

ALGELE CIANOFITE (CYANOPHYTA) – SURSE DE METABOLIȚI SECUNDARI BIOACTIVI

*Valentina BULIMAGA, Vasile ȘALARU, Liliana ZOSIM, Maria PISOV,
Alina TROFIM, Victor ȘALARU*

Universitatea de Stat din Moldova

Este prezentată o sinteză a rezultatelor cercetărilor din ultimele decenii, cu tangență la algele cianofite producătoare de metaboliți secundari bioactivi. Sunt descrise clasele principale de metaboliți secundari produși de cianofite cu acțiune toxică asupra omului și animalelor. Sunt evaluate tulpinile de alge cianofite producătoare de microcistine, nodularine, anatoxine, saxitoxine, cilindropermopsine, lingbiatoxine, lipopolizaharide etc. și analizați unii factori care influențează asupra producerii lor, precum și perspectiva de utilizare a lor în farmaceutică, fitotehnie, zootehnie.

Cuvinte-cheie: *cyanophyta, cianotoxine, microcistine, anatoxine, saxitoxine, lipopolizaharide, metaboliți secundari.*

BLUE-GREEN ALGAE (CYANOPHYTA) – THE SOURCE OF THE SECONDARY BIOACTIVE METABOLITES

The review of research results in recent decades connected to cyanobacteria as the sources of bioactive secondary metabolites. The main classes of secondary metabolites produced by cyanobacteria with toxicity to humans and animals are presented. Some cyanobacteria strains producing microcystins, nodularins, saxitoxins, cylindropermopsins, lyngbyatoxins and lipopolysaccharides are evaluated and some factors that influence on the secondary metabolites production and perspective of its application in pharmaceutical or agriculture are described.

Keywords: *cyanophyta, cyanotoxins, microcystins, saxitoxins, lipopolysaccharides, secondary metabolites.*

Introducere

Algele cianofite reprezintă relicve din cele mai vechi organisme fotoautotrofe din lume, răspândite atât în apele dulci, cât și în habitatele marine și terestre. Cianofitele au atras atenția deosebită a specialiștilor în ultimii ani datorită aplicării lor potențiale în diverse ramuri ale biotehnologiei. Actualmente, ele reprezintă unul dintre cele mai promițătoare grupuri de microorganisme explorate în domeniul biotehnologiei servind drept surse importante de noi principii bioactive, inclusiv metaboliți secundari [5,49,52,61,62,64,86,69,71]. Algele cianofite sunt cunoscute și pentru capacitatea de a produce metaboliți cu diverse activități biologice, cum ar fi activitatea antibacteriană [28], antifungică [31], antivirală [56], anticancerigenă [45], algicidă [57], antimicrobiană [59], antiagregantă și imunosupresivă [50].

Studiile ce țin de identificarea și evaluarea în habitatele terestre și acvatice locale a unor noi tulpini de cianofite producătoare de substanțe bioactive capătă în prezent o importanță teoretică și aplicativă înaltă. La momentul actual, studiile efectuate în acest context la nivel mondial sunt axate pe izolarea de noi tulpini de alge cianofite producătoare de substanțe bioactive de mare valoare și pe modificarea genetică a tulpinilor existente pentru a asigura producția maximă a substanțelor bioactive dorite. Producția industrială pe scară largă a metaboliților bioactivi necesită optimizarea condițiilor de sinteză, extragere și purificare a substanțelor bioactive în scopul eficientizării proceselor de obținere și creșterii ratei de producere a lor.

Metaboliții secundari produși de cianobacterii

Metaboliții secundari intra- sau extracelulari sintetizați de către cianobacterii pot fi divizați în compuși alelopatici, cu efect inhibitor asupra unor prădători, precum și toxine care pot fi toxic letale pentru animalele sălbatice, animalele domestice și chiar pentru om [41,72]. Compușii alelopatici includ alcaloizi, peptide ciclice, terpeni și compuși organici volatili. Ei au diverse moduri de acțiune: de la inhibarea fotosintezei până la stresul oxidativ sau paralizia celulară. Conform efectelor fiziologice manifestate de toxinele cianobacteriene asupra mamiferelor, ele se împart în hepatotoxine (acționează asupra ficatului), dermatotoxine (provoacă iritații exeme, tumori ale pielii) și neurotoxine (acționează asupra sistemului nervos) (Fig.1).

După structura chimică, cianotoxinele se împart în trei grupe mari: peptide ciclice, alcaloizi și lipopolizaharide [72] (a se vedea Tabelul).

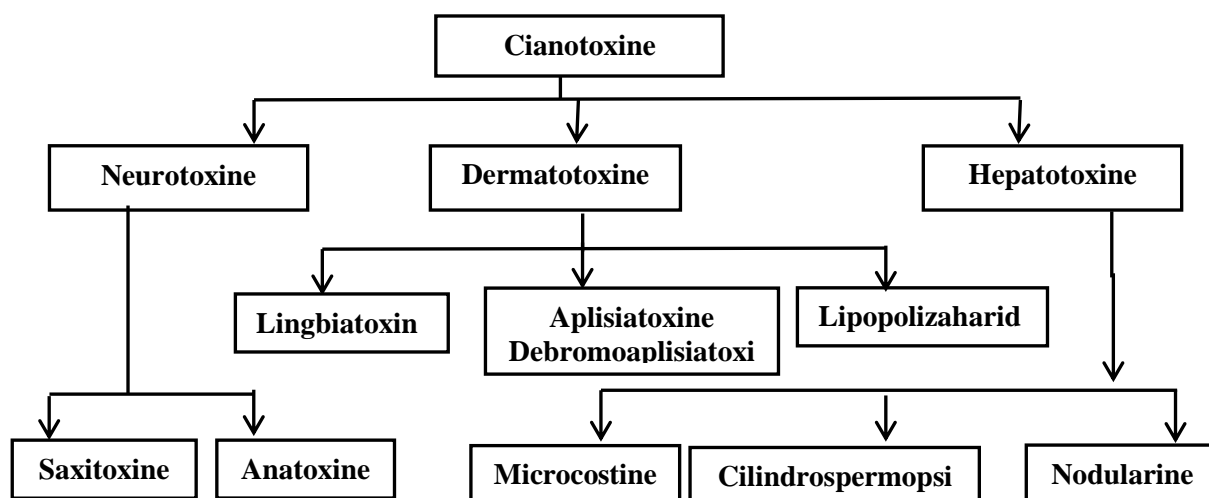


Fig.1. Calsificarea cianotoxinelor după modul de acțiune asupra mamiferelor.

Tabel

Cianotoxine produse de diverse tulpini de alge cianofite

Denumirea toxinelor	Natura chimică	Alga cianofită producătoare	Referințe bibliografice
Microcistine	Heptapeptide cíclice	Anabaena sp, Aphanocapsa sp., Nostoc sp., Hapalosiphon sp, Microcystis sp., Oscillatoria sp.	Namikoshi et.al., 1990 Sivonen et.al., 1990 Sivonen et.al., 1992 Mundt et.al., 2001 Oksanen et.al., 2004 Schatz et.al., 2007 Jiang et.al., 2008 Kim et.al., 2009 Kurmayer et.al., 2011
Nodularine	Pentapeptide cíclice	Nodularia sp.,	Pearson, 2010 Rinehart et.al., 1988 Mazur et.al., 2001
Cilindrospermopsina	Alcaloid	Aphanizomenon sp., Cylindrospermopsis sp., Umezakia sp., Raphidiopsis sp., Anabaena sp., Lyngbya sp.	Harada et al., 1994 Pearson, 2010 Kinneer, 2010
Anatoxina – a	Alcaloid	Anabaena sp., Aphanizomenon sp., Cylindrospermum sp., Oscillatoria sp., Planktothrix sp.	Edwards et al., 1992 Araoz et al., 2005 Carrasco et al., 2007 Oswald et al., 2009 Gagnon et.al., 2012 Harland et al., 2013 Hardi, 2008 Botana, 2007, Botana, 2008
Anatoxina – a (S)	Alcaloid	Anabaena sp.	Matsunaga et al., 1989 Watanabe et al., 1996 Whitton et. al, 2002 Wood et al., 2010 Wood et al., 2012

Homoanatoxina – a	Alcaloid	Anabaena sp., Aphanizomenon sp., Oscillatoria sp., Planktothrix sp., Phormidium sp.	Chorus et.al, 1999 Araoz et al., 2005 Aráoz et.al., 2010, Wood et.al., 2010, Wood et al., 2012 Kelman et al., 2013 Whitton et.al., 2002
Saxitoxina	Alcaloid	Anabaena sp., Lyngbya sp., Aphanizomenon sp., Cylindrospermopsis sp., Oscillatoria sp.	Negri et al., 1995. Maier R. et al., 2009 Callow, 1997 Onodera et al., 1997 Thacker, 2008 Lajeunesse et al., 2012
Neosaxitoxina	Alcaloid	Aphanizomenon sp.	Barceloux D.,2008
Aplisiatoxina	Alcaloid	Lyngya sp., Oscillatoria sp., Schizothrix sp.	De León, 2002 Bhakuni et.al., 2005
Debromoaplisiatoxina	Alcaloid	Lyngya sp., Oscillatoria sp., Schizothrix sp.	Singh et al., 2010 Bhakuni et al., 2005
Lingbiatoxina- A	Alcaloid	Lyngbya sp.	Chorus et al., 1999
Lipopolizaharidele (endotoxine)	Lipopolizaharide	Toate cianobacteriile	Stewart et al., 2006

Peptidele cu greutate moleculară mică, care conțin o serie de aminoacizi proteinogeni și nonproteinogeni, sunt o clasă importantă de compuși bioactivi produși de cianobacterii [10]. O serie de peptide mici ciclice sau liniare cu un nivel surprinzător de mare de variații structurale au fost depistate, de asemenea, la algele cianofite [71,78]. Aceste peptide sunt produse de cianofite atât nonribozomal, cât și pe cale biosintetice ribozomale [70]. Ele includ compuși cu proprietăți anticancerigene, inclusiv criptoficina, care prezintă interes din punct de vedere biomedical [45], dar și alte peptide hepatotoxice problematice pentru mediu [58]. Cele mai pe larg răspândite toxine cianobacteriene sunt heptapeptidele ciclice, cunoscute sub numele de *microcistine*, care pot fi izolate de la mai multe specii de alge cianofite de apă dulce, cum sunt *Microcystis sp.*, *Planktothrix sp.* (*Oscillatoria*), *Anabaena sp.* și *Nostoc sp.* [71]. Sunt cunoscute peste 70 de variante structurale de microcistine. O structură ciclică similară are și nodularina, pentapeptid ciclic hepatotoxic, întâlnit la cianobacteria *Nodularia sp.* Mulți dintre acești compuși sunt peptide care conțin aminoacizi nonproteinogenici, produse prin sinteza nonribozomală [71,78]. Recent au fost descoperite și peptide modificate, produse prin cale ribozomale – cianobactinele [17,67,42,70].

Cianobactinele sunt peptide mici ciclice produse de un șir variat de cianobacterii care habitează în simbioză în sol, în mări sau în apă dulce. Acestea includ compuși cu activitate antimalarie, antitumorală și alte activități și care pot fi utilizate ca remedii farmaceutice. Cianobactinele sunt produse prin clivajul proteolitic și ciclizarea peptidelor precursorare, cuplate cu alte modificări post-tranlaționale, cum ar fi heterociclizarea, oxidarea sau prenilarea de aminoacizi. Recenta descoperire a procesului de biosinteză a cianobactinelor în algele cianofite extinde cunoștințele noastre referitoare la potențialul lor în calitate de producători de metaboliți de interes farmaceutic. Denumirea de cianobactine a fost propusă ca un nume comun pentru peptidele ciclice care conțin aminoacizi heterociclizați sau derivați izoprenici ai aminoacizilor [17,67]. Cianobactinele au fost definite inițial substanțe cu conținut de oxazoline, tiazoline sau derivații lor oxidați – oxazolii și tiazolii. Această definiție a fost extinsă recent pentru a include și peptidele ciclice care constau exclusiv din aminoacizi proteinogeni [42].

Printre cianofitele întâlnite în sol se evidențiază *Nostoc sp.* care reprezintă o sursă bogată de componente naturale cu potențial valoros [15]. Șaisprezece metaboliți cu proprietăți bioactive, cum ar fi anticancerigene, antibacteriene, antifungice și antivirale, au fost identificate în 7 tulpini de *Nostoc* [9,52,54]. Semnificația ecologică a speciei *Nostoc* se datorează faptului că multe dintre aceste organisme sunt capabile să modifice habitatele lor, prin sinteza produșilor biologic activi. Acești compuși, care cuprind o gamă diversă de structuri chimice, inclusiv noi peptide ciclice și liniare, acizi grași, alcaloizi și alte substanțe organice, demonstrează activități biologice importante [39]. Un număr mare de noi agenți antimicrobieni au fost identificați în bio-

masa speciilor de *Nostoc* cu următoarele proprietăți: citotoxice [9], antifungice [32], antibacteriene [28], imunosupresive [49], inhibitoare asupra enzimelor [14] și antivirale.

S-a stabilit, de asemenea, că trei tulpini de *Nostoc*: *Nostoc* sp. 152, o tulpină de *Nostoc* izolată din apa sărată a unui lac din Anglia – *Nostoc* sp. DUN90 1 și tulpina terestră *Nostoc* sp. IO-102-I sunt capabile să producă microcistine. Sivonen și colab. au stabilit că *Nostoc* sp. strain152 este producător de nouă peptide hepatotoxice cu proprietăți toxicologice, similare cu cele ale produselor hepatotoxice de hepta- și pentapeptide din alte cianobacterii [71]. Cinci dintre aceste peptide au fost identificate ca noi tipuri ale omologilor microcistinei-LR. A fost menționat, de asemenea, că tulpina terestră de *Nostoc* sp. IO-102-A., asociată cu licheni, produce șase forme rare de microcistine [54].

Structura comună a microcistinelor cuprinde ciclul (D-alanil-LX-D-eritro-β methylaspartyl (izo-linkage)-LZ-ADDA-D-glutamil (izo-linkage)-N-methyldehydroalanyl) – structură unde ADDA reprezintă acidul β-amino, 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10 phenyldeca-4 (E), 6 (E)-dienoic, care este unic pentru microcistine și nodularine (Fig.2). Principala variație structurală în microcistine se observă în resturile de acid L-amino 2 (X) și 4 (Z), care sunt indicate de un sufix din două litere comune, de exemplu: microcystin-LR conține leucină (L) în poziția 2 și arginină (R) în poziția 4 [11,18]. S-a stabilit că microcistinele care sunt inhibitori ai proteinfosfatazei sunt produse de un complex de microcistinsintetaze, care include peptidsintetaze și poliketidsintetaze. Se consideră că lizarea unei fracții din populația de *Microcystis*, în urma căreia are loc eliminarea de peptide non-ribozomale, este simțită de restul celulelor, care răspund prin intensificarea procesului de sinteză a microcistinelor, ceea ce sporește capacitatea lor de viațuire în nișa ecologică, datorită toxicității [65].

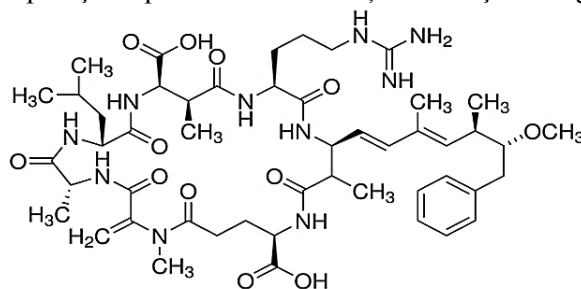


Fig.2. Structura chimică a Microcistinei-LR., $C_{49}H_{74}N_{10}O_{12}$. Masa moleculară 995,17
[[http://en.wikipedia.org/wiki/microcystin LR](http://en.wikipedia.org/wiki/microcystin_LR)]

Numărul de compuși bioactivi sau produse izolate din speciile genului *Nostoc* este în continuă creștere. Criptoficinele (Fig.3) izolate din tulpini terestre de *Nostoc* sunt agenți cu acțiune anticancer [13,73]. Activitatea lor antiproliferativă și antimicotică se datorează legării la moleculele de tubulină, inhibând asamblarea sau dezasamblarea ei.

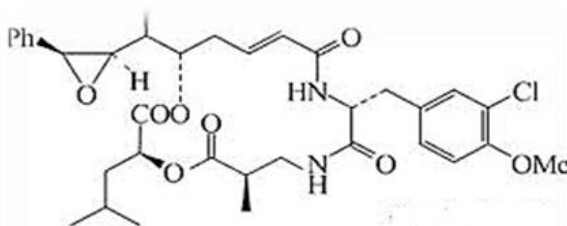


Fig.3. Structura chimică a Criptoficinei [<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary/cryptophycin>]

O peptidă ciclică – nostociclamida M (Fig.4) cu activitate alelopatică a fost izolată din tulpina de *Nostoc* 31 [29]. Autorii sugerează ideea că această tulpină ar putea fi utilizată ca sursă de pesticide naturale.

Au fost studiate și alte 2 specii de *Nostoc* – *Nostoc linckia* și *Nostoc punctiforme*, pentru a evalua capacitatea lor de a produce compuși intracelulari și/sau extracelulari cu potențial citotoxic [75]. Ambele specii de *Nostoc* produc compuși bioactivi intra- și extracelulari cu efecte diferite asupra șoarecilor și a celulelor de pește *in vitro*. Prezența unor astfel de cianotoxine ca anatoxina-a și /sau microcistină-nodularină a fost confirmată prin analize HPLC și ELISA. Prin urmare, speciile menționate de *Nostoc* nu sunt doar surse de compuși bioactivi cu acțiune terapeutică, ele pot fi și un potențial pericol pentru sistemele acvatice, precum și pentru sănătatea omului și a animalelor.

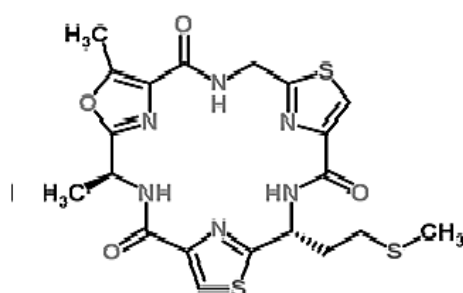


Fig.4. Structura chimică a Nostociclamidei M [[http://www.chemspider.com/Chemical-Structure/Nostociclamide M /](http://www.chemspider.com/Chemical-Structure/Nostociclamide%20M/)]

Ecosistemele din câmpurile arabile pot oferi un mediu favorabil pentru dezvoltarea algelor cianofite heterocistice ca urmare a luminii moderate, apei, temperaturii ridicate și disponibilității de nutrienți. Eforturile de screening menite să identifice agenții antimicrobieni au relevat mai mulți compuși promițători. Dintre aceste substanțe au fost identificate: nostociclina A, nostoflanul [32], nostofungicidina [31] și nostocina A [25].

Nowruzi și colab. au demonstrat că extractul etanolic sau metanolic din tulpina de *Nostoc ASN_M* are acțiune antifungică și au identificat trei compuși peptidici din clase diferite (anabaenopeptina, criptoficina și nostociclopeptida) [53]. Nostociclopeptida, care este o hexapeptidă ciclică, a manifestat acțiune citotoxică slabă contra KB (carcinomei nasofaringeene umane) și contra liniilor celulare LoVo (adenocarcinomei colorectale umane). A fost demonstrat că criptoficina exercită și activitate erbicidică [6].

Un alt metabolit produs de cianobacteria din ape dulci *Nostoc spongiaeforme TISTR 8169* este nostocina A care reprezintă un pigment extracelular citotoxic de culoare violetă. Pentru microalge, nostocina A a manifestat activitate de inhibare a creșterii, comparabilă cu paraquatul (paraquat), iar activitatea inhibitoare s-a dovedit a fi mai puternică asupra algelor verzi, decât asupra algelor cianofite. Nostocina A a manifestat și acțiune erbicidică, și toxicitate acută la șoareci și poate fi clasificată ca o toxină periculoasă [25]. Rezultatele obținute de unii autori sugerează ideea că nostocina A poate acționa ca o toxină sau un compus alelochimic asupra reproducerii organismelor în natură.

Într-o cultură de *N. spongiaeforme* a fost stimulată, în condiții de laborator producția de nostocină A la o temperatură mai mare de 30°C și la o iluminare mai intensă – 30 W/m², comparativ cu condițiile standard 25°C și 10 W/m². Cultivarea celulelor cu 1 sau 2 mM H₂O₂ de asemenea majorează producția de nostocină A, indicând faptul că nostocina A poate fi sintetizată și eliberată atunci când celulele sunt expuse la un stres oxidativ, eventual când apar temperaturi mai ridicate și la o lumină mai intensă [25].

Sunt cunoscuți și alți metaboliți cianobacterieni cu activitate biologică, așa-numiții paraciclofani (paracyclophanes) izolați din *Nostoc sp.* și *Cylindrospermum sp.* – nostociclofanii și cilindrociclofanii (Fig.5), care manifestă un spectru vast de activități biologice, inclusiv antibacteriană, antifungică și citotoxică [9,13,14].

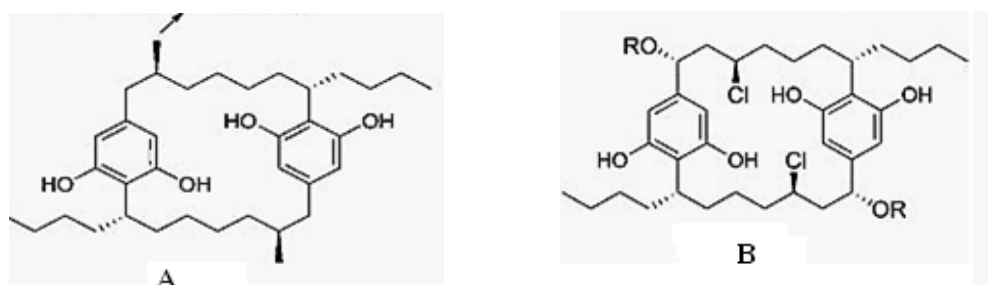


Fig.5. Structura chimică a Cilindrociclofanului (A) [<http://en.wikipedia.org/wiki/cylindrocyclophane>] și Nostociclofanului (B) [Kang et al., 2012]

Ciclofanul este o hidrocarbură care constă dintr-o unitate aromatică (de obicei, un ciclu benzenic) și o catenă alifatică care formează o punte între două poziții neadiacente ale inelului aromatic. Sunt de asemenea cunoscute mai multe derivate complexe, cu mai multe unități aromatice și poduri care formează structuri «cagelike».

Extractul obținut din celulele unei culturi terestre de *Nostoc sp. (UIC 10062)*, colectate într-un parc din orașul Michigan, a exercitat activitate antiproliferativă contra liniei HT-29 de celule de cancer de colon uman. Fraționarea extractului de celule algale, combinată cu analiza LC-MS, a condus la izolarea a doi ciclofani, numiți merociclofani – merociclofanii A și B (Fig.6). Structurile lor au fost determinate prin diferite tehnici spectroscopice, inclusiv HRESIMS, și analizei 1D și 2D RMN. Stereoconfigurația a fost stabilită în baza cristalografiei cu raze X [44].

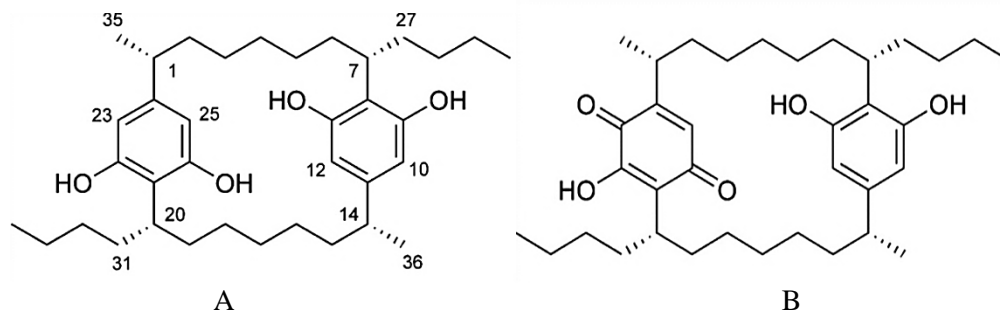


Fig.6. Structura chimică a Merociclofanului A (A) și a Merociclofanului B (B) [Kang et al., 2012].

Recent s-a stabilit că diverse specii de cianobacterii produc aminoacidul neurotoxic non-proteinic β -metil-amino-L-alanine (BMAA). Neurotoxina BMAA este produsă de diverse specii de cianobacterii răspândite în mediul terestrial sau acvatic și simbiote cianobacteriene [54].

Lyngbya majuscula (Ramamurthy și Raveendran, 2009) a fost menționată ca una dintre cianobacteriile principale care produc substanțe antimicrobiene [59]. Lingbiatoxina (Lyngbyatoxin) este un alcaloid indolic, care este produs de cianobacteria filamentoasă marină *Lyngbya majuscula* și de cea de apă dulce *Lyngbya wollei*. Au fost identificate trei izoforme ale lingbiatoxinei: a, b și c, masa lor moleculară constituind 437 Da. Structura lingbiatoxinei-o este identică cu cea a izomerului de teleocidină A, izolată din miceliul mai multor specii de *Streptomyces*. LD50 pentru soareci (cale orală) este de 250 pg/kg [27].

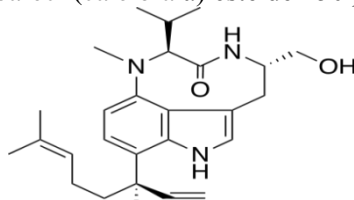


Fig.7. Structura chimică a Lingbiatoxinei A [<http://en.wikipedia.org/wiki/Lyngbyatoxin-a>].

Au fost identificate și alte două toxine produse de cianobacteria *Lyngbya wollei* – aplisiatoxina (AT) și debromoaplisiatoxina (DAT), care aparțin clasei de bislactone fenolice. Masa lor moleculară este 671 și 592 Da, respectiv [60]. Ele au fost mai întâi izolate de la moluște marine, aparținând genului *Stylocheilus* [35], care se alimentau cu specii de astfel de cianobacterii ca *Lyngbya*, *Schizothrix* și *Planktothrix*, care au capacitatea de a sintetiza AT și DAT. Singura diferență dintre structura chimică a aplisiatoxinei și cea a debromoaplisiatoxinei este că în DAT în structura fenolică un atom de hidrogen este înlocuit cu un singur atom de brom [77].

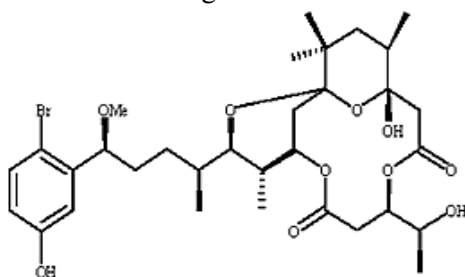


Fig.8. Structura chimică a Debromoaplesiatoxinei [Sivonen and Jones, 1999].

Mai multe studii experimentale au demonstrat potențialul impact negativ al aplisiatoxinei și debromoaplesiatoxinei asupra sănătății mamiferelor. La șoareci, ambele toxine au cauzat o iritare severă la urechi [20].

Inhibarea factorului de creștere epidermal (EGF) este de 10 ori mai mare pentru aplisiatoxină. La *Lyngbya wollei* au fost identificați și analogi ai saxitoxinei [40].

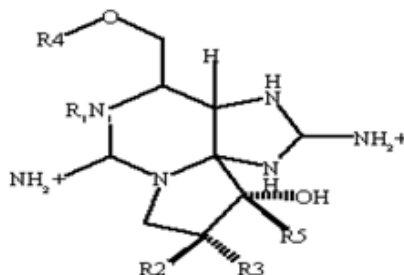


Fig.9. Structura chimică a Saxitoxinei [http://www.chemspider.com/Chemical-Structure/Saxitoxin].

Alt component toxic, produs de cianobacteria *Lyngbya majuscula*, este lipopeptida liniară – dragomide E care include în structura sa 5 aminoacizi legați în catenă cu 5 atomi de carbon ai cozilor de acizi grași [3]. Recent, mai multe lipopeptide au fost caracterizate ca substanțe cu activități de surfactant, antimicrobiene și citotoxice. Proprietățile lipopeptidelor pot conduce la aplicații în diverse domenii industriale, inclusiv în industria farmaceutică, pentru a fi utilizate ca antibiotice convenționale; în industria cosmetică – pentru obținerea de produse dermatologice, datorită proprietăților antirid și surfactante, în producția de alimente în calitate de emulgatori, precum și în domeniul biotehnologiei ca biosurfactanți [47].

Endotoxinele, numite și lipopolizaharide, intră în componența peretelui celular exterior al bacteriilor gram-negative. Lipopolizaharidele sunt compuse din trei părți: domeniul O-antigen, fragmentul polizaharidic hidrofilic și fragmentul hidrofobic lipidic (Lipida A) legate covalent și au o masă moleculară >.100 kDa. Fragmentul lipidic (Lipida A) este responsabil de numeroase efecte *in vitro* și *in vivo* ale endotoxinei. Toate LPS cianobacteriene examinate conțin glucoză, xiloză, manoză și ramnoză. Compoziția de acid gras și zahăr variază de la o specie cianobacteriană la alta [35,44,56]. Lipopolizaharidele (LPS) au fost izolate din *Schizothrix calcicola*, *Anabaena flos-aquae* (UTEX 1444), *Oscillatoria tenuis* și *Oscillatoria brevis*. Izolarea a fost realizată prin metoda de extracție în sistemul apă/fenol, modificat de Westphal. Ulterior, glucanul din LPS a fost separat prin hidroliză enzimatică cu celulaza. Macromoleculele erau constituite dintr-un fragment de polizaharide și componentul lipidic. Toxicitatea este asociată cu componentul lipidic (Lipid A), iar imunogenicitatea – cu cel polizaharidic.

Algele cianofite mai sunt și producători de substanțe volatile cu miros pătrunzător, cum sunt sesquiterpenele geosmina și 2-metilzoborneolul (Fig.10). Unii cercetători [30] au demonstrat că geosmina și 2 – MIB se găsesc în două fracțiuni intracelulare distincte, una dizolvată în citosolul apos și a doua legată de proteine. Folosind solvenți polari, acești autori au arătat că geosmina din a doua fracțiune se leagă cu proteinele membranare și nu se dizolvă în citosolul apos, similar cu clorofila și carotenoidele, care sunt parte integrantă a unităților macromoleculare proteine-pigment ale aparatului fotosintetic. De fapt, ficocobilproteinele sunt atașate la suprafața tilakoizilor și pot fi macromoleculele de care geosmina și 2 - MIB sunt legate prin punți de hidrogen și forțe Van der Waals.

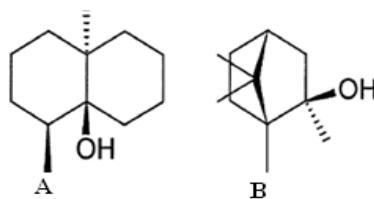


Fig.10. Structura chimică a Geosminei(A) și 2-metilzoborneolului(B) [Jutner and Watson, 2007].

Prezența a două fracții de geosmină intracelulară în stare legată și în stare dizolvată are implicații importante pentru protocoalele utilizate frecvent pentru extracție și analiză, pentru că aceste fracții se comportă diferit. La extragere în primul rând va fi eliminată fracția din citosolul apos. În *Fischerella muscicola*, de exemplu, extracțiile și analiza separată pe bază de solvent-apă au scos în evidență că 82% din geosmină sunt legate de proteine [30]. Într-o procedură tipică, celulele sunt filtrate pe un filtru cu fibră de sticlă și se tratează pe scurt timp cu metanol pentru extragerea geosminei.

Prezența sesquiterpenelor a fost stabilită și la cianobacteria *Calothrix* PCC 7507 – producătoare de geosmină. Extragerea uleiurilor esențiale a fost efectuată prin distilare în vacuum, după care s-a efectuat studiul lor în detalii prin metodele GC-MS și compararea lor cu compușii autentici. Geosmina era componentul predominant, iar alte sesquiterpene erau componente minore [26].

Factorii care induc producerea de toxine

Parametrii de mediu, cum ar fi intensitatea luminii, temperatura, substanțele nutritive și urmele de metale, au fost investigați atât în condiții naturale, cât și în condiții de laborator, în ceea ce privește efectul lor asupra producerii de toxine la algele cianofite. Lumina și temperatura sunt doi factori importanți care influențează producerea toxinelor. S-a stabilit că la cultivarea lor în spectrul de lumină roșie și verde are loc sporirea cantității de toxine, precum și toxicitatea cianobacteriilor, în comparație cu cultivarea la spectrul de lumină albă. Proliferarea și sinteza intensă de toxine crește semnificativ atunci când intensitatea luminii scade sub $22\mu\text{ mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ [82].

Studiile efectuate anterior indică faptul că concentrațiile fosforului total (TP) și ale azotului total (TN) sunt un indicator de creștere a biomasei algale în lacuri cu apă dulce [76]. Alte studii demonstrează importanța raportului dintre azot (N) și fosfor (P) (N:P), ale căror rate scăzute (<16:1) favorizează acumularea biomasei de cianofite, ca urmare a capacității unor specii de a fixa N_2 [92], precum și asupra producerii de neurotoxine [21]. Conținutul intracelular de microcistine (MC) de asemenea depinde de raportul N:P în mediul de cultivare. La cultivarea *Microcystis aeruginosa* în condiții limitate de fosfat-nitrat nu s-a semnalat niciun efect asupra producerii de toxine. În schimb, deficiența fierului a influențat asupra conținutului de toxine la *M. aeruginosa*, iar absorbția fierului a fost dependentă de lumină. Temperatura optimă pentru producerea de cianotoxine este de 20-25°C.

Au fost întreprinse, de asemenea, studii legate de dinamica producerii toxinelor în tulpinile de *Microcystis* sp. în corelație cu factorii de mediu, folosind tehnici moleculare de analiză [1]. Majorarea intensității luminii sporește capacitatea de absorbție a fierului de către celule, care ar putea fi în cele din urmă responsabil de producerea sporită de toxine.

Fosforul este, de obicei, factorul limitativ în lacuri și, prin urmare, mici modificări în acest nutrient pot influența producerea de toxine. Kurmayer (2011) a studiat efectul unor factori fiziologici asupra producției heptapeptidului toxic – MC din tulpina de *Nostoc* sp. 152 și a constatat că conținutul cel mai înalt de MC a fost semnalat în biomasa cultivată în regim cu un conținut de fosfor și iradiere reduse [30]. În general, cantități scăzute de microcistină produsă de *Anabaena*, *Microcystis* și *Oscillatoria*, anatoxină-a (produsă de *Aphanizomenon*) și nodularină (produsă de *Nodularia*) au fost semnalate la cele mai mici concentrații de fosfor testat în mediu [49]. Tulpinile unor cianofite azotfixatoare: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nodularia* și *Cylindrospermopsis* au demonstrat capacitatea de a produce cel mai înalt nivel de microcistină, anatoxină-a sau nodularină, atunci când se dezvoltă într-un mediu lipsit de azot. Pe de altă parte, tulpinile de *Microcystis* și *Oscillatoria* acumulează concentrații înalte de toxine, la un nivel ridicat de azot [72]. Producerea toxinelor la *Aphanizomenon flos-aquae* depinde de temperatură și pH-ul mediului. Ea corelează cu vârsta culturii, temperatura și intensitatea luminii, dar nu și cu sursa de azot [61]. La temperaturi sub 25°C, *Anabaena* sp. produce microcistina-LR, în loc de microcistina-RR, care este de preferință sintetizată la temperaturi mai înalte [34]. Cantitatea de neurotoxine (anatoxină-a și homoanatoxină-a), produse de diverse tulpini de *Phormidium* în depuneri bentice, depinde de spațiul de habitare și de timp [81,82], precum și de concentrațiile de cupru și fier [24].

Perspectivă de utilizare a metaboliților secundari bioactivi

Așadar, algele cianofite reprezintă surse de diverși metaboliți secundari bioactivi, care se împart în trei clase principale: peptide ciclice, alcaloizi și lipopolizaharide. După modul de acțiune a cianotoxinelor asupra mamiferelor, ele pot fi clasificate în neurotoxine, hepatotoxine și dermatotoxine. Cele mai toxice sunt saxitoxinele și microcistinele. Endotoxinele, numite și lipopolizaharide, au o acțiune toxică mai slabă și sunt considerate dermatotoxine. Din dermatotoxinele cu activitate toxică mai pronunțată fac parte și alcaloizii produși de tulpinile de *Lyngbya wollei* și *Lyngbya majuscula*, cum este lingbiatoxina, precum și bislactonele fenolice aplisiatoxina și debromoaplisiatoxina. Ultimele două substanțe sunt considerate că posedă proprietăți tumorigenice și sunt activatori ai proteinkinazei [63]. Activitatea antileucemică a debromoaplisiatoxinei extrase cu cloroform din *Lyngbya gracilis* a fost testată pe șoareci cu leucemie limfatică [51].

Conținutul de toxine produse de cianofite depinde de mai mulți factori, dintre care pot fi menționați următorii: dependența de concentrația de azot, fosfor și fier în mediul nutritiv, precum și iluminarea și temperatura.

În dependență de factorii de mediu sau la cultivare în simbioză cu lichenii, unele tulpini de *Nostoc sp.* sunt capabile să producă și microcistine [54].

Printre metaboliții secundari se numără peptidele ciclice sintetizate nonribozomal – microcistinele. În afară de peptide nonribozomale, în ultimii ani au fost identificate și peptide sintetizate ribozomal – cianobactinele, în a căror componență intră aminoacizi proteinogeni. Cianobactinele sunt reprezentate prin peptide mici ciclice, produse de mai multe alge cianofite care habitează în simbioze în sol, în mări sau în bazinele de apă dulce. Acestea includ compuși cu activitate antimalarie, antitumorală și alte particularități, ceea ce permite utilizarea lor ca remedii farmaceutice.

Din peptide ciclice fac parte și criptoficinele – compuși bioactivi care prezintă interes din punct de vedere biomedical, fiind înzestrate cu proprietăți anticancerigene. Criptoficina a fost identificată și în speciile de *Nostoc*, unele dintre care pot fi întâlnite și în algoflora din Moldova. La unele specii de *Nostoc* a fost depistată nostociclopeptida, care este o hexapeptidă ciclică cu acțiune citotoxică slabă contra carcinomei nasofaringiene umane și contra adenocarcinomei colorectale umane. Nostocina A – un pigment de culoare violetă cu acțiune citotoxică, a exercitat de asemenea și acțiune erbicidică. Producerea sporită a acestui pigment toxic a fost depistată la cultivarea tulpinii de *N. spongiaeforme* în condiții de stres oxidativ [26]. Au fost identificați și alți metaboliți cianobacterieni cu activitate biologică, așa-numiții paraciclofani izolați din *Nostoc sp.* și *Cylindrospermum sp.* – nostociclofanii și cilindrociclofanii, care manifestă un spectru vast de activități biologice, inclusiv antibacteriană, antifungică și citotoxică [13,14,9]. Acești compuși ar putea fi utilizați pe viitor în calitate de agenți antitumorali.

Algele cianofite mai sunt și producători de substanțe alelopatice, care au rolul de protecție față de prădători, unele având și proprietăți insecticide. Printre acestea au fost identificate sesquiterpenele – geosmina și 2-metilizoborneolul, care sunt substanțe volatile cu miros proeminent. Un alt compus cu activitate alelopatică este peptida ciclică – nostociclamida M, care a fost izolată din tulpina de *Nostoc 31*. Această substanță ar putea servi și în calitate de pesticid.

Luând în considerare prezența cianotoxinelor în majoritatea tulpinilor de alge cianofite [4,7,8,15,22,37,38], lucrul cu cianobacteriile producătoare de toxine necesită măsuri de precauție pentru a evita inhalarea, contactul direct în timpul manipulărilor, legate de cultivare și extragerea principiilor bioactive, în special în cazul preparatelor concentrate.

Bibliografie:

1. ARAOZ, R., NGHIEM, H., RIPPKA, R. et al. Neurotoxins in axenic oscillatoriancyanobacteria: coexistence of anatoxin-a and homoanatoxin-a determined by ligand-binding assay and GC/MS. In: *Microbiology*, 2005, vol.151, p.1263-1273.
2. BAJPAI, R., SUSEELA, M. Cyanobacterial toxins: A growing environmental concern. In: *International Society of Environmental Botanists*, 2012, vol.18, no.2, p.6-7.
3. BALUNAS, M., LININGTON, R., TIDGEWELL, K. et al. Dragonamide E, a modified linear lipopeptide from *Lyngbyamajuscula* with antileishmanial activity. In: *J. Nat. Prod.*, 2010, vol.73, p.60-66.
4. BARCELOUX, D. *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants and Venomous Animals*. Published by A John Wiley & Sons, INC.Hoboken, New Jersey, 2008, p.30-31.
5. BHAKUNI, D. AND RAWAT, D. *Bioactive Marine Natural Products*. India, 2005, 382 p.
6. BIONDI, N., PICCARDI, R., MARGHERI, M. et al. Evaluation of *Nostoc* Strain ATCC 53789 as a Potential Source of Natural Pesticides. In: *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, vol.70, no.6, p.3313-3320.
7. BOTANA, L. *Phycotoxins: Chemistry and Biochemistry*, 2007, SUA, 368 p.
8. BOTANA, L. Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology. In: *Physiology and Detection*, 2008, 697 p.
9. BUI, H., JANSEN, R., PHAM, H. et al. Carbamidocyclophanes A-E, chlorinated paracyclophanes with cytotoxic and antibiotic activity from the Vietnamese cyanobacterium *Nostoc sp.* In: *J. Nat. Prod.*, 2007, vol.70, p.499-503.
10. BURJA, A., BANAIKS, B., ABOU-MANSOUR, E. et al. Marine cyanobacteria – a prolific source of natural products. In: *Tetrahedron.*, 2001, vol.57, p.9347-9377.
11. CARMICHAEL, W. Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. In: *Journal of Applied Bacteriology*, 1992, vol.72, no.6, p.445-459.
12. CARRASCO, D., MORENO, E., PANIAGUA, T. et al. Anatoxin-a occurrence and potential cyanobacterial anatoxin-a producers in Spanish reservoirs. In: *J. of Phycol.*, 2007, vol.43, no.6, p.1120-1125.
13. CHEN, B., NAKEFF, A., VALERIOTE, F. Cellular uptake of a novel cytotoxic agent, cryptophycin-52, by human THP-1 leukemia cells and H-125 lung tumor cells. In: *Int. J. Cancer.*, 1998, vol.77, no.6, p.869-873.

14. CHLIPALA, G., STURDY, M., KRUNIC, A. et al. Cyclindrocyclophanes with proteasome inhibitory activity from the cyanobacterium *Nostoc* sp. In: *J. Nat. Prod.*, 2010, vol.73, p.1529-1537.
15. CHORUS, I. *Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries*. 2012, 137 p.
16. DEMBITSKY, V., ŘEZANKA, T. Metabolites Produced by Nitrogen-Fixing *Nostoc* Species. In: *Folia Microbiol.*, 2005, vol.50, no.5, p.363-391.
17. DONIA, M., RAVEL, J., SCHMIDT, E. A global assembly line for cyanobactins. In: *Nat. Chem. Biol.*, 2008, vol.4, p.341-343.
18. FALCONER, I. *Cyanobacterial toxins of drinking water supplies cylindrospermopsins and microcystins*. New York: CRC Press, 2005, 279 p.
19. FUJII, K., SIVONEN, K., NAGANAWA, E. et al. Non-toxic peptides from toxic cyanobacteria, *Oscillatoria agardhii*. In: *Tetrahedron*, 2000, vol.56, p.725-733.
20. FUJIKI, H., SUGANUMA, M., NAKAYASU M. et al. The third class of new tumor promoters, polyacetates (debromoaplysiatoxin and aplysiatoxin), can differentiate biological actions relevant to tumor promoters. In: *Gann*, 1982, vol.73, p.495-497.
21. GAGNON, A., PICK, F. Effect of nitrogen on cellular production and release of the neurotoxin anatoxin-a in a nitrogen-fixing cyanobacterium. In: *Front Microbiol.* 2012, vol.3, p.211-217.
22. GASSARA, F., BRAR, S., TYAGI, R. et al. Trends in biological degradation of cyanobacteria and Toxins, chapter 8 in: MALIK, A., GROHMANN, E. *Strategies for sustainability environmental protection strategies for sustainable development: SPRINGER SCIENCE+BUSINESS MEDIA B.V.*, 2012, p.261-294.
23. HARDY, J. Washington state recreational guidance for microcystins (Provisional) and anatoxin-a Washington, 2008, 19 p.
24. HARLAND, F. et al. Phormidium autumnale growth and anatoxin-a production under iron and copper stress. In: *J. Toxins.*, 2013, nr.5, p.2504-2521.
25. HIRATA, K., YOSHITOMI, S., DWI, S. et al. Bioactivities of nostocine a produced by a freshwater cyanobacterium *Nostoc spongiae* forme TISTR 8169. In: *J. Biosci Bioeng.*, 2003, vol.95, nr5, p.512-517.
26. HICKELMANN, C., BECHER, P., VON REUSS, S. et al. Sesquiterpenes of the geosmin-producing cyanobacterium *Calothrix* PCC 7507 and their toxicity to invertebrates. In: *Z Naturforsch C.*, 2009, vol.64, nr.1-2, p.49-55.
27. ITO, E., SATAKE, M., YASUMOTO, T. Pathological effects of lyngbyatoxin A upon mice. In: *Toxicol.* 2002, vol.40, p.551-556.
28. JAKI, B., HEILMANN, J., STICHER, O. New antibacterial metabolites from the Cyanobacterium *Nostoc commune* (EAWAG 122b). In: *J. Nat. Prod.*, 2000, vol.63, nr.9, p.1283-1285.
29. JUTTNER, F., TODOROVA, A., WALCH, N. et al. Nostocyclamide M: a cyanobacterial cyclic peptide with allelopathic activity from *Nostoc* 31. In: *Phytochemistry*, 2001, vol.57, nr.4, p.613-619.
30. JITTNER, F., WATSON, S. *Biochemical and Ecological Control of Geosmin and 2-Methylisborneol in Source Waters. Appl. Environ. Microbiol.* 2007, vol.73 nr.14, p.4395-4406.
31. KAJIYAMA, S., KANZAKI, H., KAZUYOSHI, K. et al. Nostofungicidine, an antifungal lipopeptide from the field-grown terrestrial blue-green alga *Nostoc commune*. In: *Tetrahedron Lett.*, 1998, vol.39, p.3737-3740.
32. KANEKIYO, K., HAYASHI, K., LEE, J. et al. Structure and antiviral activity of an acidic polysaccharide from an edible blue-green alga, *Nostoc flagelliforme*. In: *J. of the Pharm. Society of Japan*, 2008, vol.128, nr.5, p.725-731.
33. KANG, H., SANTARSIERO, B., KIM, H. et al. Merocyclophanes A and B, antiproliferative cyclophanes from the cultured terrestrial Cyanobacterium *Nostoc* sp. In: *Phytochemistry*, 2012, vol.79, p.109-115.
34. KATIRCIOĞLU, H., AKIN, B., ATIC, T. Microalgal toxin(s): characteristics and importance. In: *Afr. J. Of Biotechnol.*, 2004, vol.3, nr.12, p.667-674.
35. KATO, Y., SCHEUER, P. Aplysiatoxin and debromoaplysiatoxin, constituents of the marine mollusk *Stylecheilus longicauda*. In: *J. Am. Chem.Soc.*, 1974, vol.96, p.2245-2246.
36. KELETI, G., SYKORA, J.L., MAIOLIE, L.A. et al. Isolation and characterization of endotoxin from cyanobacteria (Blue-Green Algae). In: *Environ. Sci. Research*, 1981, p.447-464.
37. KELMAN, R., PLOUX, O., NEILAN, B. Neurotoxic alkaloids from cyanobacteria. Chap.3 in the book K.G. RAMAWAT, J.M. MERILON (eds) „Natural products”. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013.
38. KINNEAR, S. Cylindrospermopsin: A decade of progress on bioaccumulation. In: *Mar. Drugs*, 2010, vol.8, p.542-564;
39. KURMAYER, R. The toxic cyanobacterium *Nostoc* sp. Strain 152 produces highest amounts of microcystin and nostophycin under stress conditions. In: *J. of Phycology*, 2011, vol.47, nr.1, p.200-207.
40. LAJEUNESSE, A., SEGURA, P., GILINAS, M. et al. Detection and confirmation of saxitoxin analogues in freshwater benthic *Lyngbya wollei* algae collected in the St. Lawrence River (Canada) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. In: *J. Chromat. A.*, 2012, vol.1219, nr.1, p.93-103.
41. LEFLAIVE, J., TEN-HAGE, L.I. *Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins Freshwater Biology*. 2007, vol.52, p.199-214.

42. LEIKOSKI, N., FEWER, D., JOKELA, J. et al. Highly diverse cyanobactins in strains of the genus *Anabaena*. In: *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, vol.76, p.701-709.
43. LUESCH, H., YOSHIDA, W., MOORE, R. Isolation, structure determination, and biological activity of Lyngbyabellin A from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. In: *Ibidem.*, 2000, vol.63, p.611-615.
44. MAGALHIES, P., LOPES, A., MAZZOLA, P. et al. Methods of endotoxin removal from biological preparations. In: *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 2007, vol.10, no.3, p.388-404.
45. MAGARVEY, N., BECK, Z., GOLAKOTI, T. et al. Biosynthetic characterization and chemoenzymatic assembly of the cryptophycins, potent anticancer agents from cyanobionts. In: *ACS Chem. Biol.*, 2006, vol.1, no.12, p.766-779.
46. MAIER, R., PEPPER, L., GERBA, C. *Environmental Microbiology*. Academic Press Inc; 2nd Revised edition. 2008, p.458-459.
47. MANDALA, S., BARBOSA, A., FRANCO, O. Lipopeptides in microbial infection control: Scope and reality for industry. In: *Biotechnology Advances*, 2013, vol.31, no.2, p.338-345.
48. MAZUR, H., PLIŃSKI, M. Stability of cyanotoxins, microcystin-LR, microcystin-RR and nodularin in seawater and BG-11 medium of different salinity. In: *Oceanologia*, 2001, vol.43, no.3, p.329-339.
49. METTING, B., PYNE, J. Biologically active compounds from microalgae. In: *Enz. Microb. Technol.*, 1986, vol.8, p.386-394.
50. MUNDT, S., KREITLOWA, S., NOWOTNYA, A. et al. Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. In: *Int. J. of Hygiene and Environmental Health*, 2001, vol.203, no.4, p.327-334.
51. MYNDERSE, J., MOORE, R., KASHIWAGI, M. et al. Antileukemia activity in the Oscillatoriaceae: isolation of Debromoaplysiatoxin from *Lyngbya*. In: *Science*, 1977, vol.196, no.4289, p.538-540.
52. NAMIKOSHI, M., RINEHART, K. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. In: *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, vol.17, no.5-6, p.373-384.
53. NOWRUZI, B., KHAVARI-NEJAD, R.-A., SIVONEN, K. et al. Identification and toxigenic potential of a *Nostoc* sp. *Algae*, 2012, vol.27, no.4, p.303-313.
54. OKSANEN, I., JOKELA, J., FEWER, D. et al. Discovery of rare and highly toxic microcystins from lichen-associated cyanobacterium *Nostoc* sp. strain IO-102-I. In: *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, vol.70, no.10, p.5756-5763.
55. OSWALD, J., RELIN, S., GAGO-MARTINEZ, A. et al. Production of anatoxin a by cyanobacterial strains isolated from Portuguese fresh water systems. In: *Ecotoxicology*, 2009, vol.18, p.1110-1115.
56. PAPAGEORGIOU, J., LINKE, T., KAPRALOS, C. et al. Extraction of cyanobacterial endotoxin. In: *Environmental Toxicology*, 2004, vol.19, no.1, p.82-87.
57. PAPKE, U., GROSS, E.M. AND FRANCKE, W. Isolation, identification and determination of the absolute configuration of Fischerellin B. A new algicide from the freshwater cyanobacterium, *Fischerella muscicola* (Thuret). In: *Tetrahedron Lett.*, 1997, vol.38, p.379-382.
58. PEARSON, L., MIHALI, T., NEILAN, B. On the Chemistry, Toxicology and Genetics of the Cyanobacterial Toxins, Microcystin, Nodularin, Saxitoxin and Cylindrospermopsin. In: *Mar. Drugs*, 2010, vol.8, no.5, p.1650-1680.
59. RAMAMURTHY, V., RAVEENDRAN, S., THIRUMENI, S. et al. Antimicrobial activity of Heterocyclic Cyanobacteria. In: *International Journal of Advanced Life Sciences (IJALS)*, 2012, vol.1, p.32-39.
60. RAO, P., GUPTA, N., BHASKAR, A., Toxins and bioactive compounds from cyanobacteria and their implications on human health. In: *J. Environ. Biol.*, 2002, vol.23, p.215-224.
61. RUDIC, V. *Aspecte noi ale biotehnologiei moderne*. Chișinău: Știința, 1993, 140 p.
62. RUDIC, V., COJOCARI, A., CEPOI, L. și al. Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice. Chișinău: Elena V.I. SRL, 2007. 365p.
63. RZYMSKI, P., PONIEDZIAŁEK, B. Dermatotoxins synthesized by blue-green algae (Cyanobacteria). In: *Postępy Dermatologii i Alergologii*, 2012, vol.29, no.1, p.47-50.
64. ȘALARU, V., BULIMAGA, V., ȘALARU, V. et al. Rolul unor alge cianofite azotfixatoare în rezolvarea problemei alimentare. În: *Studia Universitatis. Seria „Științe ale naturii”*, Biologie, 2013, nr.6(66), p.33-41.
65. SCHATZ, D., KEREN, Y., VARDI, A., et al. Towards clarification of the biological role of microcystins, a family of cyanobacterial toxins. *Environ Microbiol.*, 2007, vol.9, no.4, p.965-70.
66. SCHLEGEL, I., DOAN, N., DE CHAZOL, N. et al. Antibiotic activity of new cyanobacterial isolates from Australia and Asia against green algae and cyanobacteria. In: *J. Appl. Phycol.*, 1999, vol.10, p.471-479.
67. SCHMIDT, E., DONIA, M. Cyanobactin ribosomally synthesized peptides – a case of deep metagenome mining. In: *Meth Enzymol.*, 2009, vol.458, p.575-596.
68. SINGH, J., PATHAK, R. Toxicological assessment of cyanobacterial toxins. In: *J. The Bioscan.*, 2010, vol.5, nr.4, p.523-530.
69. SINGH, S., KATE, B., BANERJEE, U. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. In: *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2005, vol.25, no.3, p.73-95.
70. SIVONEN, K., LEIKOSKI, N., FEWER, D. et al. Cyanobactins – ribosomal cyclic peptides produced by cyanobacteria. In: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol.86, no.5, p.1213-1225.
71. SIVONEN, K., BIRNER, T. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. In: *A. HERRARO AND E. FLORES (ed.), The cyanobacteria: molecular biology, genomics and evolution*. Norfolk: Caister Academic Press, 2008, p.159-197.

72. SIVONEN, K., JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: *Chorus I. and Bartram J. (ed.). Toxic cyanobacteria in water. A guide to their public health consequences, monitoring and management.* London: E & FN Spon, 1999, p.41–111.
73. SMITH, C., ZHANG, X., MOOBERRY, S. et al. Cryptophycin: a new antimicrotubule agent active against drug-resistant cells. In: *Cancer Res.*, 1994, vol.54, no.14, p.3779-84.
74. STEWART, I., SCHLUTER, P., SHAW, G. Cyanobacterial lipopolysaccharides and human health – a review. In: *J. Bio Med. Central. Environmental Health*, 2006. Disponibil: <http://www.ejournal.net/content/pdf/1476-069X-5-7.pdf>.
75. TENEVA I., STOYANOV, P., BELKINOVA, D. Production of cyanobacterial toxins from two Nostoc species (Nostocales) and evaluation of their cytotoxicity in vitro. In: *J. BioSci. Biotech.*, 2012, vol.1, no.1, p.33-43.
76. TRIMBEE, A. M. AND PREPAS, E.E. Evaluation of total phosphorus as a predictor of the relative biomass of blue-green algae with emphasis on Alberta Lakes. In: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1987, vol.44, p.1337-1342.
77. WALSH, P., SMITH, S., FLEMING, L., et al. *Oceans and human health: risks and remedies from the seas.* Amsterdam: Academic Press, 2008.
78. WELKER, H., AND VON DIHREN, H. Cyanobacterial peptides - Nature's own combinatorial biosynthesis. In: *FEMS Microbiology Reviews*, 2006, vol.30, p.530-563.
79. WHITTON, B. , POTTS, M. *The ecology of cyanobacteria: Their diversity in time and space.* 2002, 621 p.
80. WOOD, S., SMITH, F., HEATH M, W. et al. Within-Mat variability in anatoxin-a and homoanatoxin-a production among benthic Phormidium(Cyanobacteria) strains. In: *Toxins*, 2012. Disponibil: <http://www.mdpi.com/journal/toxins>.
81. WOOD, S., HEATH, M., KUHAJEK, J. et al. Fine-scale spatial variability in anatoxin-a and homoanatoxin-a concentrations in benthic cyanobacterial mats: Implication for monitoring and management. In: *J. Appl. Microbiol.*, 2010, vol.109, p.2011-2018.
82. YIN, Q., CARMICHAEL, W., EVANS, W. Factors influencing growth and toxin production by cultures of the freshwater cyanobacterium *Lyngbyawollei* Farlow ex Gomont. In: *J. of Appl. Phycology*, 1997, vol.9, p.55-63.

Notă: Lucrarea a fost efectuată în cadrul Proiectului Instituțional 11.817.08.44A.

Prezentat la 26.05.2014