

ACUMULAÇÃO DE MICROCISTINAS NO MEXILHÃO DOURADO *LIMNOPERNA FORTUNEI* E RISCOS PARA A BIOTA AQUÁTICA

MICROCYSTIN ACCUMULATION IN GOLDEN MUSSEL
LIMNOPERNA FORTUNEI AND POTENCIAL RISKS TO THE AQUATIC BIOTA

Alessandro Minillo

Pesquisador visitante da Petróleo Brasileiro S.A. (Petrobras), pela Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) – Dourados (MS), Brasil.

Maressa Pomaro Casali

Doutoranda em Ciências da Engenharia Ambiental pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP) – São Carlos (SP), Brasil.

William Deodato Isique

Pós-Doutorando pelo Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD) da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo Departamento de Engenharia Civil, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Ilha Solteira (SP), Brasil.

Maurício Augusto Leite

Professor do Departamento de Engenharia Agrônômica da UNESP – Ilha Solteira (SP), Brasil.

Odete Rocha

Professora do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) – São Carlos (SP), Brasil.

Endereço para correspondência:

Alessandro Minillo – Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – Rodovia Dourados/Itaum, km 12, 7804-9970 – Dourados (MS), Brasil – E-mail: alminillo@yahoo.com.br

RESUMO

As cianobactérias representam um componente natural da comunidade fitoplanctônica, mas estão frequentemente associadas com águas eutrofizadas. Os rios do estado de São Paulo estão em processo contínuo de eutrofização, o que favorece frequentes florações de cianobactérias, prejuízos à qualidade da água para o consumo humano e riscos à biota aquática. O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é uma espécie exótica invasora que pode ser vetor na transferência de toxinas de cianobactérias. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de florações de cianobactérias no rio São José dos Dourados, suas toxinas produzidas e a possibilidade de ficotoxinas bioacumularem em *Limnoperna fortunei*. Foram detectadas, nas amostras, a dominância de cianobactérias tóxicas e cianotoxinas (microcistinas). Os resultados indicaram que *L. fortunei* acumularam microcistinas. As florações de cianobactérias nas águas do rio estudado indicaram prejuízo ao ambiente associado à eutrofização e aos riscos da presença das cianotoxinas à biota aquática.

Palavras-chave: bioacumulação; cianobactéria; ficotoxinas; espécies exóticas; molusco; eutrofização.

ABSTRACT

Cyanobacteria are natural components of the phytoplankton community, but they are often associated with eutrophic waters. Rivers in the state of São Paulo are in a continuous process of eutrophication, which favors the frequent cyanobacteria blooms in these environments, compromises the quality of the water for human consumption and promotes risks to the aquatic biota. The golden mussel (*Limnoperna fortunei*) is an invasive alien species that can be a vector in the transfer of cyanobacterial toxins. The aim of this study was to evaluate the cyanobacteria blooms occurrence in São José dos Dourados River, their cyanotoxins and the possibility of phycotoxins bioaccumulating in the *Limnoperna fortunei*. Toxic cyanobacteria and cyanotoxins (microcystins) were detected in the samples. The results indicated that *L. fortunei* accumulated microcystins. The cyanobacterial blooms in the water of the studied river indicated a damage to the environment associated with eutrophication and risks of cyanotoxins presence to the aquatic biota.

Keywords: bioaccumulation; cyanobacteria; phycotoxins; alien species; mollusc; eutrophication.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural de valor econômico, estratégico e social, essencial à existência e ao bem-estar da espécie humana e à manutenção dos ecossistemas do planeta (TUNDISI, 2014). No entanto, é possível observar que, nos últimos anos, a contaminação hídrica se intensificou devido ao descarte contínuo de novas substâncias no meio aquático, causando efeitos negativos adversos à biota desses ecossistemas assim como à saúde humana (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2008).

Em razão das ações antrópicas sobre os ecossistemas aquáticos, são frequentes os eventos de florações de cianobactérias em diferentes regiões do território nacional (LINS *et al.*, 2016, PACHECO *et al.*, 2016), o que desperta preocupações nas empresas de saneamento e monitoramento ambiental sobre os possíveis riscos promovidos à saúde humana e à biota aquática.

Os gêneros de cianobactérias produtoras de toxinas, como *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* e *Nostoc*, são descritos mundialmente como causadores de sérios problemas ecológicos e em seres humanos (CODD, 2000), e demonstram que o aumento na incidência de seus florescimentos resulta da eutrofização das águas em que ocorrem (ALMEIDA *et al.*, 2016). Entre as cianotoxinas produzidas pelos referidos gêneros, as microcistinas representam o grupo mais comum com efeitos nocivos em organismos aquáticos, animais domésticos, selvagens e à saúde humana (CHORUS, 2001).

As microcistinas são conhecidas por serem potentes (CODD, 2000) hepatotoxinas responsáveis pela ação de inibição das proteínas fosfatases 1A e 2A e na formação de tumores (CHORUS, 2001). Embora as microcistinas raramente sejam ingeridas pelo homem em quantidades suficientes para promover ação letal aguda, os efeitos tóxicos crônicos por sua exposição em água potável ou alimentos contaminados são particularmente prováveis, especialmente se houver uma exposição frequente (ZHANG *et al.*, 2009b).

Apesar dos relatos associados aos efeitos nocivos das microcistinas sobre os componentes das comunidades aquáticas (CHORUS, 2001), uma série de estudos tem despertado atenção sobre o potencial acumulativo e de transferência dessa hepatotoxina na cadeia alimentar aquática (XIE *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2009a). Alguns autores destacam a presença comprovada das microcis-

tinias em diferentes animais aquáticos, como peixes (DEBLOIS *et al.*, 2008), zooplânctons (FERRÃO-FILHO *et al.*, 2002), caramujos (ZHANG *et al.*, 2009a; 2009b), gastrópodes (ZHANG *et al.*, 2007) e bivalves (DIONISIO PIRES *et al.*, 2004; GKELIS *et al.*, 2006).

A água de lastro é um procedimento utilizado para dar estabilidade às embarcações marítimas quando não estão carregadas. Essa água é bombeada no porto de origem e despejada no porto de destino, sendo esse procedimento o principal meio de introdução de organismos em ambientes aquáticos, tanto de águas doces como salgadas. Pela água de lastro, a espécie de bivalve de água doce *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) foi introduzida no estuário do rio da Prata, em 1991, provavelmente trazida por navios da Coreia e Hong Kong (PASTORINO *et al.*, 1993).

O mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) é um molusco bivalve, originário do sudeste asiático, o qual se estabeleceu como organismo invasor em diversas partes do mundo (DARRIGRAN *et al.*, 2007). Sua presença na América do Sul foi confirmada na Bacia do Rio da Prata, Argentina (PASTORINO *et al.*, 1993), e atualmente sua expansão se faz presente ao longo das bacias hidrográficas da América do Sul (Paraná-Uruguai e Guaíba), sendo verificado nos rios da Argentina, Uruguai, Paraguai, Bolívia e Brasil. Relatos feitos por Boltovskoy *et al.* (2009, 2013), Pestana *et al.* (2010) e Pareschi *et al.* (2008) já apontam que *Limnoperna fortunei* estendeu sua ocupação ao longo do rio Paraguai e de outros importantes rios, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Paraná.

Se considerada a capacidade dos bivalves na acumulação de microcistinas (CHEN & XIE, 2005; ZHANG *et al.*, 2007; MARTINS & VASCONCELOS, 2009, LEÃO *et al.*, 2010) e dos riscos na transferência dessa toxina para níveis superiores da cadeia alimentar aquática, acarretando prejuízos à saúde humana (IBELINGS & CHORUS, 2007), é presumível que esse molusco atue como possível vetor na transferência de microcistinas para os elos tróficos superiores, embora sejam escassos os registros que confirmem a acumulação dessas fitotoxinas em seu tecido. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de microcistinas retidas em *Limnoperna fortunei*, em ambiente natural, e quais as concentrações dessas toxinas em florescimentos de cianobactérias no ambiente avaliado.

MATERIAL E MÉTODOS

Estado da arte

Eutrofização e florações de cianobactérias no Brasil

O elevado suporte nutricional dos ambientes aquáticos representa a causa principal do aumento no processo de eutrofização desses ambientes (TUNDISI, 2014). Esse processo de eutrofização dos ambientes aquáticos tem sido resultante das atividades humanas, causando enriquecimento artificial desses ecossistemas. Entre as principais causas do aumento da eutrofização está o aporte das descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos, sem tratamento adequado, e de fontes difusas provindas de regiões agriculturáveis. Devido a essa riqueza nutricional, o surgimento de espécies de cianobactérias em ambientes eutrofizados tem aumentado, causando a formação de florações em diversas regiões no Brasil (ALMEIDA *et al.*, 2016; LINS *et al.*, 2016).

As cianobactérias ou cianofíceas são organismos microscópicos procariontes, fotossintetizantes, que podem apresentar formas unicelulares, filamentosas ou coloniais, altamente especializados na adaptação e na ocupação de diferentes ambientes (CHORUS, 2001). No Brasil, uma série de estudos tem destacado uma

Cianotoxinas

As cianobactérias produzem uma variedade de toxinas denominadas cianotoxinas, cujos mecanismos de toxicidade conhecidos compreendem efeitos hepatotóxicos, neurotóxicos e dermatotóxicos à inibição geral na síntese de proteínas (CHORUS, 2001). São definidas como endotoxinas, podendo ser produzidas em todos os estágios do crescimento da célula e somente liberadas quando ocorre o rompimento dessa célula; sendo então diluídas na água, onde podem persistir por vários dias, semanas ou meses, dependendo principal-

Microcistinas

A maioria dos casos de intoxicações e envenenamentos por cianobactérias está associada principalmente às microcistinas. Essa cianotoxina geralmente pode ser produzida por espécies dos gêneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Nostoc* e *Planktothrix* (CODD,

expressiva dominância (biomassa e/ou densidade) das cianobactérias em sistemas aquáticos naturais ou artificiais (HUSZAR *et al.* 2000). Em casos específicos, como em ambientes lênticos, 62% dos reservatórios e 42% dos lagos são dominados por cianobactérias (HUSZAR & SILVA, 1999).

Estudos realizados em reservatórios brasileiros têm demonstrado que ambientes em condições de eutrofia e hipertrofia, com concentrações de P-total entre 50–660 µg/L, pH levemente elevado (7,0 a 9,0), baixa profundidade (entre 2,8 e 14,0 metros), temperatura da água relativamente alta (acima de 20°C) e razão N/P total entre 2 e 19 são ambientes adequados para a proliferação e a manutenção dos florescimentos de cianobactérias (SANT'ANNA & AZEVEDO, 2000). Esse fato assume crescente relevância uma vez que a maioria desses florescimentos de cianobactérias tem demonstrado o potencial tóxico de muitas de suas espécies no Brasil (AZEVEDO & VASCONCELOS, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2016; LINS *et al.*, 2016).

mente das condições específicas do meio, como pH e temperatura da água (CODD, 2000).

Diferentes gêneros e espécies de cianobactérias formadoras de florações são capazes de produzir esses compostos tóxicos. Atualmente, são conhecidas três classes de cianotoxinas segundo sua ação farmacológica: hepatotoxinas, neurotoxinas e citotoxinas. Muitos estudos estão concentrados nas duas primeiras classes, em virtude do número elevado de casos de intoxicações que as envolvem (CODD, 2000; CHORUS, 2001).

2000). Sua estrutura geral é representada por um heptapeptídeo cíclico, composto por sete aminoácidos, em cujas estruturas moleculares pode haver pequenas alterações, levando à formação de mais de 60 análogos estruturais de microcistinas (CHORUS, 2001).

As microcistinas são solúveis em água e não são capazes de penetrar diretamente nas membranas lipídicas das células, exceto aquelas poucas que são hidrofóbicas. Alguns estudos sobre os mecanismos de ação das microcistinas as caracterizam como potentes promotoras de tumores hepáticos em mamíferos, quando sub-

Mexilhão dourado

Limnoperna fortunei (Dunker 1857), vulgarmente conhecido como mexilhão dourado, é um molusco bivalve *Mytilidae*, a mesma família dos mexilhões marinhos. A espécie é nativa de rios e arroios chineses e do sudeste asiático; e apenas recentemente, em 1991, por meio da água de lastro de navios, aportou na América do Sul (DARRIGRAN & ESCURRA DE DRAGO, 2000).

A rápida expansão de *L. fortunei* na América do Sul foi estimada em 240km/ano, e os problemas ambientais e econômicos ocasionados pressupõem aspectos semelhantes ao ocorrido na Europa e na América do Norte com o *Dreissena polymorpha* (mexilhão zebra) (DARRIGRAN *et al.*, 2007). Isso porque ambas as espécies apresentam características de invasores que se tornam pragas: tempo de geração curto, plasticidade fenotípica, comportamento gregário, abundância em seu *habitat* natural, ampla tolerância ambiental e associação a atividades humanas (VON RÜCKERT *et al.*, 2006).

A invasão e a colonização de vários ambientes por *L. fortunei* é um fato preocupante nos estados que fazem limite com as bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai. No estado de São Paulo, sua presença é reportada em hidrelétricas que utilizam água do rio Paraná, como nas Usinas Hidrelétricas (UHE) Ilha Solteira, Porto Primavera e Jupia (OLIVEIRA *et al.*, 2004), e do Paranapanema, na UHE Rosana (AVELAR *et al.*, 2004). Atualmente, o mexilhão dourado encontra-se disseminado no lago da UHE de Itaipu (MARENGONI *et al.*, 2013).

Área de estudo

O rio São José dos Dourados está localizado na região noroeste do estado de São Paulo, possui uma extensão aproximada de 285 km e, em seu trecho final, desagua no reservatório de Ilha Solteira. Esse recurso hídrico apresenta importância para a região em usos diversos (irrigação, pesca, aquicultura e sua navegação na hidrovía “Tietê – Paraná”). O estudo

metidos a doses abaixo do limite de toxicidade aguda (CODD, 2000). Em humanos, seus efeitos de intoxicações podem incluir desde distúrbios gastrointestinais, pneumonia atípica, dor de cabeça, enjoo, até elevação da concentração de determinadas enzimas no fígado (CHORUS, 2001).

Em virtude da expansão do mexilhão dourado em rios da América do Sul, são reportados inúmeros prejuízos na esfera ambiental dos ecossistemas aquáticos colonizados, como indícios de alterações nas concentrações e proporções de nutrientes, mudanças na estrutura das comunidades fitoplanctônicas e favorecimento da manutenção de florações de cianobactérias (CATALDO *et al.*, 2012). Alguns autores também relatam que a presença de *L. fortunei* nos ambientes colonizados já o torna parte da dieta alimentar de algumas espécies de peixes do rio Paraná e do Rio da Prata (CANTANHÊDE *et al.*, 2008; VERMULM JUNIOR & GIAMAS, 2008; PAOLUCCI *et al.*, 2010).

Se considerada a capacidade adaptativa do mexilhão dourado na colonização e na ocupação em diversos *habitats* aquáticos, é presumível que sua coexistência em locais impactados por florescimentos de cianobactérias represente um mero desafio a ser transponível. Um aspecto amplamente discutido na literatura sobre as florações de cianobactérias avalia a possível transferência de suas toxinas (microcistinas) ao longo da cadeia alimentar sob ausência de biomagnificação (XIE *et al.*, 2005; SMITH & HANEY, 2006), o que sugere um risco potencial às espécies de níveis tróficos superiores e ao humano no consumo de produtos aquáticos contaminados (ZHANG *et al.*, 2009b). Essa hipótese vem sendo aceita como provável, visto que trabalhos reforçam a coexistência de *L. fortunei* com cianobactérias tóxicas sem prejuízos a sua sobrevivência e ao seu comportamento alimentar (GAZULHA *et al.*, 2012).

foi realizado em dois pontos amostrais fixos, georeferenciados às margens do rio – um na região lótica (S1) e outro próximo à sua foz (S2), no rio Paraná (Figura 1). A escolha dos locais amostrados esteve associada ao seu fácil acesso, aos históricos de florações de cianobactérias já registradas, e à elevada abundância do mexilhão dourado.

Amostragens de bivalves e de parâmetros físicos e químicos

Os espécimes de *Limnoperna fortunei* (ca. mil indivíduos) foram coletados nos locais de estudo, por meio da retirada dos diversos substratos aderidos (rochas, troncos de árvores, canos de ferro, blocos de concreto). As coletas foram realizadas em meses intercalados, de março a dezembro de 2009, totalizando sete campanhas. Após as coletas, os bivalves foram acondicionados em gelo e transportados ao laboratório para

processamento de extração e análise de microcistinas. Juntamente com as coletas dos moluscos, foram realizadas medições *in situ* na água dos parâmetros abióticos, tais como: pH, condutividade, oxigênio dissolvido, temperatura, utilizando sonda multissensor *Yellows Springs* (YSI) modelo 6920 V2 (YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, Estados Unidos) e leituras da transparência da água utilizando disco de Secchi.

Amostragem da comunidade fitoplanctônica e determinação de cianotoxinas no seston

Durante as coletas dos bivalves, foram realizadas amostragens de água destinadas à avaliação da composição dos grupos fitoplanctônicos. Foram utilizados baldes com volume graduado para coleta e arrastos

com redes de plâncton (20 μm de abertura de malha). As amostras (300 mL) obtidas foram preservadas em solução de formalina (4%) para a identificação e contagem em laboratório.



Figura 1 – Mapa do estado de São Paulo com destaque à localização dos pontos de amostragem no rio São José dos Dourados avaliados durante o estudo.

Amostras complementares de água (3 L) foram tomadas em superfície (0,20 m) utilizando baldes com volume graduado, acondicionadas em gelo e

Análises em laboratório

Extração de microcistinas dos bivalves

As amostras de *Limnoperna fortunei*, em laboratório, foram lavadas com água destilada e dissecadas com a retirada do tecido das conchas. O tecido obtido foi congelado, liofilizado (-30°C) e submetido à extração de microcistinas segundo o procedimento de Dionisio Pires *et al.* (2004), com modificações. Resumidamente, para cada 10 g do tecido de *Limnoperna fortunei* foram adicionados 20 mL de uma solução de metanol 75%, que foi mantida em repouso por 12 horas (4°C) no escuro. Após esse período, o material foi centrifugado (30 min – 4.000 rpm - 4°C), recolhido e armazenado à 4°C no escuro. O *pelet* foi resuspenso e reextraído por duas vezes

Extração de microcistinas do seston

Para determinação da presença de microcistinas (intracelulares) no seston, foi realizada a concentração da biomassa das cianobactérias presentes nos locais de coleta por meio da filtração das células contidas em amostras de água (1 L) do local utilizando filtros de fibra de vidro (GF/C), que foram em seguida liofilizados, pesados e mantidos em *freezer* até as análises. Para extração de microcistinas, os filtros foram expostos a uma solução de metanol 75% (v/v) por 18 horas, no

Análise de microcistina em CLAE

Para a análise de microcistinas acumuladas em *Limnoperna fortunei* e no seston, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE; Shimadzu, Japão), equipado com detector “Photodiode Array” (SPD-M20A), com duas bombas de alta pressão (LC-20AT e LC 20AD), em coluna de fase reversa C-18 (modelo Shim-pack) com 4,6 x 150 mm e diâmetro de partícula de 5 µm segundo Meriluoto e Spoof (2005). A fase móvel é constituída por dois componentes, um com água Milli-Q e o outro por acetonitrila, ambos acidificados com 0,05% (v/v) de ácido trifluoracético (TFA). Foi utilizado um fluxo de

conduzidas para o laboratório para determinação dos níveis de microcistinas (intracelulares) presentes no seston.

com o mesmo procedimento. O sobrenadante armazenado foi submetido à extração em fase sólida utilizando colunas de sílica (cartuchos C-18), pré-ativado com 10 mL de metanol (100%), seguido de 10 mL de água mili-Q. Após a passagem da amostra, os cartuchos C-18 foram lavados com 4 mL de metanol (20%) e posteriormente secos em nitrogênio por 2 min. A eluição da microcistina foi feita com 4 mL de uma solução de acetonitrila com 0,05% (v/v) ácido trifluoracético (TFA). O eluato foi recolhido, seco a 40°C, ressuspendido em 1 mL de metanol (100%) e injetado em um cromatográfico líquido de alta eficiência para determinação da toxina.

escuro, a 4°C. Após centrifugação (3.500 rpm - 10 min - 4°C) do filtro com a solução de metanol, o sobrenadante foi recolhido e filtrado em filtro de fibra de vidro (GF/C) para remoção de detritos celulares. A solução filtrada foi submetida à secagem em evaporador rotativo (80 rpm – 52°C), e foi obtido um resíduo concentrado (meio água) dissolvido em metanol 100% e injetado em um cromatográfico líquido de alta eficiência para determinação da toxina.

1 mL min⁻¹, com tempo de corrida cromatográfica de 12 minutos para cada amostra analisada, em triplicata. Foram utilizados padrões externos puros de microcistina para calibração e análises dessa toxina, representados por microcistina-LR e microcistinas(-D-Leu¹)-microcistina-LR, ambos adquiridos da Unidade de Pesquisa em Cianobactérias da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS. Os limites de detecção das microcistinas no seston e nos bivalves foram de 0,070 µg mg⁻¹ e 0,018 µg g⁻¹ de peso seco (p.s.), respectivamente.

Avaliação quali-quantitativa dos grupos fitoplanctônicos

A avaliação da composição dos grupos fitoplanctônicos foi realizada com lâminas e lamínulas em microscópio binocular. A identificação dos organismos foi realizada segundo características morfológicas e morfométricas de acordo com bibliografia especí-

Experimentos de recuperação

Para avaliar a precisão do método de detecção utilizado no presente estudo, foi realizado o ensaio de recuperação adicionando 30 g de tecido de liofilizado de *Limnoperna fortunei* homogeneizado em uma solução mista contendo os dois padrões comerciais purificados de microcistinas — LR e (D-Leu¹)-microcistina-LR — para 1 µg.g⁻¹ peso seco. A extração e a análise da toxina seguiram o protocolo descrito an-

Tratamento estatístico dos dados obtidos

Os dados obtidos no estudo foram submetidos à análise estatística utilizando o *software STATISTIC for Windows* (Versão 5.0). Foi usada a análise de correlação de Pearson ($p < 0,01$) para avaliar relações

teriormente, com a recuperação e o desvio padrão relativo do método analítico também calculados. A recuperação média das amostras analisadas de *Limnoperna fortunei* foi da ordem de 88% (variando de 86 a 93%), com desvio padrão relativo variando de 8,7 a 10,0% pelo método analítico utilizado, comprovando uma adequada eficiência da técnica de análise utilizada durante o estudo.

entre as concentrações de microcistinas no seston e acumuladas em *L. fortunei*, densidade de células e os parâmetros físicos e químicos da água dos pontos de amostragem.

RESULTADOS

Parâmetros físicos e químicos da água

Os parâmetros físicos e químicos da água estão apresentados na Tabela 1. Pode-se verificar que os valores de pH estiveram próximos entre si nos pontos de amostragem e com níveis próximos da neutralidade; exceção apenas no ponto S2 no mês de março, quando foram registrados níveis ligeiramente alcalinos de 8,7. A condutividade não apresentou oscilações expressivas entre os seus valores entre os pontos amostrados, exceto nos meses de agosto, outubro e dezembro, quando foram registrados os maiores níveis no ponto S1, com 150; 128 e 124 µS, respectivamente. O oxigênio dissolvido variou ligeiramente em determinadas oca-

siões, com destaque aos maiores registros (em média) nos meses de julho, agosto e outubro. A temperatura manteve um padrão sazonal, com maiores valores nos meses de verão (33,8°C – Ponto S2) e menores no inverno (24°C – Ponto S1). A transparência da água apresentou oscilações entre seus valores, com os maiores valores verificados nos meses de inverno (4 m – Pontos S1 e S2) e os menores nos meses de verão (1 m – Ponto S1). Não foi verificada correlação significativa ($r=0,451$; $p > 0,01$) entre os parâmetros físico-químicos e a transparência da água nos pontos de coleta durante o estudo.

Análise quali-quantitativa dos grupos fitoplanctônicos

Em relação às composições dos grupos fitoplanctônicos, foram identificadas 22 espécies, integradas em 4 classes taxonômicas, representadas por 7 *Cyanophyceae*, 6 *Bacillariophyceae*, 5 *Zygnemaphyceae* e 4 *Chlorophyceae* (Figura 2). Entre os grupos, a maior

abundância relativa foi representada pelas cianobactérias (80%), seguidas por clorofíceas (10%), diatomáceas (7%) e finalmente pelas *Zygnemaphyceae* (3%) (Figura 3). A maior riqueza de espécies foi verificada no final dos meses de verão (março e abril), com 19 táxons, e

a menor riqueza foi encontrada nos meses de inverno (julho e agosto), com cinco táxons.

A maior abundância relativa entre as cianobactérias foi representada pelos gêneros *Microcystis* (*Microcystis aeruginosa*, *M. sp.*) e *Anabaena* (*Anabaena cir-*

cinalis, *A. spiroides*), com representatividade de 65 e 20%, respectivamente. Gêneros como *Aphanocapsa*, *Geitlerinema*, *Phormidium* e *Leptolyngbya* obtiveram as menores abundâncias relativas (6; 4; 3 e 2%, respectivamente) entre as cianobactérias registradas. Os florescimentos de cianobactéria estiveram presentes nos

Tabela 1 – Parâmetros físicos e químicos da água registrados nos pontos amostrados.

Meses	Pontos de coleta	Parâmetros físicos e químicos da água				
		pH	Cond. (µS)	O ₂ diss. (mg L ⁻¹)	Temp. (°C)	Transp. (m)
Março	S1	6,90	79	5,61	32,80	1,00
	S2	8,70	51	13,48	33,80	2,70
Abril	S1	6,30	78	6,70	27,80	2,20
	S2	6,80	62	8,83	29,50	2,70
Maio	S1	6,90	54	5,64	26,60	1,90
	S2	6,30	53	7,36	27,80	2,90
Junho	S1	7,40	68	8,95	24,00	4,00
	S2	6,90	45	9,37	25,40	4,00
Agosto	S1	6,10	150	8,14	26,00	4,00
	S2	6,80	107	8,35	27,10	4,00
Outubro	S1	6,70	128	7,40	30,30	1,90
	S2	7,20	59	9,39	28,30	4,00
Dezembro	S1	7,40	124	5,25	26,00	1,00
	S2	6,80	95	5,87	27,00	4,00

Cond.: condutividade; O₂ diss.: oxigênio dissolvido; Temp.: temperatura; Transp.: transparência da água.

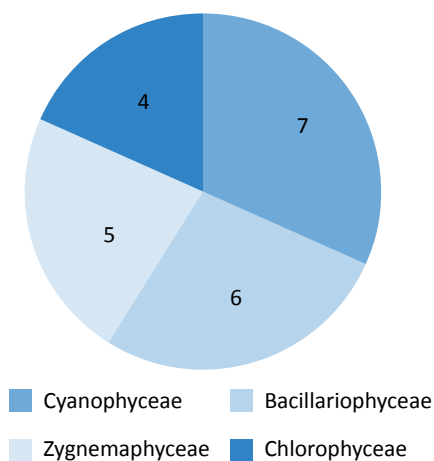


Figura 2 – Composição dos grupos fitoplanctônicos registrados nos pontos de amostragem.

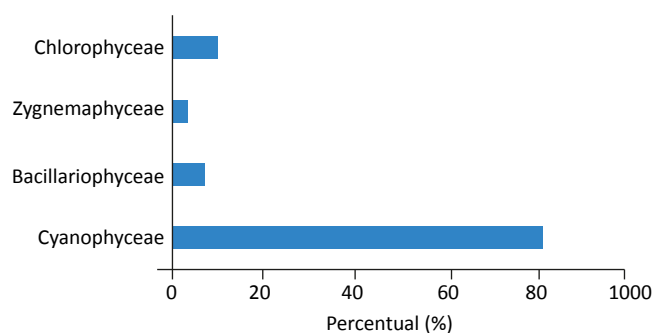


Figura 3 – Abundância relativa das classes fitoplanctônicas encontradas nos pontos amostrados.

pontos de amostragem; sua composição foi mista, com destaque aos gêneros potencialmente tóxicos, como *Microcystis* e *Anabaena*. A maioria dos florescimentos foram registrados no ponto S1 do rio, nos meses de março ($1,4 \times 10^5$ cel mL⁻¹), abril ($1,2 \times 10^5$ cel mL⁻¹) e outubro ($1,8 \times 10^5$ cel mL⁻¹). Contudo, florescimentos de *Microcystis* (*M. aeruginosa*, *M. sp*) foram também presentes na região no ponto S2, entre os meses de julho ($1,3 \times 10^4$ cel mL⁻¹) e agosto (1×10^4 cel mL⁻¹). Não foi ob-

servado qualquer padrão de sazonalidade na ocorrência dos florescimentos durante o período amostrado. Foi verificada uma correlação positiva entre a densidade de cianobactérias durante os florescimentos frente aos valores de temperatura ($r = 0,87$; $p < 0,01$) e à transparência da água ($r = 0,67$; $p < 0,01$) nos locais de coleta, enquanto os demais parâmetros físicos e químicos não apresentaram correlações significativas ($p > 0,01$).

Microcistinas no seston e acumulados em *Limnoperna fortunei*

Os resultados referentes à presença de microcistinas no seston e acumulados em *Limnoperna fortunei* estão descritos na Tabela 2. Foi detectada apenas a presença da variante de microcistina — (D-Leu¹)-microcistina-LR — no seston, com seus maiores valores nas amostras coletadas no ponto S1, com destaque nos meses de março ($18,6 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) e outubro ($23,3 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), períodos em que a temperatura da água foi mais elevada.

Contudo, a cianotoxina foi registrada com seu maior valor ($19,0 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) em uma das amostras coletadas no ponto S2, em julho, quando a temperatura da água foi ligeiramente menor.

As concentrações de microcistina presentes no seston demonstraram uma correlação positiva ($r=0,81$; $p < 0,01$) com as densidades dos florescimentos de cia-

Tabela 2 – Cianobactérias (gêneros e espécies) e concentrações de microcistinas presentes no seston e em *Limnoperna fortunei* nos pontos amostrados.

Meses	Pontos de coleta	Cianobactérias	Seston ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$)	<i>Limnoperna fortunei</i> ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Março	S1	<i>Anabaena</i> ^c , <i>Geitlerinema</i> , <i>Leptolyngbya</i> , <i>Microcystis</i> ^{ab} , <i>Phormidium</i> ,	18,60	100,00
	S2	<i>Microcystis</i> ^{ab} , <i>Anabaena</i> ^{cd}	9,56	170,00
Abril	S1	<i>Microcystis</i> ^a	9,07	n.d.*
	S2	<i>Microcystis</i> ^b	n.d.*	n.d.*
Maio	S1	<i>Microcystis</i> ^a	n.d.*	n.d.*
	S2	<i>Microcystis</i> ^b , <i>Anabaena</i> ^d	n.d.*	n.d.*
Junho	S1	<i>Microcystis</i> ^a	1,30	195,20
	S2	<i>Microcystis</i> ^b	19,60	n.d.*
Agosto	S1	<i>Microcystis</i> ^{ab}	2,60	47,60
	S2	<i>Microcystis</i> ^a	8,20	n.d.*
Outubro	S1	<i>Anabaena</i> ^{cd} , <i>Aphanocapsa</i>	23,30	79,40
	S2	<i>Microcystis</i> ^b	n.d.*	n.d.*
Dezembro	S1	<i>Anabaena</i> ^{cd} , <i>Microcystis</i> ^{ab} ,	n.d.*	49,60
	S2	<i>Microcystis</i> ^a	n.d.*	n.d.*

^a*Microcystis aeruginosa*; ^b*Microcystis sp*; ^c*Anabaena circinalis*; ^d*Anabaena spiroides*; *nd: não detectado.

nobactérias registradas nos locais de coleta durante o estudo. Contudo, em alguns meses amostrados (maio e dezembro) não foi detectada a hepatotoxina nos locais, embora houvesse a presença, em baixas densidades ($\geq 10^3$ cel.ml⁻¹), de cianobactérias (*Microcystis* e *Anabaena*) potencialmente produtoras de toxinas.

De forma semelhante às amostras do seston, foi identificada e detectada em *Limnoperna fortunei* a presença da variante de (D-Leu¹)-microcistina-LR. A toxina contida nos bivalves apresentou seus maiores valores nas amostras coletadas no ponto S1. Não foi constatado padrão temporal no acúmulo de microcistinas no mexilhão dourado. Os maiores níveis dessa toxina no me-

xilhão dourado foram registrados nos meses de março (170,0 µg.g⁻¹ – Ponto S2) e julho (195,2 µg.g⁻¹ – Ponto S1). Em determinados períodos de coleta, como nos meses de abril e maio, não foi registrada a toxina nos bivalves, apesar da presença confirmada de cianobactérias (*Microcystis* e *Anabaena*) produtoras de toxinas nas amostras. Situações inversas foram observadas na ocasião da detecção de toxina no molusco, nos meses de agosto (47,6 µg.g⁻¹ – Ponto S1) e dezembro (49,6 µg.g⁻¹ – Ponto S2), frente à reduzida presença ou ausência, respectivamente, da toxina no seston. Não foi constatada correlação significativa ($r=0,33$; $p>0,01$) entre as concentrações de microcistinas no seston e seus níveis acumulados nos moluscos.

DISCUSSÃO

Os resultados apontaram que a composição da comunidade fitoplanctônica foi influenciada por características físicas e químicas da água no ambiente, desde o fitoplâncton total, o total de cianobactérias presentes e o domínio de *Microcystis* spp e *Anabaena* spp nas florações registradas. De modo geral, o surgimento de florescimentos de cianobactérias está condicionado a ambientes com temperaturas elevadas e pH próximos ou acima da neutralidade. Os resultados apresentados no estudo apontaram os meses mais quentes, principalmente no verão, como os mais propícios para uma maior diversidade de táxons, embora os florescimentos de cianobactérias encontrados nesse período tenham apresentado uma composição específica reduzida nos representantes das comunidades fitoplanctônicas. Segundo Paerl *et al.* (2001), são inúmeros e complexos os fatores físicos e químicos que controlam a formação de florescimentos de cianobactérias planctônicas. Frequentemente, fatores físicos e químicos da água podem influenciar na dominância e no estabelecimento de gêneros e espécies fitoplanctônicas em diferentes ecossistemas aquáticos. Em adição, esses organismos podem estar fortemente regulados por condições ambientais presentes no ambiente (LINS *et al.*, 2016).

A ocorrência de frequências de florescimentos de cianobactérias (*Microcystis* spp e *Anabaena* spp) no rio São José dos Dourados demonstra a influência das variáveis físicas e químicas da água como condicionantes para sua manutenção no ambiente. Os valores registrados em alguns dos parâmetros físicos e químicos na área de estudo foram próximos aos descritos por Kotak

(2000) e Zurawell *et al.* (2005) como os principais fatores condicionantes na formação e na manutenção de florações em ambientes eutrofizados. A presença desses florescimentos no ambiente monitorado é indicativo do comprometimento da qualidade de suas águas registradas nos últimos anos. Uma série de fatores desencadeantes poderia estar propiciando condições aos florescimentos de cianobactérias recorrentes no ambiente avaliado. Entre esses possíveis fatores está o aumento de poluição nas fontes pontuais e difusas, que favorece uma maior entrada da carga de nutrientes no ambiente aquático. Ações associadas ao uso do solo na área de entorno do corpo hídrico — como monoculturas intensivas (como a cana-de-açúcar), o uso crescente de defensivos agrícolas; o aumento da carga de esgoto sanitário e industrial lançado no corpo hídrico, sem um tratamento apropriado; e a crescente expansão de empreendimentos aquícolas ao longo do rio (pisciculturas intensivas em sistemas de tanque-rede) — podem vir a contribuir para a eutrofização do local.

Os maiores níveis registrados de microcistinas no seston estiveram associados com os picos de maiores densidades de *Microcystis* spp e *Anabaena* spp. Contudo, houve ocasiões com ausência da toxina nas amostras analisadas apesar da presença de cianobactérias produtoras no local. Essa condição de ausência das toxinas pode estar associada não apenas à composição de representantes (espécies/gêneros) potencialmente tóxicos, mas também à proporção relativa de linhagens tóxicas e não tóxicas de cianobactérias dentro de uma mesma população (PARK *et al.*, 1998; OZAWA *et al.*, 2003). Outro aspecto

relevante das variações encontradas pelo presente estudo é que a alta concentração de microcistinas pode ter ocorrido durante a fase exponencial de crescimento da floração (PARK & LWAMI, 1998)

Foi evidenciada uma correlação entre os valores de biomassa de *Microcystis* spp e *Anabaena* spp com as concentrações registradas de microcistinas nas amostras do seston nos pontos avaliados. Essa condição apresenta concordância ao padrão descrito por Zhang et al. (2009a), que apontaram as variações (espaciais e temporais) de microcistinas intracelulares na coluna de água como reflexo das alterações de biomassa dessas cianobactérias. A variabilidade na presença de microcistinas no ambiente de estudo demonstrou que a concentração dessa toxina no fitoplâncton foi altamente dinâmica, refletindo, em grande parte, uma condição de resposta às flutuações das abundâncias relativa e absoluta das cianobactérias (*Microcystis* spp e *Anabaena* spp) produtoras de toxinas no local (ZURAWELL et al., 1999; KOTAK, 2000).

As variações dos níveis presentes de microcistinas no mexilhão dourado revelam uma possível resposta às flutuações na composição de cianobactérias (tóxicas e não tóxicas), como também na capacidade desses moluscos em reterem e depurarem a hepatotoxina. Essa tendência foi verificada em períodos em que os níveis de microcistinas em *L. fortunei* coincidiram com suas altas concentrações no seston, o que pode ser explicado pela abundância encontrada de cianobactérias produtoras de toxinas (*Microcystis* spp e *Anabaena* spp) nos florescimentos. Um situação parecida foi descrita por Zurawell et al. (1999), que correlacionaram as concentrações de microcistinas – LR em três espécies de gastrópodes (*Lymnaea stagnalis*, *Physa gyrina*, e *Helisoma trivolvis*) coletados em um lago eutrófico-hipertrófico no Canadá aos níveis contidos da toxina no fitoplâncton.

Essa condição observada de sincronismo na ascensão e queda da toxina no seston e no mexilhão dourado indicam que a dinâmica da toxina nos bivalves foi impulsionada pelo conteúdo de microcistinas presentes nos florescimentos (ZHANG et al., 2009a) e por possíveis variações na presença de células de cianobactérias tóxicas e não tóxicas presentes na coluna de água (DIONISIO PIRES et al., 2004). Uma estudo realizado por Falconer et al. (1992) com o mexilhão *Mytilus edulis* em estuário, destacou que o aumento da hepatotoxicidade

no animal foi associado durante uma densa floração da cianobactéria (*Nodularia spumigena*) ocorrida no local, a qual diminuiu rapidamente sua toxidez após o término do florescimento. Torna-se importante também considerar a hipótese de possível oscilação na concentração de cianotoxinas contidas nas algas durante eventos de florescimentos. Chen & Xie (2007) constataram que três espécies de bivalves (*Cristaria plicata*, *Hyriopsis cumingii* e *Lamprotula leai*) apresentaram aumento e declínio nos níveis acumulados de microcistinas, em diferentes tecidos do corpo, que decorreram basicamente de variações substanciais de toxinas contidas em florescimentos de cianobactérias no Lago Taihu (China).

A presença de microcistina em *Limnoperna fortunei* em ocasiões de reduzidas densidades de cianobactérias e baixos valores detectáveis dessa hepatotoxina no seston pode estar diretamente associada a vestígios acumulados dessa cianotoxina de florescimentos anteriores ocorridos no local, como também de uma possível redução na atividade de desintoxicação da toxina ingerida pelos bivalves, configurando uma possível desintoxicação parcial (GÉRARD et al., 2009). É provável que os níveis presentes dessa toxina em *L. fortunei*, na circunstância considerada, seja uma resposta do vagaroso processo de desintoxicação do animal às toxinas absorvidas após ingestão das células tóxicas de cianobactérias, e do tempo que esses bivalves foram continuamente expostos aos florescimentos no local.

Normalmente os moluscos que habitam locais com alta contaminação por cianotoxinas estão mais predispostos a acumular as toxinas (GÉRARD et al., 2009). A ação prolongada de pastejo do mexilhão dourado sobre as florações de cianobactérias, com a filtragem de células (simples e colônias) de cianobactérias tóxicas na água, pode ter representado um fator de incremento dessa toxina acumulada no animal, como tem sido verificado em outros grupos de moluscos que acumulam microcistinas após longos períodos expostos a florescimentos de cianobactérias tóxicas (GÉRARD et al., 2009). Embora o presente estudo não tenha se detido a uma avaliação criteriosa dos aspectos do tempo de depuração de microcistinas em *L. fortunei* expostos aos florescimentos de cianobactérias, torna-se importante considerar tal perspectiva no âmbito de futuros trabalhos, tendo em vista as escassas informações sobre a

potencial capacidade dessa espécie de molusco em acumular cianotoxinas.

A presença do mexilhão dourado em ambientes impactados por florescimentos de cianobactérias sugere que esses bivalves invasores possuam estratégias de tolerância à exposição a cianobactérias tóxicas, permitindo, assim, reproduzir e sobreviver. Estudos em laboratório envolvendo a ingestão de células de *Microcystis* tóxicas por *L. fortunei* reforçam a ideia de um possível mecanismo de desintoxicação, garantindo, assim, sua tolerância às cianotoxinas mesmo após prolongada exposição (GAZULHA *et al.*, 2012; BOLTOVSKOY *et al.*, 2013). A literatura elucida que os bivalves marinhos e de águas doces representam o grupo dos moluscos mais resistentes às toxinas de cianobactérias e capazes de transferi-las ao longo da cadeia alimentar (MARTINS & VASCONCELOS, 2009). Há também indícios de que o sucesso dos bivalves em suportar elevados conteúdos de microcistinas durante período prolongado poderia estar associado à baixa absorção da toxina em seus tecidos ou mesmo uma rejeição seletiva (JUHEL *et al.*, 2006) e uma diminuição na filtração (VANDER-PLOEG *et al.*, 2001) de células de *Microcystis* e suas toxinas durante florescimentos.

Este estudo verificou que a microcistina contida no fitoplâncton e a composição da comunidade fitoplancônica (ou seja, a abundância de *Microcystis* spp e *Anabaena* spp.), influenciadas pela qualidade da água do ambiente, foram determinantes sobre as variações

encontradas da toxina em *Limnoperna fortunei*. Apesar do mexilhão dourado não representar uma fonte de alimento direta para o consumo humano, deve ser considerado seu risco na ingestão de organismos aquáticos (e.g., peixes) que incluam esse bivalve em sua dieta alimentar (CANTANHÊDE *et al.*, 2008; VERMULM JUNIOR & GIAMAS, 2008; PAOLUCCI *et al.*, 2010). A presença de microcistinas no mexilhão dourado evidencia o potencial desse bivalve invasor como vetor para a transferência das toxinas de cianobactérias para os níveis tróficos superiores, aumentando o risco de bioacumulação das cianotoxinas nos ecossistemas aquáticos. Nesse sentido, torna-se necessária uma avaliação dos riscos combinados da presença de florescimentos de cianobactérias tóxicas e da transferência de microcistinas em componentes da cadeia alimentar aquática decorrente do consumo do mexilhão dourado contaminado com essas toxinas.

Em razão da presença verificada de microcistinas em *Limnoperna fortunei* nas amostras analisadas, conclui-se que o ambiente em estudo oferece riscos associados à presença das florações de cianobactérias, bem como à possível bioacumulação de componentes da cadeia alimentar aquática por cianotoxinas. Esse fato requer uma maior atenção dos órgãos fiscalizadores e monitoramento ambiental quanto a uma maior rigidez nas ações de controle da eutrofização, a fim de minimizar o surgimento de florações de cianobactérias tóxicas e de reduzir a exposição dos organismos aquáticos e dos seres humanos às suas toxinas.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo suporte financeiro

para execução de pesquisa e pela concessão das bolsas de estudo (Processos: 2006/53502-0 e 2009/00412-1).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. R.; SPIANDORELLO, F. B.; GIROLDO, D.; YUNES, J. S. The effectiveness of conventional water treatment in removing *Ceratium furcoides* (Levander) Langhans, *Microcystis* sp. and microcystins. *Water SA*, v. 42, n. 4, p. 606-611, 2016.
- AVELAR, W. E. P.; MARTIM, S. L.; VIANNA, M. P. A new occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1856) (Bivalvia, Mytilidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 64, n. 4, p. 739-742, 2004.
- AZEVEDO, S. M. F. O. & VASCONCELOS, V. M. Toxinas de cianobactérias: causas e consequências para saúde pública. In: ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. (Eds.). *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2008. p. 433-452.

- BICUDO, C. E. M. & MENEZES, M. (Orgs.). *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil: chave para identificação e descrições*. São Carlos: RiMa, 2006. 485 p.
- BOLTOVSKOY, D.; CORREA, N.; BORDET, F.; LEITES, V.; CATALDO, D. Toxic *Microcystis* (cyanobacteria) inhibit recruitment of the bloom-enhancing invasive bivalve *Limnoperna fortunei*. *Freshwater Biology*, v. 58, n. 9, p. 1968-1981, 2013.
- BOLTOVSKOY, D.; CORREA, N.; CATALDO, D. H.; SYLVESTER, F. Dispersion and ecological impact of invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Rio de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions*, v. 8, p. 947-963, 2006.
- BOLTOVSKOY, D.; SYLVESTER, F.; OTAEGUI, A.; LEITES, V.; CATALDO, D.H. Environmental modulation of reproductive activity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei*: implications for antifouling strategies. *Austral Ecology*, v. 34, n. 7, p. 719-730, 2009.
- CANTANHÊDE, G.; HAHN, N. S.; GUBIANI, E. A.; FUGI, R. Invasive molluscs in the diet of *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Pisces, Doradidae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Ecology of Freshwater Fish*, v. 17, n. 1, p. 47-53, 2008.
- CATALDO, D.; VINOCUR, A.; O'FARRELL, I.; PAOLUCCI, E.; LEITES, V.; BOLTOVSKOY, D. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia*, v. 680, n. 1, p. 25-38, 2012
- CHEN, J. & XIE, P. Microcystin accumulation in freshwater bivalves from Lake Taihu, China, and the potential risk to human consumption. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, n. 5, p. 1066-1073, 2007.
- CHEN, J. & XIE, P. Seasonal dynamics of the hepatotoxic microcystins in various organs of four freshwater bivalves from the large eutrophic lake Taihu of subtropical China and the risk to human consumption. *Environmental Toxicology*, v. 20, n. 6, p. 572-584, 2005.
- CHORUS, I. (Ed.). *Cyanotoxins: occurrence, causes and consequences*. Berlin: Springer, 2001.
- CODD, G. A. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the periodization of eutrophication control. *Ecological Engineering*, v. 16, n. 1, p. 51-60, 2000.
- DARRIGRAN, C.; DAMBORENEA, C.; GRECO, N. An evaluation pattern for anti-macrofouling procedures: *Limnoperna fortunei* larvae study in hydroelectric power plant in South America. *Ambio*, v. 36, p. 575-579, 2007.
- DARRIGRAN, G. & ESCURRA DE DRAGO, I. Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *Nautilus*, v. 114, n. 2, p. 69-73, 2000.
- DEBLOIS, C. P.; ARANDA-RODRIGUEZ, R.; GIANI, A.; BIRD, D. F. Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. *Toxicon*, v. 51, n. 3, p. 435-448, 2008.
- DIONISIO PIRES, L. M.; KARLSSON, K. M.; MERILUOTO, J. A.; KARDINAAL, E.; VISSER, P. M.; SIEWERTSEN, K.; VAN DONK, E.; IBELINGS, B. W. Assimilation and depuration of microcystin-LR by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology*, v. 69, n. 4, p. 385-396, 2004.
- FALCONER, I. R.; CHOICE, A.; HOSJA, W. Toxicity of edible mussels (*Mytilus edulis*) growing naturally in an estuary during a water bloom of the blue-green alga *Nodularia spumigena*. *Environmental Toxicology and Water Quality*, v. 7, n. 2, p. 119-123, 1992.
- FERRÃO-FILHO, A. S.; KOZLOWSKY-SUZUKI, B.; AZEVEDO, S. M. F. O. Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. *Aquatic Toxicology*, v. 59, p. 201-208, 2002.

- GAZULHA, V.; MANSUR, M. C. D.; CYBIS, L. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, n. 1, p. 33-39, 2012.
- GÉRARD, C.; POUILLAIN, V.; LANCE, E.; ACOU, A.; BRIENT, L.; CARPENTIER, A. influence of toxic cyanobacteria on community structure and microcystin accumulation of freshwater molluscs. *Environmental Pollution*, v. 157, n. 2, p. 609-617, 2009.
- GKELIS, S.; LANARAS, T.; SIVONEN, K. The presence of microcystins and other cyanobacterial bioactive peptides in aquatic fauna collected from Greek freshwaters. *Aquatic Toxicology*, v. 78, n. 1, p. 32-41, 2006.
- IBELINGS, B. W. & CHORUS, I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. *Environmental Pollution*, v. 150, n. 1, p. 177-192, 2007.
- JUHEL, G.; DAVENPORT, J.; O’HALLORAN, J.; CULLOTY, S.; RAMSAY, R.; JAMES, K.; FUREY, A.; ALLIS, O. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. *Journal of Experimental Biology*, v. 209, p. 810-816, 2006.
- HUSZAR, V. L. M. & SILVA, L. H. S. A estrutura da comunidade fitoplanctônica no Brasil: cinco décadas de estudos. *Limnotemas*, n. 2, p. 1-22, 1999.
- HUSZAR, V. L. M.; SILVA, L. H. S.; MARINHO, M.; DOMINGOS, P.; SANT’ANA, C.L. Cyanoprokaryota assemblages in the eight productive tropical Brazilians waters. *Hydrobiologia*, v. 424, n. 1, p. 67-77, 2000.
- KOMÁREK, J. & ANAGNOSTIDIS, K. Süßwasserflora von Mitteleuropa: Band 19 (2): Cyanoprokaryota: Part 2: Oscillatoriales. Heidelberg: Elsevier/Spektrum, 2005. 759 p.
- KOTAK, B. G. Role of chemical and physical variables in regulating microcystin-LR concentration in phytoplankton of eutrophic lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 57, n. 8, p. 1584-1593, 2000.
- LEÃO, J. C.; GIORDANO, S. B.; YUNES, J. S. Microcystins uptake by the yellow clam *Mesodesma Mactroides* (Bivalvia, Mactroidea). *Atlântica*, v. 32, n. 1, p. 79-85, 2010.
- LINS, R. P. M.; BARBOSA, L. G.; MINILLO, A.; CEBALLOS, B. S. O. Cyanobacteria in a eutrophicated reservoir in a semi-arid region in Brazil: dominance and microcystin events of blooms. *Braz. J. Bot.*, v. 39, n. 2, p. 583-591, 2016.
- MARENGONI, N. G.; KLOSOWSKI, E. S.; OLIVEIRA, K. P.; CHAMBO, A. P. S.; GONÇALVES JUNIOR, A. C. Bioacumulação de metais pesados e nutrientes no mexilhão dourado do reservatório da usina hidrelétrica de Itaipu Binacional. *Química Nova*, v. 36, n. 3, p. 359-363, 2013.
- MARTINS, J. C. & VASCONCELOS, V. M. Microcystin dynamics in aquatic organisms. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v. 12, Part B, p. 65-82, 2009.
- MERILUOTO, J. & SPOOF, L. Solid phase extraction of microcystins in water samples. In: TOXIC European Project “Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxins Analysis”. Finland: Abo Akademi University, 2005.
- OLIVEIRA, M. D.; PELLEGRIN, L. A.; BARRETO, R. R.; XAVIER, I. G. *Área de ocorrência do mexilhão dourado (Limnoperna fortunei) na bacia do Alto Paraguai entre os anos de 1998 e 2004*. Corumbá: EMBRAPA, 2004. 19 p. Documento n. 64.
- OZAWA, K.; YOKOYAMA, A.; ISHIKAWA, K.; KUMAGAI, M.; WATANABE, M. F.; PARK, H. D. Accumulation and depuration of microcystin produced by the cyanobacterium *Microcystis* in a freshwater snail. *Limnology*, v. 4, p. 131-138, 2003.

- PACHECO, L. A.; KUNRATH, N.; COSTA, C. M.; COSTA, L. D. F.; FOES, G. K.; WASIELESKY, W.; YUNES, J. S. Identification of the toxic pentapeptide nodularin in a Cyanobacterial bloom in a shrimp farm in South American Atlantic Coast. *Pharmaceutica Analytica Acta*, v. 7, n. 5, p. 1-3, 2016.
- PAERL, H. W.; FULTON, R. S.; MOISANDER, P. H.; DYBLE, J. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. *The Scientific World Journal*, v. 1, p. 76-113, 2001.
- PAOLUCCI, E. M.; THUESEN, E.; CATALDO, D. H.; BOLTOVSKOY, D. Veligers of an introduced bivalve, *Limnoperna fortunei*, are a new food resource that enhances growth of larval fish in the Paraná River (South America). *Freshwater Biology*, v. 55, v. 9, p. 1831-1844, 2010.
- PARESCHI, D. C.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; MEDEIROS, G. R.; LUZIA, A. P.; TUNDISI, J. G. First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, v. 68, n. 4, p. 1107-1114, 2008.
- PARK, H. D. & LWAMI, C. Temporal variabilities of the concentrations of intra- and extracellular microcystin and toxic *Microcystis* species in a hypereutrophic lake, Lake Suwa, Japan (1991-1994). *Environmental Toxicology and Water Quality*, v. 13, n. 1, p. 61-72, 1998.
- PARK, H. D.; LWAMI, C.; WATANABE, M. F.; HARADA, K. I.; TOKIO, O.; HIDETAKE, H. Temporal variabilities of the concentration of intra- and extracellular microcystins and toxic microcystins species in a hypertrophic lake, Lake Suwa, Japan. *Environmental Toxicology and Water Quality*, v. 13, n. 1, p. 61-72, 1998.
- PASTORINO, G.; DARRIGRAN, G.; MARTÍN, S. M.; LUNASCHI, L. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Rio de la Plata. *Neotrópica*, v. 39, n. 101-102, p. 171-175, 1993.
- PESTANA, D.; OSTRENSKY, A.; TSCHÁ, M.K.; BOEGER, W.A. Prospecção do molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) nos principais corpos hídricos do estado do Paraná, Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 50, n. 34, p. 553-559, 2010.
- SANT'ANNA, C. L. & AZEVEDO, M. T. P. Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia*, v.71, n.3/4, p. 359-385, 2000.
- SMITH, J. L. & HANEY, J. F. Foodweb transfer, accumulation, and depuration of microcystins, a cyanobacterial toxin, in pumpkinseed sun fish (*Lepomis gibbosus*). *Toxicon*, v. 48, n. 5, p. 580-589, 2006.
- TUNDISI, J. G. (Coord.). *Recursos hídricos no Brasil: problemas, desafios e estratégias para o futuro*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2014. 76 p.
- UTHERMÖHL, H. Zur Vervalkammung des Quantitativen Phytoplankton: Methodik. Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie. *Mitteilung*, v. 9, p. 1-38, 1958.
- VANDERPLOEG, H. A.; LIEBIG, J. R.; CARMICHAEL, W. W.; AGY, M. A.; JOHNGEN, T. H.; FAHNENSTIEL, G. L.; NALEPA, T. F. Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 58, p. 1208-1221, 2001.
- VERMULM JUNIOR, H. & GIAMAS, M. T. D. Ocorrência do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca; Bivalvia; Mytilidae), no trato digestivo do "armal" *Pterodoras granulosus* (Valenciennes, 1821) (Siluriformes; Doradidae), do rio Paraná, São Paulo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 175-179, 2008.
- VON RÜCKERT, G.; CAMPOS, M. C. S.; ROLLA, M. E. Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria. *Biological Sciences Acta Scientiarum*, v. 26, n. 4, p. 421-429, 2004.
- XIE, L. Q.; XIE, P.; GUO, L. G.; LI, L.; MIYAVARA, Y.; PARK, H. D. Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. *Environmental Toxicology*, v. 20, n. 3, p. 293-300, 2005.

- ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações*. São Carlos: RiMa, 2008. 478 p.
- ZHANG, D.; XIE, P.; LIU, Y.; CHEN, J.; WEN, Z. Spatial and temporal variations of Microcystins in hepatopancreas of a freshwater snail from Lake Taihu. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, n. 2, p. 466-472, 2009a.
- ZHANG, D. W.; XIE, P.; LIU, Y. Q.; CHEN, J.; LIANG, G. D. Bioaccumulation of the hepatotoxic microcystins in various organs of a freshwater snail from a subtropical Chinese Lake, Taihu Lake with dense toxic *Microcystis* blooms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, n. 1, p. 171-176, 2007.
- ZHANG, D.; XIE, P.; LIU, Y. L.; QIU, T. Transfer, distribution and bioaccumulation of microcystins in the aquatic food web in Lake Taihu, China, with potential risk to human health. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 7, 2191-2199, 2009b.
- ZURAWELL, R. W.; CHEN, H.; BURKE, J. M.; PREPAS, E. E. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Journal of Toxicology Environmental Health, Part B*, v. 8, p. 1-37, 2005.
- ZURAWELL, R. W.; KOTAK, B. G.; PREPAS, E. E. Influence of lake trophic status on the occurrence of microcystin-LR in the tissue of pulmonate snails. *Freshwater Biology*, v. 42, n. 4, p. 707-718, 1999.