

Cianobactéria Invasora

Aspectos moleculares e toxicológicos de *Cylindropermopsis raciborskii* no Brasil

Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira

Profa. Dra. do Departamento de Ciências Biológicas
Laboratório de Cianobactéria, ESALQ - USP.
mbitt@esalq.usp.br

Renato Molica

Coord. do Lab. de Ecofisiologia de Microalgas (LEM),
Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP).
renato@itep.br

Ilustrações cedidas pelos autores

A poluição presente nas bacias hidrográficas decorrente de fontes antropogênicas tem restringido a qualidade e, conseqüentemente, a utilização das águas para o abastecimento das populações humanas, ocasionando sérios problemas à saúde pública e ao meio ambiente. Um dos eventos ocorrentes nos ecossistemas aquáticos mais comumente associados a estas cargas poluidoras formadas, principalmente, por compostos polifosfatados e nitrogenados, são as florações de cianobactérias (Figura 1). Florações são crescimentos populacionais massivos e descontrolados destes microorganismos em ecossistemas aquáticos ocasionados por alterações ambientais.

As florações de cianobactérias podem causar gosto e odor desagradáveis na água, além de alterar o equilíbrio ecológico do ecossistema aquático. O maior problema, entretanto, está no fato de produzirem toxinas (cianotoxinas) extremamente potentes atingindo um conjunto de organismos muito além daqueles presentes nas comunidades aquáticas. As cianotoxinas podem ser acumuladas na rede trófica, ocasionando diferentes sintomas de intoxicação e efeitos crônicos, muitas vezes, difíceis de serem diagnosticados. Mortandades de peixes e animais silvestres e domésticos já foram registrados em diversas partes do mundo (Carmichael 1992).

Toxinas de cianobactérias

As cianobactérias produzem diferentes metabólitos secundários, sendo alguns deles possuidores de ação tóxica sobre diferentes organismos e

tipos celulares. As neurotoxinas e hepatotoxinas, entretanto, podem ser consideradas os principais agentes tóxicos produzidos pelas cianobactérias, pois causam sérios danos à vida animal e à saúde humana, podendo até mesmo levar a morte.

As neurotoxinas conhecidas até hoje são: anatoxina-a, anatoxina-a(s), saxitoxina e neosaxitoxina (Figura 2). Apesar de agirem de modo distinto, têm como ação final a paralisação da atividade muscular, levando o animal à morte por parada respiratória após poucos minutos de exposição. As saxitoxinas foram inicialmente caracterizadas em espécies de dinofíceas marinhas e foram responsáveis por diversos casos de intoxicação humana através do consumo de mariscos contaminados.

As hepatotoxinas são as toxinas produzidas por cianobactérias mais comumente relacionadas com casos de envenenamento animal e humano em todo o mundo. As principais hepatotoxinas são as microcistinas, nodularinas - de natureza peptídica - e cilindrospermopsina (Figura 3), um alcalóide que também inibe a síntese de proteínas (Tabela 1).

O Brasil possui um recente histórico de relatos de contaminações por cianotoxinas, porém, muitos não foram comprovados. Um dos eventos ocorridos, mas não comprovadamente associado às cianotoxinas, aconteceu na Bahia, onde oitenta e oito pessoas morreram devido ao consumo de água proveniente do reservatório de Itaparica (Teixeira et al. 1993).

Contudo, o caso mais grave envolvendo a população humana foi a chamada "Síndrome de Caruaru" ocorrida na cidade de Caruaru, nordeste

do Brasil em 1996, quando 76¹ pacientes de uma clínica de hemodiálise foram a óbito (Jochimsen et al. 1998; Carmichael et al. 2001). Este incidente levou a Fundação Nacional da Saúde, em colaboração com a Organização Panamericana da Saúde, à revisão da portaria 36/MS/90, que definia as normas e os padrões de potabilidade da água para consumo humano no Brasil. Através da homologação da Portaria nº 1469/00/MS de 29/12/2000, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária passou a exigir dos órgãos competentes e responsáveis pelo tratamento e fornecimento de água o monitoramento da ocorrência de cianobactérias e algumas cianotoxinas, tanto na água bruta do manancial utilizado para a captação de água, como na água tratada para consumo (Brasil 2001).

A Portaria nº 1469/00 tornou obrigatória a análise de microcistina e recomenda a análise de saxitoxinas e cilindrospermopsina na água tratada quando for comprovada a toxicidade da floração no manancial de abastecimento através de bioensaios com camundongos. Os valores máximos permitidos (VMP) dessas toxinas na água tratada são de 1,0, 3,0 e 15,0 µg.L⁻¹ de microcistina, equivalentes de saxitoxina e cilindrospermopsina, respectivamente. Esses valores, que resultaram de estudos anteriores, levam em consideração a toxicidade dessas moléculas em testes com animais, além de fato-

O que são cianobactérias?

Cianobactérias são microrganismos procariotos, de origem extremamente remota, geralmente aquáticos, que realizam fotossíntese com liberação de oxigênio, diferente de outras bactérias fotoautotróficas. Devido ao fato de serem fotossintetizantes, aquáticas e possuírem um pigmento azulado (ficocianina), são tradicionalmente chamadas de “algas azuis”, apesar da distante relação filogenética com outros grupos de organismos também denominados de “algas”. Acredita-se que elas foram as responsáveis pelo início da formação da atmosfera atual, rica em oxigênio, e pela evolução de todos os organismos fotossintetizantes, visto que formas relacionadas às atuais cianobactérias, provavelmente, originaram os cloroplastos através de um evento endossimbiótico.

As cianobactérias são predominantes no fitoplâncton de águas continentais, alcançando uma ampla diversidade de formas, devido às adaptações morfológicas, bioquímicas e fisiológicas adquiridas durante sua longa história evolutiva. Algumas cianobactérias, tais como os gêneros *Microcystis*, *Cylindrospermopsis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Planktobrix* formam florações onde há a liberação de toxina através da lise celular.



Figura 1. Amostra de floração da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. coletada no reservatório de Carpina em 2002. b) Banhistas no reservatório de Ingazeira, em 1998, com floração neurotóxica (presença de saxitoxinas) de *Cylindrospermopsis raciborskii*. Ambos no estado de Pernambuco nordeste do Brasil. Fotos dos autores.

Tabela 1. Características gerais das toxinas produzidas por cianobactérias e os gêneros em que foram encontradas.

Toxina	Como e onde age	Gênero
^a Microcistina	Inibidora das enzimas fosfatases 1 e 2A - Fígado (hepatócitos)	<i>Microcystis</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Planktobrix</i> (<i>Oscillatoria</i>), <i>Nostoc</i> , <i>Hapalosiphon</i> e <i>Anabaenopsis</i>
^a Nodularina	Inibidora das enzimas fosfatases 1 e 2A - Fígado (hepatócitos)	<i>Nodularia</i>
^a Cilindrospermopsina	Inibidora de síntese proteica - Fígado.	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Umezakia</i> , <i>Aphanizomenon</i> e <i>Raphidiopsis</i>
^a Saxitoxina	Liga-se aos canais de sódio - Membrana do axônio	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> e <i>Cylindrospermopsis</i>
^a Anatoxina-a	Liga-se ao receptor da acetilcolina - sinapse nervosa	<i>Anabaena</i> , <i>Planktobrix</i> (<i>Oscillatoria</i>), <i>Aphanizomenon</i> , <i>Raphidiopsis</i>
Anatoxina-a(s)	Inibidora de acetilcolinesterase - Sinapse nervosa	<i>Anabaena</i>

^a Existem variantes estruturais com diferentes toxicidades

Fonte: Sivonen & Jones (1999), Li et al. (2001), Namikoshi et al. (2003).

¹ Dos 131 pacientes da clínica, 116 apresentaram sintomas de intoxicação. Destes, 100 desenvolveram problemas hepáticos e 76 faleceram ao longo do estudo, que durou até outubro 1997. Destes 76, foram analisadas 52 amostras de fígado de 39 pacientes (todas positivas para microcistina) (Carmichael et al. 2001).

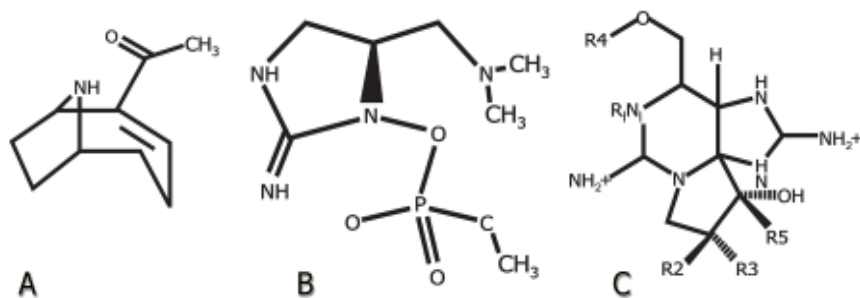


Figura 2. Estrutura das neurotoxinas produzidas pelas cianobactérias. a) anatoxina-a, b) anatoxina-a(s) e c) saxitoxinas. Alterações em R1, R2, R3, R4, R5 geram mais de 20 variantes conhecidas com diferentes toxicidades.

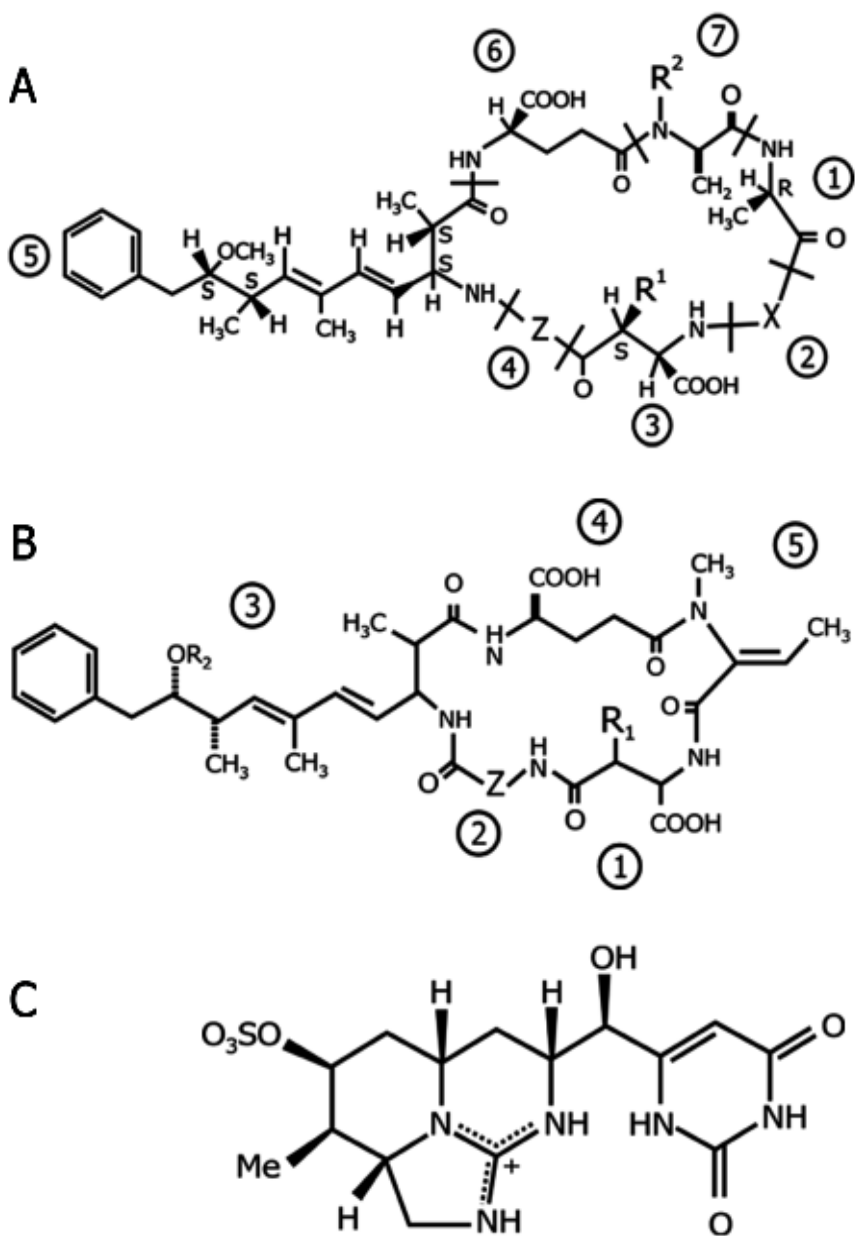


Figura 3. Estrutura geral das microcistinas, nodularinas e cilindrospermopsina. a) Microcistina um heptapeptídeo cíclico. X e Z representam os dois L-aminoácidos que podem variar e R¹ e R² são H ou CH₃. b) Nodularina um pentapeptídeo cíclico. Z representa um L-aminoácido que pode variar e R₁ e R₂ são H ou CH₃. c) Cilindrospermopsina é um alcalóide.

res de risco, que são aplicados no cálculo da dose máxima, entre eles, a variabilidade inter e intra-espécie e, no caso da microcistina, seu potencial carcinogênico. Em relação à cilindrospermopsina, alguns autores, baseados em resultados recentes que mostram um potencial genotóxico, vêm sugerindo que o VMP deva ser menor, em torno de 2 µg/L.

Cepas brasileiras de *Cylindrospermopsis raciborskii* produzem saxitoxinas

A espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* (ordem Nostocales) é um componente importante entre as espécies formadoras de florações, pois pode produzir hepatotoxinas, neurotoxinas e citotoxinas (Chorus & Bartram 1999).

O primeiro caso de intoxicação humana provocada por esta espécie ocorreu em 1979, na Austrália, quando 141 pessoas, sendo a maioria crianças, após consumirem água de um reservatório que havia sido tratado com algicida para eliminar uma floração, apresentaram sintomas de hepatointerite (Hawkins et al 1985). Até então, essa espécie era considerada como não-tóxica. Análises posteriores demonstraram que o composto responsável pela intoxicação havia sido a cilindrospermopsina (Ohtani et al 1992). Também na Austrália, em 1992, uma floração de *C. raciborskii* produtora de cilindrospermopsina causou a morte de bovinos. Apenas as cepas australianas e uma tailandesa de *C. raciborskii*, até hoje, demonstraram produzir cilindrospermopsina e um análogo não tóxico, denominado deoxicilindrospermopsina.

Em análises realizadas pelo Laboratório de Ecofisiologia de Microalgas, do Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco, com amostras de florações de *C. raciborskii* que ocorreram entre 10 de abril e 24 de maio de 2002 no reservatório Tapacurá (São Lourenço da Mata, PE) que abastece cerca de 1,3 milhão de habitantes na Região Metropolitana de Recife, foi demonstrado efeitos neurotóxicos em bioensaios com camundongos. Análises realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) indicaram a presença de

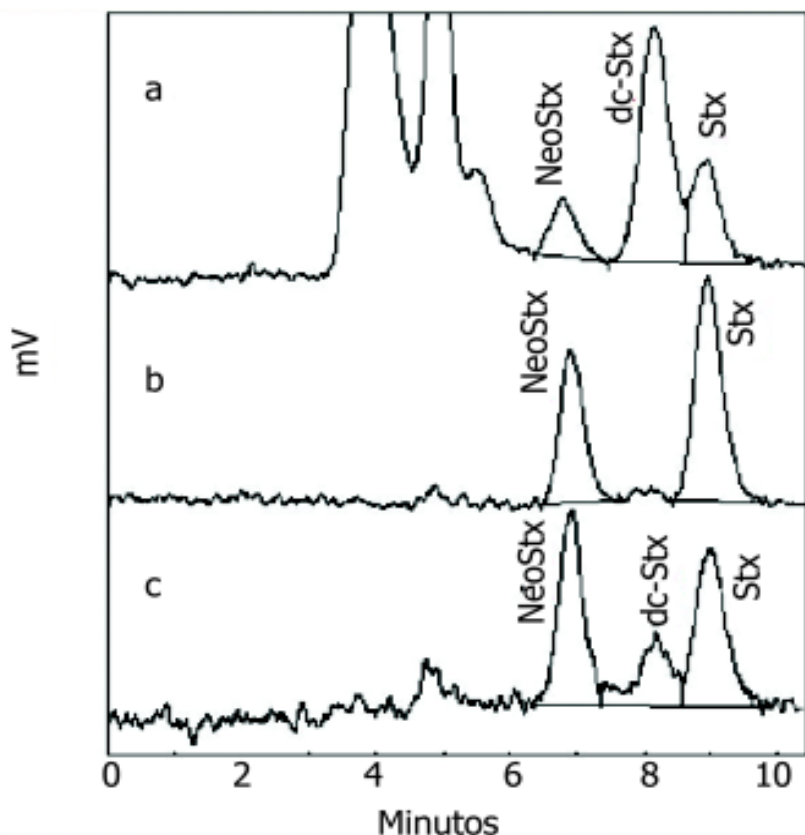


Figura 4. Análise de saxitoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de fluorescência e derivatização pós-coluna de acordo com método descrito por Oshima (1995). Amostra de 8 de maio de 2002 da floração de *C. raciborskii* do reservatório Tapacurá (a). Foram identificados três picos, cujos tempos de retenção coincidem com os tempos de retenção dos padrões (b e c). Neosaxitoxina (NeoStx), saxitoxina (Stx) e dc-saxitoxina (dc-Sbx).



Figura 5: Ocorrência de *C. raciborskii* no mundo segundo Padisák (1997). 1. Indonésia. 2. Filipinas. 3. Bruma. 4. China. 5. Índia. 6. Sri Lanka. 7. Austrália. 8. República Democrática do Congo, Malauí, Quênia, Ruanda, Zâmbia, Zimbábue, Uganda. 9. África do Sul. 10. Nigéria. 11. Rio Nilo. 12. Moldávia, Turquemenistão, Afeganistão, Cazaquistão, Rússia, Usbequistão, Mar Cáspio. 13. Alemanha, Áustria, França. 14. Espanha. 15. Grécia. 16. Hungria. 17. Minnesota, EUA. 18. Kansas, Estados Unidos. 19. Texas, Estados Unidos. 20. Flórida, Estados Unidos. 21. México. 22. Nicarágua. 23. Cuba. 24. Venezuela. 25. Brasil. a. Lago Paranoá, DF; b. Lago da Pampulha, MG; c. Reservatório de Itaipú, PR; d. Lagoa dos Patos, Lago Chinês e Lago Gaúcho, RS.

saxitoxinas em amostra de água bruta (Figura 4).

Cepas brasileiras de *C. raciborskii* isoladas de diferentes regiões do país demonstraram produzir saxitoxinas (Lagos et al. 1999, Molica et al. 2002, Bernard et al. 2003, Pomati et al. 2003). As variantes de saxitoxinas caracterizadas a partir de amostras de cepas brasileiras de *C. raciborskii* até o momento foram: saxitoxina, neosaxitoxina, dc-saxitoxina, dc-neosaxitoxina, GTX-2, GTX-3, GTX-6 e uma nova variante ainda não descrita.

Cepas europeias de *C. raciborskii* (alemãs, francesa, húngaras e portuguesas) demonstraram ter efeitos tóxicos quando testadas em bioensaios com camundongos. Dependendo da cepa, observou-se danos causados ao fígado ou efeitos neurotóxicos em neurônios de moluscos (Bernard et al 2003, Saker et al 2003, Kiss et al 2002). Em todos esses casos, entretanto, não se identificou a produção de cilindrospermopsina, nem tampouco de saxitoxinas por essas cepas. Provavelmente trata-se de um novo composto, cuja estrutura química e atividade toxicológica ainda precisam ser determinadas.

Tabela 2 -Ocorrência da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* em reservatórios de diversos Estados do país e no Distrito Federal.

Localização	Referência*
Distrito Federal	Branco & Senna (1991)
Espírito Santo	Fernandes (2003)
Goiás	Bazza <i>et al.</i> (1999)
Minas Gerais	Jardim <i>et al.</i> (2001)
Paraíba	Mendes <i>et al.</i> (2003)
Paraná	Borges <i>et al.</i> (2003)
Pernambuco	Bouvy <i>et al.</i> (2000)
Rio de Janeiro	Huszar <i>et al.</i> (2000)
Rio Grande do Norte	Panosso <i>et al.</i> (2003)
Rio Grande do Sul	Proença <i>et al.</i> (2002)
Santa Catarina	Komáková <i>et al.</i> (1999)
São Paulo	Souza <i>et al.</i> (1998)
Tocantins	Silva <i>et al.</i> (2003)

* Citou-se apenas uma referência por estado, porém a maioria possui mais de um registro.

A invasão de *Cylindrospermopsis raciborskii*

A espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju foi descrita pela primeira vez em Java e adjacências e tornou-se extremamente invasiva, ocorrendo tanto em águas de regiões tropicais e subtropicais como temperadas (Padisák 1997, Bouvy *et al.* 2000) (Figura 5). Apesar de poderem ser dominantes durante o ano todo, são mais comumente encontrados em períodos restritos, geralmente secos e de baixa pluviosidade. Esta cianobactéria possui múltiplas estratégias adaptativas, tais como resistência à herbivoria, tolerância às baixas irradiações, possibilidade de migração na coluna d'água buscando estratos ricos em nutrientes e luz, tolerância às altas concentrações iônicas, armazenamento e utilização de reservas intracelulares de fósforo, alta afinidade ao NH_4^+ que é a forma energeticamente mais acessível de nitrogênio, ou na sua falta, podem fixar o N_2 atmosférico e flexibilidade às grandes variações de condutividade elétrica.

Nas duas últimas décadas documenta-se a freqüente ocorrência de *C. raciborskii* nas águas dos reservatórios e açudes em diversos estados do Brasil (Tabela 2). Uma das regiões com intensos registros de sua presença é a Nordeste, mais especificamente o estado de Pernambuco (Bouvy *et al.* 1999, 2000; Huszar *et al.* 2000). Os reservatórios desta região possuem excelentes condições para o desenvolvimento desta espécie, tais como, corpos d'água rasos, estabilidade na coluna d'água devido à pluviosidade baixa, longo tempo de retenção da água (ou ausência de renovação), irradiações e temperatura altas além de valores de pH acima de 8,0 (Bouvy *et al.* 2000). Segundo Bouvy *et al.* (2000), dos 39 reservatórios amostrados por todo estado de Pernambuco, entre setembro e novembro de 1998, 31 apresentaram florações de *C. raciborskii* e, em 17 destes, esta cianobactéria representou 50% da densidade do fitoplâncton total. No mesmo período, situação semelhante foi relatada na Austrália no estado de Queensland entre outubro de 1997 e junho de 1999. Dos 47 reservatórios de água amostrados, 35 apresentaram populações de *C.*

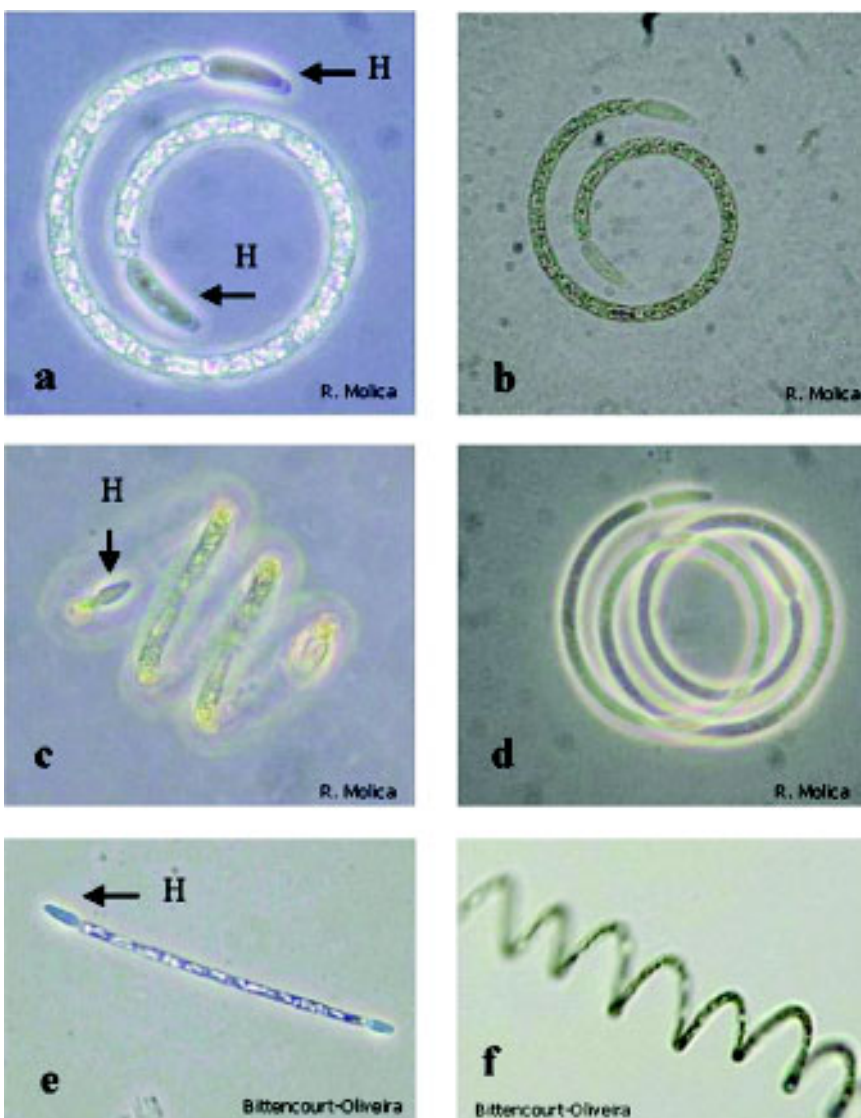


Figura 6. Filamentos retos e espiralados de *C. raciborskii*. a-d) Cepa espiralada Recife/PE-Brasil com heterocitos (célula especializada na fixação do N_2 atmosférico) terminais. a e c. contraste de fase evidenciando os aerótopos que são responsáveis pela flutuação e migração do filamento na coluna d'água. e) Cepa reta Arcoverde/PE-Brasil com heterocitos terminais. f) Material da natureza não cultivado coletado no reservatório de Jucazinho-PE. Fotos dos autores.

raciborskii (McGregor & Fabbro 2000), sendo que em 15 esta espécie foi dominante sazonalmente e em 1 durante o ano inteiro.

Morfologia de *Cylindrospermopsis raciborskii*

Segundo os critérios morfológicos tradicionais, a forma do filamento é um caráter taxonômico que distingue espécies diferentes. Segundo Komarková (1998), as formas retas são identificadas como *C. raciborskii* e as espiraladas *C. philippinensis* (Taylor) Komárek e *C. catemaco* Komarková-Legnerová et Tavera. No entanto, admite-se atualmente que é próprio de *C. raciborskii* apresentar uma extensa plasticidade fenotípica refletindo-se em filamentos retos, sigmóides ou espiralados que podem ocorrer simultaneamente (Figura 6).

Filamentos espiralados de *C. raciborskii*, apesar de distribuição mais restrita no mundo, são freqüentemente relatados para o norte da Austrália, em Queensland (Fabbro et al 1996, McGregor & Fabbro 2000, Saker et al. 1999, Dyble et al. 2002) e sudeste da América do Norte, na Flórida. No Brasil, do nosso conhecimento, populações de *C. raciborskii* com filamentos espiralados apenas foram registrados para a região Nordeste (Bouvy et al. 1999, 2000) (Figura 6).

Populações com filamentos retos e espiralados de um lago na Austrália foram caracterizadas geneticamente através das análises de seqüências do 16SrRNA (Saker et al. 1999). Formas retas e espiraladas apresentaram-se com alta similaridade genética (99,8%) indicando que se tratava de uma única espécie, apesar dos seus comportamentos levemente diferenciados em testes ecofisiológicos (Saker et al. 1999, Saker & Neilan 2001). Wilson et al. (2000), utilizando uma técnica mais discriminatória do que a anterior, encontraram resultados semelhantes através de seqüências do *rpoC1*, que codifica para a subunidade γ da RNA polimerase, obtidas por iniciadores desenhados especificamente para *Cylindrospermopsis*. Entretanto, as cepas com morfologia espiralada foram agrupadas utilizando-se RAPD (random amplified polymorphic DNA) e STRR (short-sequence tandem repeat region)

(Wilson et al. 2000, Neilan et al. 2003).

Apesar de esta espécie ter sido descrita como um táxon de interesse apenas em áreas tropicais, florações têm sido freqüentemente registradas em regiões temperadas da Austrália, Europa e nas Américas do Norte e Sul levando pesquisadores de diversas partes do mundo a se dedicarem ao estudo da espécie.

O uso de seqüências de DNA como ferramenta básica no entendimento da dispersão e produção de toxinas

Genes que codificam para a c-ficocianina como o *cpcB* e *cpcA* estão presentes em todas as cianobactérias e ausentes em outras bactérias e microalgas. As regiões espaçadoras entre estes genes têm se tornado uma alternativa para a utilização daquelas altamente conservadas. A região do *locus* da ficocianina possui seqüências com taxas de substituições mais altas do que aquelas do 16S rDNA (Nelissen et al 1996, Ishida et al. 1997, Lyra et al. 2001).

Neste estudo foram utilizadas seqüências inéditas obtidas do espaçador intergênico do operon da ficocianina (*cpcBA*-IGS) de cepas *C. raciborskii* com morfologias reta e espiralada de dois corpos d'água do nordeste do Brasil. Além destas, foram utilizadas seqüências de cepas australianas, européias e americanas disponíveis no GenBank. Número de acesso às seqüências estão na Figura 7.

As 19 cepas analisadas apresentaram-se com alta similaridade genética mostrando tratar-se de uma única espécie (Figura 7). Porém, foram claramente distribuídas em dois grupos: Grupo 1) com cepas australianas, produtoras de cilindrospermopsina, e européias (Alemanha, Hungria e Portugal), não-produtoras de cilindrospermopsina, mas sim de um composto tóxico ainda não caracterizado (Neilan et al. 2003); e Grupo 2) com cepas americanas (EUA e Brasil). No grupo 1 não foram evidenciadas distinções entre regiões geográficas, toxinas produzidas e morfologias reta e espiralada.

O grupo 2 apresentou cepas distribuídas segundo a região geográfica (Flórida e Brasil) e morfologia do filamento (espiralado ou reto). Con-

tudo, a única exceção foi a cepa Arcoverde/PE-Brasil que não se agrupou segundo os critérios acima. Das cepas americanas, apenas as de Billings/SP-Brasil e Amparo/SP-Brasil (Lagos et al. 1999) tiveram suas toxinas analisadas através de CLAE e constatou-se a presença de saxitoxinas. Até o momento, em nenhuma linhagem analisada de *C. raciborskii* foi constatada a presença de cilindrospermopsina (Proença et al. 2000; Molica et al. 2002). Em bioensaios com camundongos a cepa Arcoverde/PE-Brasil produziu efeitos neurotóxicos, enquanto a Recife/PE-Brasil foi tóxica, porém não foi possível determinar a natureza da toxina. Todas as cepas brasileiras de *C. raciborskii* tóxicas analisadas até hoje foram produtoras de saxitoxinas.

Considerações finais

As seqüências do *cpcBA*-IGS possibilitaram, de uma forma geral, a distinção entre regiões geográficas e morfologias espiralada e reta entre as cepas americanas, mas não entre as australianas e européias. Isto poderia indicar que há outros fatores refletidos nas informações moleculares que estariam influenciando na topologia do cladograma. Apesar da necessidade de maior detalhamento e número de isolados de *C. raciborskii* analisados em relação aos seus aspectos moleculares, toxicológicos e ecofisiológicos, há indícios que haja uma ligação entre o composto tóxico produzido e sua distribuição geográfica. Baseado nisto, pode-se propor que populações australianas, européias e americanas evoluíram separadamente após a separação dos continentes, contrariando as especulações de Padisák (1997), segundo as quais, a Austrália e África seriam os centros de radiação de *C. raciborskii* para Europa e América por possuírem ambientais mais favoráveis ao desenvolvimento destas populações.

Segundo um modelo evolutivo proposto para eucariotos com reprodução sexuada (Brussard 1984), populações geneticamente diversas estão no centro da variação de uma espécie, enquanto que aquelas às margens apresentam-se mais homogêneas. Para Dyble et al. (2002), a grande diversidade genética encontrada entre as cepas americanas quando comparadas com as austra-

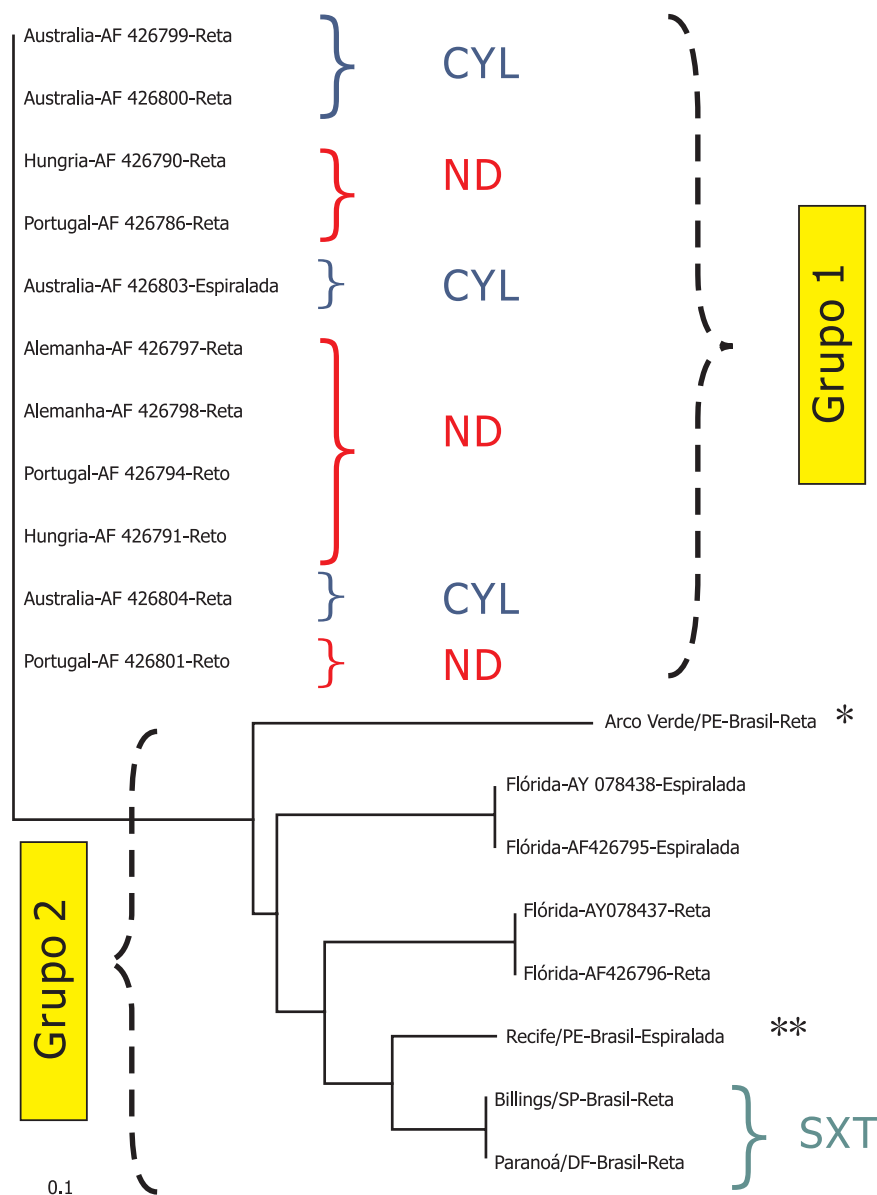


Figura 7. Cladograma obtido através do método de Neighbor-joining utilizando 576 a 600 pares de base do *cpcBA*-IGS de cepas de *C. raciborskii* de diferentes regiões geográficas.

CYL: presença de cilindropermopsina. ND: presença de um composto novo não descrito e ausência de cilindropermopsina. SXT: presença de saxitoxinas. Todas as toxinas confirmadas através de CLAE (segundo Neilan et al. 2003).

* Produziu efeitos neurotóxicos através de bioensaios com camundongos

** Tóxica. Toxina não avaliada.

lianas e européias, pode indicar introdução recente da espécie ou evolução molecular acelerada. A diversidade genética de cianobactérias no Brasil ainda é pouca estudada, mas há dados que evidenciaram a alta variabilidade em cepas de *Microcystis* nas quais genótipos diferentes coexistem em diversos corpos d'água do Brasil, utilizando o *cpcBA*-IGS (Bittencourt-Oliveira et al 2001) e o gene *mcjB*, que codifica para a sintetase de microcistina (Bittencourt-Oliveira 2003).

C. raciborskii foi registrada pela primeira vez na América do Norte em 1955 (Prescott & Andrews 1955) e, no Brasil, iniciaram-se os relatos de florações após o enchimento do lago Paranoá-DF em 1960 (Palmer 1969). Comparando-se com os primeiros registros de *C. raciborskii* no mundo (Padisák 1997) a presença desta cianobactéria na América não é um evento recente, porém o aumento das florações parece estar relacionado ao favorecimento das condições ambientais.

As populações presentes em corpos d'água americanos podem ser resultados de uma evolução molecular acelerada favorecida pelas condições ambientais altamente propícias à introdução de novas linhagens e o constante intercâmbio genético promovido por aves migratórias entre América do Norte e Sul. Diversas espécies de maçaricos (Scolopacidae) tais como *Tringa solitaria*, *T. flavipes*, *T. melanoleuca* etc., vindo da América do Norte cruzam o Brasil em direção ao sul com diversas paradas para descanso e alimentação em águas calmas o que possibilitaria agirem como vetores na dispersão de esporos.

A diversidade genética encontrada em determinadas regiões pode ser o resultado de estresse ambiental (Dvornyk & Nevo 2003) causado por diversos fatores naturais (por ex.: El Niño) ou antropogênicos (por ex.: poluição). Além disso, mutações neutras, eventos de recombinação e elementos móveis podem favorecer o estabelecimento de populações geneticamente polimórficas.

A invasão crescente de *C. raciborskii*, produtora de diversos compostos tóxicos em corpos d'água por todo o mundo, principalmente em regiões onde não havia qualquer registro de sua ocorrência, alerta para a presente necessidade de investigações genéticas em populações de diferentes regiões geográficas para subsidiar o entendimento atual em relação à produção de toxinas, limites ecofisiológicos e dispersão, visando o manejo destas populações na natureza.

Referências

- Bazza, E.L.; Train, S; Thomaz S.M. 1999.** Flutuações na estrutura da comunidade fitoplanctônica durante o período de enchimento do reservatório de Corumbá (GO). In: VII Congresso Brasileiro de Limnologia. Florianópolis, p. 502.
- Bernard, C.; Harvey, M.; Briand, J.F.; Biré, R., Krys, S., Fontaine, J.J. 2003.** Toxicological comparison of diverse *Cylindrospermopsis raciborskii* strains: Evidence of liver damage caused by a French *C. raciborskii* strain. Environ. Toxicol. 18:176-186.
- Bittencourt-Oliveira, M.C.; Oliveira, M.C.; Bolch, C.J.S. 2001.** Genetic

- variability of Brazilian strains of the *Microcystis aeruginosa* complex (Cyanobacteria/cyanophyceae) using the phycocyanin intergenic spacer and flanking regions (*cpcBA*). *J. Phycol.* 37:810-818.
- Bittencourt-Oliveira, M.C. 2003.** Detection of potential microcystin-producing cyanobacteria in Brazilian reservoirs with a *mcyB* molecular marker. *Harmful Algae* 2: 51-60.
- Borges, P.A.F, Train S.; Rodrigues, L.C. 2003.** Flutuações temporais na abundância e estrutura de tamanho das fitocenoses planctônicas de cinco biótopos do alto rio Paraná. IX Congresso Brasileiro de Limnologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- Bouvy, M.; Molica R.; Oliveira, S.; Marinho, M., Beker B. 1999.** Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. *Aquatic Microb. Ecol.* 20:285-297.
- Bouvy, M.; Falcão, D.; Marinho, M.; Pagano, M.; Moura, A. 2000.** Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. *Aquatic Microb. Ecol.* 23:13-27.
- Branco, C.W.C; Senna, P.A.C. 1991.** The taxonomic elucidation of the Paranoá Lake (Brasília, Brazil) problem: *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Bull. Jard. Bot. Nat. Belg.* 61:85-91.
- Brasil 2001.** Portaria nº 1469/2000, de 29 de dezembro de 2000: aprova o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Fundação Nacional de Saúde. 32 p.
- Brussard, P.F. 1984.** Geographic patterns and environmental gradients: the central-marginal model in *Drosophila* revisited. *Annu. Ver. Ecol. Syst.* 15: 25-64.
- Carmichael, W.W. 1992.** Status report on planktonic cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. Cincinnati: U.S. Environmental Protection Agency. 149p.
- Carmichael, W.W.; Azevedo, S.M.F.O; An., J.S; Molica R.J.R,** waters. *Hydrobiologia* 424:67-77.
- Ishida, T.; Yokota, A; Sugiyama, J. 1997.** Phylogenetic relationships of filamentous cyanobacterial taxa inferred from 16SrRNA sequence divergence. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 43: 237-241.
- Jardim, F.A.;Fonseca, Y.M.F;Vianna, L.N.L.; Azevedo, S.M.F.O.; Ciscotto, P.H.C. 2001.** Primeira Ocorrência de cianobactérias tóxicas em um reservatório da COPASA - Minas Gerais - Brasil: Revista Bios - Cadernos do Departamento de Ciências Biológicas - PUC Minas. 9: 83-91.
- Jochimsen, E.M.; Carmichael, W.W.; Na, 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. *New Engl J Med* 338: 873-878.
- Kiss, T.; Vehovszky, Á.; Hiripi, L., Kovács, A; Vörös, L. 2002.** Membrane effects of toxins isolated from a cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*, on identified molluscan neorenes. *Comp Biochem Phys C* 131:167-176.
- Komárková, J. 1988.** The tropical planktonic genus *Cylindrospermopsis* (Cyanophytes, Cyanobacteria). In:Azevedo M. T. P. (eds) IV Congr. Latino Americano Ficol., Brazil. Soc. Ficol. América Latina e Caribe, Caribe, Caxambu. p. 327-340.
- Komárková, J.; Laudares-Silva, R.; Senna, P.A.C. 1999.** Extreme morphology of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) in the Lagoa do Peri, a freshwater coastal lagoon, Santa Catarina, Brazil. *Algological Studies* 94: 207-222.
- 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.
- Li, R.; Carmichael, W.W.; Brittain, S.; Eaglesham, G.K.; Shaw, G.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. *Environ. Health Persp.* 109:663-668.
- Chorus, I.; Bartram, J. 1999.** Toxic Cyanobacteria in water: A guide to the Public Health Consequences, Monitoring and Management. E & FN Spon, London. 416 p.
- Dvornyk, V.; Nevo, E. 2003.** Genetic polymorphism of cyanobacteria under permanent natural stress: a lesson from the "Evolution Canyons". *Res. Microbiol.* 154: 79-84.
- Dyble, J.; Paerl, H.W.; Neilan, B.A. 2002.** Genetic characterization of *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) isolates from diverse geographic origins based on *nifH* and *cpcBA*-IGS nucleotide sequence analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2567-2571.
- Fabbro, L.D.; Kling, H.J; Duivenvoorden, L.J. 1996.** Morphological variation of *Cylindrospermopsis* in natural populations. *Cylindrospermopsis – A New Toxic Algal Bloom Challenge for Australia.* Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand, Brisbane, Australia.
- Fernandes, V.O. 2003.** Ecossistemas aquáticos continentais do Espírito Santo: "berços" de florações de cianobactérias potencialmente tóxicas? IX Congresso Brasileiro de Limnologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- Hawkins, P.R.; Runnegar, M.T.C.; Jackson, A.R.B; Falconer, I.R. 1985.** Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1292-1295.
- Huszar, V.L.M., Silva, L.H.S; Marinho, M.; Domingos, P.; Sant'Anna, C.L. 2000.** Cyanoprokaryote assemblages in eight productive tropical Brazilian

- Mahakhant, A.; Noparatnaraporn, N.; Yongmanitchai, W.; Kaya, K.; Watanabe, W.W. 2001.** Isolation and identification of the cyanotoxin cylindrospermopsin and deoxycylindrospermopsin from a Thailand strain of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria). *Toxicon* 39:973-980.
- Lyra, C.; Suomalainen, S.; Gugger, M.; Vezic, C.; Sundman, P.; Paulin, L.; Sivonen, K. 2001.** Molecular characterization of planktic cyanobacteria of *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* and *Planktothrix* genera. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51:513-26.
- McGregor, G.B.; Fabbro, L.D. 2000.** Dominance of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanoprokaryota) in Queensland tropical and subtropical reservoirs: implications for monitoring and management. *Lakes Reserv. Res Manage* 5:195-205.
- Mendes, J.S.; Barbosa, J.E.L.; Watanabe, T. 2003.** Dinâmica da composição e biomassa fitoplanctônica durante a fase de enchimento da Barragem de Acauã, Itatuba - Paraíba. IX Congresso Brasileiro de Limnologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- Molica, R.; Onodera, H.; García, C., Rivas, M., Andrinolo, D., Nascimento, S., Meguro, H., Oshima, Y., Azevedo, S.; 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.
- 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
- Neilan, B.A.; Saker, M.L.; Fastner, J.; Torokné, A.; Burns, B.P. 2003.** Phylogeography of the invasive cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Mol. Ecol.* 12: 133-140.
- Nelissen, B.; De Baere, R.; Wilmotte, A., De Wachter, R. 1996.** Phylogenetic relationships of nonaxenic filamentous cyanobacterial strains based on 16S rRNA sequence analysis. *J. Mol. Evol.* V. 42, p. 194-200.
- Ohtani, I.; Moore, R.E.; Runnegar, M.T.C. 1992.** Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *J. Am. Chem. Soc.* 114:7941-7942.
- Oshima Y. 1995.** Postcolumn derivatization liquid chromatographic methods for paralytic shellfish toxins. *J AOAC Int* 78(2):528-532.
- Padisák J. 1997.** *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch Hydrobiol.* 107(suppl 4):563-593.
- Palmer, C.M. 1969.** Report on the algae in relation water quality of Paranoa Lake, Brasília:1-14- Relatório de Consultoria, Pan American Health Organization/WHO.
- Panosso, R.; Costa, I.A.S.; Souza, S.R.; Morales C.; Azevedo, S.M.F.O. 2003.** Ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas e cianotoxinas em ambientes aquáticos do estado do Rio Grande do Norte. IX Congresso Brasileiro de Limnologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.
- 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). *J Phycol* 39:535-542.
- Prescott, G.W.; Andrews, T.F. 1955.** A new species of *Anabaenopsis* in a Kansas lake with notes on limnology - *Hydrobiologia* 7: 60-63.
- Proença, L.A.O; Cunha, N.T; Yunes J.S. 2002.** Análise da cianotoxina cilindrospermopsina em amostras de reservatórios. Simpósio Brasileiro de Engenharia Ambiental, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC. Disponível em: <http://www.cttmar.univali.br/algas/publicacoes/ciano16.pdf>. Acesso em: 23 set. 2003.
- Saker, M.L.; Neilan, B.A.; Griffiths, D.J. 1999.** Two morphological forms of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolated from Solomon Dam, Palm Island, Queensland. *J. Phycol.* 35: 599-606.
- Saker, M.L.; Neilan, B.A. 2001.** Varied diazotrophies, morphologies and toxicities of genetically similar isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from northern Australia. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1839-1845.
- Saker M.L.; Nogueira, I.C.G.; Vasconcelos, V.M.; Neilan, B.A.; Eaglesham, G.K.; Pereira, P. 2003.** First report and toxicological assessment of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Portuguese freshwaters. *Ecotoxicol Environ Saf* 55:243-250.
- Silva, J.R.L.; Jardim, F.A.; Cunha, I.L., Souza, F.P.; Wetmann, A. 2003.** Diagnóstico preliminar da ocorrência de cianobactérias tóxicas ou potencialmente tóxicas em captações de estações de tratamento de água e na praia da Graciosa em Palmas-TO. In: 55ª. Reunião Anual da SBPC. Recife, p. 61.
- Sivonen, K.; Jones, G.J. 1999.** Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J, editors. *Toxic cyanobacteria in water - a guide to their public health consequences, monitoring and management.* London: E & FN Spon. p. 41-111.
- Souza, R.C.R.; Carvalho, M.C.; Truzzi, A.C. 1998.** *Cylindrospermopsis raciborskii* (Wolosz.) Seenaya and Subba Raju (Cyanophyceae) dominance and a contribution of the knowledge of Rio Pequeno arm, Billings Reservoir, Brazil. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 13:73-81.
- Wilson, K.M.; Schmbri, M.A.; Baker, P.D.; Saint P.S. 2000.** Molecular characterization of toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and design of a species-specific PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 332-338.