

# TOXINES CIANOBACTERIALS

## Part I: origen, producció i propietats de les cianotoxines\*

M. CARMÉ RIVA

Laboratori de Toxicologia Ambiental (INTEXTER, UPC)  
Ctra. nac. 150, km 14,5, 08220 Terrassa

**E**N aquest article es presenta una revisió bibliogràfica sobre la problemàtica que planteja l'existència de les toxines cianobacterials. La necessitat d'aquesta revisió sorgeix com a conseqüència de l'elevada toxicitat que presenta aquest tipus de compostos; toxicitat establerta mitjançant nombrosos estudis a partir de finals dels anys vuitanta i a la dècada dels noranta. Aquesta exposició correspon a la primera part del conjunt d'articles que es presentaran sobre el tema, és a dir, sobre la incidència mediambiental de les microcistines per a l'avaluació del risc associat amb la presència de les substàncies esmentades a les aigües que es troben en contacte directe amb l'espècie humana.

---

### INTRODUCCIÓ

---

Els cianobacteris s'estudien des de fa molt de temps atesa la seva morfologia d'organisme procariont fotosintètic gram negatiu. Abans, se'ls anomenava «algues verd-blavoses» pel seu color característic i els botànics els consideraven com un grup inclòs dins la classificació de les algues per la seva capacitat de fotosíntesi. Això explica que molts botànics i microbiòlegs els hagin denominat moltes vegades com *cianofícies* o *cianòfits*. Ara bé, la seva morfologia procariont va quedar definitivament definida cap a l'any 1960, cosa que va permetre identificar-los com a bacteris.

Dins d'aquest grup es troba una àmplia i diversa gamma d'organismes filamentosos o

unicel·lulars. Les diferències entre ells són principalment d'origen genètic ja que, quant a les propietats de nutrició i de metabolisme, el grup és relativament uniforme. Tots els organismes són fotoautòtrofs i no solen necessitar cap altre font d'energia per créixer.

Els cianobacteris són els únics organismes capaços d'efectuar la fotosíntesi i poden, a més, fixar el nitrogen en grans dosis. Aquests organismes disposen dels requisits alimentaris bàsics coneguts: poden créixer a la llum per mitjà d'utilitzar el CO<sub>2</sub> com a font de carboni i el N<sub>2</sub> com a font de nitrogen.

Algunes espècies de cianobacteris inclouen dins l'estructura uns vacúols gasífers

***Els cianobacteris són els únics organismes capaços d'efectuar la fotosíntesi i poden, a més, fixar el nitrogen en grans dosis.***

\* Text traduït de l'espanyol per Laura Paredes.

**La toxicitat de determinades espècies de cianobacteris es va començar a detectar fa uns 140 anys.**

que els confereixen la propietat de flotar en el medi aquàtic (1), cosa que els fa susceptibles de produir certs efectes letals o subletals.

La toxicitat de determinades espècies de cianobacteris es va començar a detectar

fa uns 140 anys, a causa de diversos casos d'intoxicació en animals arreu del món, tant de ramaderia com de fauna salvatge. El primer cas de malaltia i mortalitat com a conseqüència d'una intoxicació per cianobacteris es va produir l'any 1853, i inclou una documentació científica sobre la mort de vaques, ovelles, cavalls, porcs i gossos després d'haver ingerit aigua del llac Alexandrina, al sud d' Austràlia (2, 3). Aquest llac contenia el cianobacteri *Nodularia spumigena*, que és una espècie capaç de produir hepatotoxines.

Des d'aleshores, el nombre d'intoxicacions ha anat augmentant de mica en mica, i s'han detectat casos tant en aigües dolces com salades i marines a diversos punts d'Europa, d'Amèrica del Nord i del Sud, d'Austràlia, d'Àfrica i d'Àsia que es poden atribuir en tots els casos a les toxines produïdes pels cianobacteris i que han afectat tot tipus de bestiar vacum, boví, porcí i gossos, cavalls, gats, mones, esquiroles, rinoceronts, peixos, aus i invertebrats. Totes aquestes intoxicacions han estat estudiades per diversos investigadors (4, 5, 6).

L'aparició de *blooms* cianobacterials tòxics és un fenomen mundial, amb exemples a més de trenta països i a tot tipus d'aigües marines i continentals. Els llocs on s'han trobat *blooms* cianobacterials són els següents (3, 7, 4):

- EUROPA: Bèlgica, República Txeca, Dinamarca, Finlàndia, França, Alemanya, Grècia, Hongria, Irlanda, Itàlia, Holanda, Noruega, Polònia, Portugal, Rússia, Eslovàquia, Suïssa, Suècia, Ucraïna i el Regne Unit.
- AMÈRICA: Argentina, les Bermudes, Brasil, Canadà, Xile, EUA i Veneçuela.
- ÀSIA: Bangla Desh, Índia, Israel, Japó, Malàisia, República Popular Xina, Aràbia Saudita, Corea del Sud i Tailàndia.
- ÀFRICA: Egipte, Etiòpia, Marroc, Sud-àfrica i Zimbabwe.

— AUSTRÀLIA: Austràlia, Nova Caledònia i Nova Zelanda.

— AIGÜES MARINES: Oceà Atlàntic, Mar Bàltic, Mar Carib i Oceà Índic.

En moltes ocasions, la presència d'escumes o d'afloraments *blooms* de cianobacteris a l'aigua en el moment de l'accident ha estat l'única evidència per atribuir la toxicitat a aquesta causa. I sovint, la toxicitat de les cèl·lules cianobacterials ni tan sols estava determinada. Tanmateix, altres casos més recents han permès relacionar d'una manera més estreta els cianobacteris amb la causa de les malalties i la mort dels animals i dels peixos gràcies a l'anàlisi posterior de les aigües suposadament contaminades i dels estudis histopatològics dels organismes afectats per les intoxicacions (7).

L'origen de l'aparició de les escumes o *blooms* de cianobacteris sol produir-se en aigües eutrofitzades, on hi ha una aportació excessiva de nutrients minerals, generalment de nitrogen i fòsfor, que aporta la contaminació provocada pels detergents, els fertilitzants, etc. (rics en nutrients). Això origina un desenvolupament massiu de cianobacteris unicel·lulars i filamentosos, d'una manera molt característica durant els mesos més calorosos de l'any, quan els cianobacteris esdevenen una espècie dominant dels *blooms* de fitoplàncton (8).

Aquests cianobacteris solen pertànyer a formes amb vacúols gasífers, que els permeten, en condicions o dies de calma, pujar a la superfície i formar uns *blooms* i unes escumes que la brisa o els vents fluïxos porten amb facilitat a les vores dels llacs, els rius o els mars. Aquestes escumes poden arribar a mesurar uns quants centímetres de gruix (7).

**L'origen de l'aparició de les escumes o blooms de cianobacteris sol produir-se en aigües eutrofitzades, on hi ha una aportació excessiva de nutrients minerals.**

## SIGNIFICAT BIOLÒGIC DE LES CIANOTOXINES

Els cianobacteris produeixen una gran varietat de metabòlits secundaris únics, dins

els quals s'inclouen hormones, antibiòtics i toxines. Aquestes toxines són compostos secundaris que tenen efectes perjudicials sobre altres teixits, cèl·lules i organismes (9).

L'aparició de les toxines a l'aigua té dos orígens. El primer es produeix quan el *bloom* explota i permet l'alliberament de les cianotoxines i el segon es deu a un creixement massiu de la biomassa cianobacterial (4). Aquest fenomen es presenta de la mateixa manera a les aigües dolces, salades i marines, però com s'ha comentat abans, apareix sobretot en aigües eutrofitzades i, per tant, la majoria de referències són en aigua dolça.

Les mesures periòdiques de *blooms* aquàtics en diferents parts del món han revelat que un tant per cent són tòxics (entre un 25 % i un 75 % d'aquests afloraments) (10). Els *blooms* representen un perill per a la salut humana i per a la fauna, sobretot si es formen en aigües de zones d'esbarjo o en aigües que es destinaran al consum (pantans, embassaments artificials, etc.). El que no s'ha estudiat tant és l'efecte que aquests elements tòxic exerceixen sobre el medi aquàtic i l'ecosistema corresponent.

A més d'haver-ne una gran varietat, les cianotoxines es troben en una proporció elevada dins el cianobacteri (per exemple, *Microcystis aeruginosa* conté entre 0,1 µg i 0,2 µg de toxina per µg de clorofil·la) (11). No és gaire probable que tota aquesta producció de toxines quedi retinguda al llarg de l'evolució del cianobacteri, si no és que tingui alguna funció biològica.

Com tota la resta de metabòlits secundaris, les cianotoxines estan produïdes pels substrats monomèrics, productes e intermedis del metabolisme primari dels cianobacteris. La biosíntesi dels metabòlits secundaris fa necessàries com a mínim deu reaccions enzimàtiques (11).

La resistència que presenta el cianobacteri a l'hora de protegir la seva informació genètica per mitjà de la regulació i la catàlisi d'aquests metabòlits secundaris (tot i que molt sovint es produeixen mutacions nocives) indica que aquests metabòlits secundaris i els seus possibles productes poden beneficiar l'hàbitat del cianobacteri en general.

Algunes possibles funcions biològiques dels metabòlits secundaris, incloses les toxines, són les següents (11):

1. Defensa o arma contra els antihervibors químics o al·leloquímics.
2. Agent contra el creixement massiu d'algues.

3. Agent contra els tensioactius.
4. Relacions simbiòtiques.
5. Efectes de diferenciació intracel·lular i extracel·lular.
6. Excreció de productes indesitjables.
7. Adquisició i emmagatzematge de metalls.
8. Dipòsits de reserva dels metabòlits.
9. Productes per al DNA de la puça de mar.

Totes aquestes funcions són suposicions que encara no han estat demostrades. També se suposa que les cianotoxines, en concret, poden exercir més d'una d'aquestes funcions a la vegada.

La funció més evident per a les cianotoxines és la de defensa o arma contra els planctívors. Alguns fets suggereixen que les toxines poden ser protectors químics (12).

Les toxines produïdes pels cianobacteris es classifiquen principalment en tres grans grups, en funció del sistema fisiològic de l'organisme que afecten: hepatotoxines, neurotoxines i dermatotoxines. Per exemple, el grup de les hepatotoxines es denomina d'aquesta manera per l'efecte tòxic que exerceixen sobre el fetge de l'animal intoxicat.

La hepatotoxicitat aguda que provoquen les hepatotoxines és la toxicitat més habitual que s'ha trobat en relació amb els cianobacteris. Aquestes toxines són produïdes per races o classes de les espècies incloses dins els gèneres de *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria* y *Nostoc*. A més, en

aquests moments s'estudien hepatotoxines indefinides químicament als gèneres de *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Gloetrichia* y *Coelosphaerium* (9). D'altra banda, les hepatotoxines es classifiquen en tres subgrups, segons la seva estructura: microcistines, nodularines i cilindrospermopsines.

**La funció més evident per a les cianotoxines és la de defensa o arma contra els planctívors. Alguns fets suggereixen que les toxines poden ser protectors químics.**

## PRODUCCIÓ I PROPIETATS DE LES CIANOTOXINES

Bishop i col·laboradors van elaborar el primer informe on aquesta toxina es definia com un pèptid (13). Aquest grup va aïllar

una *Microcystis aeruginosa* de la classe NRC-1. Més endavant, Konst *et al.* (14) i Carmichael (15) la van denominar microcistina (MCYST). Els següents aïllaments de MCYST, es van dur a terme des de la mateixa classe de cianobacteri (16, 17) i de *blooms* de *Microcystis aeruginosa* a Sud-àfrica (18) i a Austràlia (19, 20). Es va trobar amb freqüència en barreges de *blooms* cianobacterials i en espècies aïllades en llacs, estanys i rius. Altres aïllaments posteriors de microcistines d'espècies diferents van permetre arribar a la conclusió que, tot i que el comportament era semblant, la composició dels aminoàcids de la toxina presentava diferències segons l'espècie del cianobacteri (6).

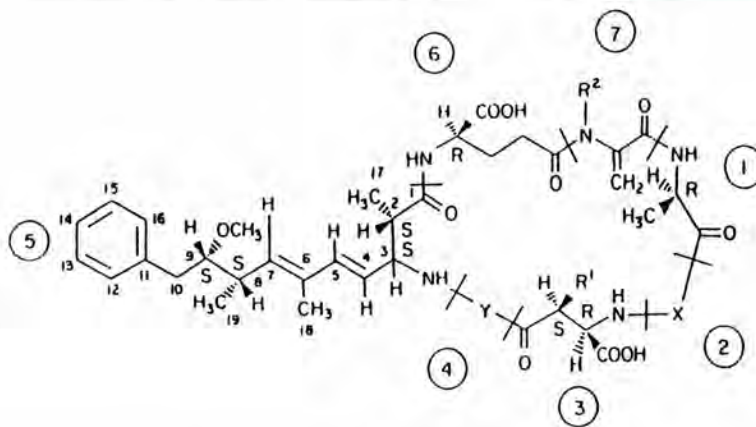
Rinehart *et al.* van elaborar la primera estructura definitiva per a una microcistina (21); era l'estructura de la M-LR. Namikoshi *et al.* van continuar aquest treball i van pu-

blicar els resultats de la síntesi química del component ADDA de la microcistina, el qual ha demostrat ser el component clau, quant a estructura, per a l'activitat biològica de la toxina.

Després de la realització de sengles estudis, la composició de les microcistines s'ha definit com compostos heptapèptids cíclics, amb una estructura comuna que conté tres D-aminoàcids (alanina, àcid eritro-B-metilaspàrtic i àcid glutàmic), dos L-aminoàcids (que són variables), més dos aminoàcids poc habituals, l'N-metildehidroalanina (Mdha) i una cadena de vint carbonis, única d'aquestes toxines, anomenada àcid 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienoic (ADDA).

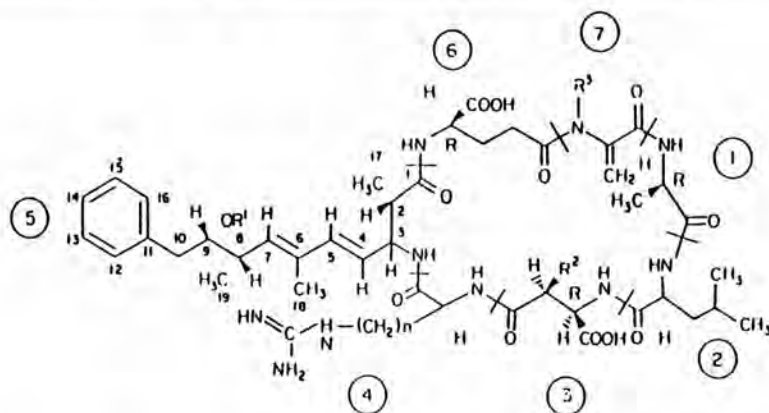
Les estructures químiques de les microcistines caracteritzades fins ara són les que es mostren a les figures 1 i 2 (9).

**FIGURA 1**  
Estructura general de les microcistines



		PM
	MCYST-LA: X = Lcu; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Ala; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	909
	MCYST-M(O)R: X = Met(O); R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1028
	MCYST-YA: X = Tyr; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Ala; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	959
	MCYST-LR: X = Lcu; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	994
	MCYST-FR: X = Phe; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1028
	MCYST-AR: X = Ala; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	952
	MCYST-YM: X = Tyr; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Met; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1018
	MCYST-RR: X = Arg; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1037
[D-AsP <sup>3</sup> ]	MCYST-RR: X = Arg; R <sup>1</sup> = H; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1023
[D-AsP <sup>3</sup> , Dha <sup>7</sup> ]	MCYST-RR: X = Arg; R <sup>1</sup> = H; Y = Arg; R <sup>2</sup> = H	1009
	MCYST-YR: X = Tyr; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1044
	MCYST-HtyrR: X = Htry; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1055
[D-AsP <sup>3</sup> ]	MCYST-HtyrR: X = Htry; R <sup>1</sup> = H; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1044
	MCYST-WR: X = Trp; R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; Y = Arg; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub>	1067

**FIGURA 2**  
Estructura de la microcistina-LR i les seves anàlogues



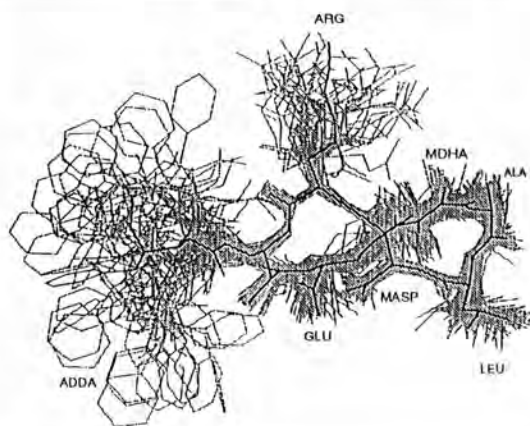
	PM
MCYST-LR: R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 3	994
[ADMAdda <sup>5</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = <sup>20</sup> CO <sup>21</sup> CH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 3	1022
[ADMAdda <sup>5</sup> ]-MCYST-LHarg: R <sup>1</sup> = COCH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 4	1036
[D-Asp <sup>3</sup> , ADMAdda <sup>5</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = COCH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = H; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 3	1008
[D-Asp <sup>3</sup> , ADMAdda <sup>5</sup> ]-MCYST-LHarg: R <sup>1</sup> = COCH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = H; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 4	1022
[D-Asp <sup>3</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = H; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 4	980
[DMAdda <sup>5</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = H; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>3</sup> = CH <sub>3</sub> ; n = 3	980
[Dha <sup>7</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>3</sup> = H; n = 3	980
[Mser <sup>7</sup> ]-MCYST-LR: R <sup>1</sup> = CH <sub>3</sub> ; R <sup>2</sup> = CH <sub>3</sub> ; 7 = N-metilserina; n = 3	1012

La variació a l'estructura química de les microcistines és molt habitual. La més freqüent és la substitució dels L-aminoàcids (nombres 2 i 4). Es coneixen algunes altres variacions menors a l'estructura química general de les microcistines, especialment la manca del grup metil a qualsevol àcid metilaspàrtic o a la metildehidroalanina (nombres 3 i 7), o als dos a la vegada. S'han observat les variacions a cada un dels aminoàcids. Altres variacions possibles que s'han trobat són les modificacions dins l'estructura de l'ADDA. Les microcistines s'anomenen mitjançant abreviacions que indiquen els dos

L-aminoàcids variables que les diferencien; per exemple, en el cas de la Microcistina-LR, les lletres finals indiquen que conté els aminoàcids leucina (L) i arginina (R).

A la figura 3 es mostra l'estructura per NMR de la Microcistina-LR.

**FIGURA 3**



S'han trobat microcistines a les espècies següents de cianobacteris (10):

- *Microcystis aeruginosa* (Kützing): Lemmermann
- *Microcystis viridis*: Lemmermann
- *Anabaena flos-aquae*: Brébisson
- *Anabaena s. p. p.*: Gomont
- *Oscillatoria agardhii*: Gomont

**La variació a l'estructura química de les microcistines és molt habitual. La més freqüent és la substitució dels L-aminoàcids**

- *Nostoc* sp. (A. Brown): Lemmermann
- *Microcystis* spp.

*Microcystis aeruginosa* apareix, en les seves diverses formes, arreu del món. Les espècies d'*Anabaena* hepatotòxiques són conegudes a Canadà (dos aïllaments) i Escandinàvia (classes diferents). *Microcystis viridis* s'aïlla del Japó i les espècies d'*Oscillatoria*, d'Escandinàvia. L'espècie *Nostoc* té l'origen a un llac finès.

Es va descobrir que el bloom Voronichin d'*Anabaenopsis milleri* de Grècia contenia microcistina (possiblement la M-LR) (23) i és una espècie que representa un nou productor de microcistines; però no s'ha demostrat del tot.

D'altra banda, en una ocasió com a mínim, es va caracteritzar també una microcistina d'un cianobacteri terrestre, *Hapalosiphon hibernicus* W de G. S. West, que contenia la M-LA (24).

La M-LR és la microcistina relacionada amb més freqüència, possiblement a causa de la seva gran disponibilitat comercial. Als estudis sistemàtics publicats, la M-LR és la toxina més habitual a Portugal (25) i també apareix amb la M-RR, majoritàriament a Japó (26). La variació extensa entre els L-aminoàcids de les microcistines a Sud-àfrica (27) i la presència freqüent de dimetilacions a les microcistines (-RR i -LR) a classes finlandeses (28, en destaca les diferències geogràfiques i la variació més àmplia en determinades àrees concretes.

A més de les 48 toxines esmentades més conegudes, s'ha demostrat que la classe 186 de l'espècie d'*Anabaena* d'un llac finès produeix deu noves microcistines. Se n'han reconegut els pesos moleculars, però encara no se n'han resolt les estructures químiques (28).

D'altra banda, a Canadà s'ha observat que una mostra d'un bloom dominat per *Microcystis aeruginosa* contenia una microcistina de pes molecular 1074,9, anomenada M-XR, on X és un aminoàcid hidrofòbic amb una massa molecular de 193 Da (29). Les anàlisis posteriors dels aminoàcids han demostrat que la mateixa mostra contenia també quantitats menors de microcistines hidrofòbiques anomenades M-LL (D-Ala variant): -LV, -LM, -LF i -LZ (on Z representa un aminoàcid hidrofòbic desconegut), i M-L (que no conté l'arginina com a aminoàcid sense que la substitueixi cap altre aminoàcid) (30).

Per tot això, es pot afirmar que el nombre de variants de microcistines supera actualment les seixanta; a l'espera de caracteritzar totalment algunes de les toxines descrites.

## AGRAÏMENTS

Aquest treball forma part de l'estudi finançat per la CICYT, Projecte AMB 96-0987. L'autora agraeix al Sr. Domingo Bayona i a la Sra. Nélida Bofill la seva col·laboració en la recerca bibliogràfica.

## BIBLIOGRAFIA

- STAINER, R. Y.; INGRAHAM, J. L.; WHEELIS, M. L.; PAINTER, P. R., *Microbiologia*. Reverté, 1996, p. 380-398.
- FRANCIS, G. «Nature», vol. 18, p. 11. A: BELL, S. G. i CODD, G. A. «Detection, Analysis and Risk Assessment of Cyanobacterial Toxins. Agricultural Chemicals and the Environment», vol 5, p. 109-121. *Environmental Science and Technology*. Hester, R. W. i Harrison R. M., The Royal Society of Chemistry, 1994.
- COOD, G. A.; JEFFERIES, T. M.; KEEVIL, C. W.; POTTER, E. *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1994.
- CHRISTOFFEREN, K. «Ecological Implications of Cyanobacterial Toxins in Aquatic Food Webs». *Phycologia*, vol. 35, suplement 6 (1996), p. 42-50.
- CARMICHAEL, W. W.; BEASLEY, V.; BUNNER, D.; ELOFF, J. N.; FALCONER, I.; GORHAM, P.; HARADA, K. I.; KRISHNAMURTHY, T.; MIN-JUAN, Y.; MOORE, R. E.; RINEHART, K.; RUNNEGAR, M.; SKULBERG, O. V.; WATANABE, M. «Naming of Cyclic Heptapeptide Toxins of Cyanobacteria (Blue-Green-Algae)». *Toxicon* 26 (1988), p. 971-973.
- ELOFF, J. N.; SIEGELMAN, H. W.; KYCIA, H. «Comparative Study on the Toxins from Several *Microcystis Aeruginosa* Isolates». *South African Journal of Science* 78, p. 377 (resum). A: CARMICHAEL, W. W. «Cyanobacteria Secondary Metabolites: the Cyanotoxins». *Journal Applied Bacteriology* 78 (1992), p. 445-459.
- BELL, S. G. i CODD, G. A. «Detection, Analysis and Risk Assessment of Cyanobacterial Toxins». *Agricultural Chemicals and the Environment* 5 (1996), p. 109-121. A: *Environmental Science and Technology*. Hester, R. E. y Harrison, R. M., The Royal Society of Chemistry.
- COOD, G. A. i BELL, S. G. *Water Pollution Control* 84 (1985), p. 225.
- CARMICHAEL, W. W. «Cyanobacteria Secondary Metabolites: the Cyanotoxins». *Journal*

- Applied Bacteriology* 72 (1985), p. 445-459.
- SIVONEN, K. «Cyanobacterial Toxins and Toxin Production». *Phycologia* 35, suplement 6 (1996), p. 12-24.
- CODD, G. A. «Cyanobacterial Toxins: Occurrence, Properties and Biological Significance». *Water Science Technology* 32, núm. 4 (1995), p. 149-156.
- CARMICHAEL, W. W. «Algal Toxins». *Advances of Botanical Research* 12 (1986), p. 47-101. A: REPAVICH, W. M.; SONZOGNI, W. C.; STADRIDGE, J. H.; WEDEPOHL, R. E.; MESINER, L. F. «Cyanobacteria (Blue-Green-Algae) in Wisconsin Waters: Acute and Chronic Toxicity». *Water Research* 24, núm. 2 (1990), p. 225-231.
- BISHOP, C. T.; ANET, E. F. L. J.; GORHAM, P. R. «Isolation and Identification of the Fast-Death Factor in *Microcystis Aeruginosa* NRC-1». *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (1959), p. 453-471.
- KONST, H.; MCKERCHER, P. D.; GORHAM, P. R.; ROBERTSON, A.; HOWELL, J. «Symptoms and Pathology Produced by Toxic *Microcystis Aeruginosa* NRC-1 in Laboratory and Domestic Animals». *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science* 29 (1965), p. 221-228.
- CARMICHAEL, W. W. «Toxins of Freshwater Algae». A: *Handbook of Natural Toxines*. Nova York: TU, A. T., Marcel Dekker, 1988b.
- MURTHY, J. R.; CAPINDALE, J. B. «A New Isolation and Structure for the Endotoxin from *Microcystis Aeruginosa* NRC-1». *Canadian Journal of Biochemistry* 48 (1970), p. 508-510.
- RABIN P. i DARBRE, A. «An Improved Extraction Procedure for the Endotoxin from *Microcystis Aeruginosa* NRC-1». *Biochemical Society Transactions* 3 (1975), p. 428-430.
- TOERIEN, D. F.; SCOTT, W. E.; PITOUT, M. J. «*Microcystis* Toxins' Isolation, Identification, Implications». *Water South Africa (Pretoria)* 2 (1976), p. 160-162.
- ELLEMAN, T. C.; FALCONER, I. R.; JACKSON, A. R. B.; RUNNEGAR, M. T. C. «Isolation, Characterization and pathology of the Toxin from a *Microcystis Aeruginosa* (=Anacystis cyanea) Bloom». *Australian Journal of Biological Sciences* 31 (1978), p. 209-218.
- RUNNEGAR, M. T. C. i FALCONER, I. R. «Isolation, Characterization and pathology of the Toxin from the Blue-Green Alga *Microcystis Aeruginosa*». A: *The Water Environment: Algal Toxins and Health*. Nova York: Carmichael, W. W., Plenum Press, 1981, p. 325-342.
- RINEHART, K. L.; HARADA, K. I.; NAMIKOSHI, M.; CHEN, C.; HARVIS, C.; MUNRO, M. H. G.; BLUNT, J. W.; MULLIGAN, P. E.; BEASLEY, V. R.; DAHLEM, A. M.; CARMICHAEL, W. W. «Nodularin, Microcystin and the Configuration of ADDA». *Journal of the American Chemical Society* 110 (1988), p. 8.557-8.558.
- NAMIKOSHI, M.; RINEHART, K. L.; DAHLEM, A. M.; BEASLEY, V. R.; CARMICHAEL, W. W. «Total Synthesis ADDA, the Unique C20 Amino Acid of Cyanobacterial Hepatotoxins». *Tetrahedron Letters* 30 (1989), p. 3.449-4.352.
- LANARAS, T. i COOK, C. M. «Toxin Extraction from an *Anabaenopsis Milleri*-dominated Bloom». *The Science of the Total Environment* 142 (1994), p. 163-169.
- PRINSEP, M. R.; CAPLAN, F. R.; MOORE, R. E.; PATTERSON, G. M. L.; HONKANEN, R. E.; BOYNTON, A. L. «Microcystin-LA from a Bluegreen Alga Belonging to the Stigonematales». *Phytochemistry* 31 (1992), p. 1.247-1.248.
- VASCONCELOS, V. M.; SIVONEN, K.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; NAMIKOSHI, M. «Isolation and Characterization of Microcystins (Heptapeptide Hepatotoxins) from Portuguese Strains of *Microcystis Aeruginosa* Kutz». Emend Ekelin, *Archiv Für Hydrobiologie* 134 (1995), p. 295-305.
- WATANABE, M. F.; OISHIS, S.; HARADA, K. I.; MATSUURA, K.; KAWAI, H.; SUZUKI, M. «Toxins Contained in *Microcystis* Species of Cyanobacteria (Blue-Green Algae)». *Toxicon* 26 (1988), p. 1.017-1.025.
- SCOTT, W. E. «Occurrence and Significance of Toxic Cyanobacteria in Southern Africa». *Water Sciences and Technology* 23 (1991), p. 175-180.
- SIVONEN, K.; NAMIKOSHI, M.; LUUKKAINEN, R.; FARDIG, M.; ROUHIAINEN, L.; EVANS, W. R.; CARMICHAEL, W. W.; RINEHART, K. L.; NIEMELA, S. I. «Variation of Cyanobacterial Hepatotoxins in Finland». A: *Contaminants in the Nordic Ecosystem: Dynamics, Processes and Fate*. Ecovision World Monograph Series. Munawar, M i Luotola, M., Amsterdam: SPB Academic Publishing, 1995, p. 163-169.
- BOLAND, M. P.; SMILLIE, M. A.; CHEN, D. Z. X.; HOLMES, C. F. B. «A Unified Bioscreen for the Detection of Diarrhetic Shellfish Toxins and Microcystins in Marine and Freshwater Environments». *Toxicon* 31 (1993), p. 1.393-1.405.
- CRAIG, M.; MCCREARY, L.; LUU, H. A.; SMILLIE, M. A.; DUBORD, P.; HOLMES, C. F. B. «Identification and Characterization of Hydrophobic Microcystins in Canadian Freshwater Cyanobacteria». *Toxicon* 31 (1993), p. 1.541-1.549.