 2015. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, V.M. Phytogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Front. Microbiol.*, 6, 473.
- Arce, O. 2007. Eutrofización de cuerpos de agua. Tesis Maestría Ing. Amb., Univ. San Simón. Cochabamba. <http://www.fcyt.umss.edu.bo/docentes/29/documentos/Eutrofizacion.pdf>. 30 p
- Badylak, S., E.J. Philips, P. Baker, J. Fajans and R. Boler. 2007. Distributions of phytoplankton in Tampa Bay estuary, USA 2002-2003. *Bull. Mar. Sci.*, 80(2): 295-317.
- Balech, E. 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental (Vol. I). Min. Agric. Pesca Aliment., Publ. Espec., Inst. Esp. Oceanogr. 310 p.
- Belykh, O.I., E.G. Sorokovikova, G.A. Fedorova, O.V. Kaluzhnaya, E.S. Korneva, M.V. Sakirko and T.A. Sherbakova. 2011. Presence and genetic diversity of microcystin-producing cyanobacteria (*Anabaena* and *Microcystis*) in Lake Kotokel (Russia, Lake Baikal Region). *Hydrobiologia*, 671(1): 241-252. <https://doi.org/10.1007/s10750-011-0724-2>.
- Belykh, O.I., O.A. Dimitrieva, A.S. Gladkikh and E.G. Sorokovikova. 2013. Identification of toxigenic cyanobacteria of the genus *Microcystis* in the Curonian Lagoon (Baltic Sea). *Oceanology*, 53(1), 71-79. <https://doi.org/10.1134/S0001437013010025>.
- Beresovsky, D., O. Hadas, A. Livne, A. Sukenik, A. Kaplan and S. Carmeli. 2006. Toxins and biologically active secondary metabolites of *Microcystis* sp. isolated from Lake Kinneret. *Isr. J. Chem.*, 46(1), 79-87. <https://doi.org/10.1560/Fe24-Vyuf-Ctd-Hb7x>.
- Biagini, M. 1980. Valutazioni dell'inquinamento delle acque correnti per mezzo del fitoplancton. *Biol. Ital.*, 10(9): 20.
- Bittencourt-Oliveira, M., M. Oliveira and E. Pinto. 2011. Diversity of microcystin-producing genotypes in Brazilian strains of *Microcystis* (Cyanobacteria). *Braz. J. Biol.*, 71(1): 209-216.
- Bold, H.C. and M.J. Wynne. 1978. Introduction to the algae. Structure and Reproduction. Prentice Hall, New Jersey. 706 p.
- Boyer, G. L., M.C. Watzin, A.D. Shambaugh, M.F. Satchwell, B.H. Rosen and T. Mihuc. 2004. The occurrence of cyanobacterial toxins in Lake Champlain. *Lake Champlain: Partn. Res. earch New Mill.*, 241-257.
- Brand, J.J. 2006. The Culture Collection of Algae. UTEX, University of Texas at Austin. UTEX www.utex.org
- Burkholder, J. M., B.W. Touchette, E.H. Allen, J.L. Alexander and P.A. Rublee. 2008. Environmental conditions, cyanobacteria and microcystin concentrations in potable water supply reservoirs in North Carolina, USA. *Cyanobact. Harmful Algal Blooms: State Sci. Res. Needs*, 619: 293-294.
- Burns, J. 2008. Chapter 5: Toxic cyanobacteria in Florida waters. *Cyanobact. Harmful Algal Blooms: State Sci. Res. Needs*, 619: 127-137.
- Calandrino, E.S. and H.W. Paerl. 2011. Determining the potential for the proliferation of the harmful cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in Currituck Sound, North Carolina. *Harmful Algae*, 11: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.04.003>.
- Cameán, A.M., I. Moreno, A. Jos, G. Repetto, S. Pichardo y A.I. Prieto. 2005. Cianobacterias y cianotoxinas: necesidad de su control en el agua de consumo humano. *Rev. Salud Amb.*, 5(2): 137-141.
- Carmichael, W.W. 2001. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human Ecol. Risk Asses.*, 7(5): 1393-1407. <https://doi.org/10.1080/20018091095087>.
- Carrasco, D., E. 2007. Cianobacterias planctónicas y cianotoxinas en embalses españoles. Tesis Doctoral Univ. Aut. Madrid, Dep. Biol., Madrid. 320 p. <https://repositorio.uam.es>
- Carreto, J.I., M. Carignan y N. Montoya. 2007. Florecimientos de algas nocivas. Atlas de Sensibilidad Ambiental del Mar y la Costa. 23 p.
- CDCP. 2006. Ciguatera fish poisoning-Texas, 1998, and South Carolina, 2004. *Morbidity Mortality Weekly Rep.*, (1545-861X). <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cmedm&AN=16943762&lang=es&site=ehost-live>
- CITMA. 2011. Informe de proyecto: Manejo y control de especies exóticas invasoras. CITMA. Del. Terr. Guantánamo, Guantánamo. 25 p.
- CNAP (Ed.). 2004. Las áreas protegidas de Cuba. Min. Cienc., Tecnol. Medio Amb. (CITMA). La Habana. 34 p. <http://www.snap.cu/>
- Comas, A.A. 2007. Cianoprocariotas (cianobacterias, cianofíceas) y microalgas como indicadores de la calidad del agua en el embalse, Paso Bonito, Cienfuegos. En: REDCIEN (Ed.), Principales resultados de la ciencia y la innovación tecnológica. Inst. Inf. Cient. Tecnol., Cienfuegos.



- Contreras-Espinosa, F., O. Castañeda y A. García-Nagaya. 1994. La clorofila como base para un índice trófico en lagunas costeras mexicanas. An. Inst. Cienc. Mar Limnol. Univ. Nal. Aut. Méx., 21(1-2): 55-66.
- Cronberg, G. 1999. Qualitative and quantitative investigations of phytoplankton in Lake Ringsjon, Scania, Sweden. Hydrobiologia, 404: 27-40. <https://doi.org/10.1023/A:1003757504155>
- Cronberg, G. and H. Annadotter (Eds.). 2006. Manual on aquatic cyanobacteria. A Photo guide and a synopsis of their toxicology. IOCUNESCO, Copenhagen. 106 p.
- Da Silva, A. 2009. Bioacumulação de cianotoxinas e seus efeitos em organismos aquáticos. Oecol. Brasil., 13(2): 272-312.
- De la Cruz, A. 1984. El muestreo integrado y el conteo inmediato de fitoplancton en ecosistemas limitados. Rev. Invest. Mar., 5(3): 15-24.
- Delgado, G. 2005. Dinoflagelados bentónicos tóxicos asociados a la ciguatera: abundancia, toxicidad y relación con los factores ambientales de un área del litoral noroccidental de Cuba. Tesis Doctorado, CIBNOR, México. Tesis Digitales CIBNOR <http://dspace.cobnor.mx:8080/handle/123456789/96>. 88 pp.
- Delgado, G., C.H. Lechuga-Devéze, G. Popowski, L. Troccoli and C.A. Salinas. 2006. Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. Rev. Biol. Trop., 54(2).
- Dillard, G. (Ed.). 1999. Common freshwater algae of the United States: an illustrated key to the genera (excluding the diatoms): Gebrüder Borntraeger. Cramer, Berlin, Stuttgart. 1st ed. 173 p.
- Dorta, P., M.D. Gelado, P. Cardona, C. Collado, C. Criado, J. Hernandez, S. Mendoza, V. Siruela, M.E. Torres, D. Curbelo, P. López y E. Rodríguez. 2002. Algunas consideraciones sobre la importancia del polvo de origen sahariano en el clima del archipiélago canario y su aporte a las aguas superficiales oceánicas: el episodio de abril de 2002. Publ. Asoc. Esp. Climatol. Serie A, (3), 24 p.
- Echavarría, E.P., A.C. González, Comas, A.M. San Pedro y E.C. Veitia. 2002. Las microalgas como indicadoras de contaminación orgánica en el río San Juan. En: La directiva marco del agua: realidades y futuros: 482-486. EOL. 2017. *Cylindrospermopsis raciborskii*. <http://eol.org/pages/919240/overview>
- Faust, M.A. 2009. Ciguatera causing dinoflagellates in a coral reef mangrove ecosystem, Belize. Atoll Res. Bull., 569.
- Faust, S. and D. Gullede. 2002. Identifying harmful marine dinoflagellates. Contr. US Nat. Herb., 42, 144 p.
- Figueredo L. y F. Acosta. 2008. Objetos de conservación de la flora y la vegetación de los cerros calizos costeros de la Reserva de la Biosfera Baconao, Santiago de Cuba. Foresta Veracruzana, 10(2): 9-16.
- Fonseca-Rivero, A., V. Cutié-Cancino, I.T. González-García, I.T., Hernández-Sosa, M.N. Valderá-Figueroa, D. Hernández González y A. Cabrera-Medina. 2018. Estado del clima en Cuba 2017. Resumen ampliado. Rev. Cub. Meteor., 24(2): 226-237.
- Fritz, L. and R.E. Triemer. 1985. A rapid simple technique utilizing CalcofluorWhiteM2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. J. Phycol. 21: 662-664.
- Golubic, S., R.M.M. Abed, K. Palinska, S. Pauillac, M. Chinain and D. Laurent. 2010. Marine toxic cyanobacteria: Diversity, environmental responses and hazards. Toxicon, 56(5): 836-841. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.07.023>.
- Gómez, L. 2007. Primer reporte de *Prorocentrum micans* Ehrenberg 1833 asociado a un bloom mixto de *Ceratium lineatum* y *C. fusus*, en aguas de la bahía de Santiago de Cuba. Rev. Invest. Mar., 28(2): 177-179.
- Gómez, L. 2013. Propuesta de un protocolo para la gestión del riesgo por contaminación con biotoxinas en industrias costero-dependientes asociadas a bahías. Invest. Saber., 2(1): 63-72.
- Gómez, L., B. Álamo y J.C. Rodríguez-Tito. 2010. Riesgo de contaminación con cianobacterias en tres embalses de agua de Santiago de Cuba. Medisan, 14(2): 175-183.
- Gómez, L., H.I. Álvarez, J.C. Rodríguez-Tito y B. Álamo. 2011. Cianobacterias: un riesgo emergente en embalses de agua de Santiago de Cuba. Univ. Oriente (Ed.) 76 p. http://www.cnea.uo.edu.cu/index.php?option=com_remository&Itemid=130&func=select&id=3
- Gómez, L., I. Álvarez y J.C. Rodríguez-Tito. 2012. Cuba: Toxic cyanobacteria risk assessment, research and management:40-48. In Chorus, I. (Ed.), Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Germany: Fed. Environ. Ag., Germany.
- Gómez, L., O. Asín e Y. Ortega. 2014. Primer reporte de *Oxyrrhis marina* Dujardin 1841 en la bahía de Guantánamo, Cuba. Rev. Invest. Mar., 34(1): 1-8.
- Gómez, L., U. Díaz, A. Fernández, Y. Licea y I. Álvarez, I. 2006. Floraciones algales nocivas en la bahía de Santiago de Cuba. IV Taller Internal. Contam. Protec. Medio Amb., Conyma, La Habana. <https://www.oceandocs.org/handle/1834/2251>
- Gómez, L., Y. Larduet, Y., y N. Abrahantes. 2001. Contaminación y biodiversidad en ecosistemas acuáticos. El fitoplancton de la bahía de Santiago de Cuba. Rev. Invest. Mar., 22(3): 191-197.
- Gómez, L., Y. Licea, U. Díaz y I. Álvarez. 2007. Primer reporte de *Cochlodinium polykrikoides* (Margalef, 1961) en aguas cubanas. Rev. Invest. Mar., 28(1): 87-89.
- Greenberg, T., H. Shear, J.D. Sánchez and M.A. Ortiz-Jiménez. 2008. Preliminary analysis of water pollution in a small lake in Western Mexico. Water Poll., 11: 13-21. <https://doi.org/10.2495/Wp080021>
- Guiry, M.D. and G.M. Guiry. 2014. Algaebase. Retrieved 8 julio 2013. Nat. Univ. Ireland <http://www.algaebase.org/index.lasso>
- INSMET. 2017a. Boletín de la Vigilancia del Clima. Mayo. Vol. 29. Inst. Meteor., La Habana. 19 p.

- INSMET. 2017b. Resumen mensual. Diciembre. <http://www.insmet.cu/asp/genesis.asp?TB0=PLANTILLAS&TB1=MES&TB2=Mes/Diciembre2015>.
- Jos, Á., A. M. Cameán, A. I. Prieto, I. Moreno, L. Atencio, M. Puerto y S. Pichardo. 2008. Efectos tóxicos producidos por las microcistinas en peces. *Rev. Toxicol.*, 25(1-3): 1-72.
- Kosten, S., V.L. Huszar, E. Becares, L.S. Costa, E. van Donk, L.A. Hansson, E. Jeppesen, C. Kruk, G. Lacerot, N. Mazzeo, L. De Meester, B. Moss, M. Lurling, T. Noges, S. and M. Scheffer. 2012. Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biol.*, 18(1): 118-126. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02488.x>.
- Langlois, R.J., M.M. Mills, C. Ridame, P. Croot and J. LaRoche. 2012. Diazotrophic bacteria respond to Saharan dust additions. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 470: 1-14. <https://doi.org/10.3354/Meps10109>.
- López, E.M., T.A. González, E.F.C. Vega y J.L. Santos. 2015. Nubes de polvo del Sahara. Su presencia en Cuba. *Rev. Cub. Meteor.*, 21(1): 120-134.
- Matsuoka, K. and Y. Fukuyo. 2000. Technical guide for modern dinoflagellate cyst study. Westpac-hab, Jap. Soc. Prom. Sci., Tokyo. 72 p.
- Minillo, A., A.H.F. Ferreira, G.T. Yogui y J.S. Yunes. 2000. Concentrações de microcistinas e toxicidade nas formas coloniais de *Microcystis aeruginosa* de florações no estuário da Lagoa dos Patos, RS. En: Espíndola, E.L.G., C.M.R. Botta-Paschoal, O. Rocha, M.B.C. Bohrer y A.L. De Oliveira-Neto (Eds.), *Ecotoxicologia: Perspectivas para o Século XXI*, São Carlos, RiMa, 521 p.
- Moraes, R. 2009. Toxicología de cianotoxinas: microcistinas as estrelas do tema. *Oecol. Austr.*, 13(2).
- Moreno, I., G. Repetto y A. Cameán. 2003. Interés toxicológico de las microcistinas. *Rev. Toxicol.*, 20: 159-165.
- Murugan, N.J., L.M. Karbowski, R.M. Lafrenie and M.A. Persinger. 2013. Temporally-patterned magnetic fields induce complete fragmentation in planaria. *PLoS One*, 8(4), e61714.
- Nalley, J.O., D.R. O'Donnell and E. Litchman. 2018. Temperature effects on growth rates and fatty acid content in freshwater algae and cyanobacteria. *Algal Res.*, 35: 500-507.
- OCDE. 1982. Eutrophisation des eaux. Méthodes de surveillance d'évaluation et de lutte. Paris: ODCE.
- Okaichi, T. (Ed.). 2003. Red tides. Kluwer, Tokyo. 439 p.
- Paerl, H.W., N.S. Hall and E.S. Calandrino. 2011. Controlling harmful cyanobacterial blooms in a world experiencing anthropogenic and climatic-induced change. *Sci. Total Environ.*, 409(10), 1739-1745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.02.001>.
- Rijkenberg, M.J.A., R.J. Langlois, M.M. Mills, M.D. Patey, P.G. Hill, M.C. Nielsdottir, T.J. Compton, J. LaRoche and E.P. Achterberg. 2011. Environmental forcing of nitrogen fixation in the eastern tropical and sub-tropical North Atlantic Ocean. *PLoS One*, 6(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028989>.
- Rodríguez-Tito, J.C., R.M. Pérez-Silva, L.M. Gómez-Luna e I. Álvarez-Hubert. 2017. Evaluación químico-analítica y microbiológica de los embalses Chalons y Parada de Santiago de Cuba. *Rev. Cub. Quím.*, 29(3): 418-435.
- Rosso, L. y L. Giannuzzi. 2015. Factores ambientales y antropogénicos que afectan la formación de floraciones de cianobacterias y cianotoxinas: 79-93. En: *Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud*. Univ. Nal. La Plata, Argentina.
- Sar, E., M. Ferrario y B. Reguera (Eds.). 2002. Floraciones algales nocivas en el Cono Sur americano. *Inst. Esp. Oceanogr.* Madrid. 311 p.
- Sellner, K.G. 1997. Physiology, ecology, and toxic properties of marine cyanobacteria blooms. *Limnol. Oceanogr.*, 42(5): 1089-1104.
- Sellner, K.G., G.J. Doucette and G.J. Kirkpatrick. 2003. Harmful algal blooms: causes, impacts and detection. *J. Ind. Microbiol. Biotech.*, 30(7): 383-406.
- Thomazeau, S., A. Houdan-Fourmont, A. Coute, C. Duval, A. Couloux, F. Rousseau and C. Bernard. 2010. The contribution of Sub-Saharan African strains to the phylogeny of cyanobacteria: Focusing on the Nostocaceae (Nostocales, Cyanobacteria). *J. Phycol.*, 46(3): 564-579. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00836.x>.
- Vasconcelos, V. 2001. Cyanobacteria toxins: diversity and ecological effects. *Limnetica*, 20(1): 45-58.
- Venrick, E.L. 1995. Muestreo y submuestreo del fitoplancton marino y dulceacuícola. *Scripps Inst. Oceanogr.*, Univ. of California, San Diego. 26 p.
- Verity, P.G. 2010. Expansion of potentially harmful algal taxa in a Georgia Estuary (USA). *Harmful Algae*, 9(2), 144-152. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2009.08.009>.
- Vollenweider, R.A. and J. Kerekes. 1982. Eutrophication of waters. *Monit., Asses. Contr.* OECD, Paris, 156 p.
- Walsh, J.J. and K.A. Steidinger. 2001. Saharan dust and Florida red tides: the cyanophyte connection. *J. Geophys. Res.: Oceans*, 106(C6): 11597-11612.
- Water Environmental Federation (WEF) and American Public Health Association (APHA). 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Am. Publ. Health Assoc. (APHA), Washington. 874 p.
- Wher, J., R. Sheath and J.P. Kociolek (Eds.). 2015. Freshwater algae of North America. Academic, San Diego. 1049 p.
- Yan, X., X. Xu, M. Wang, G. Wang, S. Wu, Z. Li, H. Sun, A. Shi and Y. Yang. 2017. Climate warming and cyanobacteria blooms: Looks at their relationships from a new perspective. *Water Res.*, 125: 449-457.
- Yasumoto, T., M. Inoue, T. Ochi, K. Fujimoto, Y. Oshima, Y. Fukuyo, R. Adachi y R. Bagnes. 1980. Environmental studies on a toxic dinoflagellate responsible for ciguatera. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.*, 46(11): 1397-1404.