



Acta Scientiarum. Biological Sciences

ISSN: 1679-9283

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

Arroteia Fonseca, Iraúza; Cintra Maniglia, Thiago; Rodrigues, Liliana; Prioli, Alberto José; Alves Pinto  
Prioli, Sônia Maria

Identificação do gene mcyA em florações naturais de Radiocystis fernandoi, em um tributário do  
reservatório de Rosana, Brasil

Acta Scientiarum. Biological Sciences, vol. 33, núm. 3, 2011, pp. 219-224  
Universidade Estadual de Maringá  
.png, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=187121350010>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

## Identificação do gene *mcyA* em florações naturais de *Radiocystis fernandoi*, em um tributário do reservatório de Rosana, Brasil

Iraúza Arroteia Fonseca, Thiago Cintra Maniglia, Liliana Rodrigues, Alberto José Prioli e Sônia Maria Alves Pinto Prioli

Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. \*Autor para correspondência.  
E-mail: irauzaf@hotmail.com

**RESUMO.** As cianobactérias são conhecidamente produtoras de toxinas. Dentro de uma mesma espécie, podemos encontrar variedades tóxicas e não-tóxicas, impossíveis de diferenciação apenas pela morfologia. A principal toxina produzida pelas cianobactérias é a microcistina. Esta proteína é biosintetizada por um grupo de genes conhecidos como *mcy*. A detecção destes genes a partir de PCR permite a distinção das variedades tóxicas e não-tóxicas. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi investigar a ocorrência de florações produtoras de toxinas em um rio tributário do reservatório de Rosana, via amplificação do gene *mcyA* por PCR. Foram coletadas duas amostras de água da subsuperfície. As duas amostras coletadas no rio do Corvo foram dominadas pela espécie *Radiocystis fernandoi* e apresentaram resultados positivos para a presença do gene *mcyA*, confirmando o potencial tóxico dessa espécie. Os resultados representam alerta sobre a qualidade da água do rio do Corvo. A técnica PCR foi eficiente para a rápida detecção de cianobactérias produtoras de toxinas, inclusive podendo ser utilizada antes mesmo do agravamento das condições ambientais pela produção de toxinas, além de apresentar baixo custo.

**Palavras-chave:** cianobactéria, toxina, PCR, *Radiocystis fernandoi*, *mcyA*.

**ABSTRACT.** Identification of the *mcyA* gene in natural blooms of *Radiocystis fernandoi* from a tributary of the Rosana reservoir, Brazil. Cyanobacteria are known as toxin producers. Within the same species, toxic and non-toxic varieties can be found and it is impossible to differentiate them only by morphology. The most important toxin produced by cyanobacteria is microcystin. This protein is synthesized by a cluster of genes known as *mcy*. The detection of these genes by PCR allows the differentiation of the producing toxin strain from the non-producing toxin strain. Thus, the goal of this work was to investigate the occurrence of toxicogenic blooms of cyanobacteria in the Corvo River through PCR amplification of *mcyA* gene. For this, two samples of blooms of cyanobacteria were collected in Corvo River. Both samples were dominated by *Radiocystis fernandoi* and presented positive results for the presence of the *mcyA* gene, which may confirm the potential toxicogenicity for that species. These results are an alert about water quality in the Corvo River. Here we demonstrate that amplification of the *mcyA* gene by PCR is a fast, cheap and efficient method for the detection of toxin-producing cyanobacteria.

**Keywords:** cyanobacteria, toxins, PCR, *Radiocystis fernandoi*, *mcyA*.

### Introdução

As florações das algas são resultado de interações entre fatores físicos, químicos e bióticos, caracterizadas por um crescimento explosivo, autolimitante e de curta duração dos microrganismos de uma ou poucas espécies, frequentemente produzindo colorações visíveis nos corpos d'água (TORGAN, 1989).

O gênero colonial *Radiocystis*, descrito por Skuja (1948) pertence à família Synechocaceae, conforme o sistema de classificação de Komárek e Anagnostidis (1999). *Radiocystis fernandoi* Komárek & Komárková-Legnerová é uma espécie planctônica de ocorrência

tropical. Esta espécie foi descrita baseado em material de um reservatório mesotrófico localizado no Estado de São Paulo, Brasil. Também foi encontrada no rio do Corvo, tributário do Reservatório de Rosana (rio Parapananema), durante o outono de 2007. Komárek (2003) também registrou sua ocorrência na Indonésia, Sri Lanka e África do Sul.

As cianobactérias são conhecidamente responsáveis por florações em ambientes de água doce e produtoras de cianotoxinas (CARMICHAEL, 1994), o que pode afetar a biota aquática e terrestre (SIVONSEN; JONES, 1999). A toxina mais

importante produzida pelas cianobactérias é a microcistina. A microcistina é uma hepatotoxina sintetizada por um grupo de dez genes denominados de genes da microcistina sintetase ou *mcy* (A-J), com 55.000 pares de bases (pb). Os genes *mcyA* e *mcyD* estão diretamente ligados na biossíntese da microcistina (TILLETT et al., 2000).

As hepatotoxinas têm efeito na inibição das fosfatasas e representam um sério risco de intoxicação humana, agindo na promoção de tumores hepáticos, como demonstrado por Falconer et al. (1994). A presença de cianobactérias produtoras de microcistina em corpos de água é de relevante importância para a saúde pública.

Algumas espécies de cianobactérias são identificadas como produtoras de microcistinas. As espécies produtoras são comumente encontradas na natureza em suas variedades produtora e não-produtora. Não se sabe ao certo quais os mecanismos genéticos e ambientais responsáveis pelo controle da produção da microcistina, entretanto, sabe-se que em uma mesma espécie, podem existir variedades que apresentam os genes para a produção da microcistina e, portanto, passível de produzir tal toxina, dependendo exclusivamente da ativação ou não desses genes, e variedades que não apresentam esses genes, e não são capazes de produzir microcistinas.

Não há como identificar se uma floração de cianobactéria é produtora ou não de microcistina, apenas por caracteres morfológicos, sendo necessária a análise da presença de toxina na água. A amplificação dos genes *mcy* via PCR (*polymerase chain reaction*) é uma forma alternativa para a identificação de variedades de cianobactérias com genótipo para produção de microcistina. Esse tipo de abordagem que relaciona a presença dos genes *mcy*s com a produção de toxinas por cianobactérias, vem sendo utilizado em diversos gêneros, tais como: *Microcystis* (KURMAYER et al., 2003; VIA-ORDORIKA et al., 2004), *Planktothrix* (KURMAYER et al., 2004), *Leptolyngbya* (RICHARDSON et al., 2007), *Geitlerinema* (RICHARDSON et al., 2007), *Anabaena* (KAEBERNICK et al., 2002), *Nostoc* (HISBERGUES et al., 2003), inclusive em amostras não cultivadas (OUAHID et al., 2005). A caracterização de variedades de cianobactérias tóxicas a partir de PCR apresenta resultados compatíveis aos obtidos com análises químicas de detecção de toxinas na água, tais como HPLC (High-Pressure Liquid Chromatography), MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-Of-Light Mass Spectrometry) e ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Vários autores

demonstraram a correlação entre presença dos genes *mcy*s e detecção de microcistina na água (BAKER et al., 2002; BOARU et al., 2006; KURMAYER et al., 2004; HISBERGUES et al., 2003; MANKIEWICZ-BOCZEK et al., 2006; VIA-ORDORIKA et al., 2004).

A amplificação do gene *mcyA* via PCR permite a identificação de algas tóxicas antes da liberação de toxinas na água. Isso a torna vantajosa em relação às técnicas que utilizam como diagnóstico a presença de toxinas na água, além disso, é uma técnica rápida, barata e facilmente realizada em laboratórios de biologia molecular.

Assim, a proposta deste trabalho foi utilizar a amplificação do gene *mcyA*, como marcador molecular, para confirmar a hipótese de que as florações de cianobactérias presentes no rio do Corvo é de uma variedade com genótipo para a produção de microcistina, assegurando que florações posteriores possam ser controladas, minimizando os efeitos tóxicos para a biota aquática.

## Material e métodos

Foram coletadas, no rio do Corvo, afluente do reservatório de Rosana, localizado no Estado do Paraná, entre as coordenadas 22°36'S e 52°50'W, duas amostras com aproximadamente 150 mL de água da subsuperfície da coluna d'água, no mês de maio de 2007, quando apresentou floração de cianobactéria. Uma alíquota de cada amostra foi fixada para análise taxonômica, com solução de Transeau. As características morfométricas foram analisadas e classificadas de acordo com Komárek e Anagnostidis (1999), e outra alíquota foi mantida em geladeira até a extração do DNA.

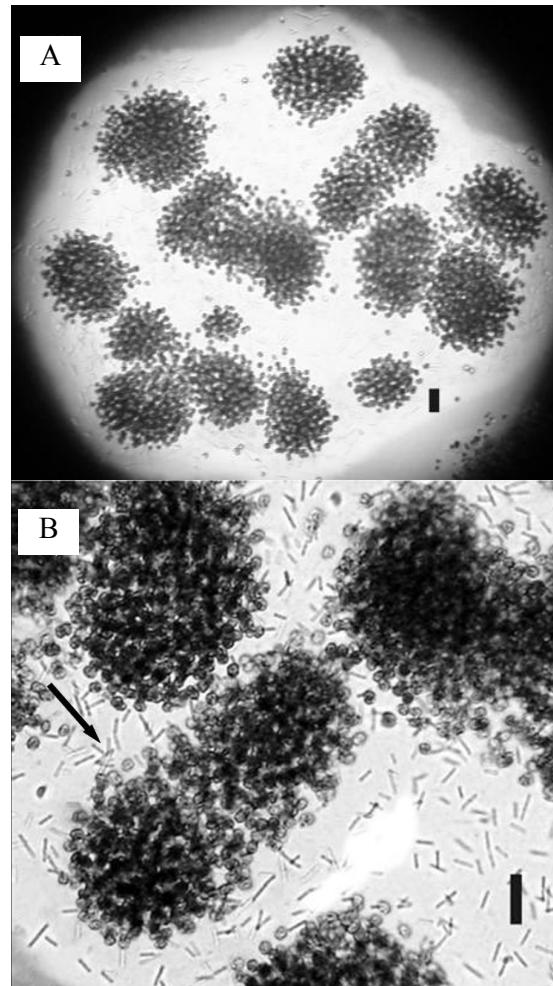
Para a extração do DNA total, 2,0 mL de cada amostra foram centrifugados a 10.000 rpm por 10 min. em eppendorf para concentração das células no fundo do tubo. Foram adicionados a cada tubo 500 µL de tampão de extração (Tris-HCl 1M, pH 8,0; EDTA 0,5M, pH 8,0; β-mercaptoetanol 140 mM, NaCl 5M, CTAB 5% e Sarcosyl 10%) e lisozima (1 mg mL<sup>-1</sup>). As amostras foram encubadas em banho-maria a 37°C por 30 min. e adicionado proteinase K (50 µg mL<sup>-1</sup>) seguido por mais 2h em banho-maria a 60°C. Os restos celulares foram isolados do DNA por lavagem com fenol/clorofórmio. O DNA purificado foi precipitado com solução salina mais etanol durante 12h. Em seguida, o DNA foi lavado com etanol para retirar o excesso de sal e submetido a tratamento com RNase em banho-maria a 37°C por 2h. A quantificação do DNA extraído foi realizada a partir de comparação com DNA do fago λ de concentrações de 25, 50 e 100 ng, em gel de agarose 1%.

O par de "primers" PC $\beta$ F (5'-GGCTGCTTGTACCGAC-3') e PC $\alpha$ R (5'-CCA-GTACCACAGCAACTAA-3') (NEILAN et al., 1995) foi utilizado na amplificação do espaçador intergênico das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  do operon da ficocianina (PC-IGS), como controle positivo para a presença de DNA de cianobactéria na amostra. O par de "primers" *mcyA*-Cd1R (5'-AAAAGTGTATTAGCGGCTCAT-3') e *mcyA*-Cd1F (5'-AAAATTAAGCCGTATCAA-3') (HISBERGUES et al., 2003) foi utilizado na amplificação parcial do gene *mcyA*. A reação de PCR foi realizada seguindo as especificações propostas por Prioli et al. (2002) e consistiu dos seguintes passos: 95°C por 10 min., 35 ciclos de 95°C por 90 s, 56°C por 30 s e 72°C por 50 s e um passo final de 72°C por 7 min. Após a reação de PCR, os fragmentos amplificados foram separados e visualizados em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídeo.

## Resultados e discussão

As análises taxonômicas demonstraram que as florações de cianobactéria foram compostas basicamente por exemplares da espécie *Radiocystis fernandoi* (KOMÁREK; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, 1993) (Figura 1). Borges et al., 2008 também observaram florações desta espécie no rio do Corvo, no ano de 2003. Os espécimes de *Radiocystis fernandoi* são descritos taxonomicamente como colônias subesféricas; células ovais ou esféricas com 5–8,5  $\mu$ m de diâmetro, agrupadas irregularmente no centro da colônia e radiando em todas as direções para região periférica; conteúdo celular com visíveis aerótopos; apresenta divisão sucessiva em apenas um plano.

A quantidade e qualidade dos DNAs extraídos foram suficientes para a realização das reações de PCR subsequentes. Os resultados da eletroforese em gel de agarose 1,5% estão representados na Figura 2. Com base na comparação com o padrão Ladder 100 pb (Gibco BRL), pode-se constatar um fragmento de aproximadamente 650 pb para todas as amostras referentes à amplificação do espaçador intergênico das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  do operon da ficocianina (PC-IGS) (Figura 2A). Esse resultado confirmou a presença de DNA de cianobactéria nas amostras coletadas no rio do Corvo. A amplificação parcial do gene *mcyA* produziu um fragmento de aproximadamente 300 pb para as duas amostras (Figura 2B), indicando que, as florações de *R. fernandoi* analisadas, no rio do Corvo no mês de maio de 2007, possuem genótipo para a produção de microcistina.

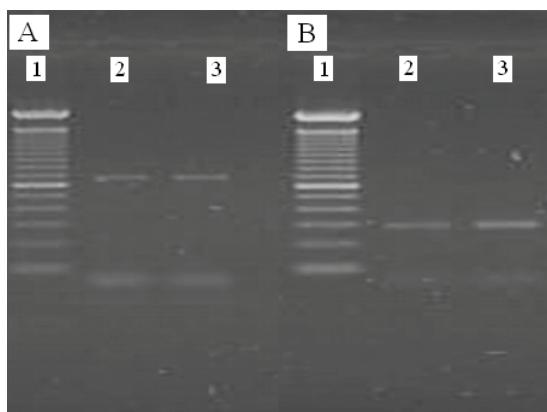


**Figura 1.** Foto registrada de floração de *R. fernandoi* no rio do Corvo, em maio de 2007; (A) aspecto geral da colônia, evidenciando a bainha mucilaginosa; (B) colônia evidenciando as células em alinhamento radial e a presença de *Pseudanabaena mucicola* (seta). Escala = 50  $\mu$ m.

Os gêneros *Microcystis*, *Anabaena* e *Planktothrix* são indiscutivelmente os gêneros produtores de microcistina mais comuns dentre as cianobactérias (HISBERGUES et al., 2003). O potencial tóxico de *R. fernandoi* também já foi evidenciado a partir de análises de microcistinas em populações de um reservatório no Estado do Pará (VIEIRA et al., 2003) e por Lombardo et al. (2006), que identificou três classes de toxinas produzidas por *R. fernandoi*. Estudos recentes têm demonstrado a presença de florações de *R. fernandoi* em reservatórios de água no Brasil.

A presença de gene *mcy* também foi evidenciada em *R. fernandoi*. Anjos et al. (2006) demonstraram a presença do gene *mcyB* em populações de *R. fernandoi* em um reservatório do Estado de São Paulo. Seus resultados foram complementados com

a detecção de toxina na água por meio de análises químicas (HPLC e LC-MS). Entretanto, o presente trabalho é o primeiro a constatar a presença do gene *mcyA* para *Radiocystis fernandoi*.



**Figura 2.** Gel de agarose 1,5%. A) 1- Ladder 100 pb; 2 e 3- Fragmentos de 650 pb correspondentes ao PC-IGS, amplificado com os “primers” PC $\beta$ F e PC $\alpha$ R; B) 1- Ladder 100 pb; 2 e 3- Fragmentos de 300 pb correspondente ao gene parcial *mcyA*, amplificados com os “primers” *mcyA*-Cd1R e *mcyA*-Cd1F.

A presença do gene *mcyA* está correlacionada com a produção de microcistinas (TILLETT et al., 2000). Vários estudos anteriores demonstraram existir forte correlação entre a presença dos genes *mcy* e a produção de microcistina (BAKER et al., 2002; BOARU et al., 2006; EL HERRY et al., 2008; HISBERGUES et al., 2003; VIA-ORDORIKA et al., 2004). Em alguns casos, a presença do gene não revelou produção de microcistina, provavelmente pelo fato de apresentar o genótipo inativo para a microcistina por algum fator ambiental, como por exemplo, luminosidade (KURMAYER et al., 2004). Porém, estes casos são muito raros e não devem limitar a aplicação desse método no monitoramento de cianobactérias hepatotóxicas (HISBERGUES et al., 2003). Portanto, apesar de não ter sido realizada análises químicas para a presença de microcistina na água, a identificação do gene *mcyA* nas florações de *R. fernandoi* no rio do Corvo é uma indicação indireta de que essas populações produzem, ou poderão vir a produzir microcistina em algum momento de seu ciclo de vida.

Duas implicações importantes surgem dos resultados deste estudo. Primeira, a utilização de uma metodologia de diagnóstico com resposta rápida para a identificação de uma espécie de cianobactéria potencialmente tóxica, *Radiocystis fernandoi* em florações naturais, a partir de técnica convencional de PCR. Outra implicação é pertinente à saúde

pública, esta abordagem permite a identificação da presença de cianobactérias possivelmente tóxicas em reservatórios d’água antes mesmo da liberação de toxinas na água. Este tipo de abordagem pode ser utilizado em programas de monitoramento permanente em corpos d’água, para que não haja problemas relacionados à ingestão de água ou alimentos contaminados.

Medidas mitigadoras podem ser adotadas antes do agravamento das condições ambientais do sistema. Trabalhos recentes demonstraram que alguns fatores ambientais podem estar envolvidos no potencial tóxico das cianobactérias. Yoshida et al. (2007) demonstraram haver aumento no número de populações de *Microcystis* que possuem o gene *mcyA*, quando há aumento na concentração de nitrato. Dessa forma, deve-se realizar medidas mitigadoras para manter as concentrações de nitrato em níveis mais baixos em ambientes que foram detectadas espécies de cianobactérias que possuem o gene *mcyA*.

A técnica utilizada neste trabalho se apresentou eficiente na rápida identificação de cianobactérias produtoras de toxinas. A aplicação de ferramentas moleculares no diagnóstico de cianobactérias tóxicas é limitada atualmente, pela disponibilidade de pessoas qualificadas no campo da biologia molecular e nas companhias de abastecimento de água. Este fato poderia ser solucionado pela maior integração entre estas companhias e as universidades públicas.

## Conclusão

Apesar dos resultados encontrados não serem confirmatórios de presença de toxina na água, eles devem ser interpretados como potencial perigo de intoxicação às populações ribeirinhas. A grande vantagem de utilizar a técnica de PCR é a possibilidade de prevenção da proliferação de cianobactérias potencialmente tóxicas antes mesmo da liberação de toxina na água. O monitoramento da qualidade da água com análise química de detecção de cianotoxinas deve ser feitas a fim de impedir possíveis intoxicações.

## Agradecimentos

Os autores agradecem ao Nupelia (Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura); ao PEA (Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais) da Universidade Estadual de Maringá, pelo apoio logístico; ao CNPq/CT-Hidro, pela concessão da bolsa de doutorado à primeira autora.

## Referências

- ANJOS, F. M.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; ZAJAC, M. P.; HILLER, S.; CHRISTIAN, B.; ERLER, K.; LUCKAS, B.; PINTO, E. Detection of harmful cyanobacteria and their toxins by both PCR amplification and LC-MS during a bloom event. *Toxicon*, v. 48, p. 239-245, 2006.
- BAKER, J. A.; ENTSCH, B.; NEILAN, B. A.; MCKAY, D. B. Monitoring changing toxigenicity bloom by molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, p. 6070-6076, 2002.
- BOARU, D. A.; DRAGOS, N.; WELKER, M.; BAUER, A.; NICOARA, A.; SCHIRMER, K. Toxic potential of microcystin-containing cyanobacterial extracts from three Romanian freshwaters. *Toxicon*, v. 47, p. 925-932, 2006.
- BORGES, P. A. F.; TRAIN, S.; RODRIGUES, L. C. Estrutura do fitoplâncton, em curto período de tempo, em um braço do reservatório de Rosana (ribeirão do Corvo, Paraná, Brasil). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 30, n. 1, p. 57-65, 2008.
- CARMICHAEL, W. W. The toxins of cyanobacteria. *Scientific American*, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.
- EL HERRY, S.; FATHALLI, A.; REJEB, A. J-B.; BOUAÏCHA, N. Seasonal occurrence and toxicity of *Microcystis* spp. and *Oscillatoria tenuis* in the Lebna Dam, Tunisia. *Water Research*, v. 42, p. 1263-1273, 2008.
- FALCONER, I. R.; BURCH, M. D.; STEFFENSEN, D. A.; CHOICE, M.; COVERDALE, O. R. 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 Journal*, v. 9, p. 131-139, 1994.
- HISBERGUES, M.; ROUHIAINEN, G. C. L.; SIVONEN, K.; BORNER, T. PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Archives of Microbiology*, v. 180, n. 6, p. 402-410, 2003.
- KAEBERNICK, M.; DITTMANN, E.; BORNER, T.; NEILAN, B. A. Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial toxin. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 2, p. 449-455, 2002.
- KOMÁREK, J. Coccoid and colonial cyanobacteria. In: SHEATH, R. G.; WEHR, J. D. (Ed.). *Freshwater algae of North America*. San Diego: Academic Press, 2003. p. 59-116.
- KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota i teil chroococcales. In: ETTL, H.; GÄRTNER, G.; HEYNIG, H.; MOLLENHAUER, D. (Ed.). *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1999. p. 1-548.
- KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J. *Radiocystis fernandoi*, a new planktic cyanoprokaryotic species from tropical freshwater reservoirs. *Preslia (Praha)*, v. 65, p. 355-357, 1993.
- KURMAYER, R.; CHRISTIANSEN, G.; CHORUS, I. The abundance of microcystin-producing genotypes correlates positively with colony size in *Microcystis* and determines its microcystin net production in Lake Wannsee. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 2, p. 787-795, 2003.
- KURMAYER, R.; CHRISTIANSEN, G.; FASTNER, J.; BÖRNER, T. Abundance of active and inactive microcystin genotypes in populations of the toxic cyanobacterium *Planktothrix* spp. *Environmental Microbiology*, v. 6, n. 8, p. 831-841, 2004.
- LOMBARDO, M.; PINTO, F. C. R.; VIEIRA, J. M. S.; HONDA, R. Y.; PIMENTA, A. M. C.; BEMQUERER, M. P.; CARVALHO, L. R.; KIYOTA, S. Isolation and structural characterization of microcystin-LR and three minor oligopeptides simultaneously produced by *Radiocystis fernandoi* (Chroococcales, Cyanobacteria): A Brazilian toxic cyanobacterium. *Toxicon*, v. 47, n. 5, p. 560-566, 2006.
- MANKIEWICZ-BOCZEK, J.; IZYDORCZYK, K.; ROMANOWSKA-DUDA, Z.; JURCZAK, T.; STEFANIAK, K.; KOKOCINSKI, M. Detection and monitoring toxigenicity of cyanobacteria by application of molecular methods. *Environmental Toxicology*, v. 21, n. 4, p. 380-387, 2006.
- NEILAN, B. A.; JACOBS, D.; GOODMAN, A. E. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 11, p. 3875-3883, 1995.
- OUAHID, Y.; PÉREZ-SILVA, G.; CAMPO, F. F. Identification of potentially toxic environmental *Microcystis* by individual and multiple PCR amplification of specific microcystin synthetase gene regions. *Environmental Toxicology*, v. 20, n. 3, p. 235-242, 2005.
- PRIOLI, S. M. A. P.; PRIOLI, A. J.; JÚLIO JR., H. F.; PAVANELLI, C. S.; OLIVEIRA, A. V.; CARRER, H.; CARRARO, D. M.; PRIOLI, L. M. Identification of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae) in the Iguaçu river, Brazil, based on mitochondrial DNA and RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, v. 25, n. 4, p. 421-430, 2002.
- RICHARDSON, L. L.; SEKAR, R.; MYERS, J. L.; GANTAR, M.; VOSS, J. D.; KACZMARSKY, L.; REMILY, E. R.; BOYER, G. L.; ZIMBA, P. V. The presence of the cyanobacterial toxin microcystin in black band disease of corals. *Federation of European Microbiological Societies*, v. 272, n. 2, p. 182-187, 2007.
- SIVONSEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: E and FN Spon, 1999. p. 41-111.
- SKUJA, H. Taxonomie des phytoplankton einiger seen in Uppland, Schweden. *Symbolae Botanicae Upsalienses*, v. 9, p. 1-399, 1948.
- TILLETT, D.; DITTMANN, E.; ERHARD, M.; VON DÖHREN, H.; BÖRNER, T.; NEILAN, B. A. Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis*.

- aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. **Chemistry and biology**, v. 7, n. 10, p. 753-764, 2000.
- TORGAN, L. C. Floração de algas: composição, causas e consequências. **Ínsula**, v. 19, p. 15-34, 1989.
- VIA-ORDORIKA, L.; FASTNER, J.; KURMAYER, R.; HISBERGUES, M.; DITTMANN, E.; KOMÁREK, J.; ERHARD, M.; CHORUS, I. Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in european freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 27, p. 592-602, 2004.
- VIEIRA, J. M. S.; AZEVEDO, M. T. P.; AZEVEDO, S. M. F. O.; HONDA, R. Y.; CORRÊA, B. Microcystin production by *Radiocystis fernandoi* (Chrococcales, Cyanobacteria) isolated from a drinking water reservoir in

the city of Belém, PA, Brazilian Amazonia region. **Toxicon**, v. 42, n. 7, p. 709-713, 2003.

YOSHIDA, M.; YOSHIDA, T.; TAKASHIMA, Y.; HOSODA, N.; HIROISHI, S. Dynamics of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis* populations is correlated with nitrate concentration in a Japanese lake. **Federation of European Microbiological Societies**, v. 266, n. 1, p. 49-53, 2007.

Received on April 1, 2009.

Accepted on August 13, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.