CARACTERIZACIÓN CITOMORFOMÉTRICA DE ANABAENA CIRCINALIS (CYANOPHYTA) EN UNA PROLIFERACIÓN MASIVA EN EL EMBALSE PASO DE LAS PIEDRAS (PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA)

GIMENA ARGAÑARAZ BONINI¹, ELISA R. PARODI^{1, 2, 3} y EDUARDO J. CÁCERES ^{4, 5}

Summary: Cytomorphometric characterization of *Anabaena circinalis* (Cyanophyta) from a bloom in the lake Embalse Paso de las Piedras (Buenos Aires Province, Argentina). The principal goal of the work was to make a statistical analysis of the morphology of individuals of *Anabaena circinalis* growing in a bloom in Embalse Paso de las Piedras (Provincia de Buenos Aires, Argentina), identified by a gene probe for this species. Our results suggest that 1) it is possible to characterise individuals of *A. circinalis* growing in eutrophic condition, by using statistical parameters of the vegetative cells dimensions, 2) the criterion based on akinete morphology should not be used for characterization given the no maturation of akinetes in eutrophic conditions and the trend to morphological uniformity between the vegetative cells and immature akinetes, and 3) spherical heterocyst and vegetative cells can be discriminated by size but not by shape, whereas both can be differentiated from ovoidal akinetes. The variance analysis of the length of vegetative cells indicates all trichomes belong to the same species.

Key words: Anabaena circinalis, cytomorphometry, eutrophy, toxic algae.

Resumen: El objetivo principal de este trabajo fue realizar un tratamiento estadístico de los caracteres morfológicos de los individuos de Anabaena circinalis presentes en una proliferación masiva del Embalse Paso de las Piedras (Buenos Aires, Argentina) cuya identidad se determinó mediante técnicas moleculares. Se plantearon como objetivos específicos de este trabajo: 1) analizar las dimensiones celulares y parámetros estadísticos de centralización y dispersión; 2) analizar la posición relativa de los heterocistos y las acinetas en el tricoma; 3) analizar la composición porcentual de los distintos tipos de células del tricoma; 4) analizar relación entre valores promedio del ancho y largo celular; y 5) analizar la variación del largo celular en células vegetativas de diferentes tricomas. Los resultados obtenidos sugieren que en condiciones eutróficas: 1) es posible caracterizar a los individuos de Anabaena circinalis mediante parámetros estadísticos referidos a las medidas de las células vegetativas de los tricomas, 2) el criterio basado en los caracteres morfológicos de las acinetas inmaduras no debe ser utilizado para ese fin, dadas la no-maduración de las acinetas en condiciones eutróficas y la tendencia a la uniformidad morfométrica entre las células vegetativas y las acinetas inmaduras, y 3) los heterocistos y las células vegetativas, uniformemente esféricos, sólo pueden diferenciarse entre sí por su tamaño y no por su forma, mientras que ambos a su vez pueden diferenciarse de las acinetas ovoidales por su forma. En cuanto al análisis de la varianza del largo de las células vegetativas, los resultados obtenidos confirman que todos los tricomas pertenecen a una misma especie.

Palabras clave: Anabaena circinalis, citomorfometría, eutrofia, algas toxicogénicas.

INTRODUCCIÓN

La eutrofización de los cuerpos de agua como consecuencia de actividades agronómicas o industriales constituye un problema de contaminación que puede llegar a producir daños ecológicos graves, con perjuicios económicos importantes. Estos episodios pueden ocurrir en reservas hídricas destinadas al consumo humano doméstico, por lo que pueden también comprometer en forma directa la salud de la población (Chorus & Bartram, 1999;

¹ Laboratorio de Ecología Acuática, Departamento Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. 8000 Bahía Blanca. E-mail: eparodi@criba.edu.ar ² Instituto Argentino de Oceanografía (I.A.D.O.). CC 804. 8000 Bahía Blanca.

 ³ Miembro de la Carrera del Investigador de CONICET.
⁴ Laboratorio de Ficología y Micología, Departamento Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. 8000 Bahía Blanca. E-mail: uscacere@criba.edu.ar

⁵ Miembro de la Carrera del Investigador de CIC.

Whitton & Potts, 2000). En efecto, en estos ambientes altamente eutrofizados se han producido en el mundo numerosas proliferaciones masivas de diferentes especies de cianobacterias (Komárek, 1958; 1999; Baker, 1991; Baker et al., 1993), pertenecientes a diversos géneros, Microcystis, Anabaena, Nostoc, Oscillatoria, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis (Alberghina & Loez, 1991; Reynolds, 1991; Pizzolón et al., 1999; Chorus & Bartram, 1999; Madigan et al., 1999; Whitton & Potts, 2000), pudiendo algunas ser ellas ser potenciales productoras de anatoxinas o saxitoxinas y por ende ser posiblemente toxicogénicas (Baker, 1991). En especial, Anabaena circinalis Rabenhorst ex Born. et Flah. ha sido incluso asociada a la producción de elevadas concentraciones de saxitoxinas (Negri & Jones, 1995; Chorus & Bartram, 1999). Beltrán & Neilan (2000) han también encontrado que diferentes cepas australianas de A. circinalis son efectivas productoras de neurotoxinas anatoxinas o de toxinas paralizantes, y que las mismas están segregadas geográficamente y genéticamente en el nivel de sus ARNr 16S.

Es por ello que en casos de proliferaciones algales masivas, una correcta tarea de identificación es esencial para encarar cualquier diagnóstico de situación, tarea preventiva o acción de control. La identificación clásica de los representantes del orden Nostocales está basada principalmente en la morfología de acinetas y de células vegetativas y en el grado de curvatura de los tricomas (Komárek, 1958; Desikachary, 1959; Komárek & Anagnostidis, 1989; Baker, 1991; Baker & Fabro, 1999). Sin embargo, algunos de estos caracteres morfológicos pueden no aparecer definidos o constantes en algunas poblaciones, debido a la influencia del ambiente en el cual se desarrollan los tricomas. En particular para A. circinalis, durante sus proliferaciones masivas en aguas eutrofizadas con baja relación N: P, las acinetas no llegan a desarrollarse completamente (van Dok & Hart, 1996), por lo que no es posible reconocerlas con certeza (Argañaraz Bonini, 2001).

Desde 1992 se suceden en forma recurrente proliferaciones masivas en las aguas eutrofizadas del Embalse Paso de las Piedras, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Echenique *et al.*, 1999, Pizzolón *et al.*, 1999). El Embalse Paso de las Piedras, es un lago artificial de 37 km² de superficie, distante 57 km de la ciudad de Bahía Blanca (Fig. 1) y es la única fuente de provisión de agua potable para la región, que alberga aproximadamente 500.000 habitantes. En algunos casos se trató de *Anabaena spiroides* pero en otros la especie detectada fue precisamente *A. circinalis*. Su determinación basada en caracteres morfológicos clásicos no pudo realizarse con certeza por lo que su determinación específica debió ser realizada mediante técnicas moleculares por el Dr. Ian Falconer de la Universidad de Adelaida, Australia, sobre la base de un gen marcador de esta especie. Durante los meses abril-mayo de 2000 se produjo la importante proliferación masiva de *A. circinalis* que motivó este estudio.

Es por ello que en este trabajo se intenta caracterizar morfométricamente a los individuos de esta población de A. circinalis con la idea de precisar pautas basadas en su morfología, que permitan una correcta identificación de sus individuos en condiciones eutróficas, basada en caracteres morfológicos. Hasta el momento no se han realizado estudios estadísticos de este tipo en ninguna población de A. circinalis del mundo. Se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) analizar las variaciones de las dimensiones de células vegetativas, acinetas y heterocistos mediante parámetros estadísticos de centralización y dispersión; 2) analizar la posición relativa de los heterocistos y las acinetas inmaduras en el tricoma; 3) analizar la composición porcentual de células vegetativas del tricoma.



Fig. 1. Ubicación del Embalse Paso de las Piedras, provincia de Buenos Aires, Argentina. Barra escala: 100 km.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras se tomaron mediante arrastre superficial con red de plancton de 30 μ m de malla.

Las determinaciones químicas se realizaron en el Laboratorio de Química Marina del Instituto Argentino de Oceanografía (I.A.D.O). Los nutrientes (fosfatos, nitritos y nitratos) fueron determinados con un autoanalizador Technicon II, de acuerdo con Treguer y Le Corre (1975), Eberlein y Kattner (1987) y Grasshoff (1983).

Para las mediciones de tricomas, células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras, se utilizaron tanto materiales vivos como fijados en solución de formol al 4%.

Para caracterizar el patrón de espiralado de los tricomas, se contó el número de espiras por tricoma y se midieron el largo y el ancho de la abertura de cada espira. Con estas medidas se calcularon el promedio, el desvío estándar, y los valores máximos y mínimos del largo y del ancho de la espira.

La posición relativa de los heterocistos en el tricoma se determinó en tricomas que presentaron 1 ó más heterocistos (N=59). Se calculó el número promedio de células vegetativas entre heterocistos con la fórmula: $X_{c/H} = (N_{cv} + N_a) / H$, en donde, $X_{c'}$ = número promedio de células entre 2 heterocistos, $N_{cv} =$ células vegetativas, N_a = acinetas inmaduras, H = número total de heterocistos.

Para analizar estadísticamente las variaciones del largo y el ancho en células vegetativas, acinetas y heterocistos, se midieron esos parámetros en un total de 1008 células correspondientes a 123 tricomas observados. Previamente al procesamiento estadístico de los datos, se graficaron los valores morfométricos obtenidos (largo y ancho celulares) de las tres clases de células, a fin de visualizar las variaciones naturales de dichas magnitudes en y entre cada tipo celular. En el gráfico, cada valor aparece representado por una columna. Con los valores de cada dimensión, se calcularon los siguientes parámetros estadísticos de centralización y dispersión: promedios, desviaciones estándar, varianzas, covarianzas, medianas, modas, máximos y mínimos.

Además, para cada una de las tres clases de células que forman los tricomas, se confeccionaron histogramas de frecuencia de los valores del ancho y del largo celulares. Para ello, se determinaron valores artificiales de clases, dentro de las cuales se pudieran agrupar los datos originales. El objetivo fue poder comparar los histogramas de las tres clases de células. Por lo tanto, los valores fueron organizados en 9 clases artificiales para el largo y 5 clases artificiales para el ancho.

Para analizar la variación del largo en células vegetativas, se aplicaron métodos estadísticos inferenciales. Se realizó un test ANOVA (Remington & Schork, 1970). Puntualmente, el objetivo fue verificar la existencia de uniformidad en los promedios del largo de las células vegetativas, para lo cual se realizó una selección de 29 tricomas formados por 10 o más células vegetativas, asumiendo que cada tricoma era un individuo. De cada uno de ellos, se registró el largo de 5 células vegetativas tomadas al azar (x.) y se calcularon a partir de estas medidas: el promedio muestral, la varianza muestral (s²), el promedio entre estos dos parámetros y la varianza de las medias muestrales. Se realizó un análisis de varianza ANOVA II, considerándose los distintos efectos aleatorios sobre cada tricoma (Sokal & Rohlf, 1981, 1999). Los datos con los que se trabajó fueron: K = número de individuos (29), $n_i = tamaño muestral (5),$ N = número total de células medidas (145). Se aceptó la hipótesis nula (p < 0.001).

RESULTADOS

Las concentraciones de nutrientes obtenidas fueron: fosfatos, 1,3 mg.l⁻¹, nitritos 4,31 mg.l⁻¹ y nitratos 12,73 mg. l⁻¹.

Se observaron tricomas espiralados. En general, las espiras se presentaron superpuestas (Fig. 2 a, b, c, d), aunque algunas veces fue posible encontrarlas dispuestas en sentidos opuestos (Fig. 2 e, f). Normalmente, el número de espiras fue de 2-3, hasta 4 en algunos casos. La abertura promedio de las espiras fue 19,05 (\pm 4,53) µm por 19,98 (\pm 5,43) µm, alcanzando valores máximos y mínimos de 33,60–12,32 µm para el largo y 36,96–14,56 µm para el ancho.

Los tricomas estuvieron constituidos por tres clases de células: células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras (Fig. 2). La proporción de cada tipo celular fue variable; aunque las más numerosas fueron siempre las células vegetativas que representaron el 68 % del tricoma, mientras que las acinetas inmaduras y los heterocistos representaron respectivamente el 21% y el 11% restantes.

La separación promedio entre heterocistos intercalares y solitarios fue de 15 células vegetativas (aproximadamente 90 μ m). En cuanto a las acinetas inmaduras se ubicaron solitarias o en grupos de 2 a 3 (hasta 5 en algunos casos). Las mismas se



Fig. 2. Anabaena circinalis. Distintos patrones de espiralización del tricoma (MO). A-B: espiras simples dispuestas en un mismo plano. C-D: espiras compactas, dispuestas en varios planos. E-F: espiras en sentidos contrapuestos. Células vegetativas en división (ê); heterocistos intercalares (h) con nódulos polares (flechas); acinetas inmaduras (a). Barras escala = $10 \mu m$.

hallaron siempre separadas de los heterocistos por una distancia que varió entre 25-40 μ m (menos frecuentemente 12 μ m), valores correspondientes al espacio ocupado por 5-8 (2) células vegetativas (Fig. 2F).

Existió una gran variación entre los tamaños celulares en un mismo tipo célular. Sin embargo, del análisis de los datos de las dimensiones de los distintos tipos celulares surgen coincidencias, por ejemplo entre el largo máximo de las células vegetativas y el largo mínimo de las acinetas inmaduras, y entre los anchos mínimos de heterocistos y acinetas inmaduras (7,28 μ m). Estas coincidencias se observan en el gráfico de la Fig. 3, donde cada columna representa un valor del largo o del ancho celulares.

Los valores promedio de las dimensiones celulares y otros parámetros estadísticos se muestran en la Tabla 1. La relación morfométrica entre células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras mostró a estas últimas como las células más largas y a los heterocistos como las de mayor volumen. Además, quedó manifiesta la similitud de forma esférica entre las células vegetativas y los heterocistos, debido a la escasa diferencia entre sus promedios del largo y ancho celulares.

En células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras tanto el largo como el ancho mostraron una amplia variación en cuanto a las frecuencias de las clases (Fig. 4, A, B). En células vegetativas los valores de largo y ancho más frecuentes correspondieron a la clase 5,6 μ m. Para los heterocistos, la clase 7,6 μ m fue la que presentó mayor frecuencia, tanto para el ancho como para el largo y la de menor frecuencia fue la clase 6,6 μ m. Para las acinetas inmaduras, la mayor frecuencia para el largo correspondió a la clase 8,6 μ m, mientras que para el ancho la mayor frecuencia fue coincidente con la clase 5,6 μ m de las células vegetativas.



Fig. 3. Anabaena circinalis. Dimensiones de células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras. A: largo celular (mm), B: ancho celular (mm). Cada columna representa la frecuencia de aparición en número de casos, de los valores de ancho o de largo celulares consignados en las absisas, para cada una de las tres clases de células



Fig. 4. Anabaena circinalis. Histogramas de frecuencia. A: largo. B: ancho. Células vegetativas: $N_{largo} = 680$; $N_{ancho} = 693$. Acinetas inmaduras: N = 209. Heterocistos = 109.

Tabla 1. Parámetros estadís	sticos descriptivos pa	ra las dimensiones	celulares. Ce	élulas vegetativas ($N_{cv} = 693$), hete	erocistos
$(N_h = 109)$, acinetas inmadu	ras ($N_{ia} = 209$).					

Vegetativas	ancho largo	3,92 2,80	6,72 7,28	5,28 5,85	0,28 0,78	0,53 0,88	5,60 5,60	5,60 5,60	0,11
Heterocistos	ancho largo	4,48 5,04	8,40 8,40	6,95 7,00	0,68 0,60	0,82 0,78	6,72 7,28	6,72 6,72	0,56
Acinetas inmaduras	ancho largo	4,48 7,28	7,84 12,32	5,64 8,10	0,29 0,80	0,54 0,90	5,60 7,84	5,60 7,84	0,20

Tabla 2. Test de ANOVA. Resultados muestrales y cálculos relacionados con la prueba de hipótesis realizada para verificar la existencia de uniformidad en los promedios del largo celular en células vegetativas. La variable de ensayo "largo celular" (w) sigue una distribución $F_{k-1, N-k}$. Se aceptó la hipótesis nula para el valor de F correspondiente al nivel de significación del 1 %. f de v: fuente de variación; SC: suma de cuadrados; gl: grados de libertad; CM: cuadrado medio; F: distribución; p: probabilidad.

f de v	SC	gl	СМ	F	р
Entre	757,742	28	27,062	1,082	0,372
Dentro	2902,006	116	25,017		
Total	3659,748	144			



Fig. 5. Anabaena circinalis. Gráficos de dispersión de las longitudes largo-ancho de células vegetativas, heterocistos y acinetas inmaduras y sus correspondientes líneas de tendencia. A: células vegetativas ($N_{cv} = 680$). B: heterocistos ($N_{h} = 109$). C: acinetas inmaduras ($N_{ia} = 209$).

La relación del largo y ancho en los heterocistos (Fig. 5), alcanzó un alto valor para el ajuste de la regresión lineal (0,78), mientras que para células vegetativas y acinetas inmaduras fue bajo (0,06 y 0,18 respectivamente).

Durante el análisis de la variación del largo celular en células vegetativas se estableció que no existieron diferencias significativas (p<0.01) (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta los valores de fosfatos obtenidos, era lógico esperar una frecuencia baja en el número de acinetas dentro del total de células observadas, y de ellas ninguna totalmente madura, de acuerdo a lo postulado por van Dok & Hart (1996). En efecto, estos autores han demostrado en un estudio bajo condiciones controladas que sólo con muy bajas concentraciones de fósforo se incrementa la aparición y se produce la completa maduración de las acinetas.

Si bien se observó una gran variación en el número y ubicación de los heterocistos en el tricoma, puede definirse al tricoma con una organización metamérica isopolar que, de acuerdo a Komárek & Anagnostidis (1989), posibilita la caracterización génerica de *Anabaena* pero no de una especie. En este sentido, estos mismos autores señalaron que el número de heterocistos por tricoma puede variar entre diferentes especies y que la frecuencia de aparición de los mismos en el tricoma depende también de las condiciones ambientales. En efecto, se sabe que la escasez de nitrógeno actúa como disparador de la producción de heterocistos (van Dok & Hart, 1996).

En cuanto a las dimensiones de los heterocistos, se hallaron coincidencias entre los valores máximos y modales para el ancho y el largo celulares. Estos resultados, considerando la escasa diferencia entre los promedios, el elevado valor del coeficiente de regresión, la distribución de los pares de puntos y la covarianza obtenida (la mayor de los tres tipos de células), corroborarían la forma esférica predominante de los heterocistos en esta población de *A. circinalis*, sobre a la subesférica descripta por Desikachary (1959) para otras poblaciones de esta especie. En efecto, en el presente estudio, en los heterocistos la regresión lineal fue significativa, ya que la línea de tendencia se ajustó a la mayoría de los puntos.

En cuanto a las dimensiones celulares de los individuos de esta población de *A. circinalis*, las

mismas fueron en general menores que las publicadas por Desikachary (1959) para otras poblaciones de la especie, quien señaló un largo de 8-14 µm para las células vegetativas, 8-10 µm para los heterocistos de forma subesférica y 16-18-(34) µm para las acinetas, sin hacer referencia a los valores del ancho. En el caso de las células vegetativas, los resultados estadísticos aquí realizados, arrojaron el mismo valor de mediana, moda y de mayor frecuencia tanto para el ancho como para el largo, es decir que hubo cierta uniformidad en el tamaño de las células, dentro de un rango de variación de 3 µm para el ancho y 4 µm para el largo. La coincidencia de la mayor frecuencia para la clase 5,6 mm, tanto para el ancho como para el largo en las células vegetativas, indicaría también el predominio de la forma esférica sobre la subesférica en las células vegetativas. Para el caso de las células vegetativas esta afirmación no concuerda con lo señalado en resultados (Fig. 7) sobre la forma alargada indicada por Desikachary (1959) para estas células en otras poblaciones de la especie.

En cuanto al análisis de la varianza del largo de las células vegetativas, los resultados obtenidos confirman que todos los tricomas pertenecen a una misma especie. La variación en el largo celular es levemente mayor entre las muestras que dentro de ellas, debido a que, a pesar de desarrollarse dentro de un mismo ambiente, el largo de las células vegetativas de tricomas diferentes no es uniforme.

La posición de las acinetas inmaduras en el tricoma permite definir a su desarrollo como paraheterocítico en tricomas metaméricos, según el criterio de Komárek & Anagnostidis (1989). En cuanto a la forma de las mismas, en los tricomas estudiados las acinetas inmaduras se observaron elipsoidales o doliiformes, pero nunca cilíndricas o curvadas. Si se tiene en cuenta que las acinetas maduras de esta especie son cilíndricas, con extremos redondeados y algunas veces curvadas (Desikachary, 1959; Komárek & Anagnostidis, 1989), se advierte imposibilidad de una correcta determinación clásica de esta especie con estas condiciones de desarrollo de las acinetas. El largo celular de las acinetas inmaduras varió considerablemente, mientras que el ancho se mantuvo constante. La mediana del largo coincidió con el valor de mayor frecuencia, mientras que el ancho alcanzó los mismos valores de mediana y moda que las células vegetativas, lo cual demostraría cierta uniformidad morfométrica. Es decir que, en general,

existe un valor común y constante para el ancho tanto en células vegetativas como en acinetas inmaduras, independientemente de sus largos, como lo demuestran el gráfico, los bajos coeficientes de regresión y los valores de varianza y desvío estándar calculados. Por lo tanto, las pequeñas variaciones del ancho celular de células vegetativas y acinetas inmaduras existentes, podrían deberse al crecimiento celular.

Es decir que para estas dos clases de células el aumento del largo se produciría independientemente, sin un incremento necesario del ancho, como lo señalan los índices de covarianza calculados para cada una de ellas. En general, el gráfico de dispersión de las células vegetativas mostró un incremento del largo para valores determinados del ancho, el cual se mantuvo constante. Por otra parte, para valores del largo mayores a 6,72 µm, se observó un aumento progresivo del ancho celular, que produjo una disminución en la desviación de los puntos con respecto a la línea de tendencia. Debido a esto, los puntos formados por medidas del largo mayores a 8,4 µm escaparon a la línea de tendencia, mostrando un importante incremento en las desviaciones.

CONCLUSIONES

1) Es posible caracterizar a los individuos de *Anabaena circinalis* creciendo en condiciones eutróficas, por medio de la utilización de parámetros estadísticos de las medidas celulares vegetativas de los tricomas, 2) el criterio basado en los caracteres morfológicos de las acinetas no debe ser utilizado para ese fin dadas la no-maduración de las mismas en estados eutróficos y la tendencia a la uniformidad morfométrica entre células vegetativas y acinetas inmaduras, y 3) heterocistos y células vegetativas, esféricos, pueden diferenciarse entre sí por sus tamaños, mientras que ambos a su vez pueden diferenciarse de las acinetas ovoidales por su forma.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió con fondos de la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional del Sur, PGI CSU- 24/B 077 otorgado a E.R.P. Se agradece al Lic. R. Asteasuain del I.A.D.O. la determinación de los nutrientes.

BIBLIOGRAFÍA

- ALBERGHINA, J. S. & C. R. LOEZ. 1991. Sobre algunas algas de ríos contaminados de la provincia de Buenos Aires (Argentina). *Bol. Soc. Arg. Bot.* 27: 73-79.
- ARGAÑARAZ BONINI, G. 2001. Caracterización morfológica y ultraestructural de Anabaena circinalis proveniente del Embalse Paso de las Piedras. Tesina de Licenciatura. Depto. Biología, Bioquímica y Farmacia, Univ. Nac. del Sur, Bahía Blanca.
- BAKER, P. D. 1991. Identification of Common Noxious Cyanobacteria. Part I. Nostocales. U. W. R. A. of Australia, Res. Report 29.
- BAKER, P. D. & L. D. FABRO. 1991. A quide to the identification of Common Blue-green Algae (Cyanoprokariotes) in Australian Freshwaters. Cooper. Res. Centre Freshwater Ecol., Ident. Quide No. 25.
- BAKER, P. D., A. R. HUMPAGE & D. A. STEFFENSEN. 1993. Cyanobacterial blooms in the Murray – Darling Basin: Their taxonomy and toxicity. Austral. Centre Water Quality Res., Rep. No 8/93.
- BELTRAN, E. C. & B. A. NEILAN. 2000. Geographical segregation of the neurotoxin – producing cyanobacterium Anabaena circinalis. Appl. Environ. Microbiol. 66: 4468-4474.
- CHORUS, I. & J. BARTRAM. 1999. *Toxic Cyanobacteria in water*. A guide to the public health consequences, monitoring and management. E & FN Spon, London and New York.
- DESIKACHARY, T.V. 1959. *Cyanophyta*. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- EBERLEIN, K. & G. KATTNER. 1987. Automatic method for the determination of orthophosphate and total dissolved phosphorous in the marine enviroment. *Fresenius Z. analyt Chem.* 326: 354-357.
- ECHENIQUE, R.; S. SALAS, S. GUARRERA, J. M. GUE-RRERO, D. GONZALEZ, H. SILVA, H. LABOLLITA, N. LAGOS, D. ANDRINOLO, M. CANO & G. GORRITI. 1999. Presencia de algas nocivas en cuerpos de agua continentales de Argentina. Resúmenes V Congreso Latinoamericano de Ficología, Puerto Vara, Chile.
- GRASSHOFF, K. 1983. *Methods of seawater analysis*. CEIME Verlag, New York
- KOMÁREK, J. & K. ANAGNOSTIDIS. 1989. Modern approach to the classification system of Cyanophyta. 4. Nostocales. Arch. Hydrobiol. 82 (Suppl. Algological Studies 56): 247-345.
- KOMÁREK, J. 1958. Die taxonomische Revision der planktischen Blaualgen der Tschechoslowakei. In: Algologische Studien, 10-206. Academia, Praha.
- KOMÁREK, J. 1999. Übersicht der planktischen Blaualgen (Cyanobakterien) im Elbe Flussgebiet. IKSE/NKOL, Magdeburg.

- MADIGAN, M. T., J. M. MARTINKO & J. PARKER. 1999. Brock. Biología de los Microorganismos. Octava ed. Prentice Hall, Madrid.
- NEGRI, A. P. & G. J. JONES. 1995. Bioaccumulation of paralytic shellfish poisong (PSP) toxins from the cyanobacterium *Anabaena circinalis* by the freshwater mussel *Alathyria condola*. *Toxicon* 33: 667-678.
- PIZZOLÓN, L., B. TRACANNA, C. PRÓSPERI & R. GUE-RRERO. 1999. Cyanobacterial blomms in Argentinean inland waters. *Lakes and Reservoirs: Research and Management.* 4: 101-105.
- REYNOLDS, C. S. 1991. The ecology of the planktonic bluegreen algae in the North Shropshire meres. *Fld. Stud.* 3: 409-432.
- REMINGTON, R. D. & M. A. SCHORK. 1970. *Statistics with Applications to the Biological and Health Sciences*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliff, New Jersey.

- SOKAL, R. & F. ROHLF. 1981. *Biometry*. 2nd ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- SOKAL, R. & ROHLF, F. 1999. Introducción a la bioestadística. Ed. Reverté, Barcelona.
- SOUTH, G. & A. WHITTICK. 1987. Introduction to *Phycology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- TREGUER, P. & P. LE CORRE. 1975. *Manuel d'analisis des sels nutritifs*. Université de Bretagne Occidentale, Brest.
- VAN DOK, W. & B. T. HART. 1996. Akinete differentiation in Anabaena circinalis (Cyanophyta). J. Phycol. 32: 557-565.
- WHITTON, B. A. & M. POTTS. 2000. The Ecology of Cyanobacteria. Their Diversity in Time and Space. Kluwer Acad. Pub., London.

Recibido el 19 de Mayo de 2004, aceptado el 08 de Setiembre de 2004.