

FLORAÇÕES DE *Microcystis* NA LAGOA DOS PATOS E O SEU ESTUÁRIO: 20 ANOS DE ESTUDOS

João S. Yunes

Unidade de Pesquisas em Cianobactérias, Prédio da Hidroquímica, Instituto de Oceanografia, Campus Carreiros da FURG, Caixa Postal 474.
CEP 96.201-900. Rio Grande, RS, Brasil.
E-mail: jsyunes@furg.br

RESUMO

Florações da cianobactéria *Microcystis* são regulares e recorrentes na lagoa dos Patos e seu estuário (RS). Embora o primeiro registro científico seja datado de 1987, informações de antigos moradores das margens indicam que as florações de cianobactérias existem desde o início do século passado. Durante os meses de verão e outono as grandes florações de *M. aeruginosa* aparecem e estão associadas ao fluxo de enchente do estuário, a condições N:P entre 10:1 a 16:1 e a temperaturas médias da água acima de 20°C. Este fluxo mais lento de descarga das águas de superfície permite diversos ciclos de crescimento de *Microcystis* e o efeito do sal marinho interfere na composição intra e extracelular de microcistinas. No verão de 1995 a cepa RST9501 foi isolada a partir de uma floração na lagoa dos Patos e suas células consideradas tóxicas em bioensaios com camundongos, microcrustáceos e camarões. A cepa possui quatro variantes de microcistinas sendo a principal a D-Leu¹ MCyst-LR. Estas toxinas foram também acumuladas por mariscos marinhos das praias do Atlântico Sul e por peixes de água doce. A toxicidade das microcistinas desta cepa tem sido avaliada através de testes que demonstraram estresse oxidativo em poliquetas e caranguejos marinhos e através de interferência na osmoregulação de peixes. As microcistinas isoladas da lagoa dos Patos são consumidas por bactérias heterotróficas do gênero *Burkholderia*. As florações também produzem endotoxinas presentes em quantidades proporcionais às células de *Microcystis* e tem causado problemas de irritação de pele por contato em banhistas na região.

Palavras-chave: Cianobactéria, florações tóxicas, lagoa dos Patos, *Microcystis*, microcistinas.

ABSTRACT

BLOOMS OF *Microcystis* IN THE PATOS LAGOON AND ESTUARY (RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL): A TWENTY-YEAR STUDY. Cyanobacterial blooms of *Microcystis* are frequent in the Patos Lagoon and estuary located in Rio Grande do Sul State, Brazil. Although the first scientific record of such occurrence dates to 1987, local villagers claim cyanobacterial blooms have occurred in the area since the beginning of the 20th century. Great blooms of *M. aeruginosa* take place during the summer and fall, as a result of seasonal swells in the estuary and suitable abiotic conditions, as N:P ratios between 10:1 and 16:1 and water temperatures above 20°C. The reduced water outflow enables the growth of *Microcystis* populations, and the surplus of sea salt directly affects intracellular and extracellular composition of microcystins. The strain RST9501 was isolated in the summer of 1995 from a cyanobacterial bloom in the area, and the cells proved toxic to mice, microcrustaceans and shrimp. This strain presents four types of microcystins, mainly D-Leu¹ MCyst-LR. These toxins also demonstrated to accumulate in marine shellfish from the South Atlantic Sea and in freshwater fish. The toxicity of RST9501 cells was demonstrated by oxidative stress to polychaetes, sea crabs and osmoregulatory alterations in fish. The microcystins isolated from the Lagoa dos Patos lagoon are consumed by bacteria of the genus *Burkholderia*. Local blooms demonstrated to present toxins related to the quantity of *Microcystis* cells and caused contact dermatitis to the local human population.

Keywords: Cyanobacteria, toxic blooms, Patos Lagoon, *Microcystis*, microcystins.

RESUMEN

FLORACIONES DE *Microcystis* EN LA LAGUNA DE LOS PATOS Y SU ESTUARIO: 20 AÑOS DE ESTUDIOS. Las floraciones de la cianobacteria *Microcystis* son regulares y recurrentes en la laguna de los

Patos y su estuario (RS). Aunque el primer registro científico fue datado en 1987, informaciones de antiguos moradores de las márgenes indican que las floraciones de cianobacterias ocurren desde el inicio del siglo pasado. Durante los meses de verano y otoño las grandes floraciones de *M. aeruginosa* parecen estar asociadas al flujo de crecidas del estuario, con condiciones N:P entre 10:1 a 16:1 y a temperaturas medias del agua por encima de los 20°C. Este flujo más lento de descarga de las aguas superficiales permite diversos ciclos de crecimiento de *Microcystis* y el efecto de la sal marina interfiere en la composición intra y extracelular de microcistinas en las células. En el verano de 1995, una cepa RST9501 fue aislada a partir de una floración en laguna de los Patos y sus células consideradas tóxicas en bioensayos con ratones, microcrustáceos y camarones. La cepa posee cuatro variantes de microcistinas siendo la principal D-Leu¹ MCyst-LR. Estas toxinas también fueron acumuladas por mariscos marinos de las playas del Atlántico Sur y por peces de agua dulce. La toxicidad de las microcistinas de esta cepa ha sido evaluada a través de test que demostraron estrés oxidativo en poliquetos y congrejos marinos a través de interferencia en la osmorregulación de peces. Las microcistinas aisladas del lago dos Patos fueron consumidas por bacterias heterotróficas del género *Burkholderia*. Las floraciones también producen endotoxinas (LPS) presentes en cantidades proporcionales a las células de *Microcystis* y han causado problemas de irritación de la piel por contacto en bañistas de la región.

Palabras-clave: Cianobacteria, floraciones tóxicas, lago dos Patos, *Microcystis*, microcistinas.

INTRODUÇÃO

A presente revisão enfoca como estudo de caso as florações da cianobactéria do gênero *Microcystis* na lagoa dos Patos e no seu estuário. O presente texto não pretende sobrepor ou repetir as duas revisões anteriores já publicadas (Yunes 2000, Yunes *et al.* 2003). No caso da primeira, o tema versou sobre dois programas de monitoramento das florações que aconteceram ao longo do estuário da lagoa dos Patos entre dezembro de 1993 e maio de 1996 e entre abril de 1997 e julho de 1998. No caso da segunda revisão, o tema versou estritamente sobre a determinação e ocorrência das formas de neurotoxinas (saxitoxinas e anatoxina-a (S)) em mananciais na região Sul do País.

A lagoa dos Patos e o seu estuário representam o segundo maior volume de águas interiores naturais no País. As águas da lagoa provém de uma grande bacia de drenagem (201.600km²) que atravessa as mais industrializadas áreas do estado do Rio Grande do Sul. Principalmente na porção Norte, onde a influência marinha é inexistente, a lagoa serve como manancial a diversos municípios, incluindo-se a capital do estado do Rio Grande do Sul.

Nas suas margens, mais de 3 milhões de habitantes vivem em diversas cidades e vilarejos utilizando as suas águas para lazer, abastecimento público, indústrias, pesca comercial e de subsistência, agricultura (irrigação) e navegação.

Como fatos históricos: os primeiros registros científicos de florações de *Microcystis aeruginosa*

na lagoa dos Patos, porção estuarina, foram descritos por Odebrecht *et al.* (1987). No entanto, informações prestadas por antigos moradores das fazendas de criação de gado nas suas margens (Feitoria) indicam que as florações de cianobactérias existiam, desde o início do século XX, sendo marcadamente observadas durante o verão e outono (Figura 1).

O QUE MUDA NOS MESES DE VERÃO PARA PROVOCAR AS FLORAÇÕES?

Diferente de outros corpos aquáticos a lagoa dos Patos é uma laguna. Este fato favorece o forte fluxo de descarga de água no sentido Norte-Sul, principalmente durante os meses de mais intensas chuvas (inverno) e quando sob a predominância dos ventos Norte ou Nordeste. Já nos verões, devido à estiagem ou predominância de ventos de outros quadrantes, o fluxo de enchente de águas marinhas (desde o Oceano Atlântico-Sul) força uma 'cunha' de água de maior densidade e salinidade a penetrar pelo fundo e lavar a superfície do sedimento do estuário. Esta entrada re-suspende parte dos nutrientes ali depositados como material particulado, principalmente compostos combinados de fósforo. O aumento da condutividade nestas águas de fundo é outro fator que facilita a re-suspensão do fósforo (Yunes *et al.* 1994, 1996a). Como resultado observou-se nos monitoramentos realizados entre 1994 e 2006, que os eventos das florações de *Microcystis* eram antecidos e/ou concomitantes a uma relação dos nutrientes de nitro-

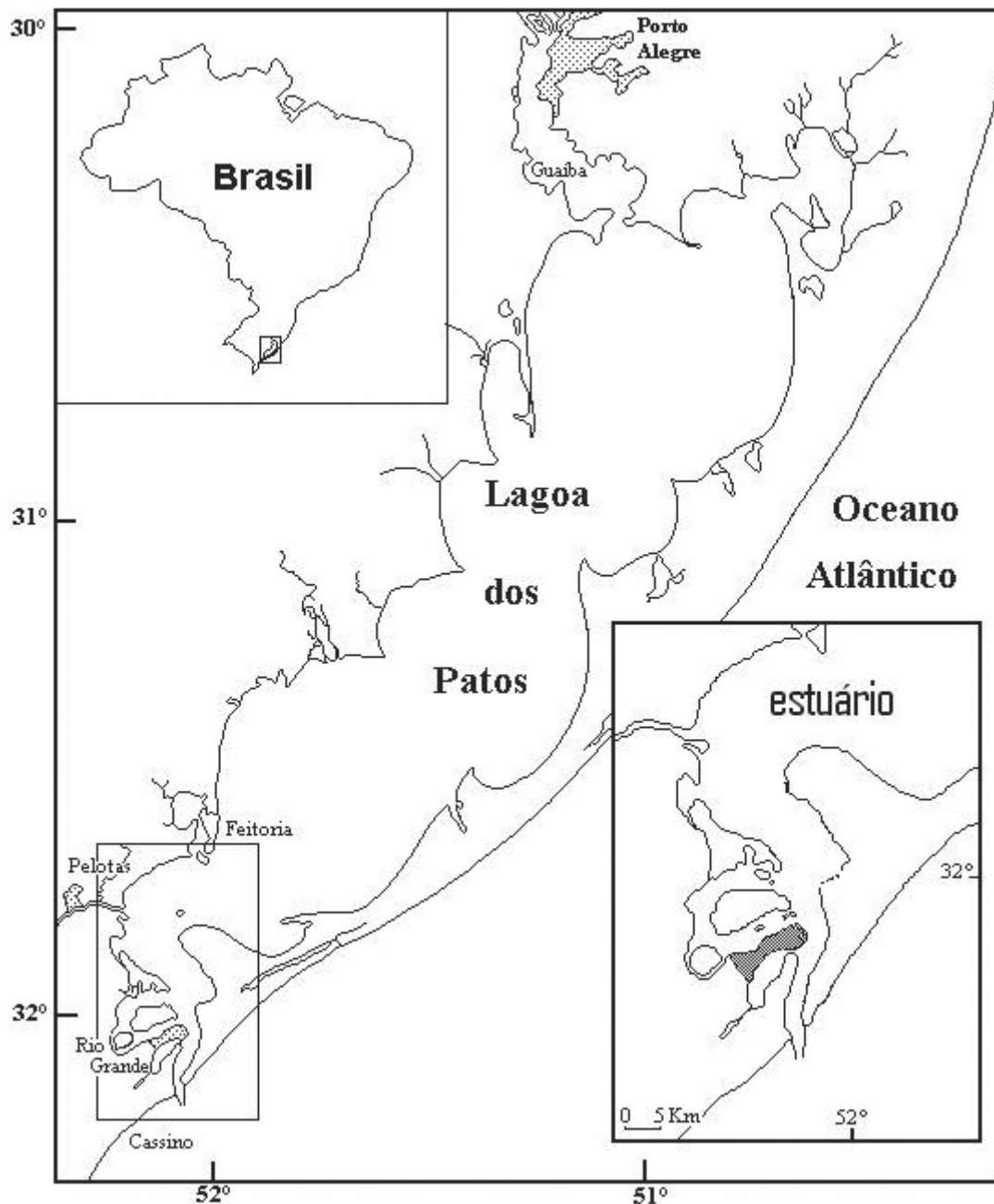


Figura 1. Lagoa dos Patos e o seu estuário. O estuário é delimitado em teoria pela área de influência da água do Oceano Atlântico.

Figure 1. Lagoa dos Patos and estuary. The estuary is delimited by Atlantic seawater.

gênio combinado solúvel sobre o fósforo combinado solúvel (N:P) entre 10:1 a 16:1. (Yunes *et al.* 1996b). Este fato parece ser o mais importante condicionante ao surgimento das grandes florações como observadas nos anos de 1994 a 2003. O fator temperaturas médias da água, mesmo que superior aos 20°C, não provou *per se* condicionar o vasto sistema hídrico da lagoa dos Patos a induzir florações de *Microcystis* nos meses de verão. Daí serve como evidência, a baixa concentração celular de células de *Microcystis* encontradas mesmo sob temperaturas superiores a

20°C nos verões de 1997-1998 (Matthiensen *et al.* 1999) e atualmente em 2007-2008.

Este condicionamento do crescimento celular que se inicia nas regiões centrais da lagoa dos Patos durante os verões mostra uma diversidade de formas coloniais que vão desde grupamentos de duplicação rápida às formas planctônicas com vesículas de gás (Reynolds 1980) e terminando com as formas senescentes (Yunes *et al.* 1998, Minillo *et al.* 2000) muitas vezes levando ao depósito destas formas nas praias oceânicas do Atlântico Sul.

QUANTO AO EFEITO DA PRESENÇA DE MAIORES CONCENTRAÇÕES DE SAIS NAS ÁGUAS OCEÂNICAS DO QUE NO INTERIOR DA LAGOA DOS PATOS

Este fator limitante da salinidade sobre o crescimento ou duplicação celular foi medido com valores nítidos de inibição do crescimento a salinidades $\geq 4,2$ (Salomon 1999, Yunes 2000). No entanto, outros aspectos do efeito de maiores concentrações de sais, já mencionados anteriormente, merecem ser apontados como decisivos para a manutenção de altas densidades celulares de *Microcystis* junto às praias oceânicas do Atlântico-Sul. O mais importante é que a penetração da cunha salina junto e sobre o sedimento do fundo do estuário parece ser o fator decisivo para a ressuspensão do fósforo solúvel e provocar o crescimento intenso (floração) de células de *Microcystis* na superfície em águas onde a salinidade é < 1 . Já o fluxo lento de descarga da lagoa para o oceano, preponderante nos meses de verão, garante e permite vários ciclos celulares de duplicação (~6 horas) para as células de *Microcystis*.

Análises das concentrações de células de *Microcystis* em natas ainda no interior da lagoa, mostraram concentrações mais altas de microcistinas do que naquelas encontradas longe dali, nas praias do Atlântico-Sul. Além disto, em experimentos de laboratório, observou-se que o aumento de salinidade provocou um aumento extracelular de N-amoniaco e aminoácidos e uma diminuição na atividade glutamina sintetase e na taxa fotossintética das células. Células crescendo em diferentes salinidades apresentaram um conteúdo variável de toxinas intracelulares e extracelulares. O maior percentual de toxinas extracelulares foi encontrado em salinidades mais baixas (0,5). Ao contrário, o mais baixo percentual de toxinas extracelulares foi encontrado na salinidade de 2,5 (Salomon 1999).

ESTUDOS COM A CEPA RST9501

Em 1995, uma amostra de uma pequena floração de *Microcystis aeruginosa* foi coletada no estuário da lagoa dos Patos, trazida ao laboratório, purificada e colocada em meio de cultivo BG11 (Rippka *et al.* 1979) mostrou crescimento com sucesso. Esta cepa foi registrada com código RST9501 e desde aquele

ano tem sido utilizada por dezenas de trabalhos de Mestrado e Doutorado da FURG e de outras Instituições.

Esta cepa teve a sua DL_{50} determinada para camundongos Swiss albinos como sendo de 53,6mg.kg⁻¹ peso corporal. Em animais marinhos obteve-se uma CL_{50} de 0,48mg mL⁻¹ para *Artemia salina* (Yunes *et al.* 1996a) e de 1,44mg.mL⁻¹ para o tanaidáceo *Kalliapseudis shubartti* (camarão branco ou cego) em soluções aquosas e de 1,79mg.mL⁻¹ em testes onde o sedimento havia sido contaminado com microcistinas (Montagnolli *et al.* 2004). A cepa RST9501 provou também ser tóxica a pós-larva do camarão rosa *Farfantepenaeus paulensis*, com uma CL_{50} de 0,91mg.mL⁻¹ (Yunes 2000).

A mesma cepa foi testada para a acumulação de microcistinas em bivalves marinhos (*Mesodesma mactroides*) e obtiveram-se os níveis mais altos no hepatopâncreas quando expostos a níveis celulares que ultrapassavam a 10.000 células.mL⁻¹. Nestas condições o máximo encontrado de microcistinas totais no hepatopâncreas do marisco branco foi de 5,27µg.g⁻¹ps (Leão 2004). Níveis muito baixos de acumulação de microcistinas ($< 0,015\mu\text{g g peso seco}^{-1}$) foram encontrados no músculo dos peixes herbívoros, como a carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), mesmo quando mais de um milhão de células de *Microcystis aeruginosa* foram oferecidas aos peixes ao longo de 48 h de experimentos (Giordano 2007).

O efeito tóxico dos extratos celulares de *Microcystis aeruginosa* cepa RST9501 são devidos a presença de pelo menos 4 variantes de microcistinas. A mais abundante destas formas de variantes é a D-Leu¹ MCyst-LR que corresponde a 90% da fração tóxica de origem peptídica (Matthiensen *et al.* 2000). Embora a toxicidade total das células de *Microcystis* seja o resultado de um efeito conjunto, outras três variantes de menor ocorrência foram encontradas nos extratos metanólicos da cepa RST9501. Sobre a toxicidade destas variantes ainda não foi possível testá-las.

A hepatotoxicidade das microcistinas é mediada pela inibição das proteínas fosfatases. Novas evidências sugerem outros mecanismos de toxicidade incluindo o estresse oxidativo e efeitos sobre a osmoregulação em peixes e outros organismos aquáticos. Altos níveis de oxigênio reativos, peroxidação de lipídeos e danos ao DNA foram observados depois de exposição à microcistina. O tripeptídeo glutatona (GSH) é um dos

mais importantes antioxidantes e tem sido observada a sua conjugação a microcistinas (Pflugmacher 2004). Esta conjugação diminui os estoques intracelulares de GSH, deixando as células mais suscetíveis ao estresse oxidativo. Tais evidências deste efeito das microcistinas foram observadas em poliquetas (Rosa *et al.* 2005), em caranguejos marinhos (Dewes *et al.* 2006) e sobre peixes de água doce (Pietro *et al.* 2006). Nestes últimos organismos aquáticos, a inibição da Na⁺K⁺-ATPase pela microcistina pode ser responsável pela queda na osmoregulação necessária para a sobrevivência e tolerância ao sal em regiões de estuários como a lagoa dos Patos (Montserrat *et al.* 2003).

OUTROS FATORES DE TOXICIDADE NA LAGOA DOS PATOS

A parede celular das cianobactérias constituída de lipossacarídeos (LPS) também possui atividade tóxica devido ao lipídeo A (endotoxina). Contagens ambientais de *Microcystis* que atingiram valores superiores a 600.000 células mL⁻¹ possuem alta presença de lipopossacarídeos. Estes lipídeos foram detectados pelo método de LAL e tem uma correlação positiva com o número de células de cianobactérias presentes nas florações (Gutierrez 2007). No verão de 2003, mais de 30 banhistas na Praia do Cassino, RS, foram atendidos no Posto Médico com sintomas de alergias epicutâneas resultantes do contato com visíveis colônias de *Microcystis* (22.000 células mL⁻¹) junto ao vai-vem da arrebentação das ondas ou de colônias depositadas na areia da praia. Estas paredes celulares causam alergia e irritação primária na pele de mamíferos e, em experimentos tópicos, demonstraram provocar o aumento de neutrófilos e eosinófilos sanguíneos em ratos (Silva 2005).

As florações de *Microcystis*, na lagoa dos Patos, embora de toxicidade já comprovada devido aos peptídeos conhecidos e também aos lipopolissacarídeos da parede celular, permitem a existência de uma flora bacteriana heterotrófica acompanhante. Cepas da bactéria do gênero *Burkholderia* foram isoladas de florações de *Microcystis* no estuário da lagoa dos Patos e cresceram positivamente na presença de microcistinas (1-5 µg L⁻¹) como única fonte de carbono. Esta observação indicou aquele gênero como decompositor de microcistinas (Lemes *et al.* 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No momento continuam em andamento as pesquisas sobre o consumo de microcistinas por novas cepas de bactérias isoladas do estuário da lagoa dos Patos. Estamos intensificando esforços para adaptação dos métodos existentes para a quantificação de lipopolissacarídeos (LPS) de água tratada para a análise de LPS livres nas florações de cianobactérias. Finalmente, estamos mantendo um sistema de monitoramento pontual na margem oeste do estuário da lagoa dos Patos em busca de florações de cianobactérias, isolamento de cepas e identificação de microcistinas.

REFERÊNCIAS

- DEWES, L.J.; SANDRINI, J.Z.; MONSERRAT, J.M. & YUNES, J.S. 2006. Biochemical and physiological responses after exposure to microcystins in the crab *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda, brachyura). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 201-208.
- GIORDANO, S.B. 2007. *Estudos Sobre a incorporação de microcistina de cianobactérias em carpa prateada – Hypophthalmichthys molitrix (Valenciennes, 1844)*. Tese de Mestrado, FURG, Rio Grande, RS, Brasil. 49p.
- GUTIERREZ, F.B. 2007. *Otimização do teste de LAL para análise de LPS de Microcystis em cultura da região estuarina da lagoa dos Patos e praia adjacente*. Tese de Mestrado, FURG, Rio Grande, RS, Brasil. 60p.
- LEÃO, J.C. 2004. *Retenção de microcistinas em organismos filtradores nativos do estuário e costa adjacente da lagoa dos Patos*. Tese de Mestrado. FURG, Rio Grande, RS, Brasil. 89p.
- LEMES, G.A.F.; KERSANACH, R.; PINTO, L.S.; DELLAGOSTIN, O.A.; YUNES, J.S. & MATTHIENSEN, A. 2008. Biodegradation of *Microcystins* by aquatic *Burkholderia* sp. from a South Brazilian Coastal lagoon. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 358-365.
- MATTHIENSEN, A.; YUNES, J.S. & CODD, G.A. 1999. Ocorrência, distribuição e toxicidade de cianobactérias no estuário da lagoa dos Patos, RS. *Revista Brasileira de Biologia*, 59:1-15.
- MATTHIENSEN, A.; YUNES, J.S. & CODD, G.A. 2000. [D-Leu¹] microcystins-LR, from the cyanobacterium *Microcystis* RST9501 and from a *Microcystis* bloom in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *Phytochemistry*, 55: 383-387.

- MINILLO, A.; FERREIRA, A.H.F.; YOGUI, G.T. & YUNES, J.S. 2000. Concentrações de microcistinas e toxicidade nas formas coloniais de *Microcystis aeruginosa* de florações no estuário da lagoa dos Patos. Pp. 521-533. In: E.L.G. Espindola, C.M.R.B. Paschoal, O. Rocha, M.B.C. Bohrer & A.L. Oliveira Neto (eds.) Ecotoxicologia – Perspectivas para o Século XXI. RIMA Editora. São Carlos, S.P. Brasil. 575p.
- MONSERRAT, J.M.; PINHO, G.L.L. & YUNES, J.S. 2003. Toxicological effects of hepatoxins (microcystins) on aquatic organisms. *Comments on Toxicology*, 9: 89-101.
- MONTAGNOLLI, W.; ZAMBONI, A.; LUVIZOTTO, R. & YUNES, J.S. 2004. Acute effects of *Microcystis aeruginosa* from the Patos Lagoon estuary, Southern Brazil, on the microcrustacean *Kalliapseuds shubbartii* (Crustacea: tanaidacea). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46: 463-469.
- ODEBRECHT, C.; SELLIGER, U.; COUTINHO, R. & TORGAN, L.C. 1987. Florações de *Microcystis* (cianobactérias) na lagoa dos Patos, RS. Pp. 11-16. In: Anais do Simpósio Ecossistemas Costeiros Sul e Sudeste do Brasil: Síntese do Conhecimento, Cananéia, SP, Brasil. 213p.
- PFLUGMACHER, S. 2004. Promotion of Oxidative Stress in the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* during biotransformation of the cyanobacterial toxin microcystin-LR. *Aquatic toxicology*, 70: 169-178.
- PIETRO, A.I.; JOS, A.; PICHARDO, S.; MORENO, I. & CAMEAN, A.M. 2006. Differential Oxidative Stress responses to microcystins LR and RR in intraperitoneally exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.). *Aquatic Toxicology*, 77: 314-321.
- REYNOLDS, C.S.; JAWORSKI, G.H.M.; CMIEH, H.A. & LEEDALE, G.F. 1980. On the annual cycle of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* (kutz. Emmend. Elenkin.) *Philosophical Transactions Of The Royal Society, London, B*. 293: 419-477.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M. & STANIER, R.Y. 1979. Generic assignments, strains histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 111: 1-61.
- ROSA, C.E.; SOUZA, M.S.; YUNES, J.S.; PROENÇA, L.A.; NERY, L.E.M. & MONSERRAT, J.M. 2005. Cyanobacterial blooms in estuarine ecosystems. Characteristics and effects on *Laonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae). *Marine Pollution Bulletin*, 50: 956-964.
- SALOMON, P.S. 1999. *O efeito da salinidade sobre o crescimento e metabolismo de uma cepa de cianobactéria produtora de toxinas (Microcystis aeruginosa RST9501) isolada do estuário da lagoa dos Patos, RS*. Tese de Mestrado, FURG, Rio Grande, RS, Brasil. 112p.
- SILVA, L.M. 2005. *Ocorrência de Cianobactérias no Estuário e Costa Adjacente à lagoa dos Patos, Rio Grande, RS: avaliação preliminar dos riscos à balneabilidade*. Tese de Mestrado, FURG, Rio Grande, RS, Brasil. 144p.
- YUNES, J.S.; NIENCHESKI, L.F.H.; SALOMON, P.S.; PARISE, M.; BEATTIE, K.A.; RAGGETT, S.L. & CODD, G.A. 1994. Development and toxicity of cyanobacteria in the Patos lagoon estuary, Southern Brazil. Pp 14-19. In: IOC Workshop Report, 101(anexo III). COI/UNESCO editores. Paris, França. 53p.
- YUNES, J.S.; SALOMON, P.S.; MATTHIENSEN, A.; BEATTIE, K.A.; RAGGETT, S.L. & CODD, G.A. 1996a. Toxic Blooms blooms of cyanobacteria in the Patos lagoon estuary, Southern Brazil. *Journal Of Aquatic Ecosystems Health* 5: 223-229.
- YUNES, J.S.; NIENCHESKI, L.F.H.; SALOMON, P.S.; PARISE, M.; BEATTIE, K.A.; RAGGETT S.L. & CODD, G.A. 1996b. The effect of nutrient balance and physical factors on blooms of toxic cyanobacteria in the Patos lagoon, Southern Brazil. *Verhandlungen International Vereiningen Limnologie*, 26: 1796-1800.
- YUNES, J.S.; MATTIENSEN, A.; PARISE, M.; SALOMON, P.S.; RAGGETT S.L.; BEATTIE, K.A. & CODD, G.A. 1998. *Microcystis aeruginosa* growth stages and the occurrence of microcystins in Patos Lagoon, Southern Brazil. Pp. 18-21. In: B. Reguera, J. Blanco, M.L. Fernández & T. Wyatt. Harmful Algae. IOC-UNESCO, Espanha. 635p.
- YUNES, J.S. 2000. Ecotoxicologia em lagoas costeiras-florações de cianobactérias tóxicas na laguna dos Patos, Pp. 231-260. In: F.A. Esteves & L.D. Lacerda (eds.). Ecologia de Restingas e Lagunas Costeiras. NUPEM/UFRJ, Macaé, Rio de Janeiro. 394p.
- YUNES, J.S.; CUNHA, N.T.; BARROS, L.P.; PROENÇA, L.A.O & MONSERRAT, J.M. 2003. Cyanobacterial neurotoxins from Southern Brazilian freshwaters. *Comments on Toxicology*, 9: 103-115.

Submetido em 15/12/2008.

Aceito em 06/03/2009.