

ECOFISIOLOGIA DE CIANOBACTÉRIAS PRODUTORAS DE CIANOTOXINAS

Renato Molica^{1} & Sandra Azevedo²*

¹ Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Bom Pastor s/n. CEP 55292-270. Garanhuns, PE, Brasil.

² Laboratório de Ecotoxicologia de Cianobactérias, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Ilha do Fundão. CEP 21941-590. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Email: rmolica@uag.ufrpe.br

RESUMO

As cianobactérias em razão de sua longa história evolutiva podem ser encontradas em praticamente todos os ecossistemas do Planeta. O processo de eutrofização dos ecossistemas aquáticos tem propiciado condições favoráveis para que as cianobactérias dominem a comunidade fitoplanctônica e formem florações. Dentre os aproximadamente 150 gêneros de cianobactérias conhecidos, 40 estão relacionados com a produção de toxinas. De acordo com suas estruturas químicas, as cianotoxinas podem ser incluídas em três grandes grupos: os peptídeos cíclicos, os alcalóides e os lipopolissacarídeos. Entretanto, por suas ações farmacológicas, as duas principais classes de cianotoxinas até agora caracterizadas são: neurotoxinas e hepatotoxinas. As neurotoxinas levam a óbito os animais vertebrados em razão de uma parada respiratória. De um modo geral, a ocorrência de florações de cianobactérias produtoras de hepatotoxinas são mais frequentes em todo mundo. Ainda não há compreensão clara da função das cianotoxinas. Algumas hipóteses apontam para um papel contra herbivoria do zooplâncton, outras de que as cianotoxinas poderiam atuar como quelantes de metais pesados e alguns autores acreditam que elas podem ter também um papel na comunicação intercelular. Além disso, também não está totalmente esclarecido como os fatores ambientais influenciam na produção das cianotoxinas. Como as microcistinas são as cianotoxinas com maior ocorrência em todo mundo, a maioria dos estudos de ecofisiologia foram realizadas com cepas produtoras daquelas toxinas. Trabalhos mais recentes indicam que as microcistinas poderiam desempenhar um papel relacionado ao controle da concentração de carbono inorgânico intracelular.

Palavras-chave: Cianobactérias, microcistinas, saxitoxinas, anatoxina-a(s), anatoxina-a.

ABSTRACT

ECOPHYSIOLOGY OF TOXIN-PRODUCING CYANOBACTERIA. Ecosystem eutrophication generates conditions which are favorable to the growth of cyanobacterial populations, leading to blooms. Among the 150 known genera of cyanobacteria, 40 include toxin-producing species. Cyanotoxins can be classified based on their chemical structure as cyclic peptides, alkaloids or lypopolyssacharides. However, as a consequence of their letality, the main classes of cyanotoxins are neurotoxins and hepatotoxins. Neurotoxins can lead to death resulting from respiratory arrest. Cyanobacterial blooms of hepatotoxin-producing species are usually more frequent worldwide. The true utility of the toxins to the cyanobacteria that produce them has been controversial among researchers. Some hypotheses claim they may prevent predation by zooplankton, while others claim the substances may chelate heavy metals. Some authors have argued that the toxins may be important for intercellular communication. Moreover, it remains unclear how environmental factors affect the production of cyanotoxins. Most ecophysiological studies have focused on microcystins, as they are the most common cyanotoxins in the world, and evidence from recent studies suggest these substances may be related to the regulation of intracellular inorganic carbon.

Keywords: Cyanobacteria, microcystins, saxitoxins, anatoxin-a(s), anatoxin-a.

RESUMEN

ECOFISIOLOGIA DE CIANOBACTERIAS PRODUCTORAS DE CIANOTOXINAS. Las cianobacterias debido a su larga historia evolutiva pueden ser encontradas en prácticamente todos los ecosistemas del planeta. El proceso de eutrofización de los ecosistemas acuáticos ha propiciado condiciones

favorables para que las cianobacterias dominen la comunidad fitoplanctónica y desarrollen floraciones. Entre los aproximadamente 150 géneros de cianobacterias conocidos, 40 están relacionados con producción de toxinas. De acuerdo con sus estructuras químicas, las cianotoxinas pueden ser incluidas en tres grandes grupos: los péptidos cíclicos, los alcaloides y los lipopolisacaridos. Entretanto, por sus acciones farmacológicas, las dos principales clases de cianotoxinas hasta ahora caracterizadas son: neurotoxinas y hepatotoxinas. Las neurotoxinas pueden causar la muerte en vertebrados provocando paro respiratorio. De forma general, la ocurrencia de floraciones de cianobacterias productoras de hepatotoxinas son más frecuentes en todo el mundo. Aún hoy no hay un claro entendimiento de la función de las cianotoxinas. Algunas hipótesis indican que estas podrían tener un papel en la defensa de la herbivoría del zooplancton, otras sugieren que las cianotoxinas podrían actuar como quelantes de metales pesados y algunos autores creen que pueden tener también un papel en la comunicación intercelular. Además de esto, tampoco está totalmente esclarecido como los factores ambientales influyen la producción de las cianotoxinas. Como las microcistinas son las cianotoxinas con mayor ocurrencia en todo el mundo, la mayoría de los estudios de ecofisiología fueron realizados con cepas productoras de aquellas toxinas. Trabajos más recientes indican que las microcistinas podrían desempeñar un papel relacionado al control de la concentración de carbono inorgánico intracelular.

Palabras clave: Cianobacterias, microcistinas, saxitoxinas, anatoxina-a(s), anatoxina-a.

INTRODUÇÃO

Cianobactérias são microrganismos procariotos fotossintetizantes, que em razão de sua longa história evolucionária (primeiros registros fósseis de cianobactérias datados em 3,5 bilhões de anos) foram capazes de colonizar praticamente todos os ecossistemas do planeta. Entretanto, são mais comumente encontradas no plâncton de ambientes marinhos e de água doce. As cianobactérias possuem mecanismos para tolerar a incidência de raios ultravioletas, concentrações elevadas de metais pesados, baixas concentrações de oxigênio, baixas e altas temperaturas e podem ser encontradas em desertos (Whitton & Potts 2000). Além disso, algumas espécies podem fixar, em estruturas denominadas heterocitos, o nitrogênio atmosférico na forma metabolizável de amônio, formarem acinetos, que são células diferenciadas que funcionam como esporos de resistência e controlarem sua posição na coluna d'água através de estruturas denominadas aerótopos (Whitton & Potts 2000).

Sob determinadas condições ambientais, entretanto, as cianobactérias podem se tornar a parcela dominante do fitoplâncton de lagos, reservatórios e rios, formando muitas vezes florações. O termo floração é vago e não define exatamente uma quantidade específica de células por unidade de volume. Normalmente, diz-se que há uma floração quando o número total de células passa a ser maior que a média do corpo d'água.

O enriquecimento das águas com nutrientes provenientes de esgotos urbanos, efluentes provenientes de atividades agropastoris e industriais, principalmente nitrogênio e fósforo, é considerado a principal causa da ocorrência de florações de cianobactérias. De acordo com Tundisi (2003), o aumento da concentração de nitrogênio e fósforo desempenha um papel importante na formação das florações porque são elementos que compõem diversos componentes celulares (proteínas, ácidos nucleicos, membranas fosfolípidicas, etc.), todavia, naturalmente, suas concentrações são baixas nos ecossistemas aquáticos. Além disso, pH neutro a alcalino e temperaturas acima de 20°C também favorecerem a ocorrência de florações nos ecossistemas aquáticos (Chorus & Bartram 1999). Paerl & Huisman (2008) relatam que o processo de aquecimento global poderá intensificar a formação de florações em razão do aumento da temperatura média da água em ecossistemas aquáticos, principalmente nos de países de clima temperado, o que promoverá, também, a estratificação térmica por períodos mais longos, condições propícias para a dominância de cianobactérias.

TOXINAS DE CIANOBACTÉRIAS

O crescimento massivo de cianobactérias nos ecossistemas aquáticos continentais limita utilização daqueles ambientes como áreas de recreação e de abastecimento em razão do odor e gosto desagradáveis

gerado pelas florações, aspecto repugnante e, nos casos de degradação da floração, anoxia da coluna da água. Entretanto, o fato marcante em relação às cianobactérias é que cerca de 40 gêneros, dentre os aproximadamente 150 descritos, estão relacionados à produção de potentes toxinas (Apeldoorn *et al.* 2007). Por outro lado, nem todas as florações de cianobactérias são tóxicas e algumas podem ser tóxicas durante apenas um período do ano, do mês ou da semana. A razão mais comumente aceita é a dominância de cepas tóxicas e não-tóxicas, as quais, quando são da mesma espécie, não podem ser separadas fenotipicamente.

Algumas das toxinas, conhecidas como cianotoxinas, são caracterizadas por sua ação rápida, causando a morte de mamíferos por parada respiratória após poucos minutos de exposição, têm sido identificadas como alcalóides ou organofosforados neurotóxicos. Outras atuam menos rapidamente e são identificadas como peptídeos ou alcalóides hepatotóxicos (Chorus & Bartram 1999).

De acordo com suas estruturas químicas, as cianotoxinas podem ser incluídas em três grandes grupos: os peptídeos cíclicos, os alcalóides e os lipopolissacarídeos. Entretanto, por suas ações farmacológicas, as duas principais classes de cianotoxinas até agora caracterizadas são: neurotoxinas e hepatotoxinas.

Além dessas, alguns gêneros de cianobactérias também podem produzir toxinas irritantes ao contato. Essas toxinas têm sido identificadas como lipopolissacarídeos (LPS), que são encontrados nas membranas celulares de bactérias gram negativas. Os LPS são endotoxinas pirogênicas, porém, os poucos estudos disponíveis indicam que os lipopolissacarídeos produzidos por cianobactérias são menos tóxicos que os de outras bactérias como, por exemplo, *Salmonella* (Keleti & Sykora 1982, Raziuddin *et al.* 1983 – citados em Chorus & Bartram 1999).

NEUROTOXINAS

As neurotoxinas produzidas por cianobactérias podem ser divididas em três sub-grupos: anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxinas. Essas toxinas agem em vertebrados através de diferentes mecanismos fisiológicos, entretanto, todas levam a morte por parada respiratória, que geralmente é bastante rápida (minutos a poucas horas). Dentre as neurotoxinas,

anatoxina-a(s) é a que possui o menor número de registros de ocorrência.

ANATOXINA-A

É um alcalóide neurotóxico que age como um potente bloqueador neuromuscular pós-sináptico de receptores nicotínicos e colinérgicos (Figura 1A, B). Esta ação se dá porque a anatoxina-a liga-se irreversivelmente aos receptores de acetilcolina, pois não é degradada pela acetilcolinesterase. A DL_{50} (Dose Letal que leva a óbito 50% dos animais testes) por injeção intraperitoneal (i.p.) em camundongos, para a toxina purificada, é de $200\mu\text{g.Kg}^{-1}$ de peso corpóreo, com um tempo de sobrevivência de 1 a 20 minutos (Carmichael 1992, Falconer 1998).

Os gêneros *Aphanizomenon* (Rapala *et al.* 1993, Wood *et al.* 2007), *Arthrospira* (Ballot *et al.* 2004), *Cylindrospermum* (Sivonen *et al.* 1989a), *Oscillatoria* (Edwards *et al.* 1992), *Phormidium* (Gugger *et al.* 2005), *Planktothrix* (Viaggiu *et al.* 2004), *Anabaena* (Chorus & Bartram 1999) e *Raphidiopsis* (Namikoshi *et al.* 2003) foram relatados como produtores de anatoxina-a (Durante esta revisão bibliográfica não foi possível encontrar publicações em revistas indexadas que confirmassem a presença dessa toxina em ecossistemas aquáticos brasileiros).

Os sinais de envenenamento por esta toxina, em animais selvagens e domésticos, incluem: desequilíbrio, fasciculação muscular, respiração ofegante e convulsões. A morte é devida à parada respiratória e ocorre de poucos minutos a poucas horas, dependendo da dosagem e consumo prévio de alimento. Doses orais produzem letalidade aguda em concentrações muito maiores, mas a toxicidade das células, mesmo assim, é alta o suficiente para que os animais recebam uma dose letal após ingestão de poucos mililitros a poucos litros de água da superfície das florações (Carmichael 1994).

ANATOXINA-A(S)

É um organofosforado natural (N-hidroxiguanidina fosfato de metila) e tem um mecanismo de ação semelhante à anatoxina-a, pois inibe a ação da acetilcolinesterase, impedindo a degradação da acetilcolina ligada aos receptores (Figura 1C) (Mahmood & Carmichael 1986). O “s” no nome

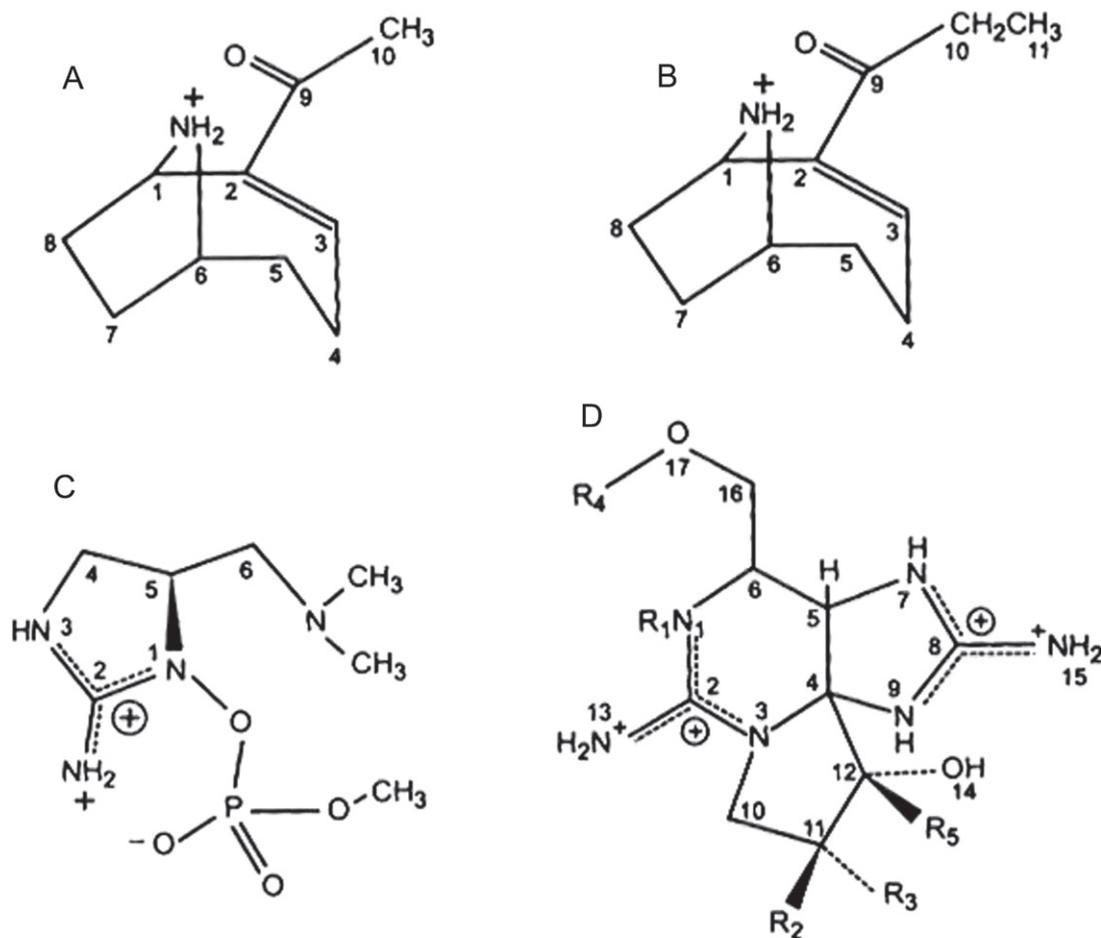


Figura 1. Estruturas químicas das neurotoxinas: (A) anatoxina-a, (B) homoanatoxina-a, (C) anatoxina-a(s) e (D) estrutural geral das saxitoxinas. Fonte: Chorus & Bartram (1999).

Figure 1. Chemical structures of some neurotoxins: (A) anatoxin-a, (B) homoanatoxin-a, (C) anatoxin-a(s), (D) general structure of saxitoxins. Obtained from Chorus & Bartram (1999).

da toxina deve-se à intensa salivacão observada em animais intoxicados por esta neurotoxina. A fasciculação muscular pós-mortem também é um sintoma bem característico. A DL_{50} (i.p.) em camundongos é de $20\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo e, portanto, dez vezes mais potente que a anatoxina-a, porém não há registro de intoxicação humana por esta toxina. Devido a pouca ocorrência deste tipo de neurotoxina em todo o mundo, ainda não foi estabelecido um limite máximo aceitável para consumo oral humano (Carmichael 1994, Falconer 1998). Entretanto, no Brasil já foi confirmada a presença desta toxina, por teste de inibição de acetilcolinesterase, em florações de *Anabaena spiroides*, no Rio Grande do Sul (Monserrat *et al.* 2001) e no estado de Pernambuco (Molica *et al.* 2005).

SAXITOXINAS

Este é o nome genérico que se tem adotado para um grupo de neurotoxinas conhecidas como toxinas paralisantes de mariscos (ou paralytic shellfish toxins – PST) que foram primeiramente isoladas de dinoflagelados marinhos, responsáveis pela ocorrência de marés vermelhas (Anderson 1994).

Estas neurotoxinas são um grupo de alcalóides carbamatos que podem ser não sulfatados (saxitoxina e neosaxitoxina), com um único grupamento sulfato (G-toxinas) ou com dois grupamentos sulfatos (C-toxinas). Além dessas, estruturas com grupamentos decarbamoil (dcSTX ou dcGTX) e novas toxinas relacionadas têm sido recentemente isoladas (Tabela 1, Figura 1D).

A toxicidade desse grupo de alcalóides varia bastante, sendo a saxitoxina a mais potente. A DL_{50} (i.p.) em camundongos para saxitoxina purificada é de $10\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo, enquanto que por consumo oral a DL_{50} é de aproximadamente de $263\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo (Chorus & Bartram 1999).

Essas neurotoxinas inibem a condução nervosa por bloqueio dos canais de sódio e cálcio, afetando a permeabilidade ao potássio (Carmichael 1994, Wang *et al.* 2003, Su *et al.* 2004). Numa escala global, aproximadamente 2000 casos de intoxicação humana são registrados anualmente (15% de mortalidade) em razão do consumo de peixes ou mariscos que se alimentaram de dinoflagelados marinhos produtores de saxitoxinas (Hallegraeff 2003); ainda não há registros de intoxicações humanas causadas por cianobactérias. Os sinais clínicos de intoxicação humana incluem tontura, adormecimento da boca e de extremidades, fraqueza muscular, náusea, vômito, sede e taquicardia. Os sintomas podem começar 5 minutos após a ingestão e a morte pode ocorrer entre 2 a 12 horas. Em casos de intoxicação com dose

não letal, geralmente os sintomas desaparecem de 1 a 6 dias (Carmichael 1994). Entretanto, não se tem conhecimento de efeitos crônicos por falta de estudos de longa duração com animais.

Embora a Organização Mundial da Saúde (OMS) considere que ainda não há dados suficientes para o estabelecimento de um limite de concentração máximo aceitável para as saxitoxinas em água potável (Chorus & Bartram 1999), uma análise dos dados de eventos de intoxicações humanas, demonstra que a maioria dos casos esteve associada ao consumo de aproximadamente $200\mu\text{g}$ de equivalentes de saxitoxinas (STX) por pessoa.

Baseado nesses dados e considerando 60kg de peso corpóreo, 2L de água como consumo diário e fatores de incerteza para variações entre espécies distintas e entre organismos da mesma espécie, Fitzgerald *et al.* (1999) propuseram $3\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como o limite máximo aceitável de saxitoxinas em água para consumo humano. Este limite foi incorporado como recomendação, no ano 2000, na Portaria 1469 do Ministério da Saúde e referendado pela Portaria 518

Tabela I. Tipos de saxitoxinas já caracterizadas a partir de diferentes cepas de cianobactérias, de acordo com Chorus & Bartram (1999).

Ver Figura 1 para identificação dos radicais R1, R2, R3, R4 e R5.

Table 1. Types of saxitoxins known from different cyanobacterial strains, according to Chorus & Bartram (1999).

For identification of radicals R1, R2, R3, R4, and R5, see Figure 1.

Nome da Toxina	Grupos químicos variáveis nas saxitoxinas				
	R1	R2	R3	R4	R5
STX	H	H	H	CONH ₂	OH
GTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂	OH
GTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂	OH
GTX5	H	H	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
C1	H	H	OSO ₃ ⁻	CONHSO ₃ ⁻	OH
C2	H	OSO ₃ ⁻	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
NEO	OH	H	H	CONH ₂	OH
GTX1	OH	H	OSO ₃ ⁻	CONH ₂	OH
GTX4	OH	OSO ₃ ⁻	H	CONH ₂	OH
GTX6	OH	H	H	CONHSO ₃ ⁻	OH
dcSTX	H	H	H	H	OH
dcGTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	H	OH
dcGTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	H	OH
LWTX1	H	OSO ₃ ⁻	H	COCH ₃	H
LWTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	COCH ₃	OH
LWTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	COCH ₃	OH
LWTX4	H	H	H	H	H
LWTX5	H	H	H	COCH ₃	OH
LWTX6	H	H	H	COCH ₃	H

STX: saxitoxina

GTX: goniautoxinas

C: C-toxinas

NEO: neosaxitoxina

dcSTX: decarbamoilsaxitoxinas

dcGTX: decarbamoilgoniautoxinas

LWTX: toxinas de *Lyngbya wollei*

do Ministério da Saúde (2004) que trata do controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

No Brasil, a análise desse grupo de neurotoxinas, em amostras de água para consumo humano, está se tornando de extrema importância, visto que tem sido observado em vários mananciais de abastecimento - desde a região nordeste (Molica *et al.* 2002) até a região sul do país (Lagos *et al.* 1999) - um grande aumento da ocorrência de cepas do gênero *Cylindrospermopsis* produtoras deste grupo de neurotoxinas. Sant'Anna *et al.* (2008) relataram a produção de saxitoxinas por cepas de *Planktolyngbya cf. reilingii* e *Raphidiopsis brookii* isoladas de ecossistemas aquáticos brasileiros e por *Anabaena circinalis* e *Aphanizomenon issatschenkoi*, a partir de amostras de florações dominadas por essas espécies, coletadas naqueles ecossistemas. Em muitos reservatórios, inclusive alguns recém construídos, o gênero *Cylindrospermopsis* já é dominante, atingindo um número de células muito acima dos limites máximos aceitáveis para não conferir risco para a saúde humana, de acordo com o proposto por Chorus & Bartram (1999).

HEPATOTOXINAS

O tipo mais comum de intoxicação envolvendo cianobactérias é ocasionado por hepatotoxinas, que apresentam uma ação mais lenta, podendo causar morte num intervalo de poucas horas a poucos dias.

As espécies já identificadas como produtoras dessas hepatotoxinas estão incluídas nos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Cylindrospermopsis*, *Planktotrix*, *Oscillatoria*, *Radiocystis*, *Arthrospira* e também em algumas cianobactérias picoplantônicas (Meriluoto e Codd 2005). As hepatotoxinas peptídicas já caracterizadas são heptapeptídeos cíclicos conhecidos como microcistinas e os pentapeptídeos designados como nodularinas. A cilindrospermopsina é um alcalóide hepatotóxico que também age em outros órgãos, além de inibir a síntese de proteínas (Froscio *et al.* 2001).

MICROCISTINAS

A estrutura geral das microcistinas (Figura 2A) é D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D- Glu-Mdha, em que X e Z são os dois L aminoácidos variáveis, D-MeAsp é D-eritro ácido metilaspártico e Mdha é

N-metildeidroalanina (Carmichael *et al.* 1988). Em florações naturais e em uma cepa de *Microcystis aeruginosa*, isolada no Rio Grande do Sul, já foi identificada a ocorrência de uma microcistina -LR com D-Leu na sua estrutura (Matthiensen *et al.* 2000). Adda, é o ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenil-deca-4,6-dienóico, que está também presente nas nodularinas e foi determinado como um dos responsáveis pela atividade biológica dessas hepatotoxinas (Harada *et al.* 1990, Nishiwaki-Matsushima *et al.* 1992).

A nomenclatura das microcistinas foi proposta por Carmichael *et al.* (1988). Inicialmente apenas as variações qualitativas observadas em seus dois L-aminoácidos foram usadas para designar as diferentes microcistinas, por exemplo, microcistina-LR (leucina-arginina); microcistina-RR (arginina-arginina); microcistina-YA (tirosina-alanina) (Figura 2A). Já se tem conhecimento de mais de 70 variantes de microcistinas, mas diferenças no grau de metilação dos aminoácidos, bem como variáveis isoméricas no aminoácido Adda, passaram também a serem usados na classificação destas hepatotoxinas (Meriluoto & Codd 2005).

A DL₅₀ por injeção intraperitoneal dessas microcistinas em animais de laboratório situa-se entre 50 e 1.200µg.Kg⁻¹ de peso corpóreo e entre 5.000 e 10.900µg.Kg⁻¹ de peso corpóreo por administração oral (Chorus & Bartram 1999).

O primeiro relato da presença de microcistinas no Brasil foi feito por Azevedo *et al.* (1994), que estudaram uma cepa de *M. aeruginosa*. Desde então, a produção de microcistinas já foi registrada em *Aphanocapsa cumulus* (Domingos *et al.* 1999), *Radiocystis fernandoi* (Vieira *et al.* 2003), *M. panniformis* (Bittencourt-Oliveira *et al.* 2005), *M. viridis* (Sant'Anna *et al.* 2008) e *M. wesenbergii* (Sant'Anna *et al.* 2008).

O caso mais dramático envolvendo essas toxinas também ocorreu no Brasil. Em 1996, na cidade de Caruaru-PE, mais de 65 pacientes renais faleceram em razão de uma contaminação com microcistinas na água utilizada nas sessões de hemodiálise (Jochimsen *et al.* 1998, Carmichael *et al.* 2001, Azevedo *et al.* 2002).

NODULARINAS

As nodularinas foram primeiramente identificadas na espécie *Nodularia spumigena* (Sivonen *et al.*

1989b). Atualmente são conhecidas sete nodularinas distintas, incluindo as motuporinas, encontradas em esponjas marinhas e que provavelmente são produzidas por cianobactérias simbiotes (Apeldoorn *et al.* 2007). As nodularinas (como já mencionado para anatoxina-a, não foi possível encontrar publicações em revistas indexadas que confirmassem a presença de nodularina em ecossistemas aquáticos brasileiros) são pentapeptídeos cíclicos (Figura 2B) e a estrutura geral delas é ciclo D-MeAsp-L-Arg-Adda-d-glutamato-Mdhh. A DL_{50} (i.p.) em camundongos varia entre 50 a 200 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo (Rinehart *et al.* 1994).

Tanto as microcistinas como as nodularinas chegam aos hepatócitos por meio de receptores dos ácidos biliares (Runnegar *et al.* 1981, Eriksson *et al.* 1990, Falconer 1991) e promovem uma desorganização do citoesqueleto dos hepatócitos. Como consequência, o fígado perde sua arquitetura e desenvolve graves lesões internas. A perda de contato entre as células cria espaços internos que são preenchidos pelo sangue que passa a fluir dos capilares para esses locais, provocando uma hemorragia intra-hepática (Hooser *et al.* 1991, Carmichael 1994, Lambert *et al.* 1994).

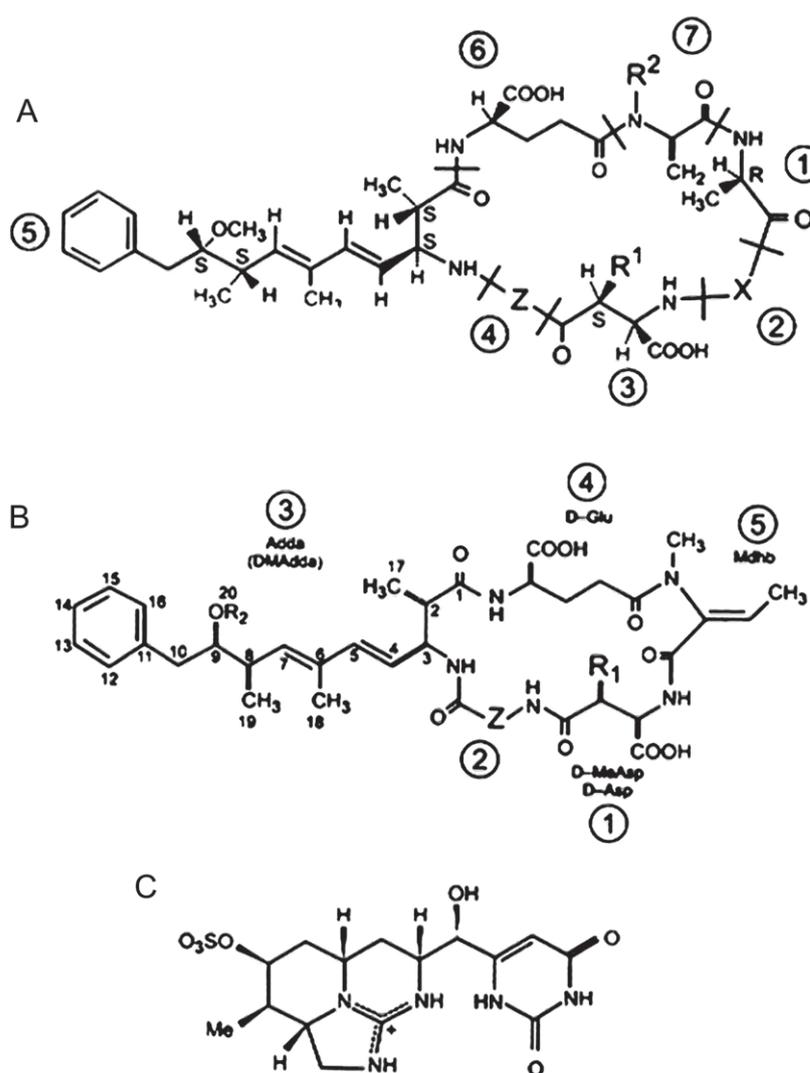


Figura 2. Estruturas químicas das hepatotoxinas: (A) estrutural geral das microcistinas, onde Z e X representam os dois L-aminoácidos variáveis e R1 e R2 são os locais de possíveis metilações; (B) estrutural geral das nodularinas, com as mesmas representações adotadas para microcistinas e (C) estrutura da cilindrospermopsina. Fonte: Chorus & Bartram (1999).

Figure 2. Chemical structure of hepatotoxins: (A) general structure of microcystins, where Z and X represent two variable L-aminoacids, and R1 and R2 are possible sites for methylation; (B) general structure of nodularins, with same representations used for microcystins, and (C) chemical structure of cylindrospermopsin. Based on Chorus & Bartram (1999).

Tem sido demonstrado que várias microcistinas e nodularinas são potentes inibidores de proteínas fosfatases tipo 1 e 2A de células eucariontes, sendo reconhecidas como potentes promotores de tumores hepáticos (Falconer 1991, Nishiwaki-Matsushima *et al.* 1992, Fujiki 1992). As microcistinas promovem o crescimento de tumores no fígado (Falconer 1991, Nishiwaki-Matsushima *et al.* 1992, Humpage & Falconer 1999) e no cólon de animais (Humpage *et al.* 2000b). Entretanto, a significância desses dados para os humanos, que podem estar submetidos à exposição crônica via água potável, ainda não é clara (Burch & Humpage 2005).

Baseado em estudos de toxicidade oral em níveis sub-crônicos, realizados com camundongos por Fawell *et al.* (1994) e com porcos, realizados por Falconer *et al.* (1994), foi estabelecida como ingestão diária aceitável (*tolerable daily intake* - TDI), para microcistina-LR, o valor de $0,04\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo (Chorus & Bartram 1999).

A partir desse valor, um limite máximo aceitável de $1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de microcistinas em água para consumo humano foi adotado pela OMS e incorporado no adendo das Normas para Qualidade da Água Tratada publicado em 1998 (*Guideline for Drinking Water Quality*, WHO (1998) e incluído na terceira edição do *Guideline for Drinking Water Quality*, WHO (2004). Este mesmo valor foi também incluído como valor máximo aceitável em água consumo humano no Brasil (Ministério da Saúde 2004). Para o estabelecimento desse limite foi utilizada a seguinte equação:

$$\text{Valor máximo aceitável} = (\text{TDI} \times \text{pc} \times \text{P})/\text{V}$$

onde: TDI = $0,04\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corpóreo;
 pc = 60Kg – média de peso corpóreo de um indivíduo adulto
 P = 0,8 – proporção da ingestão diária total de água proveniente da água tratada;
 V = 2 – volume de água, em litros, ingerido por dia.

Isso resultou num valor de $0,96\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, que foi aproximado para $1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Chorus & Bartram 1999).

CILINDROSPERMOPSINA

A produção de um alcalóide hepatotóxico, denominado cilindropermopsina, (Figura 2C), já

foi verificada em oito espécies de cianobactérias: *Cylindropermopsis raciborskii* (Ohtani *et al.* 1992), *Umezakia natans* (Harada *et al.* 1994), *Aphanizomenon ovalisporum* (Banker *et al.* 1997; Shaw *et al.* 1999), *Raphidiopsis curvata* (Li *et al.* 2001), *Anabaena bergii* (Schembri *et al.* 2001), *Anabaena lapponica* (Spoof *et al.* 2006), *Aphanizomenon flos-aquae* (Preußel *et al.* 2006), *Lyngbya wollei* (Seifert *et al.* 2007) e possivelmente de *Aphanizomenon gracile* (Rücker *et al.* 2007). São conhecidos dois análogos dessa toxina: deoxi-cilindropermopsina identificada em *C. raciborskii* (Norris *et al.* 1999) e 7-epicilindropermopsina produzida por *Aphanizomenon ovalisporum* (Banker *et al.* 1997).

O mecanismo de ação da cilindropermopsina se dá por inibição da síntese protéica (Terao *et al.* 1994, Froscio *et al.* 2001) já tendo sido observados danos severos em células renais, pulmonares e cardíacas dos animais testados. Além disso, foi também demonstrado que cilindropermopsina pode causar danos genéticos *in vitro* (Humpage *et al.* 2000a) e *in vivo* (Falconer & Humpage 2001, Shen *et al.* 2002).

Cilindropermopsina é uma toxina de ação lenta, requerendo de 5 a 7 dias para produzir seu efeito tóxico máximo. Em camundongos a DL_{50} (i.p.) após 24 horas é de $2000\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de peso corpóreo, enquanto que após 5 dias a DL_{50} (ip.) passa a ser de $200\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ (Harada *et al.* 1994). Por administração por via oral, a DL_{50} após 5 dias é de aproximadamente $6000\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ (Seawright *et al.* 1999).

De acordo com Chorus & Bartram (1999) ainda não há dados suficientes para se estabelecer um limite máximo aceitável para cilindropermopsina em água para consumo humano. Entretanto, estudos toxicológicos desenvolvidos por Shaw *et al.* (2000) sugerem um limite máximo aceitável de $15\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para água potável. Este valor foi incorporado como recomendação na Portaria 1469 e posteriormente na 518 (Ministério da Saúde 2004). Entretanto, um estudo mais recente de Humpage & Falconer (2003), baseado em toxicidade por via oral, em doses sub-crônicas para camundongos, levou esses autores a proporem $1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ como limite máximo aceitável de cilindropermopsina em água potável.

A presença de cilindropermopsina foi registrada no Brasil apenas em uma amostra de carvão ativado do sistema de tratamento de água da clínica de

hemodiálise da cidade de Caruaru – PE, onde foi registrada a morte de pacientes renais (Carmichael *et al.* 2001). Entretanto, a morte dos pacientes não pôde ser associada também a esta cianotoxina.

EFEITOS AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE CIANOTOXINAS

As toxinas de cianobactérias constituem uma grande fonte de produtos naturais produzidos por esses microrganismos e, embora ainda não estejam devidamente esclarecidas as causas da produção dessas toxinas, muitos autores têm assumido que esses compostos tenham função protetora contra herbivoria, como acontece com alguns metabólitos de plantas vasculares (Carmichael 1992). Uma visão mais inovadora encara as cianotoxinas como potenciais moléculas mediadoras em interações de cianobactérias com outros componentes do habitat, como bactérias heterotróficas, fungos, protozoários e algas (Paerl & Millie 1996). Uma possibilidade atraente é que a produção dessas toxinas por cianobactérias esteja relacionada à comunicação intercelular, seja intra ou interespecífica (Kearns & Hunter 2000, Dittmann *et al.* 2001). Um fator complicador para compreensão do papel das cianotoxinas é que uma mesma espécie de cianobactéria, porém em diferentes regiões do planeta, pode produzir diferentes toxinas, como é o caso de *Cylindrospermopsis raciborskii*, produtora de cilindrospermopsina na Austrália (Saker & Griffiths 2000) e de saxitoxinas no Brasil (Lagos *et al.* 1999).

Além da incerteza sobre a função das cianotoxinas, também não é claro qual o papel de fatores ambientais no controle da produção dessas toxinas. Florações em um mesmo corpo d'água podem variar na toxicidade em um curto espaço de tempo, ou até mesmo deixar de ser tóxica. A explicação mais razoável para isso seria uma alternância na composição de cepas tóxicas e não tóxicas. Por outro lado, cepas de cianobactérias podem apresentar uma variação considerável na produção de toxinas quando cultivadas sob diferentes condições laboratoriais. Assim, os fatores ambientais poderiam estar influenciando na produção de cianotoxinas de duas maneiras: i) regulando a abundância das cepas produtoras de toxinas e/ou ii) a produção de toxinas por cepas toxigênicas.

MICROCISTINAS

As microcistinas são as cianotoxinas com maior ocorrência em todo o mundo, portanto, a maioria dos estudos sobre a influência de fatores ambientais vem sendo realizado com cepas produtoras daquelas toxinas. Assim, em condições controladas de laboratório, a produção de microcistinas, por diferentes cepas, principalmente de *M. aeruginosa*, foi avaliada em relação à intensidade luminosa (Wiedner *et al.* 2003), pH (Jähnichen *et al.* 2001), metais (Lukač & Aegerter 1993, Utkilen & Gjølme 1995), fósforo (Oh *et al.* 2000), nitrogênio (Orr & Jones 1998), bem como efeitos interativos do fósforo e nitrogênio (Vézie *et al.* 2002).

Lukač & Aegerter (1993) avaliaram o efeito de vários elementos traços na produção de microcistinas por *M. aeruginosa* e descobriram que apenas zinco e ferro influenciaram significativamente na produção daquelas toxinas. O zinco demonstrou ser necessário para obtenção de ótimas taxa de crescimento e produção de microcistinas. O ferro, por sua vez, em concentrações baixas levou a uma menor taxa de crescimento, por outro lado, estimulou a produção de microcistinas. Utkilen & Gjølme (1995), entretanto, encontraram uma correlação direta entre as concentrações de ferro e de microcistinas. Estes autores constataram que cepas produtoras de microcistinas possuíam um sistema mais eficiente para a absorção de ferro e, portanto, as microcistinas poderiam desempenhar um papel de quelantes intracelulares, mantendo a concentração de ferro disponível mais baixa.

Muitos dos resultados obtidos em diferentes trabalhos sobre a influência de nutrientes (nitrogênio e fósforo) na produção de microcistinas são contraditórios. O fato de terem sido utilizadas diferentes condições de cultivo, cepas, métodos de quantificação de microcistinas, provavelmente, gerou essas incoerências. Watanabe & Oishi (1985), utilizando sistema de cultivo do tipo fechado (*batch*), observaram uma diminuição na toxicidade, avaliada em bioensaios com camundongos, de *M. aeruginosa* cultivada em baixas concentrações de nitrogênio e fósforo. Entretanto, as taxas de crescimento das culturas não variaram. Por outro lado, Orr & Jones (1998) encontraram uma correlação positiva entre a produção de microcistinas por *M. aeruginosa* e a taxa de crescimento sob uma condição limitante de nitrogênio. Estes autores

concluíram que existe uma correlação linear entre a divisão celular e as taxas de produção de microcistinas por todas as espécies, independente do parâmetro ambiental que esteja provocando a limitação da divisão celular. Logo, a concentração intracelular de microcistinas deve permanecer constante em diferentes taxas de crescimento. Para corroborar esta conclusão, os autores utilizaram dados já publicados por Sivonen (1990), que trabalhou com *Oscillatoria agardhii* e Rapala *et al.* (1997), com *Anabaena-flos-aquae*. A produção de microcistinas por essas duas espécies submetidas a diferentes fatores limitantes do crescimento (temperatura, intensidade luminosa, fósforo e nitrogênio) correlacionou-se positivamente com a taxa de crescimento. Portanto, a variação na produção de microcistinas é específica de cada espécie (ou cepa) e é geneticamente determinada (Orr & Jones 1998). Long *et al.* (2001), trabalhando com *M. aeruginosa*, porém em sistema de cultivo contínuo, sob limitação de nitrogênio, também chegaram a essa mesma conclusão, assim como Jähnichen *et al.* (2008). Vézie *et al.* (2002), entretanto, avaliaram o efeito simultâneo de diferentes concentrações de nitrogênio (0,84-84mg.L⁻¹) e fósforo (0,05-5,5mg.L⁻¹) e não encontraram uma correlação entre crescimento e produção de microcistinas por cepas de *Microcystis* spp., uma vez que a concentração intracelular de microcistinas foi maior em culturas com altas e baixas taxas de crescimento. Além disso, as cepas tóxicas e não-tóxicas demonstraram ter respostas diferentes em função da concentração de nutrientes: maiores concentrações de nutrientes favoreceriam um maior crescimento de cepas de *Microcystis* spp. produtoras de microcistinas.

Orr & Jones (1998), Long *et al.* (2001) e Wiedner *et al.* (2003) ressaltam a importância das unidades utilizadas para expressar a concentração de microcistinas nos experimentos realizados. Concentrações de microcistinas expressas em função de componentes celulares (peso seco, proteína, clorofila, etc.) não são adequadas, uma vez que aqueles podem variar independentemente da taxa de crescimento, gerando erros na interpretação dos resultados. O ideal, segundo os autores, é expressar a concentração de microcistinas por células (quota) que, se possível, devem ser corrigidas pelo biovolume.

Essa parece ser a explicação, de acordo com Long *et al.* (2001), para os resultados obtidos por Oh *et al.*

(2000), que mostraram uma correlação negativa entre a produção de microcistinas e a taxa de crescimento em culturas de *M. aeruginosa* crescidas em quemostatos em meio deficiente em fósforo, uma vez que a concentração de microcistinas foi expressa em função do peso seco. Lee *et al.* (2000) concluíram ser possível estimar e monitorar a concentração de microcistinas de *M. aeruginosa* em função da fluorescência *in vivo*, uma vez que a produção de microcistinas teria uma relação direta com a concentração de clorofila-a. Entretanto, a concentração de clorofila-a tende a ser menor sob intensidades luminosas maiores (Fogg & Thake 1987), condição em que, geralmente, a taxa de crescimento aumenta. Ou seja, sendo a concentração intracelular de microcistinas diretamente proporcional a taxa de crescimento (Orr & Jones 1998, Long *et al.* 2001), expressar a concentração desta hepatotóxina em função da clorofila-a ou da fluorescência em *in vivo*, pode levar a obtenção de resultados imprecisos.

A influência da radiação fotossinteticamente ativa (RFA) na produção de microcistinas foi investigada por vários pesquisadores. Watanabe & Oshi (1985) observaram uma redução em torno de quatro vezes na toxicidade – medida por bioensaios com camundongos – de *M. aeruginosa* quando cultivada em 7,53μmol fótons m⁻² s⁻¹ em relação ao cultivo sob 30,1 e 75,3μmol fótons m⁻² s⁻¹. Utkilen & Gjølme (1992), em cultivos contínuos de *M. aeruginosa*, observaram uma relação direta entre a produção de microcistinas e o aumento da intensidade luminosa. Todavia, para *Oscillatoria agardhii*, Sivonen (1990) reportou uma maior concentração de microcistinas por unidade de peso seco em intensidades luminosas mais baixas (12 e 24μmol fótons m⁻² s⁻¹).

As microcistinas são produzidas por uma via não-ribossomal através da ação de enzimas, denominadas sintetases de peptídeos não-ribossomais, que são responsáveis pela incorporação dos aminoácidos na molécula (Dittmann *et al.* 1997, Tillett *et al.* 2000). As sintetases de microcistinas, por sua vez, são codificadas por genes do cluster *myc*. Kaebernick *et al.* (2000) observaram um aumento na transcrição dos genes *mycB* e *mycD* quando *M. aeruginosa* foi submetida a um aumento da intensidade luminosa e quando cultivada sob luz vermelha, demonstrando, portanto, uma ligação entre a síntese de microcistinas e RFA. Wiedner *et al.* (2003) demonstraram que o aumento da intensidade luminosa teve um efeito positivo na concentra-

ção intracelular de microcistinas em *M. aeruginosa* cultivada em sistema contínuo. Os autores observaram que a concentração intracelular aumentou até a taxa de crescimento máxima ter sido atingida, a $80\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Elevações na intensidade luminosa acima deste valor mantiveram a taxa de crescimento máxima, porém levaram a uma redução na concentração intracelular de microcistinas. Esses resultados demonstraram, portanto, que as microcistinas não são necessárias para o crescimento celular, conclusão corroborada pelos experimentos com um mutante da cepa PCC 7806 de *M. aeruginosa* (modificada geneticamente para não produzir microcistinas), que ao ser submetida a diferentes intensidades luminosas, apresentou as mesmas taxas de crescimento que a cepa PCC 7806 não-mutante (Hesse *et al.* 2001).

Vários resultados, alguns já citados acima, sugerem que as microcistinas têm um provável papel na regulação fotossintética, inclusive pelo fato de que as maiores concentrações daquela toxina são encontradas nas membranas dos tilacóide (Shi *et al.* 1995, Young *et al.* 2005). Bittencourt-Oliveira *et al.* (2005) constataram um padrão na produção de microcistinas em *M. panniformis*, cuja concentração intracelular chegava ao seu máximo sempre no meio do período luminoso, independente do fotoperíodo de 12 ou 24 horas a que as culturas eram submetidas. Os autores associaram este padrão a um ritmo biológico, uma vez que as cianobactérias possuem um ciclo circadiano bem definido, o qual é independente do ciclo celular.

Por outro lado, estes resultados foram interpretados por Jähnichen *et al.* (2007) como uma resposta a uma baixa concentração de carbono inorgânico intracelular (Cii), uma vez que essas toxinas, de acordo com estes autores, desempenhariam um papel relacionado à regulação do Cii. Jähnichen *et al.* (2007) demonstraram, em uma série de experimentos, que a concentração intracelular de microcistinas sempre se elevava quando os cultivos de *M. aeruginosa* eram submetidos a condições que desfavoreciam o acúmulo de carbono inorgânico intracelular. Por exemplo, logo após o final do período escuro dos cultivos, quando a concentração de Cii é baixa, Wiedner *et al.* (2003), Bittencourt-Oliveira *et al.* (2005) e Jähnichen *et al.* (2007) observaram baixas concentrações intracelulares de microcistinas, que aumentavam ao longo do período luminoso,

juntamente com a concentração do Cii. Neste caso, a produção dessas toxinas representaria uma vantagem em relação às espécies e/ou cepas de cianobactérias que não as produzem, a não ser que essas últimas tenham desenvolvido mecanismos de compensação. Um desses mecanismos, por exemplo, poderia ser a síntese de outros peptídeos (anabaenopeptinas, microviridina e aeruginosina) que se equivaleriam em função com as microcistinas, contudo, não seriam tóxicos aos vertebrados (Repka *et al.* 2004, Nishizawa *et al.* 2007, Rohrlack & Utkilen 2007).

SAXITOXINAS

Como já mencionado, a maioria dos estudos realizados com espécies de cianobactérias produtoras de toxinas focaram aquelas produtoras de microcistinas, em virtude da maior frequência dessas toxinas nos eventos de florações nos ecossistemas aquáticos continentais. Poucos trabalhos foram realizados para verificar a influência dos parâmetros ambientais na produção das demais cianotoxinas. Pomati *et al.* (2003) avaliaram a influência de lidocaína, um anestésico de uso médico e veterinário, na produção de saxitoxinas por *C. raciborskii*. Os autores encontraram uma relação positiva entre a lidocaína, concentração intracelular de saxitoxinas e o crescimento celular. Porém, a dose-resposta foi diferente, mostrando uma independência dos mecanismos que levaram a um maior crescimento e a uma maior produção de saxitoxinas. Os mecanismos que levaram a uma maior taxa de crescimento e uma maior produção de toxinas, entretanto, não foram esclarecidos. Uma hipótese seria uma regulação exercida pelas saxitoxinas na concentração intracelular de sódio ou do pH, uma vez que os efeitos da lidocaína mostraram ser dependentes desses dois parâmetros. Ferrão-Filho *et al.* (2008) mostraram que saxitoxinas produzidas por *C. raciborskii* causam efeitos paralisantes nos movimentos natatórios em cladóceros, o que poderia explicar um possível papel anti-herbivoria dessas toxinas. Kellmann *et al.* (2008) descreveram o provável cluster (*stx*) de genes responsáveis pela biossíntese de saxitoxinas em *C. raciborskii*. A descoberta desse cluster e os mecanismos relacionados à sua regulação irão auxiliar na compreensão da função fisiológica das saxitoxinas tanto em cianobactérias como em dinoflagelados.

ANATOXINA-A

Rapala *et al.* (1993) avaliaram a influência de diferentes parâmetros ambientais na produção de anatoxina-a por *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena mendotae* e *Aphanizomenon flos-aquae* cultivadas em sistema tipo *batch* (fechado). A temperatura foi o parâmetro que mais influenciou na produção de anatoxina-a. As maiores concentrações desta toxina foram encontradas nos cultivos sob as menores temperaturas (15 e 20°C), enquanto que sob 25 e 30°C a concentração de anatoxina-a foi menor, principalmente sob esta última.

No mesmo artigo, os autores observaram que a produção de anatoxina-a foi menor nas três espécies quando cultivadas sob baixa intensidade luminosa (2 μmol fóton m⁻² s⁻¹). Sob 26 e 44 μmol fóton m⁻² s⁻¹, a produção de anatoxina-a aumentou nas duas espécies de *Anabaena*, diminuindo novamente a 128 μmol fóton m⁻² s⁻¹. Nos cultivos de *Aphanizomenon flos-aquae*, a maior produção de anatoxina-a ocorreu sob 128 μmol fóton m⁻² s⁻¹. Diferentes concentrações de fósforo (0,05-5,5 mg L⁻¹) não influenciaram na produção de anatoxina-a por nenhuma das três espécies. Quando a produção de anatoxina-a foi avaliada em relação à fonte de nitrogênio no meio de cultura, aquela foi ligeiramente superior nos cultivos cujas fontes de nitrogênio foram NH₄⁺ e N₂ e menor nos cultivos com NO₃⁻ e uréia. No caso da concentração de nitrato, quanto maior foi a sua concentração no meio de cultura, menor foi a produção de toxina pelas três espécies (Rapala *et al.* 1993). Resultados similares também foram obtidos por Bumke-Vogt *et al.* (1996), que observaram uma maior produção de anatoxina-a por *Anabaena flos-aquae*, durante a fase exponencial de crescimento, em meio de cultura com menor concentração de nitrato. Rapala *et al.* (1993) concluem que o crescimento das três espécies foi independente da concentração de anatoxina-a e que o mecanismo controlador da produção desta toxina parece ser mais uma característica da espécie e/ou da cepa.

Rapala & Sivonen (1998) avaliaram o efeito da intensidade luminosa e temperatura na produção de anatoxina-a por duas cepas de *Anabaena* em sistema contínuo de cultivo. Ambas as cepas demonstraram produzir mais toxina entre 20-25°C e sob intensidades luminosas mais elevadas, condições, porém, sub-

ótimas para o crescimento. Corroborando com o trabalho de Rapala *et al.* (1993), os autores ressaltam que, apesar dos parâmetros ambientais estudados influenciarem na produção de anatoxina-a, o controle da sua produção é específico de cada cepa.

Fato importante mencionado nos três trabalhos citados anteriormente é que anatoxina-a parece ser excretada naturalmente para o meio, e não quando há lise celular, como é característico das demais cianotoxinas. Durante os cultivos, em determinados períodos de crescimento, as maiores concentrações de anatoxina-a eram encontradas no meio de cultura. Esta característica pode ter um importante papel ecológico, uma vez que os organismos aquáticos seriam expostos a esta toxina mesmo sem consumir as células de cianobactérias. Além disso, no caso de reservatórios de abastecimento, passa a ser importante o monitoramento da concentração desta toxina não somente no séston, mas também na água.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Como já mencionado, a maioria dos trabalhos publicados sobre cianobactérias produtoras de toxinas tem tratado da compreensão dos mecanismos fisiológicos e do papel dos fatores ambientais envolvidos no controle da produção das microcistinas, uma vez que são as cianotoxinas com o maior número de registros em todo o mundo. Apesar dos esforços, entretanto, ainda não há uma clareza sobre sua função nem como sua produção é controlada.

A partir dos trabalhos realizados no Brasil, constatou-se a ocorrência de florações tóxicas em todas as regiões e que das cianotoxinas conhecidas, apenas não há registro, ainda, da ocorrência de anatoxina-a e nodularina. Porém, há uma maior predominância de florações de cianobactérias tóxicas produtoras de microcistinas e saxitoxinas. Fica claro, portanto, a necessidade da manutenção e da ampliação das pesquisas realizadas com cianobactérias visando, dentre outros aspectos, melhor compreender as características ecológicas e fisiológicas que levam esses organismos produzir tais toxinas.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, D. 1994. Red tides. *Scientific American*, August: 52-58.

- APELDOORN, M.E.; EGMOND, H.P.; SPEIJERS, G.J.A & BAKKER, G.J.I. 2007. Toxins of cyanobacteria. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51: 7-60.
- AZEVEDO, S.M.F.O.; EVANS, W.R.; CARMICHAEL, W.W. & NAMIKOSHI, M. 1994. First report of microcystins from a Brazilian isolate of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Applied Phycology*, 6: 261-265.
- AZEVEDO, S.M.F.O.; CARMICHAEL, W.W.; JOCHIMSEN, E.; RINEHART, K.; LAU, S.; SHAW, G. & EAGLESHAM, G. 2002. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru - Brazil. *Toxicology*, 181: 441-446.
- BALLOT, A.; KRIENITZ, L.; KOTUT, K.; WIEGAND, C.; METCALF, J.S.; CODD, G.A. & PFLUGMACHER, S. 2004. Cyanobacteria and cyanobacterial toxins in three alkaline Rift Valley lakes of Kenya - Lakes Bogoria, Nakuru and Elmenteita. *Journal of Plankton Research*, 26: 925-935.
- BANKER, R.; CARMELI, S.; HADAS, O.; TELSCH, B.; PORAT, R. & SUKENIK, A. 1997. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon Ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *Journal of Phycology*, 33: 613-616.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; KUJBIDA, P.; CARDOZO, K.H.M.; CARVALHO, V.M.; MOURA, A.N.; COLEPICOLO, P. & PINTO, E. 2005. A novel rhythm of microcystin biosynthesis is described in the cyanobacterium *Microcystis panniformis* Komárek *et al.* *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 326: 687-694.
- BUMKE-VOGT, C.; MAILAHN, W.; ROTARD, W. & CHORUS, I. 1996. A highly sensitive analytical method for the neurotoxin anatoxin-a, using GC-ECD, and first application to laboratory studies. *Phycologia*, 35 (6 supplement): 51-56.
- BURCH, M. & HUMPAGE, A. 2005. Regulation and management of cyanobacteria. Pp 9-20. In: I. Chorus, (ed.), Current approaches to cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries. Federal Environmental Agency, Dessau. 122p.
- CARMICHAEL, W.W. 1992. Cyanobacteria secondary metabolites - the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology*, 72: 445-459.
- CARMICHAEL, W. W. 1994. The Toxins of Cyanobacteria. *Scientific American*, 270: 64-72.
- CARMICHAEL, W.W.; BEASLEY, V.R.; BUNNER, D.L.; ELOFF, J.N.; FALCONER, I.R.; GORHAM, P.R.; HARADA, K.-I.; KRISHNAMURTHY, T.; JUAN, Y.M.; MOORE, R.E.; RINEHART, K.L.; RUNNEGAR, M.T.C.; SKULBERG, O.M. & WATANABE, M.F. 1988. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*, 26: 971-973.
- CARMICHAEL, W.W.; AZEVEDO, S.M.F.O.; AN, J.S.; MOLICA, R.J.R.; JOCHIMSEN, E.M.; LAU, S.; RINEHART, K.L.; SHAW, G.R. & EAGLESHAM, G.K. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, 109: 663-668.
- CHORUS, I., BARTRAM, J. 1999. *Toxic Cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN SPON, New York. 416p.
- DITTMANN, E.; NEILAN, B.A.; ERHARD, M.; DÖHREN, H. & BÖRNER, T. 1997. Insertional mutagenesis of a peptide synthetase gene that is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Molecular Microbiology*, 26: 779-787.
- DITTMANN, E.; ERHARD, M.; KAEBERNICK, M.; SCHELER, C.; NEILAN, B.; VON DÖHREN, H. & BÖRNER, T. 2001. Altered expression of two light-dependent genes in a microcystin-lacking mutant of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Microbiology*, 147: 3119-3133.
- DOMINGOS, P.; RUBIM, T.K.; MOLICA, R.J.R.; AZEVEDO, S.M.F.O. & CARMICHAEL, W.W. 1999. First report of microcystin production by picoplanktonic cyanobacteria isolated from a northeast Brazilian drinking water supply. *Environmental Toxicology*, 14: 31-35.
- EDWARDS, C.; BEATTIE, K.A.; SCRIMGEOUR, C.M. & CODD, G.A. 1992. Identification of anatoxin-a in benthic cyanobacteria (blue-green algae) and in associated dog poisonings at Loch Insh, Scotland. *Toxicon*, 30: 1165-1175.
- ERIKSSON, J.E.; GRÖNBERG, L.; NYGARD, S.; SLOTTE, J.P. & MERILUOTO, J.A.O. 1990. Hepatocellular uptake of 3H-dihydromicrocystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Biochimica Biophysica Acta*, 1025: 60-66.
- FALCONER, I.R. 1991. Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal* 6: 177-184.
- FALCONER, I.R.; BURCH, M.D.; STEFFENSEN, D.A.; CHOICE, M. & COVERDALE, O.R. 1994. Toxicity of the blue-green alga (Cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal*, 9: 131-139.
- FALCONER, I.R. 1998. Algal toxins and humans health. Pp 53-82. In: J. Hrubec, J. (ed.). Quality and treatment of drinking

- water II - The Handbook of Environmental Chemistry, 5 part C., Springer-Verlag, Berlin, 195p.
- FALCONER, I.R. & HUMPAGE, A.R. 2001. Preliminary evidence for in vivo tumour Initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, 16: 192-195.
- FAWELL, J.K., JAMES, C.P.; & JAMES, H.A. 1994. *Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water*. Medmenham, UK, Water Research Centre. FR0359/2/DoE 3. Foundation for Water Research, Marlow. 46p.
- FERRÃO-FILHO, A.S.; COSTA, S.M.; RIBEIRO, M.G.L. & AZEVEDO S.M.F.O. 2008. Effects of a saxitoxin-producer strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) on the swimming movements of cladocerans. *Environmental Toxicology*, 23: 161-168.
- FITZGERALD, D.; CUNLIFFE, D. & BURCH, M. 1999. Development of health alerts for cyanobacteria and related toxins in drinking-Water in South Australia. *Environmental Toxicology*, 14: 203-207.
- FOGG, G.E. & THAKE, B. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. University of Wisconsin Press, 269p.
- FROSCIO, S.M.; HUMPAGE, A.R.; BURCHAM, P.C. & FALCONER, I.R. 2001. Cell-free protein synthesis inhibition assay for the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin. *Environmental Toxicology*, 16: 408-412.
- FUJIKI, H. 1992. Is the inhibition of protein phosphatase 1 and 2A activities a general mechanism of tumor promotion in human cancer development? *Molecular Carcinogenesis*, 5: 91-94.
- GUGGER, M.; LENOIR, S.; BERGER, C.; LEDREUX, A.; DRUART, J.-C.; HUMBERT, J.F.; GUETTE, C. & BERNARD, C. 2005. First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon*, 45: 919-928.
- HALLEGRAEFF, G.M. 2003. Harmful algal blooms: a global overview. Pp 25-49. In: G.M. Hallegraeff, D. M Anderson & A. D Cembella (eds.). Manual on harmful marine microalgae. Monographs on oceanographic methodology, 11, UNESCO. 793p.
- HARADA, K.-I.; OGAWA, K.; MATSUURA, K.; MURATA, H.; SUZUKI, M.; WATANABE, M.; ITEZONO, Y. & NAKAYAMA, N. 1990. Structural determination of geometrical isomers of microcystins LR and RR from cyanobacteria by two-dimensional NMR spectroscopic techniques. *Chemical Research Toxicology*, 3: 473-481.
- HARADA, K.-I.; OHTANI, I.; IWAMOTO, K.; SUZUKI, M.; WATANABE, M.F.; WATANABE, M. & TERAOKA, K. 1994. Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicon*, 32: 73-84.
- HESSE, K.; DITTMANN, E. & BORNER T. 2001. Consequences of impaired microcystin production for light-dependent growth and pigmentation of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *FEMS Microbiology Ecology*, 37: 39-43.
- HOOSER, S.B.; BEASLEY, V.R.; WAITE, L.L.; KUHLENSCHMIDT, M.S.; CARMICHAEL, W.W. & HASCHEK, W.M. 1991. Actin filament alterations in rat hepatocytes induced in vivo and in vitro by microcystin-LR, a hepatotoxin from blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Veterinary Pathology*, 28: 259-266.
- HUMPAGE, A. & FALCONER, I.R. 1999. Microcystin-LR and liver tumor promotion: effects on cytokinesis, ploidy, and apoptosis in cultured hepatocytes. *Environmental Toxicology*, 14: 61-75.
- HUMPAGE, A.R.; FENECH, M.; THOMAS, P. & FALCONER, I.R. 2000a. Micronucleus induction and chromosome loss in transformed human white cells indicate clastogenic and aneugenic action of the cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Mutation Research*, 472: 155-161.
- HUMPAGE, A.R.; HARDY, S.J.; MOORE, E.J.; FROSCIO, S.M. & FALCONER, I.R. 2000b. Microcystins (Cyanobacterial Toxins) in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon. *Toxicology and Environmental Health*, 61: 155-165.
- HUMPAGE, A.R. & FALCONER, I.R. 2003. Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss Albino mice: determination of No Observed Adverse Effect Level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology*, 18: 94-103.
- JÄHNICHEN, S.; PETZOLDT, T & BENNDORF, J. 2001. Evidence for control of microcystin dynamics in Bautzen reservoir (Germany) by cyanobacterial population growth rates and dissolved inorganic carbon. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 150: 177-196.
- JÄHNICHEN, S.; IHLE, T.; PETZOLDT, T. & BENNDORF, J. 2007. Impact of inorganic carbon availability on microcystin production by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 6994-7002.

- JÄHNICHEN, S.; IHLE, T. & PETZOLDT, T. 2008. Variability of microcystin cell quota: A small model explains dynamics and equilibria. *Limnologia*, 38: 339-349.
- JOCHIMSEN, E.M.; CARMICHAEL, W.W.; AN, J.; CARDO, D.M.; COOKSON, S.T.; HOLMES, C.E.M.; ANTUNES, B.C.; MELO FILHO, D.A.; LYRA, T.M.; BARRETO, V.S.T.; AZEVEDO, S.M.F.O. & JARVIS, W.R. 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *The New England Journal of Medicine*, 338: 873-878.
- KAEBERNICK, M.; NEILAN, B.A.; BÖRNER, T. & DITTMANN, E. 2000. Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 3387-3392.
- KEARNS, K.D.; HUNTER, M.D. 2000. Green algal extracellular products regulate antialgal toxin production in a cyanobacterium. *Environmental Microbiology*, 2: 291-297.
- KELLMANN, R.; MIHALI, T.K.; JEON, Y.J.; PICKFORD, R.; POMATI, F. & NEILAN, B.A. 2008. Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 4044-4053.
- LAGOS, N.; ONODERA, H.; ZAGATTO, P.A.; ANDRINOLO D.; AZEVEDO, S.M.F.O. & OSHIMA, Y. 1999. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon*, 37: 1359-1373.
- LAMBERT, T.W.; HOLMES, C.F.B. & HRUDEY, S.E. 1994. Microcystin class of toxins: health effects and safety of drinking water supplies. *Environmental Reviews*, 2: 167-186.
- LEE, S.J.; JANG, M.H.; KIM, H.-S.; YOON, B.D. & OH, H.M. 2000. Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N:P ratio and growth stage. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 323-329.
- LI, R.; CARMICHAEL, W.W.; BRITAIN, S.; EAGLESHAM, G.K.; SHAW, G.R.; LIU, Y. & WATANABE, M.M. 2001. First report of the cyanotoxins cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis curvata* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 37: 1121-1126.
- LONG, B.M.; JONES, G.J. & ORR, P.T. 2001. Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rates. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 278-283.
- LUKAČ, M. & AEGERTER, R. 1993. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, 31: 293-305.
- MAHMOOD, N.A. & CARMICHAEL, W.W. 1986. The pharmacology of anatoxin-a(s), a neurotoxin produced by the freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17. *Toxicon*, 24: 425-434.
- MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K.A.; YUNES, J.S.; KAYA, K. & CODD, G.A. 2000. [D-Leu(1)]microcystin-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST 9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *Phytochemistry*, 55: 383-387.
- MERILUOTO, J. & CODD, G.A. 2005. *Toxic Cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. Åbo Akademi University Press. 149p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2004. Portaria nº 518, 25 de março de 2004, Brasil
- MOLICA, R.J.R.; ONODERA, H.; GARCÍA, C.; RIVAS, M.; ANDRINOLO, D.; NASCIMENTO, S. M.; MEGURO, H.; OSHIMA, Y.; AZEVEDO, S.M.F.O. & LAGOS, N. 2002. Toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) isolated from Tabocas reservoir in Caruaru, Brazil, including demonstration of a new saxitoxin analogue. *Phycologia* 41: 606-611.
- MOLICA, R.J.R.; OLIVEIRA, E.J.A.; CARVALHO, P.V.V.C.; COSTA, A.N.S.F.; CUNHA, M.C.C.; MELO, G.L. & AZEVEDO, S.M.F.O. 2005. Occurrence of saxitoxins and anatoxin-a(s)-like anticholinesterase in a Brazilian drinking water supply. *Harmful Algae*, 4: 743-753.
- MONSERRAT, J.M.; YUNES, J.S. & BIANCHINI, A. 2001. Effects of *Anabaena Spiroides* (Cyanobacteria) aqueous extracts on the acetylcholinesterase activity of aquatic species. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 20: 87-94.
- NAMIKOSHI, M.; MURAKAMI, T.; WATANABE, M.F.; ODA, T.; YAMADA, J.; TSUJIMURA, S.; NAGAI, H. & OISHI, S. 2003. Simultaneous production of homoanatoxin-a, anatoxin-a, and a new non-toxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja. *Toxicon*, 42: 533-538.
- NISHIWAKI-MATSUSHIMA, R.; OHTA, T.; NISHIWAKI, S.; SUGANUMA, M.; KOHYAMA, K.; ISHIKAWA, T.; CARMICHAEL, W.W. & FUJIKI, H. 1992. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 118: 420-424.
- NISHIZAWA, A.; BIN ARSHAD, A.; NISHIZAWA, T.; ASAYAMA, M.; FUJII, K.; NAKANO, T.; HARADA, K.-I. &

- SHIRAI, M. 2007. Cloning and characterization of a new hetero-gene cluster of nonribosomal peptide synthetase and polyketide synthase from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* K-139. *Journal of General and Applied Microbiology*, 53: 17-27.
- NORRIS, R.L.; EAGLESHAM, G.K.; PIERENS, G.; SHAW, G.R.; SMITH, M.J.; CHISWELL, R.K.; SEAWRIGHT, A.A. & MOORE, M.R. 1999. Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology*, 14: 163-165
- OH, H.M.; LEE, S.J.; JANG, M.H. & YOON, B.D. 2000. Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 176-179.
- OHTANI, I.; MOORE, R.E. & RUNNEGAR, M.T.C. 1992. Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of American Chemical Society*, 114: 7941-7942.
- ORR, P.T. & JONES, G.J. 1998. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures. *Limnology and Oceanography*, 43: 1604-1614.
- PAERL H.W. & MILLIE, D.F. 1996. Physiological ecology of toxic aquatic cyanobacteria. *Phycologia*, 35(6 suppl.): 160-167.
- PAERL, H.W. & HUISMAN, J. 2008. Blooms like it hot. *Science*, 320: 57-58.
- POMATI, F.; NEILAN, B.A.; SUZUKI, T.; MANAROLLA, G. & ROSSETTI, C. 2003. Enhancement of intracellular saxitoxin accumulation by lidocaine hydrochloride in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* T3 (Nostocales). *Journal of Phycology*, 39: 535-542.
- PREUBEL, K.; STÜKEN, A.; WIEDNER, C.; CHORUS, I. & FASTER, J. 2006. First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon*, 47: 156-162.
- RAPALA, J. & SIVONEN, K. 1998. Assessment of environmental conditions that favor hepatotoxic and neurotoxic *Anabaena* spp. Strains cultured under light limitation at different temperatures. *Microbial Ecology*, 36: 181-192.
- RAPALA, J.; SIVONEN, K.; LUUKKAINEN, R.; & NIEMELA, S.I. 1993. Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena* strains - a laboratory study. *Journal of Applied Phycology*, 5: 581-591.
- RAPALA, J.; SIVONEN, K.; LYRA, C. & NIEMELA, S.I. 1997. Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 2206-2212.
- REPKA, S.; KOIVULA, M.; HARJUNPA, V.; ROUHIAINEN, L. & SIVONEN, K. 2004. Effects of phosphate and light on growth of and bioactive peptide production by the cyanobacterium *Anabaena* strain 90 and its anabaenopeptilide mutant. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 4551-4560.
- RINEHART, K.L.; NAMIKOSHI, M. & CHOI, B.W. 1994. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *Journal of Applied Phycology*, 6: 159-176.
- ROHRLACK, T. & UTKILEN, H. 2007. Effects of nutrient and light availability on production of bioactive anabaenopeptins and microviridin by the cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. *Hydrobiologia*, 583: 231-240.
- RÜCKER, J.; STÜKEN, A.; NIXDORF, B.; FASTNER, J.; CHORUS, I. & CLAUDIA, W. 2007. Concentrations of particulate and dissolved cylindrospermopsin in 21 *Aphanizomenon*-dominated temperate lakes. *Toxicon*, 50: 800-809.
- RUNNEGAR, M.T.C.; FALCONER, I.R. & SILVER, J. 1981. Deformation of isolated rat hepatocytes by a peptide hepatotoxin from the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Archives of Pharmacology*, 317: 268-272.
- SAKER, M.L. & GRIFFITHS, D.J. 2000. The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia*, 39: 349-354.
- SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; WERNER, V.R.; DOGO, C.R.; RIOS, F.R. & CARVALHO, L.R. 2008. Review of toxic species of cyanobacteria in Brazil. *Algological Studies*, 126: 251-265.
- SCHEMBRI, M.A.; NEILAN, B.A. & SAINT, C.P. 2001. Identification of genes implicated in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology*, 16: 413-421.
- SEAWRIGHT, A.A.; NOLAN, C.C.; SHAW, G.R.; CHISWELL, R.K.; NORRIS, R.L.; MOORE, M.R. & SMITH, M.J. 1999. The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology*, 14: 135-142.
- SEIFERT, M.; MCGREGOR, G.; EAGLESMAN, G.; WICKRAMASINGHE, W. & SHAW, G. 2007. First

- evidence for the production of cylindrospermopsin and deoxy-cylindrospermopsin by the freshwater benthic cyanobacterium, *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) Speziale and Dyck. *Harmful Algae*, 6: 73-80.
- SHAW, G.R.; SUKENIK, A.; LIVNE, A.; CHISWELL, R.K.; SMITH, M.J.; SEAWRIGHT, A.A.; NORRIS, R.L.; EAGLESHAM, G.K. & MOORE, M.R. 1999. Blooms of the cylindrospermopsin containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti), in newly constructed lakes, Queensland, Australia. *Environmental Toxicology*, 14: 167-177.
- SHAW, G.; SEAWRIGHT, A.; SHAHIN, M.; SENOGLES, P.; MUELLER, J. & MOORE, M. 2000. The cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin: Human health risk assessment. Pp 56. In: 9th International Conference on Harmful Algal Blooms, Hobart, Australia. 518p.
- SHEN, X.Y.; LAM, P.S.K.S.; SHAW, G. & WICKRAMASINGHE, W. 2002. Genotoxicity investigation of a cyanobacterial toxin, cylindrospermopsin. *Toxicon*, 40: 1499-1501.
- SHI, L.; CARMICHAEL, W.W. & MILLER, I. 1995. Immunogold localization of hepatotoxins in cyanobacterial cells. *Archives of Microbiology*, 163: 7-15.
- SIVONEN, K.; HIMBERG, K.; LUUKKAINEN, R.; NIEMELAE, S.I.; POON, G.K. & CODD, G.A. 1989a. Preliminary characterization of neurotoxic in cyanobacteria blooms and strains from Finland. *Toxicology Assessement*, 4: 339-352.
- SIVONEN, K.; KONONEN, K.; CARMICHAEL, W.W.; DAHLEM, A.M.; RINEHART, K.L.; KIVIRANTA, J. & NIEMELA, S.I. 1989b. Occurrence of the hepatotoxic cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic Sea and structure of the toxin. *Applied Environmental Microbiology*, 55: 1990-1995.
- SIVONEN, K. 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Applied Environmental Microbiology*, 56: 2658-2666.
- SPOOF, L.; BERG, K.A.; RAPALA, J.; LAHTI, K.; LEPISTO, L.; METCALF, J.S.; CODD, G.A. & MERILUOTO, J. 2006. First observation of cylindrospermopsin in *Anabaena lapponica* isolated from the boreal environment (Finland). *Environmental Toxicology*, 21: 552-560.
- SU, Z.; SHEETS, M.; ISHIDA, H.; LI, F.; BARRY, W.H. 2004. Saxitoxins blocks L-type Ica. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308: 324-329.
- TERAO, K.; OHMORI, S.; IGARASHI, K.; OHTANI, I.; WATANABE, M.G.; HARADA, K-I.; ITO, E. & WATANABE, M. 1994. Electron microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green algae *Umezakia natans*. *Toxicon*, 32: 833-843.
- TILLET, D.; DITTMANN, E.; ERHARD, M.; VON DOHREN, H.; BORNER, T. & NEILAN, B.A. 2000. Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chemistry & Biology*, 7: 753-764.
- TUNDISI, J.G. 2003. *Água no século XXI: enfrentando a escassez*. : Rima, São Carlos. 248 p.
- UTKILEN, H. & GJØLME, N. 1992. Toxin production by *Microcystis aeruginosa* as a function of light in continuous cultures and its ecological significance. *Applied Environmental Microbiology*, 58: 1321-1325.
- UTKILEN, H. & GJØLME, N. 1995. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Applied Environmental Microbiology*, 61: 797-800.
- VÉZIE, C.; RAPALA, J.; VAITOMAA, J.; SEITSONEN, J. & SIVONEN, K. 2002. Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and non toxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations. *Microbial Ecology* 43: 443-454.
- VIAGGIU, E.; MELCHIORRE, S.; VOLPI, F.; DI CORCIA, A.; MANCINI, R.; GARIBALDI, L. CRICHIGNO, G. & BRUNO, M. 2004. Anatoxin-a toxin in the cyanobacterium *Planktothrix rubescens* from a fishing pond in northern Italy. *Environmental Toxicology*, 19: 191-197.
- VIEIRA, J.M.D.; AZEVEDO, M.T.D.; AZEVEDO, S.M.F.O.; HONDA, R.Y. & CORREA, B. 2003. Microcystin production by *Radiocystis fernandoi* (Chroococcales, Cyanobacteria) isolated from a drinking water reservoir in the city of Belem, PA.) Brazilian Amazonia region. *Toxicon*, 42: 709-713.
- WANG, J.; SALATA, J.J. & BENNETT, P.B. 2003. Saxitoxin is a gating modifier of hERG K⁺ Channels. *Journal of General Physiology*, 121: 583-598.
- WATANABE M.F. & OSHI, S. 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 49: 1342-1344.
- WHITTON, B.A. & POTTS, M. 2000. The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. Dordrecht, Kluwer, 669p.

WHO. 1998. *Guidelines for drinking-water quality: Recommendations*. World Health Organization, Geneva, 188p.

WHO. 2004. *Guidelines for drinking-water quality*, Vol. 1: Recommendations. World Health Organization, Geneva. 366p.

WIEDNER, C.; VISSER, P.M.; FASTNER, J.; METCALF, J.S.; CODD, G.A. & MUR, L.R. 2003. Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1475-1481.

WOOD, S.A.; RASMUSSEN, J.P.; HOLLAND, P.T.; CAMPBELL, R. & CROWE, A.L.M. 2007. First report of the cyanotoxin anatoxin-a from *Aphanizomenon issatschenkoi* (Cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 43: 356-365.

YOUNG, F.; THOMSON, C.; METCALF, J.S.; LUCOCQ, J.M. & CODD, G.A. 2005. Immunogold localisation of microcystins in cryosectioned cells of *Microcystis*. *Journal of Structural Biology*, 151: 208-214.

Submetido em 19/02/2009.

Aceito em 15/03/2009.