

Les toxines des cyanobactéries : revue de synthèse Cyanobacterial toxins: a review

J. C. Feuillard

Volume 5, Number 4, 1992

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/705143ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/705143ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (print)

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Feuillard, J. C. (1992). Les toxines des cyanobactéries : revue de synthèse. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 5(4), 489–508.
<https://doi.org/10.7202/705143ar>

Article abstract

The aim of the paper is to present in the French language the international knowledge related to freshwater cyanobacterial toxins, a problem of great significance in our European countries but largely unknown by people in France. An analytical review of a selection of works chosen from the extensive existing literature is presented. At the present time, the main works come from : U.S.A., with CARMICHAEL and coworkers, continuing the researches from CORHAM; Scotland, with CODD; Scandinavia with ERIKSSON, LINDHOLM; and Japan with WATANABE, HARADA, but also many others scientists.

In freshwater, poisoning is typically associated with the ingestion of the cyanobacteria appearing in large amount, at the surface of some water bodies, and called water blooms. Many cases of livestock death (concerning sheeps, calves but also adult oxen and horses), associated with the consumption of such water blooms are reported, also, deaths of wild mammals (muskrats, and hogs), birds (ducks, geese), fishes, invertebrate, and human illness following bathing are known. But, because toxins are not destroyed by conventional sand filtration treatment, human illness may also arise from drinking water taken out from an impoundment with a cyanobacterial bloom. Cases are known from United States, Scandinavia and Sardinia. This tap water problem is serious because probabilities of long term diseases, such as tumors promotion, are now considered high.

Seventy-five percent of fresh water cyanobacterial strains are potentially toxic, but, on the whole, only some clones from a single species, simultaneously isolated out of an unique body of water, are toxic. However, there are no evidence that the nontoxic strains could never become toxic.

Cyanobacteria are also known as blue-green algae, Myxophyceae or Cyanophyta, and are typically microscopic prokaryotes, but with chlorophyll a. Toxic clones belong to : a) the Chroococcales, single coccoid cells embedded in a gelatinous matrix, represented by species of the genera *Coelosphaerium*, *Gomphosphaeria*, and *Microcystis* whose the species *M. aeruginosa* is the most frequently quoted toxic Cyanobacteria. b) the Nostocales, filamentous forms, some of them with exocellular sheath. Many are nitrogen fixing species belonging to the genera *Nodularia*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Nostoc*, others belong to the genera *Oscillatoria*, and are sot known as nitrogen fixers.

Most often the mice toxicity test is used to identify toxic water blooms, it allows to define the lethal doses of the toxins or of the toxic organisms. But some others tests have been applied or suggested, they use others animals : fishes, zooplankton or microorganisms, and isolated organs or cells cultures, many are not specific. Currently the modern immunological tests are not yet adapted to identify fresh-water cyanobacterial toxins.

The main toxins that can be distinguished are the microcystins and the anatoxins. The microcystins are hepatotoxins from various cyanobacteria belonging principally to the genera *Microcystis* and *Oscillatoria*; they promote liver haemorrhages. The anatoxins are neurotoxins from *Anabaena* and death occur by breath arrest. Some cyanobacteria simultaneously produce the two forms. A mammal may be killed by a blood level content of 0.07 mg of *Microcystis* toxin per kg of body weight. Cyanobacterial toxins are endotoxins which diffuse during cell lysis. This explain why toxins can be found in water from impoundments with cyanobacterial blooms. In this case, the toxins can possibly originate in a thick metalimnic plankton layer, not seen from surface.

Toxin analysis is usually performed using high pressure liquid chromatography but also thin layer chromatography, and particularly the high performance moderm technique. Molecular structures are elucidated using, fast atoms bombardment spectrometry, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. The microcystins are cyclic heptapeptides of low molecular weight, they differed in amino-acids composition; a characteristic one, built up with 20 carbons, is called ADDA. Microcystins toxicity ensue as they act as strong inhibitors upon phosphatase activities. The anatoxins-a are alkaloids, others anatoxins are peptides or currently unknown.

The causes of the expression of the toxicity remain to be elucidated. In the years to come, much progress can be achieved by using new genetic tools. Nevertheless, as the largest problems occur always associated with water-blooms, and rise under high sunlight in hot periods, toxicity appears in the whole, associated with eutrophication, and as many toxic species are nitrogen fixers which do not need inorganic nitrogen to grow, problems follow generally a plentiful phosphorous load of water bodies due to human operations. As toxins accumulate in the cells, they could be actives either only after cells consumption, or after toxins discharge during cell lysis. Cyanobacterial toxicity is not due to bacteria associated with the cyanobacteria and can appear in pure axenic cultures. Toxicity is not associated with the presence of cell plasmids. It was shows that optimal conditions for growth did not coincide with those for toxin production and vary with the growth phase. On the whole, the optimum temperatures, for toxin maximum production, were at about 25 °C for different cultures. Light intensity would be the primary important factor for the production of the toxin, but, in cyanobacteria cultures, this production can occur at relatively low light intensity.

Some related cyanobacterial products are not true toxins but are exotoxins acting as antibiotics and can affect species behaviour or dominance and help deter grazers. Since LEFEVRE and coworkers studies, and after a long quiescent period, ecologists take these products anew into account when studying plankton ecology and successions. Only some phytoplankton responds to cyanobacterial extracellular products. Among zooplankton there are species avoiding actively the cyanobacteria and insensitive ones. Chemists have already started search for antitoxins chemicals and found promising curative results. On the other hand, biotechnology could take advantage of all these various cyanobacterial products to obtain new drugs having pharmacological or agronomical uses. Some true toxins could be used as anti-neoplastics, and products, involved in allelopathic reactions, have antibiotic and antiviral activities. The use of toxins as commercial algicide for chlorophycean waterbloom control had been suggested, but the action spectra of the toxins must be precisely known before extensive implementation. From another point of view, « microalgal » by-products, used as food additives have to be carefully checked for possible toxins.

As SKULBERG et al. could rite in 1984, toxic blue-green algal blooms is a growing problem in Europe. Scientists involved in health supervision had to be watchful to it in a way to prevent people from possible major accidents.

Les toxines des cyanobactéries : revue de synthèse

Cyanobacterial toxins :
a review

J. FEUILLADE¹

Reçu le 4 juillet 1991, accepté pour publication le 24 mars 1991*.

SUMMARY

The aim of the paper is to present in the French language the international knowledge related to freshwater cyanobacterial toxins, a problem of great significance in our European countries but largely unknown by people in France. An analytical review of a selection of works chosen from the extensive existing literature is presented. At the present time, the mains works come from : U.S.A., with CARMICHAEL and coworkers, continuing the researchs from GORHAM ; Scotland, with CODD ; Scandinavia with ERIKSSON, LINDHOLM ; and Japan with WATANABE, HARADA, but also many others scientists.

In freshwater, poisoning is typically associated with the ingestion of the cyanobacteria appearing in large amount, at the surface of some water bodies, and called water blooms. Many cases of livestock death (concerning sheeps, calves but also adult oxen and horses), associated with the consumption of such water blooms are reported, also, deaths of wild mammals (muskrats, and hogs), birds (ducks, geese), fishes, invertebrata, and human illness following bathing are known. But, because toxins are not destroyed by conventional sand filtration treatment, human illness may also arise from drinking water taken out from an impoundment with a cyanobacterial bloom. Cases are known from United States, Scandinavia ans Sardinia. This tap water problem is serious because probabilities of long term diseases, such as tumors promotion, are now considered high.

Seventy-five percent of fresh water cyanobacterial strains are potentially toxic, but, on the whole, only some clones from a single species, simultaneously isolated out of an unique body of water, are toxic. However, there are no evidence that the nontoxic strains could never become toxic.

Cyanobacteria are also known as blue-green algae, Myxophyceae or Cyanophyta, and are typically microscopic prokaryotes, but with chlorophyll a. Toxic clones belong to : a) the Chroococcales, single coccoid cells embedded in a

1. INRA, BP 511, 74203 Thonon, France.

* Les commentaires seront reçus jusqu'au 15 juin 1993.

gelatinous matrix, represented by species of the genera *Coelosphaerium*, *Gomphosphaeria*, and *Microcystis* whose the species *M. aeruginosa* is the most frequently quoted toxic Cyanobacteria. b) the Nostocales, filamentous forms, some of them with exocellular sheath. Many are nitrogen fixing species belonging to the genera *Nodularia*, *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Nostoc*, others belong to the genera *Oscillatoria*, and are not known as nitrogen fixers.

Most often the mice toxicity test is used to identify toxic water blooms, it allows to define the lethal doses of the toxins or of the toxic organisms. But some others tests have been applied or suggested, they use others animals : fishes, zooplankton or microorganisms, and isolated organs or cells cultures, many are not specific. Currently the modern immunological tests are not yet adapted to identify fresh-water cyanobacterial toxins.

The main toxins that can be distinguished are the microcystins and the anatoxins. The microcystins are hepatotoxins from various cyanobacteria belonging principally to the genera *Microcystis* and *Oscillatoria* ; they promote liver haemorrhages. The anatoxins are neurotoxins from *Anabaena* and death occur by breath arrest. Some cyanobacteria simultaneously produce the two forms. A mammal may be killed by a blood level content of 0.07 mg of *Microcystis* toxin per kg of body weight. Cyanobacterial toxins are endotoxins which diffuse during cell lysis. This explain why toxins can be found in water from impoundments with cyanobacterial blooms. In this case, the toxins can possibly originate in a thick metalimnic plankton layer, not seen from surface.

Toxin analysis is usually performed using high pressure liquid chromatography but also thin layer chromatography, and particularly the high performance modern technique. Molecular structures are elucidated using, fast atoms bombardment spectrometry, mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. The microcystins are cyclic heptapeptides of low molecular weight, they differ in amino-acids composition ; a characteristic one, built up with 20 carbons, is called ADDA. Microcystins toxicity ensue as they act as strong inhibitors upon phosphatase activities. The anatoxins-a are alkaloids, others anatoxins are peptides or currently unknown.

The causes of the expression of the toxicity remain to be elucidated. In the years to come, much progress can be achieved by using new genetic tools. Nevertheless, as the largest problems occur always associated with waterblooms, and rise under high sunlight in hot periods, toxicity appears in the whole, associated with eutrophication, and as many toxic species are nitrogen fixers which do not need inorganic nitrogen to grow, problems follow generally a plentiful phosphorous load of water bodies due to human operations. As toxins accumulate in the cells, they could be actives either only after cells consumption, or after toxins discharge during cell lysis. Cyanobacterial toxicity is not due to bacteria associated with the cyanobacteria and can appear in pure axenic cultures. Toxicity is not associated with the presence of cell plasmids. It was shown that optimal conditions for growth did not coincide with those for toxin production and vary with the growth phase. On the whole, the optimum temperatures, for toxin maximum production, were at about 25 °C for different cultures. Light intensity would be the primary important factor for the production of the toxin, but, in cyanobacteria cultures, this production can occur at relatively low light intensity.

Some related cyanobacterial products are not true toxins but are exotoxins acting as antibiotics and can affect species behaviour or dominance and help deter grazers. Since LEFÈVRE and coworkers studies, and after a long quiescent period, ecologists take these products anew into account when studying plankton ecology and successions. Only some phytoplankton responds to cyanobacterial extracellular products. Among zooplankton there are species avoiding actively the cyanobacteria and insensitive ones.

Chemists have already started search for antitoxins chemicals and found promising curative results. On the other hand, biotechnology could take advantage of all these various cyanobacterial products to obtain new drugs having pharmacological or agronomical uses. Some true toxins could be used as anti-neoplastics, and products, involved in allelopathic reactions, have antibiotic and antiviral activities. The use of toxins as commercial algicide for chlorophycean waterbloom control had been suggested, but the action spectra of the toxins must be precisely known before extensive implementation. From another point of view, « microalgal » by-products, used as food additives have to be carefully checked for possible toxins.

As SKULBERG *et al.* could write in 1984, toxic blue-green algal blooms is a growing problem in Europe. Scientists involved in health supervision had to be watchful to it in a way to prevent people from possible major accidents.

Keys-words : cyanobacteria, toxins, anatoxin, cyanoginosin, microcystin, oscillatoxin, aphantoxin, scytophyicin, toxicity tests.

RÉSUMÉ

La toxicité du phytoplancton est un problème dont l'importance est grandissante en France comme en Europe. Cette toxicité se manifeste surtout lors de l'ingestion de cyanobactéries formant des fleurs d'eau superficielles liées à l'eutrophisation. *Microcystis aeruginosa* est l'espèce la plus fréquemment incriminée, mais 75 % des souches de cyanobactéries d'eau douce seraient des toxiques potentielles. Lorsque des clones sont isolés d'un plan d'eau dans lequel des manifestations de toxicité ont été observées, des souches toxiques et non toxiques sont obtenues. La connaissance des conditions d'expression de la toxicité représente un sujet important actuellement peu étudié. Un mammifère peut mourir s'il passe dans son sang 0,07 mg de toxine de *Microcystis* par kg de son poids. En pratique, de nombreux cas de morts de bétail ont été recensés. Les toxines qui causent des accidents sont des endotoxines non rejetées par les cellules vivantes, mais libérées au cours de leur lyse. Ceci explique que des cas d'intoxication humaine par l'intermédiaire de l'eau de boisson ont pu être observés. On distingue principalement : des microcystines, hépatotoxines produites par diverses cyanobactéries dont *Microcystis* et *Oscillatoria*, et des anatoxines, neurotoxines produites par des *Anabaena*. Certaines cyanobactéries produiraient un mélange des deux formes. En sus du test de toxicité classique sur la souris, plusieurs autres tests existent. L'analyse est généralement réalisée par chromatographie liquide à haute pression. Des produits actifs synthétisés par des cyanobactéries possèdent une fonction antibiotique et sont susceptibles de jouer un rôle dans le comportement des espèces et leur dominance ou de les protéger contre le broutage. Ces produits seraient des exotoxines différentes des précédentes.

Mots clés : Cyanobactéries, toxines, anatoxine, cyanoginosine, microcystine, oscillatoxine, aphantoxine, scytophyicine, tests de toxicité.

1 - INTRODUCTION

Les cyanobactéries (couramment appelées cyanophycées ou algues bleues) du phytoplancton lacustre sont les organismes qui forment les fleurs d'eau les plus nuisantes. Parmi les problèmes créés, la présence de toxines apparaît de plus en plus souvent et en 1984, SKULBERG *et al.* pouvaient déjà

écrire « Toxic Blue-green algal blooms in Europe : A growing problem ». Les cartes d'impacts en Europe, présentées depuis lors par les chercheurs étrangers, laissent une France curieusement indemne entourée de pays ayant eu des problèmes à ce sujet. En fait, il semble bien que les fleurs d'eau toxiques soient de plus en plus fréquentes et associées à l'eutrophisation ; d'après G.A. CODD, 75 % des souches de cyanobactéries seraient des toxiques potentielles (communication personnelle).

En mer le phytoplancton toxique, ou susceptible de l'être, de nos côtes est essentiellement représenté par des dinophycées appartenant aux genres : *Dinophysis*, *Gyrodinium*, et *Alexandrium* ainsi que par une prymnésiofycée, *Phaeocystis* (SOURNIA *et al.* 1990). Les mêmes genres ont tous des représentants toxiques dans le monde entier, mais il existe aussi des diatomées toxiques appartenant au genre *Nitzschia* produisant de l'acide domoïque, qui se concentre dans les coquillages comme la toxine de *Dinophysis* (MARTIN *et al.* 1990). Un facteur neurotoxique a été trouvé associé à la cyanobactérie *Trichodesmium*, Oscillaire planctonique marine (HAWSER *et al.* 1991) et une cytotoxine est présente chez *Lyngbya* (ARMSTRONG *et al.* 1991).

Contrairement à ce qui s'observe en mer, seules des cyanobactéries semblent poser de réels problèmes de toxicité en eau douce. La première observation citée est celle de FRANCIS (1878), imputant la mort de moutons à *Nodularia spumigena*. A partir de 1958 les travaux ont été développés par P.R. GORHAM et ses collaborateurs (GORHAM, 1960, 1962, 1964a ; GORHAM *et al.* 1958, 1964 ; BISHOP *et al.* 1959), qui ont introduit le test utilisant la souris et mis en évidence deux facteurs toxiques entraînant la mort lentement ou rapidement. L'état des connaissances de l'époque est détaillé par GORHAM (1964b) et, pour les aspects médicaux, par SCHWIMMER et SCHWIMMER (1964) dans le premier volume de la série « Algae and man », éditée par D.F. JACKSON. Le second volume, intitulé « Algae, man and the environment », présente un chapitre avec des listes, longues et détaillées, d'intoxications animales et humaines, et d'expérimentations à propos d'algues toxiques d'eau douce et marines (SCHWIMMER et SCHWIMMER, 1968). Relativement peu d'espèces d'eau douce sont incriminées à cette date, cependant des chlorophycées toxiques sont citées par SCHWIMMER et SCHWIMMER (1964). Les principaux travaux actuels sont dus à des chercheurs étrangers : CARMICHAEL, qui continue l'œuvre de GORHAM aux U.S.A., CODD en Ecosse, ainsi que ERIKSSON, LINDHOLM et d'autres confrontés à la manifestation de nuisances graves en Scandinavie.

2 - LES ACCIDENTS IMPUTÉS À LA TOXICITÉ DES CYANOBACTÉRIES

La sensibilisation au problème a toujours été provoquée par des accidents ayant eu un impact financier important, comme, par exemple une intoxication mortelle de tout ou partie d'un troupeau d'animaux domestiques. Mais on a constaté aussi la mort de nombreux autres animaux : poissons, oiseaux aqua-

tiques, mammifères sauvages ou domestiques, ainsi que des accidents humains (SCHWIMMER et SCHWIMMER 1968 ; CODD *et al.* 1989). Faute d'informations adéquates, certains cas n'ont sans doute pas été identifiés. Chez l'homme, des dermatites ont été attribuées à des baignades dans des eaux contenant *Gloeoetrichia echinulata* (CODD *et al.* 1989), des conjonctivites ont aussi été signalées ainsi que des cas de pneumonie (TURNER *et al.* 1990). Des toxines de cyanobactéries sont capables de provoquer des tumeurs (FUJIKI *et al.* 1984, REPAVITCH *et al.* 1990, FALCONER, 1991, MUNDR *et al.* 1991). L'effet mutagène des toxines s'est révélé plus fort, *in vitro* ; que ceux du benzène ou de l'arséniate de sodium et comparable à celui des PCB (polychlorobiphényles, si craints dans notre environnement) (REPAVITCH *et al.* 1990). Des cas inquiétants ont été des troubles hépatiques et intestinaux attribués à la consommation d'eaux de boisson distribuées à partir de réservoirs contenant des fleurs d'eau ; certains ont entraîné l'admission en milieu hospitalier (BOURKE *et al.* 1983, 1986 ; FALCONER *et al.* 1983 ; LOIZZO *et al.* 1988 ; LINDHOLM *et al.* 1989 ; LINDHOLM et MERILUOTO 1991). Plusieurs toxines de cyanobactéries ne sont pas éliminées par les traitements conventionnels de potabilisation (HIMBERG *et al.* 1989).

3 - LES ESPÈCES TOXIQUES

La liste des cyanobactéries d'eau douce ayant présenté des souches toxiques est donnée dans le tableau 1. Des espèces benthiques, marines ou saumâtres parfois citées n'ont pas été retenues.

La localisation des espèces benthiques d'eau douce les écarte généralement des causes d'accidents recensées par l'Homme. En revanche, une toxicité indirecte peut se rencontrer comme celle de *Vibrio cholerae* qui pourrait persister vivant plus d'un an dans la couche de mucilage de *Anabaena variabilis* qui constitue alors un réservoir dans des zones endémiques tropicales tel le Bangladesh (ISLAM *et al.* 1990).

4 - LA DÉTECTION DE LA TOXICITÉ

Le test « souris » reste la référence. Il a été introduit le premier et a été largement utilisé dans tous les travaux de GORHAM cités plus haut et depuis cette époque. Un lysat filtré de cellules supposées toxiques, ou du produit séparé par analyse, est injecté intrapéritonéalement à des souris de laboratoire. La méthode permet de reconnaître les symptômes caractéristiques : atteinte du système nerveux pendant l'intoxication, essentiellement un blocage de la respiration imputable à la neurotoxine ; atteinte du foie qui montre une augmentation de son poids de plus de 50 % et des saignements provoqués par la toxine hémorragique, visibles à l'autopsie. Elle permet également de déterminer les doses léthales, DL₁₀₀ et DL₅₀. La DL₁₀₀ est la dose la plus

basse, entraînant la mort rapide de 100 % des souris injectées ; on définit également une DL₅₀, dose létale pour laquelle seulement 50 % des souris meurent, elles sont exprimées en µg ou mg de toxine, ou d'algues par kg de la masse corporelle de l'animal (LOVELL *et al.* 1989).

Tableau 1 Cyanobactéries d'eau douce ayant présenté des souches toxiques. 1 à 122 = sélection de références bibliographiques.

Table 1 Toxic fresh water Cyanobacteria. 1 to 122 = selected references.

Ordre CHROOCOCCALES : (unicellulaires dans une matrice gélatineuse)	
<i>Coelosphaerium kützingianum</i> (= <i>Gomphosphaeria</i>)	18, 110
<i>Microcystis aeruginosa</i>	1, 6, 8, 10, 21, 23, 25, 26, 29, 30, 31, 42, 45, 66, 87, 105, 110, 115, 116, 118
<i>M. flos-aquae</i>	93
<i>M. viridis</i>	58, 110, 122
<i>M. farlowiana</i> , benthique	84, 33
Ordre NOSTOCALES	
Rivulariacées : (filaments hétérocystés)	
<i>Gloeotrichia echinulata</i>	18
Nostocacées : (filaments hétérocystés)	
<i>Scytonema hofmanni</i>	14, 35, 65, 90
<i>S. pseudohofmanni</i>	14, 90
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	14, 18, 111
<i>Nostoc muscorum</i>	7, 20, 109
<i>Nodularia spumigena</i>	27, 40, 82, 106, 111
<i>Anabaena flos-aquae</i>	45, 46, 50, 60, 78, 110
<i>A. spiroides</i>	110
<i>A. lemmermannii</i>	110
<i>A. affinis</i>	34
<i>A. circinalis</i>	64, 100
<i>Cylindrospermopsis</i> (= <i>Anabaenopsis</i>) <i>raciborskii</i>	18
Oscillatoriacées : (filaments non hétérocystés)	
<i>Oscillatoria agardhii</i>	5, 23, 64, 72, 73, 108, 111
<i>O. rubescens</i>	74, 111

1. AMAN 1984, 5. BERG et SOLI 1985, 6. BISHOP *et al.* 1959, 7. BLOOR et ENGLAND 1991, 8. BOSE et CARMICHAEL 1990, 10. BOTES 1986, 14. CARMICHAEL *et al.* 1990, 18. CODD *et al.* 1989, 20. DECANO *et al.* 1990, 21. DIERSTEIN *et al.* 1990, 23. ERIKSSON *et al.* 1988, 25. FALCONER et RUNNEGAR 1987, 26. FALCONER 1991, 27. FRANCIS 1878, 29. FULTON III et PAERL 1987, 30. FULTON III 1988, 31. FULTON III et JONES 1991, 33. GEVREY *et al.* 1972, 34. GILBERT 1990, 35. GLEASON 1990, 40. GLENMAREC *et al.* 1990, 42. GORHAM 1960, 45. GORHAM 1964b, 46. GORHAM *et al.* 1964, 50. HARADA *et al.* 1989, 58. ISHITSUKA *et al.* 1990, 60. JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988, 64. KIRIVANTA *et al.* 1991, 65. KLAPES 1990, 66. LAMPERT 1981, 72. LINDHOLM *et al.* 1989, 73. LINDHOLM et MERILUOTO 1991, 74. LOIZZO *et al.* 1988, 78. MAHMOOD et CARMICHAEL 1987, 82. MATSUSHIMA *et al.* 1990, 84. MICHEL *et al.* 1972, 87. NAKANO *et al.* 1991, 90. PATTERSON *et al.* 1991, 93. QUING-XUE *et al.* 1991, 100. RUNNEGAR *et al.* 1991, 105. SHIORAI *et al.* 1991, 106. SIVONEN *et al.* 1989a, 108. SIVONEN 1990, 109. SIVONEN *et al.* 1990a, 110. SIVONEN *et al.* 1990b, 111. SKULBERG *et al.* 1984, 115. VANDERWESTHUIZEN et ELOFF 1985, 116. VANDERWESTHUIZEN *et al.* 1988, 118. WATANABE et OISHI 1985, 122. YASUMO et SUGAYA 1991.

Le test « poisson » est envisageable et a pu être tenté, puisque ces animaux sont souvent victimes d'intoxications naturelles (MICHEL *et al.* 1972 ; ERIKSSON *et al.* 1986 ; PENALOZA *et al.* 1990).

Le test « daphnie » (*Daphnia magna*) a été utilisé (KLAPES, 1990). Dans un laboratoire d'écologie aquatique, il apparaît techniquement plus abordable que celui de la souris. L'effet sur le zooplancton en général peut aussi être considéré. Mais les résultats des derniers travaux des écologistes, concluant à une sensibilité très différente de celle des homéothermes, (YASUMO et SUGAYA 1991) rendent l'interprétation de ces tests très douteuse vis-à-vis de la sensibilité humaine.

Des cultures de cellules de mammifères (thymocytes, hépatocytes, réticulocytes, etc) ont été testées, leurs réponses sont moins nettes que celle de la souris vivante (FALCONER et RUNNEGAR, 1987 ; ERIKSSON *et al.* 1990 ; ROJAS *et al.* 1990 ; RUNNEGAR *et al.* 1991). Cependant ARMSTRONG *et al.* (1991), ont utilisé avec succès la souche de cellules de la leucémie murine P-388 pour mettre en évidence l'activité cytotoxique.

Trois tests sont basés sur la mise en évidence d'un pouvoir mutagène :

a) **Test de Ames**, test de mutagénicité pour *Salmonella typhimurum* (AMES et Mc CANN, 1981 ; MARON et AMES, 1983 ; REPAVITCH *et al.* 1990). Ce test a détecté comme carcinogènes 83 % des souches toxiques pour la souris et donne très peu de faux positifs (carcinogènes non toxiques pour la souris).

b) **Test de « cassure de la chromatide »** du lymphocyte humain. (COHEN et HIRSHHORN, 1971 ; SARGENT *et al.* 1987 ; REPAVITCH *et al.* 1990).

c) **Test de « sporulation multigène »** de *Bacillus subtilis* (SACKS et Mc GREGOR, 1984 ; REPAVITCH *et al.* 1990). Il permettrait de détecter des mutagènes non identifiés par le test « *Salmonella* » de Ames, et présenterait donc un meilleur accord avec le test souris. Parmi les trois tests de mutagénicité, il semble le plus simple à mettre en œuvre, il ne paraît malheureusement pas connu dans les laboratoires français.

Les réponses positives des toxines à ces tests introduisent la notion de toxicité chronique et mettent en évidence leur cancerogénicité potentielle (REPAVITCH *et al.* 1990).

L'immunologie (sous la forme de tests « ELISA ») et une méthode fluorométrique, sont utilisées pour détecter la saxitoxine dans les coquillages marins (RENZ et TERPLAN, 1988). Appliquée aux toxines d'eau douce, l'immunologie n'est pas parfaitement maîtrisée et donne des réponses encore erratiques (KFIR *et al.* 1986 ; CODD et POON, 1988 ; CODD *et al.* 1989).

Test de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*, (LAWTON *et al.* 1990). C'est le « Système Microtox » utilisable pour n'importe quel effet toxique. Des extraits de cyanobactéries contenant l'hépatotoxine abaissent la luminescence de lyophilisats réhydratés de la bactérie. Des souches considérées non toxiques, au test souris, ont donné une réponse positive. Les autres toxines n'ont pas été testées. Ce test n'est pas spécifique, mais adapté pour un screening préliminaire des fleurs d'eau à microcystines.

LINCOLN *et al.* 1990 ont utilisé la modification de la réponse du muscle iléon du cochon d'Inde au choc électrique pour détecter la présence de toxines de cyanobactéries. Comme le précédent ce test n'est pas spécifique.

5 - LES TOXINES

5.1 Propriétés et structures

Deux types principaux sont généralement rencontrés : des **hépatotoxines** qui sont des peptides et des **neurotoxines** qui sont des alcaloïdes. A ceux-là s'ajoutent des produits irritants au contact, encore mal définis. Il semble que plusieurs types de toxines puissent coexister chez une même cyanobactérie. L'examen extensif de la bibliographie donne une impression de confusion imputable à l'emploi simultané de nombreux synonymes. Les termes de « fast-death » et de « slow-death factors » utilisés dans les premiers travaux de GORHAM, sont maintenant abandonnés. Des mises au point circonstanciées ont été publiées par GLEASON et WOOD (1987), CODD *et al.* (1989) et CARMICHAEL *et al.* (1990).

Parmi les toxines les plus connues, il est possible de distinguer :

L'**anatoxine-a** (ANTX-a), produite par *Anabaena flos-aquae*. C'est un alcaloïde (amine bicyclique secondaire, analogue de la cocaïne), soluble dans l'eau (*fig. 1*). Les cas d'intoxication sont connus chez des mammifères, oiseaux et poissons. La toxine pure testée sur la souris a une DL_{100} de 25 mg.kg^{-1} . On observe une inhibition neuromusculaire entraînant la mort en quelques minutes par arrêt respiratoire. L'effet neurotoxique, plus rapide, peut masquer un effet hépatotoxique, simultané, dû à la présence d'une toxine peptidique (JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988).

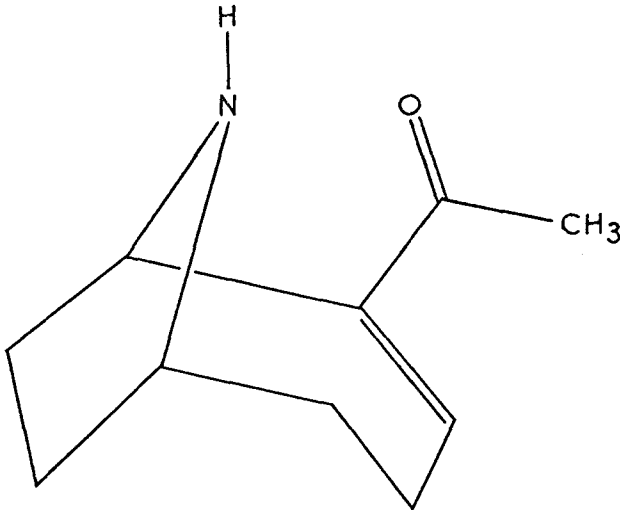


Figure 1 Structure chimique de l'anatoxine-a isolée d'un clone toxique d'*Anabaena flos-aquae* ; redessinée d'après GLEASON et WOOD (1987).

Chemical structure of Anatoxin-a, isolated from a toxic clone of Anabaena flos-aquae. Redrawn from GLEASON et WOOD (1987).

Les **Anatoxine-a (s) et -b (s)**, [ANTX-a(s), ANTX-b(s)], sont des neurotoxines qui présentent une activité anticholinestérase ; elles sont plus toxiques que l'ANTX-a (MAHMOOD et CARMICHAEL, 1987). L'**Anatoxine-c** (ANTX-c) serait un peptide. Les **anatoxine-b et -d** sont de nature inconnue. Elles sont toutes également produites par la même cyanobactérie *A. flos-aquae*. La DL₅₀ de l'ANTX-a(s), est de 20 µg.kg⁻¹ (CARMICHAEL *et al.* 1990).

Les **Microcystines (MCYST) -LA, -LR, -RR, -YR, -YM et -YA**, (CARMICHAEL *et al.* 1988 ; KEELER *et al.* 1991), encore appelées cyanoginosines (CYGSN) ont été trouvées chez : *M. aeruginosa*, *M. flos-aquae* (QING-XUE *et al.* 1991), *M. viridis*, *O. agardhii* (BERG et SOLI, 1985), *O. rubescens* (BERG *et al.* 1986 ; LOIZZO *et al.* 1988 ; LINDHOLM *et al.* 1989 ; SIVONEN, 1990), *Anabaena flos-aquae* (JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988) et *A. spiroides*. Ce sont les toxines les plus fréquentes et les plus anciennement connues, hépatotoxines hémorragiques, elles ont à leur actif la mort de nombreux animaux : mammifères, oiseaux, poissons, etc. Chez l'homme, des diarrhées ont été attribuées à l'absorption de petites quantités de ces toxines. Elles sont aussi considérées comme promotrices de tumeurs (FUJIKI *et al.* 1984, FALCONER, 1991). La DL₁₀₀ est de 0,07 mg. kg⁻¹ pour un mélange de toxines de *Microcystis*, 40µg. kg⁻¹ pour la microcystine-LR pure (LOVELL *et al.* 1989). Par extraction, on obtient 1 mg de toxine pour 1 g de lyophilisat d'algues.

Les différentes MCYST sont voisines et généralement en mélange, ce sont des heptapeptides cycliques de faible masse moléculaire (824 à 1044 daltons). Leurs différences structurales portent sur la variation de 2 acides aminés dont les initiales sont utilisées pour dénommer les différentes MCYST (L = leucine, A = alanine, R = arginine, Y = tyrosine, M = méthionine). Neuf toxines ont été identifiées. La MCYST-LR contient un acide aminé particulier à 20 carbones nommé ADDA (NAMIKOSHI *et al.* 1989 ; RINEHART *et al.* 1988 ; MOORE *et al.* 1991 ; WATANABE *et al.* 1991) (fig. 2). Leur activité résulte d'un pouvoir inhibiteur sur les phosphatases (MACKINTOSH *et al.* 1990 ; MATSUSHIMA *et al.* 1990 ; HONKANEN *et al.* 1990). Il a été signalé chez *Nostoc sp.* des hépatotoxines ayant des activités comparables à celles des toxines de *Microcystis* (SIVONEN *et al.* 1990).

La **toxine d'Oscillatoria** (*Oscillatoria* toxin de la littérature) a été identifiée à une MCYST. Dans les lacs de Sardaigne la toxicité d'*O. rubescens* a été mise en évidence de mars à juin. La DL₅₀ correspondait à l'injection intrapéritonéale d'extraits aqueux obtenus à partir de 100 à 150 mg d'algues sèches, ou à l'ingestion de 800 à 1000 mg de celles-ci, par kg de souris (LOIZZO *et al.* 1988).

L'**Oscillatoxin-A**, de *O. nigriviridis* est phénolique.

Des **lipopolysaccharides (LPS)** signalés chez *Anabaena* spp. et *Schizothrix calcicola* (marine) ont été responsables de problèmes humains (RAZIUDDIN *et al.* 1983). Ce sont des dérivés de parois cellulaires à coloration de Gram négative formant une toxine proche de celle de *Salmonella*.

L'**Aphantoxine (APHTXS)** d'*Aphanizomenon flos-aquae*, encore appelée saxitoxine et neosaxitoxine serait un mélange des deux toxines, induisant le PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) identifiées chez les Dinoflagellés marins (MAHMOOD et CARMICHAEL, 1986). Elle a entraîné la mort d'animaux aquatiques dont des poissons. Il s'agit d'alcaloïdes à activité neurotoxique entraînant une

paralyse avec arrêt respiratoire chez la souris. La DL_{50} est de $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (CAR-MICHAEL *et al.* 1990).

Les **Scytophycines A et B**, ont aussi été appelées cyanobactérines. Elles sont produites par les espèces benthiques *S. hofmanni* et *S. pseudohofmanni*. Elles ont surtout été remarquées pour un effet « antibiotique » (allélopathie) contre d'autres cyanobactéries et algues, ainsi que *Lemna* et d'autres plantes supérieures. Elles sont inactives contre les eubactéries, les protozoaires et les champignons. Il s'agit d'un dérivé chloré bien identifié (GLEASON et WOOD, 1987).

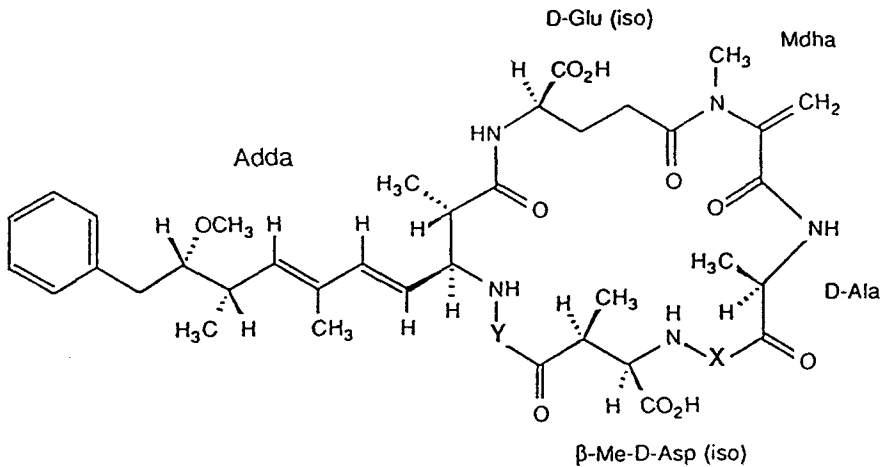


Figure 2 Structure chimique de la microcystine. β -Me-D-Asp (iso) : acide iso- β -méthyl-D-aspartique. D-Ala : D-alanine. Mdha : méthyldehydroalanine. D-Glu (iso) : acide D-isoglutamique. Adda : acide 3-amino-9-méthoxy-10-phényl-2,6,8-triméthyldeca-4,6 diénoïque. X et Y : les acides aminés variables cités dans le texte. D'après WATANABE *et al.* (1989).

Chemical structure of microcystin. β -Me-D-Asp (iso) :

β -methyl-D-aspartic acid.

D-Ala : D-alanine. Mdha : methyldehydroalanine.

D-Glu (iso) : D-isoglutamic acid.

Adda : 3-amino-9-methoxy-10-phenyl-2,6,8-trimethyl-deca-4,6 dienoic acid. X and Y : pairs of variable amino-acids listed in text.

*From WATANABE *et al.* (1989).*

La **Nodularine**, produite par *N. spumigena* est un pentapeptide à activité hépatotoxique. Voisine des microcystines, sa molécule contient, comme la microcystine-LR l'acide aminé ADDA (NAMIKOSHI *et al.* 1989).

La **Microviridine**, produite par *M. viridis*, serait un depsipeptide tricyclique (ISHITSUKA *et al.* 1990).

La toxine signalée chez *C. raciborskii* serait une hépatotoxine à entérites.

5.2 Méthodes d'analyse et de quantification

La chromatographie liquide sous haute pression (HPLC), est la méthode de référence. Elle a été appliquée à l'analyse des toxines peptidiques de *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Nodularia* et *Anabaena* (MERILUOTO et ERIKSSON, 1988 ; ERIKSSON *et al.* 1988 ; WATANABE *et al.* 1989 ; HARADA *et al.* 1989 ; DIERSTEIN *et al.* 1990 ; LINDHOLM et MERILUOTO 1991). Les spectres d'absorption des produits sont ensuite analysés par comparaison avec ceux qui sont déjà publiés.

D'autres toxines ont pu être isolées par HPLC : le pentapeptide cyclique toxique de *N. spumigena* des eaux de la Baltique (SIVONEN *et al.* 1989a, 1989b), la toxine de *Nostoc* (SIVONEN *et al.* 1990a), l'anatoxine-a d'*Anabaena flos-aquae* (HARADA *et al.* 1989) et les microcystines des Oscillaires : *O. agar-dhii* et *O. rubescens* (LINDHOLM *et al.* 1989, SIVONEN 1990b). Les échantillons sont fixés sur place par congélation.

La chromatographie sur couche mince (CCM ou TLC en anglais) a été récemment appliquée sous la forme dite à haute performance (CCMHP = HPTLC). Elle utilise simplement des plaques minces de 10 x 10 cm de gel de silice, un densitomètre spécial améliore la précision des lectures directes de ces plaques. La technique a été appliquée à *Anabaena flos-aquae* (JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988, OJANPEREA *et al.* 1991). Des auteurs ont pu mettre en évidence, dans les mêmes extraits, mais sur deux plaques développées différemment, l'alcaloïde neurotoxique et l'hépatotoxine peptidique (JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988). La reprise des spots par de l'eau donne une solution permettant de vérifier leur toxicité par le test « souris » et d'enregistrer par la méthode classique les spectres d'absorption des éluats des spots « toxiques ». Par la même technique ont été séparées : les toxines peptidiques de *M. aeruginosa* (POON *et al.* 1987) ; celles de *N. spumigena*, *O. agardhii* et *O. rubescens* (CODD *et al.* 1989) ; celle de *S. hoffmanni*, qui est un antibiotique chloré (MASON *et al.* 1982).

5.3 Elucidation des structures moléculaires

Les spectres IR et UV sont généralement caractéristiques des produits, ils sont utilisés pour les identifier et donnent les premiers renseignements sur leur structure (JAMEL AL-LAYL *et al.* 1988).

La spectrométrie de masse, des produits préalablement purifiés, donne des informations plus précises pour reconnaître les structures moléculaires (SIVONEN *et al.* 1989a, 1989b, 1990a), la RMN de ^1H et ^{13}C est utilisée couramment dans le même but (BOTES, 1986 ; BOTES *et al.* 1984 ; SIVONEN *et al.* 1990a ; HARADA *et al.* 1990 ; GLENMAREC *et al.* 1990).

6 - CONDITIONS D'APPARITION DE LA TOXICITÉ

On ne connaît pas encore les conditions d'apparition de la toxicité dans une population cyanobactérienne. Les toxines semblent le plus souvent s'accumuler dans les cellules (endotoxines), elles agissent alors, soit après

ingestion de celles-ci, soit après libération lors de la lyse algale (CODD *et al.* 1989). La toxicité n'est pas liée à la présence de plasmides (BOSE et CARMICHAEL, 1990) et se manifeste dans des cultures pures exemptes de bactéries (VANDERWESTHUIZEN et ELOFF, 1985 ; VANDERWESTHUIZEN *et al.* 1988 ; BOSE et CARMICHAEL, 1990 ; DIERSTEIN *et al.* 1990 ; KIRIVANTA *et al.* 1991). *O. agardhii* formerait même plus de toxines en cultures axéniques que bactérisées (SIVONEN *et al.* 1990a). D'après ces mêmes auteurs, la production de toxines serait plus forte en présence de beaucoup d'azote minéral, sous faible éclaircissement et entre 15 et 25 °C, mais elle baisserait fortement à 30 °C. Elle ne dépendrait des teneurs en phosphore que lorsque celles-ci sont faibles et en deviendrait indépendante aux plus fortes teneurs. La toxicité de *M. aeruginosa* varierait peu avec la quantité de phosphore disponible ou avec la température, elle serait, en revanche, plus fluctuante en fonction de l'éclaircissement (WATANABE et OISHI, 1985). D'après KIRIVANTA *et al.* (1991), la toxine d'*O. agardhii* ne se dégraderait pas sous l'action des microorganismes du milieu naturel, tandis que celle d'*Anabaena circinalis* disparaîtrait. L'anatoxine-a ne se dégraderait que sous l'effet direct de la lumière solaire (STEVENS et KRIEGER 1991). ARMS-TRONG *et al.* (1991) ont montré, à l'aide de cultures massives d'une cyanobactérie toxique marine, que la cytotoxicité varie en fonction de la phase de croissance, étant maximale au début et à la fin de la phase exponentielle. La toxicité n'a pas non plus le même spectre d'action au cours de ces deux phases.

Les souches d'une même espèce, isolées simultanément du même plan d'eau, ne sont pas toutes toxiques. En revanche, il n'est pas certain qu'elles ne puissent jamais toutes le devenir. Des travaux récents nous donnent l'exemple d'une série de prélèvements dont la proportion de clones toxiques a varié à chaque campagne entre 6 et 86 % des isolats (SHIRAI *et al.* 1991). Il n'y a qu'une évidence, la toxicité apparaît le plus souvent dans une fleur d'eau (bloom) intense liée à l'eutrophisation, ce qui explique la croissance actuelle du problème.

7 - IMPLICATIONS ÉCOLOGIQUES

Les écologistes prennent en considération l'effet des toxines de cyanobactéries sur le zooplancton pour expliquer ses variations (LAMPERT, 1981 ; GLEASON et WOOD, 1987 ; VASCONCELOS, 1990 ; PENALOZA *et al.* 1990). Pour LAMPERT (1987), le zooplancton meurt beaucoup plus vite en présence de cyanobactérie toxiques qu'en absence de toute nourriture. Les daphnies seraient capables de détecter la présence de la toxine et cesseraient alors de s'alimenter. Mais dans une culture pure de *Microcystis*, la plus généralement toxique, elles ne pourraient éviter d'en ingérer quelques cellules, condition indispensable pour la manifestation de la toxicité de cellules en bon état. Si toutes les souches d'une même cyanobactérie ont une toxicité variable, il en va de même pour la sensibilité du zooplancton (GILBERT, 1990). Ceci explique qu'il y ait des contradictions dans les listes publiées d'espèces résistantes aux

toxines. Si la résistance du rotifère *Brachionus calyciflorus* (LAMPERT, 1987 ; FULTON III et PAERL, 1987) ne semble pas contestée, celle du cladocère *Bosmina longirostris* dépend des auteurs (GENTILE et MALONEY, 1969 ; FULTON III, 1988). La toxicité de *Microcystis* pour le rotifère *Brachionus rubens* est mise en évidence par ROTHHAUPT (1991). D'autres études récentes concluent à un effet nul ou peu marqué des cyanobactéries réputées toxiques vis-à-vis du zooplancton (HANAZATO, 1991 ; HENNING *et al.* 1991 ; XU ZHENKANG, 1991). Mais, comme plusieurs expériences rapportées mettent en présence des cyanobactéries et un zooplancton originaires du même site, donc des espèces adaptées à une vie commune, le nombre des résultats négatifs peut être sous estimé. La possibilité de l'inhibition de la vitesse de filtration de *Daphnia sp.* par une substance, associée à des cyanobactéries et un zooplancton originaires du même site, donc des espèces adaptées à une vie commune, le nombre des résultats négatifs peut être sous estimé. La possibilité de l'inhibition de la vitesse de filtration de *Daphnia sp.* par une substance, associée à des cyanobactéries planctoniques, mais différente des toxines actuellement identifiées, est envisagée par FULTON III et JONES (1991) et par JUNGSMANN *et al.* (1991). Ceci est confirmé par YASUMO et SUGAYA (1991) qui montrent clairement, à l'aide de cultures de *Microcystis viridis*, produisant soit la MCYST-RR soit les formes YR + LR en mélange, qu'en fait, les toxines auxquelles *D. magna* et *Moina macroscopa* sont sensibles seraient des exotoxines différentes de celles identifiées ci-dessus. Ces toxines disparaîtraient après la destruction des cellules de *Microcystis*. L'allélopathie, partie de l'hétéroantagonisme (LEFEVRE *et al.* 1952) est aussi à reconsidérer pour expliquer successions et dominances chez le phytoplancton. L'activité algicide d'une *Oscillatoria* a été démontrée par BAGCHI (1990).

8 - POSSIBILITÉS D'EXPLOITATION BIOTECHNOLOGIQUE

L'exploitation de produits « antibiotiques » des algues d'eau douce, suggérée par LEFEVRE et JAKOB (1950), est à nouveau envisagée en biotechnologie. La Scytonicine, ou cyanobactérine, de *Scytonema hofmanni*, a été proposée comme pesticide ou algicide naturel en raison de son activité contre d'autres cyanobactéries, des algues vraies, dont *Euglena gracilis*, ainsi que *Lemna* et diverses plantes supérieures (GLEASON et PAULSON, 1984 ; GLEASON et BAXA, 1986 ; GLEASON 1990). Elle pourrait être utilisée comme herbicide non sélectif contre des angiospermes terrestres (GLEASON et CASE, 1986). Cependant, son large spectre d'action, comprenant aussi des animaux, doit en interdire actuellement l'emploi généralisé (KLAPES, 1990). En revanche la fische-relline de *Fischerella muscicola* benthique ne serait active qu'à l'encontre d'organismes photosynthétiques et d'eubactéries et ne serait pas une « toxine » active vis-à-vis des animaux (GROSS *et al.* 1991).

Nostoc muscorum sécrète des composés phénoliques susceptibles d'inhiber la croissance de bactéries et champignons pathogènes (DE CANO *et al.* 1990). La production maximale d'antibiotique est obtenue pour des concentra-

tions de, respectivement, 26,4 μM en nitrate et 6 μM en fer dans le milieu de culture (BLOOR et ENGLAND, 1991). GROMOV *et al.* (1991) ont étudié l'action d'un antibiotique (cyanobactérine LU-1) produit par *Nostoc linckia*, il serait actif contre d'autres cyanobactéries et non toxique pour la souris.

Si les toxines peuvent provoquer des tumeurs, certaines, à activité antinéoplasique sont en revanche susceptibles de lutter contre la prolifération d'un cancer établi (CARNELI *et al.* 1991a, 1991b, PATTERSON *et al.* 1991, ARMSTRONG *et al.* 1991). Ces derniers auteurs, travaillant avec une *Lyngbya* marine, ont montré la marche à suivre : cultures massives, extraction par un solvant alcoolique et purification sur colonne pour obtenir une quantité importante de produit cytotoxique à une échelle « pilote ». Les produits excrétés ont présenté également, mais de façon irrégulière, une activité antivirale.

CONCLUSION

Les problèmes liés à la toxicité du phytoplancton des eaux douces se multipliant dans le monde et en Europe, il est devenu nécessaire d'approfondir, à titre prospectif, ce sujet d'étude en France même. Cela permettra de répondre aux demandes pratiques qui ne sauraient tarder à devenir pressantes, les conditions d'évolution de l'eutrophisation en étant les prémices. Les développements souhaités de cette étude sont perceptibles dans les travaux récents. Ceux des zooplantonologues ouvrent la voie à la recherche de nouvelles substances, probablement moins abondantes et plus fugaces que les toxines déjà bien répertoriées. La biochimie moléculaire est maintenant utilisée dans l'étude de la toxicité des cyanobactéries, les chercheurs commencent à traquer les gènes responsables et aborderont bientôt celles des conditions de leur expression. Inversement il a été montré que certaines substances chimiques pouvaient jouer un rôle de protecteur contre des toxines, la microcystine-LR en particulier (HERMANSKY *et al.* 1990, 1991), ou vis-à-vis de tumeurs dues à des microcystines (NAKANO *et al.* 1991). Comme tout produits actifs, les produits excrétés par les cyanobactéries peuvent aussi être mis à profit pour une application pharmacologique, la voie est déjà ouverte dans ce sens.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMAN M.J., 1984. Instability and variable toxicity of HBP-TX, a toxin in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, 22 : 107-114.8.
- AMES B.N., Mc CANN J., 1981. Validation of the *Salmonella* test : A reply to Rinkus and Legston. *Cancer Res.*, 41 : 4192-4196.

- ARMSTRONG J.E., JANDA K.E., ALVARADO B., WRIGHT A.E., 1991. Cytotoxin production by a marine Lyngbya strain (cyanobacterium) in a large-scale laboratory bioreactor. *J. Appl. Phycol.*, 3 : 277-282.
- BAGCHI S.N., PALOD A., CHAUHAN V.S., 1990. Algicidal properties of a bloom-forming blue-green alga, *Oscillatoria* sp. *J. Basic Microbiol.*, 30 : 21-29.
- BERG K., SOLI N.E., 1985. Toxicity studies with the blue-green alga *Oscillatoria agardhii* from two eutrophic Norwegian lakes. *Acta Vet. Scand.*, 26 : 363-373.
- BISHOP C.T., ANET E.F., GORHAM P.R., 1959. Isolation and identification of the fast-death factor in *Microcystis aeruginosa* NRC-1. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 : 453-471.
- BLOOR S., ENGLAND R.R., 1991. Elucidation and optimization of the medium constituents controlling antibiotic production by the cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Enzyme Microbial Technol.*, 13 : 76-81.
- BOSE S.G., CARMICHAEL W.W., 1990. Plasmid distribution among unicellular and filamentous toxic cyanobacteria. *J. Appl. Phycol.*, 2 : 131-136.
- BOTES D.P., 1986. Cyanoginosins. Isolation and structure. In Steyn P.S. et Vlegaar R. (eds) *Mycotoxins and Phycotoxins*. Elsevier, Amsterdam. pp 161-167.
- BOTES D.P., TUINMAN A.A., WESSELS P.I., VILJOEN C.C., KRUGER H., WILLIAMS D.H., SANTIKARN S., SMITH R.J., HAMMONDS S.J., 1984. The structure of cyanoginosin-LA ; a cyclic heptapeptide toxin from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1 : 2311-2318.
- BOURKE A.T.C., HAWES R.B., NEILSON A.H., STALLMAN N.D., 1983. An outbreak of hepato-enteritis (the Palm island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicon suppl.*, 3 : 45-48.
- BOURKE A.T.C., HAWES R.B., NEILSON A.H., STALLMAN N.D., 1986. Palm island mystery disease. *Med. J. Aust.*, 145 : 486.
- CARMICHAEL W.W., BEASLEY V., BUNNER D.L., ELOFF J.N., FALCONNER I., GORHAM P., HARADA K.-I., KRISHNAMURTHY T., MIN-JUAN Y., MOORE R.E., RINEHART K., RUNNEGAR M., SKULBERG O.M., WATANABE M., 1988. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (Blue-green algae). *Toxicon*, 26 : 971-973.
- CARMICHAEL W.W., MAHMOOD N.A., HYDE E.G., 1990. Natural toxins from cyanobacteria (Blue-green algae). in Hall S. et STRICHARTZ G. *Marine toxins, Origin, structure, and molecular pharmacology*. ACS symposium serie 418. American Chemical Soc. Washington. pp 87-106.
- CARNELI S., MOORE S.E., PATTERSON G.M.L., 1991a. Mirabazoles, minor tantazole-related cytotoxins from the terrestrial blue-green alga *Scytonema mirabile*. *Tetraedron Lett.*, 32 : 2595-2596.
- CARNELI S., MOORE S.E., PATTERSON G.M.L., 1991b. Mirabimides A-D, new N-acylpyrrolinones from the blue green alga *Scytonema mirabile*. *Tetraedron Lett.*, 47 : 2087-2096.
- CODD G.A., POON G.K., 1988. Cyanobacterial toxins. In GALLON J.R. et ROGERS L.J. (eds) *Proceeding of the phytochemical Society of Europe*, 23 (sous presse).
- CODD G.A., BELL S.G., BROOKS W.P., 1989. Cyanobacterial toxins in water. *Wat. Sci. Tech.*, 21 : 1-13.
- COHEN M.M., HIRSHHORN K., 1971. Cytogenetic studies in animals. *Chem. Mut.*, 2 : 515-534.
- DECANO M.M.S., DEMULE M.C.Z., DECAIRE G.Z., DEHALPERIN D.R., 1990. Inhibition of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* by phenolic compounds from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *J. Appl. Phycol.*, 2 : 78-81.
- DIERSTEIN R., KAISER I., WECKESSER J., MATTERN U., KOENIG W.A., KREBBER R., 1990. Two closely related peptides toxins in axenically grown *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Syst. Appl. Microbiol.*, 13 : 86-91.
- ERIKSSON J.E., MERILUOTO J.A.O., LINDHOLM T., 1986. Can cyanobacterial toxins accumulate in aquatic food chains ? In MECUSAR F. et GANTON M. (eds) *Proc. 4th Int. Symp. Microbial Ecol. Ljubljana*. pp. 655-658.
- ERIKSSON J.E., MERILUOTO J.A.O., KUJARI H.P., SKULBERG O.M., 1988. A comparison of toxins isolated from the cyanobacteria *Oscillatoria agardhii* and *Microcystis aeruginosa*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 89C : 207-210.
- ERIKSSON J.E., TOIVOLA D., MERILUOTO J.A.O., KARAKI H., HAN Y.G., HARTSHORNE D., 1990. Hepatocyte deformation induced by cyanobacterial toxins reflect inhibition of protein phosphatases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 173 : 1347-1353.

- FALCONER I.R., RUNNEGAR M.T.C., 1987. Effects of the peptide toxin from *Microcystis aeruginosa* on intracellular calcium, pH and membrane integrity in mammalian cells. *Chem.-Biol. Interactions*, 63 : 215-225.
- FRANCIS G., 1878. Poisonous Australian lake. *Nature*, 18 : 11-12.
- FUJIKI H., SUGAMARA M., TAHIRA T., YOSHIOKA A., NAKAYASU M., ENDO Y., SHUDO K., TAKAYAMA S. MOORE R.E., SUGIMURA T., 1984. New classes of tumor promoters : Teleocidin, aplysiatoxin and palytoxin. In FUJIKI H. (ed) *Cellular interactions by environmental tumor promoters*. VNU Sci. Press, Utrecht. pp 37-45.
- FULTON III R.S., 1988. Resistance to blue-green algal toxins by *Bosmina longirostris*. *J. Plank. Res.*, 4 : 771-778.
- FULTON III R.S., PAREL H.W., 1987. Toxic and inhibitory effects of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton. *J. Plank. Res.*, 9 : 837-855.
- FULTON III R.S., JONES C.R., 1991. Growth and reproductive responses of *Daphnia* to cyanobacterial Blooms on the Potomac River. *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 5-19.
- GENTILE J.H., MALONEY T.B., 1969. Toxicity and environmental requirements of a strain of *Aphanizomenon flos-aquae* (L) Rolfs. *Can. J. Microbiol.*, 15 : 165-173.
- GEVREY J., MICHEL S., EUZEY J., 1972. Mise en évidence de la toxicité d'un complexe algal sur la faune aquatique. Note 2 : Toxicité à l'encontre de diverses espèces de Limnées. *Bull. Soc. Vét. et Méd. comparées*, 74 : 191-194.
- GILBERT J.J., 1990. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers : Mechanisms and implications. *Ecology*, 71 : 1727-1740.
- GLEASON F.K., 1990. The natural herbicide, cyanobacterin, specifically disrupts thylakoid membrane structure in *Euglena gracilis* strain Z. *FEMS Microbiol. Lett.*, 68 : 77-82.
- GLEASON F.K., PAULSON J.L., 1984. Site of action of the natural algicide cyanobacterin, in the blue-green alga *Synechococcus* sp. *Arch. Microbiol.*, 138 : 273-277.
- GLEASON F.K., BAXA C.A., 1986. Activity of the natural algicide, cyanobacterin, on eukaryotic microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.*, 33 : 85-88.
- GLEASON F.K., CASE D.E., 1986. Activity of the natural algicide cyanobacterin, on angiosperms. *Plant Physiol.*, 80 : 834-837.
- GLEASON F.K., WOOD J.M., 1987. Secondary metabolism in the cyanobacteria. in Fay P. et Van Baalen C. (eds) *The cyanobacteria*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. pp 437-452.
- GLENMAREC C., MERILUOTO J.A.O., ERIKSSON J.E., CHATTOPADHYAYA J. 1990. Structure of a hepatotoxic pentapeptide from the cyanobacterium *Nodularia spumigena*. *Toxicon*, 28 : 535-540.
- GORHAM P.R., HUGHES E.O., ZENDEHER A., 1958. Toxicity of a unialgal culture of *Microcystis aeruginosa*. *Can. J. Microbiol.*, 4 : 225-236.
- GORHAM P.R., 1960. Toxic waterblooms of blue-green algae. *Can. Vet. J.*, 1 : 235-245.
- GORHAM P.R., 1962. Laboratory studies on the Toxins produced by waterblooms of blue-green algae. *Am. J. Pub. Health.*, 52 : 2100-2105.
- GORHAM P.R., 1964a. Toxic algae as a public health hazard. *J. A. W. W. Assoc.*, 11 : 1481-1488.
- GORHAM P.R., 1964b. Toxic algae. In Jackson D.F. (ed) *Algae and man*. Plenum Press, New York. pp 307-336.
- GORHAM P.R., MC LACHLAN J., HAMMER, U.T., KIM W.K., 1964. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Breb. *Verh. int. Ver. Limnol.*, 15 : 796-804.
- GROMOV B.V., VEPRITSKIY A.A., TITOVA N.N., MAMKAYEVA K.A., ALEXandrova O.V., 1991. Production of the antibiotic cyanobacterin LU-1 by *Nostoc linckia* CALU 892 (cyanobacterium). *J. Appl. Phycol.*, 3 : 55-59.
- GROSS E.M., WOKL C.P., JUTTNER F., 1991. Fischerellin, a new allelochemical from the freshwater cyanobacterium *Fischerella muscicola*. *J. Phycol.*, 27 : 686-692.
- HANAZATO T., 1991. Interrelations between *Microcystis* and *Cladocera* in the highly eutrophic Lake Kasumigara, Japan. *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 21-36.
- HARADA K.-I., KIMURA Y., OGAWA K., SUZUKI M., DAHLEM A.M., BEASLEY V.R., CARMICHAEL W.W., 1989. A new procedure for the analysis and purification of the naturally occurring anatoxin-a from the blue-green alga *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon*, 27 : 1289-1296.

- HARADA K.-I., MATSUURA K., SUZUKI M., WATANABE M.F., OISHI S., DAHLEM A.M., BEASLEY V.R., CARMICHAEL W.W., 1990. Isolation and characterization of the minor components associated with Microcystins LR and RR in the cyanobacterium (Blue-green algae). *Toxicon*, 28 : 55-64.
- HAWSER S.P., CODD G.A., CAPONE D.G., CARPENTER E.J., 1991. A neurotoxic factor associated with the bloom-forming cyanobacterium *Trichodesmium*. *Toxicon*, 29 : 277-278.
- HENNING M., HERTEL H., WALL H., KOHL J.-G., 1991. Strain-specific influence of *Microcystis aeruginosa* on food ingestion and assimilation of some cladocerans and copepods. *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 37-45.
- HERNANSKY S.J., CASEY P.J., STOHS S.J., 1990. Cyclosporin A – a chemoprotectant against microcystin -LR toxicity. *Toxicol. Lett.*, 54 : 279-285.
- HERNANSKY S.J., STOHS S.J., ELDEEN Z.M., ROCHE V.F., MEREISH K.A., 1991. Evaluation of potential chemoprotectants against microcystin -LR hepatotoxicity in mice. *J. Appl. Toxicol.*, 11 : 65-74.
- HIMBERG K., KEIJOLA A.-M., HIISVIRTA L., PYYSAALO H., SIVONEN K., 1989. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria : a laboratory study. *Water Res.*, 23 : 979-984.
- HONKANEN R.E., ZWILLER J., MOORE R.E., DAILY S.L., KHATRA B.S., DUKELOW M., BOYNTON A.L., 1990. Characterization of microcystin-LR, a potent inhibitor of type 1 and 2A protein phosphatases. *J. Biol. Chem.*, 265 : 19401-19404.
- ISHITSUKA M.O., KUSUMI T., KASIKAWA H., KAYA K., WATANABE M.M., 1990. Microviridin : a novel tricyclic depsipeptide from the toxic cyanobacterium *Microcystis viridis*. *J. Am. Chem. Soc.*, 112 : 8180-8182.
- ISLAM M.S. DRASAR B.S., BRADLEY D.J., 1990. Long-term persistence of toxigenic *Vibrio cholerae* 01 in the mucilaginous sheath of a blue-green alga *Anabaena variabilis*. *J. Trop. Med. Hyg.*, 93 : 133-139.
- JAMEL AL-LAYL K., POON G.K., CODD G.A., 1988. Isolation and purification of peptide and alkaloid toxins from *Anabaena flos-aquae* high-performance thin-layer chromatography. *J. Microbiol. Methods*, 7 : 251-258.
- JUNGMANN D., HENNING M., JUTTNER F., 1991. Are the same compounds in *Microcystis* responsible for toxicity to *Daphnia* an inhibition of its filtering rate ? *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 47-56.
- KEELER R.F., BEASLEY V.R., LOVELL R.A., DAHLEM A.M., HASCHEK W.M., HOOSER S.B., 1991. Cyclic peptide hepatotoxin from cyanobacteria. In TU A.T. (ed) *Handbook of natural toxins*, 6 : 459-495. Marcel Dekker, inc New York.
- KFIR R., JOHANNSEN E., BOTES D.P., 1986. Monoclonal antibody specific for cyanoglycosin -LA : preparation and characterization. *Toxicon*, 24 : 543-552.
- KIRIVANTA J., SIVONEN K., LAHTI K., LUUKKAINEN R., NIEMELA S.I., 1991. Production and biodegradation of Cyanobacterial toxins – a laboratory study. *Arch. Hydrobiol.*, 121 : 281-294.
- KLAPES N.A., 1990. Acute toxicity of the natural algacide, cyanobacterin, to *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 20 : 167-174.
- LAMPERT W., 1981. Toxicity of the blue-green *Microcystis aeruginosa* : effective defence mechanism against grazing pressure by *Daphnia*. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 21 : 1436-1440.
- LAMPERT W., 1987. Laboratory studies on zooplanktoncyanobacteria interactions. *N. Z. J. Mar. Freshwat. Res.*, 21 : 483-490.
- LAWTON L.A., CAMPBELL D.L., BEATTIE K.A., CODD G.A. 1990. Use of a rapide bioluminescence assay for detecting cyanobacterial microcystin toxicity. *Letters in applied microbiol.*, 11 : 205-207.
- LEFEVRE M., JAKOB H., 1950. De la pénicilline à la pisciculture. *Bull. Fr. Piscicult.*, 156 : 121-130.
- LEFEVRE M. JAKOB H., NISBET M., 1952. Auto, et hétéroantagonisme chez les algues d'eau douce *in vitro* et dans les collections d'eau naturelles. *Ann. St. Cent. Hydrobiol. App.*, 4 : 5-198.
- LINCOLN R.A., STRUPINSKI K., WALKER J.M., 1990. Use of an isolated guinea-pig ileum assay to detect bioactive compounds in microalgal cultures. *J. Appl. Phycol.*, 2 : 83-88.
- LINDHOLM T., ERIKSSON J.E., MERILUOTO J.A.O., 1989. Toxic cyanobacteria and water quality problems. Examples from an eutrophic lake on Aland, south west Finland. *Wat. Res.*, 23 : 481-486.

- LINDHOLM T.M., MERILUOTO J.A.O., 1991. Recurrent depth maxima of the hepatotoxic cyanobacterium *Oscillatoria agardhii*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48 : 1629-1634.
- LOIZZO A., SECHI N., VOLTERRA L., CONTU A., 1988. Some features of a bloom of *Oscillatoria rubescens* D.C. registered in two Italian reservoirs. *Wat. Air Soil Pollut.*, 38 : 263-271.
- LOVELL R.A., SCHAEFFER D.J., HOOSER S.B., HASCHEK W.M., DAHLEM A.M., 1989. Toxicity of intraperitoneal doses of microcystin -LR in two strains of male mice. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 9 : 221-238.
- MACKINTOSCH C., BEATTIE K.A., KLUMPP S., COHEN P., CODD G.A., 1990. Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Lett.*, 264 : 187-192.
- MAHMOOD N.A., CARMICHAEL W.W., 1986. Paralytic shellfish poisons produced by the freshwater cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC-525-17. *Toxicon*, 24 : 175-186.
- MAHMOOD N.A., CARMICHAEL W.W., 1987. Anatoxin-a(s), an anticholinesterase from the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NRC-525-17. *Toxicon*, 25 : 1221-1227.
- MARON D.M., AMES B.N., 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mut. Res.*, 113 : 173-215.
- MARTIN J.L., HAYA K., BURRIDGE L.E., WILDISH D.J., 1990. *Nitzschia pseudodelicatissima* - a source of domoic acid in the bay of Fundy, eastern Canada. *Mar. Ecol. (Prog. Ser.)*, 6 : 177-182.
- MASON C.P., EDWARDS K.R., CARLSON R.E., PIGNATELLO J., GLEASON F.K., WOOD J.M., 1982. Isolation of chlorine-containing antibiotic from the freshwater cyanobacterium, *Scytonema hofmanni*. *Science*, 215 : 400-402.
- MATSUSHIMA R., YOSHIZAWA S., WATANABE M.F., HARADA K., FURUSAWA M., CARMICHAEL W.W., FUJUKI H., 1990. *In vitro* and *in vivo* effects of protein phosphatase inhibitors, microcystins and nodularin, on mouse skin and fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 171 : 867-874.
- MERILUOTO J.A.O., ERIKSSON J.E., 1988. Rapide analysis of peptide toxins in cyanobacteria. *J. Chrom.*, 438 : 93-99.
- MICHEL S., GEVREY J., WAUTIER J., 1972. Mise en évidence de la toxicité d'un complexe algal sur la faune aquatique. Note 1 : Influence sur certains éléments de la faune benthique et sur quelques espèces de poissons. *Bull. Soc. Vét. et Méd. comparées.*, 74 : 185-189.
- MOORE R.E., CHEN J.L., MOORE B.S., PATTERSON G.M.L., CARMICHAEL W.W., 1991. Biosynthesis of microcystin -LR. Origin of the carbons in the Adda and Masp units. *J. Am. Chem. Soc.*, 113 : 5083-5084.
- MUNDT S., EFFEMERT U., GRANITZKA V., NOVOTNY A., TEUSCHER E., 1991. Immunosuppressive substances from blue-green algae. *Agents Actions*, 32 : 117-118.
- NAKANO Y., SHIRAI M., MORI N., NAKANO M., 1991. Neutralization of microcystin shock in mice by tumor necrosis factor alpha antiserum. *Appl. Environm. Microbiol.*, 57 : 327-330.
- NAMIKOSHI M., RINEHART K.L., DAHLEM A.M., BEASLEY V.R., CARMICHAEL W.W., 1989. Total synthesis of Adda, the unique C₂₀ aminoacide of cyanobacterial hepatotoxins. *Tetrahedron Lett.*, 30 : 4349-4352.
- OJANPEREA I., VUORI E., HIMBERG K., WARIS M., NIINIVARA K., 1991. Facile detection of anatoxin -a in algal material by thin-layer chromatography with fast black K salt. *Analyst*, 116 : 265-267.
- PATTERSON G.M.L., BALDWIN C.L., BOLIS C.M., CAPLAN F.R., KARUSO H., LARSEN L.K., LEVINE I.A., MOORE R.E., NELSON C.S., TSCHAPPAT K.D., TUANG G.D., FURUSAWA E., FURUSAWA S., NORTON T.R., RAYBOURNE R.B., 1991. Antineoplastic activity of cultured Blue-green algae (Cyanophyta). *J. Phycol.*, 27 : 530-536.
- PENALOZA R., ROJAS M., VILA I., ZAMBRAÑO F., 1990. Toxicity of a soluble peptide from *Microcystis* sp. to zooplankton and fish. *Freshwater Biol.*, 24 : 233-240.
- POON G.K., PRIESTLEY I.M., HUNTS S.M., FAWELL J.K., CODD G.A., 1987. Purification procedure for peptide toxins from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* involving high performance thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.*, 387 : 551-555.

- QING-XUE Z., CARMICHAEL W.W., MIN-JUAN Y., SHANG-HAO L., 1991. Cyclic peptide hepatotoxins from freshwater cyanobacterial (Blue-green algae) waterblooms collected in Central China. *Env. Toxicol. Chem.*, 10 : 313-321.
- RAZIUDDIN S., SIEGELMAN H.W., TORNA-BENE T.G., 1983. Lipopolysaccharides of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Eur. J. Biochem.*, 137 : 333-336.
- RENZ V., TERPLAN G., 1988. Detection of saxitoxin by an indirect competitive ELISA. *Arch. Lebensmittelhyg.*, 39 : 30-33.
- REPAVITCH W.M., SONZOGNI W.C., STANDRIDGE J.H., WEDEPOHL R.E., WEISNER L.F., 1990. Cyanobacteria (blue-green algae) in Wisconsin waters : Acute and chronic toxicity. *Water res.*, 24 : 225-231.
- RINEHART K.L., HARADA K.I., NAMIKOSHI M., CHEN C., HARVIS C.A., MUNRO M.H.G., BLUNT J.W., MULLIGAN P.E., BEASLEY V.R., DAHLEN A.M., CARMICHAEL W.W., 1988. Nodularin, microcystin, and the configuration of ADDA. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 : 8557-8558.
- ROJAS M., NUMEZ M.T., ZAMBRANO F., 1990. Inhibitory effect of a toxic peptide isolated from a waterbloom of *Microcystis* sp. (Cyanobacteria) on iron uptake by rabbit reticulocytes. *Toxicon*, 28 : 1325-1332.
- ROTHHAUPT K.O., 1991. The influence of toxic and filamentous blue-green algae on feeding and population growth of the rotifer *Brachionus rubens*. *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 67-72.
- RUNNEGAR M.T.C., GERDES R.G., FALCONE I.R., 1991. The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes. *Toxicon*, 29 : 43-51.
- SACKS L.E., MAC GRECOR J.T., 1984. The *Bacillus subtilis* multigene sporulation test for detection of environmental mutagens. *Chem. Mut.*, 9 : 165-181.
- SARGENT L.M., ROLOFF B., MEISNER L.F., 1987. Mechanisms in cyclophosphamide induction of cytogenetic damage in human lymphocyte culture. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 29 : 239-243.
- SCHWIMMER M., SCHWIMMER D., 1964. Algae and medicine. In JACKSON D.F. (ed) *Algae and man*. Plenum Press, New York, pp 368-412.
- SCHWIMMER M., SCHWIMMER D., 1968. Medical aspects of phycology. In JACKSON D.F. (ed) *Algae, man and the environment*. Syracuse Univ. Press, Syracuse, New York, pp 279-358.
- SHIRAI K.M., OHTAKE A., SANO T., MATSUMOTO S., SAKAMOTO T., SATO A., AIDA T., HARADA K.-I., SHIMADA T., 1991. Toxicity and toxins of natural blooms and isolated strains of *Microcystis* spp. (cyanobacteria) and improved procedure for purification of cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 : 1241-1245.
- SIVONEN K., 1990. Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphates, and bacteria on growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56 : 2658-2666.
- SIVONEN K., KONONEN K., ESALA A.-L., NIEMELAE S.I., 1989a. Toxicity and isolation of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* from the southern Baltic sea in 1986. *Hydrobiologia*, 185 : 3-8.
- SIVONEN K., KONONEN K., CARMICHAEL W.W., DAHLEM A.M., RINEHART K.L., KIVIRANTA J., NIEMELAE S.I., 1989b. Occurrence of the hepatotoxic cyanobacterium *Nodularia spumigena* in the Baltic sea and structure of the toxin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55 : 1990-1995.
- SIVONEN K., CARMICHAEL W.W., NAMIKOSHI M., RINEHART K.L., DAHLEM A.M., NIEMELAE S.I., 1990a. Isolation and characterization of hepatotoxic Microcystin homologs from the filamentous freshwater cyanobacterium *Nostoc* sp. strain-152. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56 : 2650-2657.
- SIVONEN K., NIEMELA S.I., NIEMI R.M., LEPISTÖ L., LUOMA T.H., RASANEN L.A., 1990b. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finish fresh and coastal waters. *Hydrobiologia*, 190 : 267-275.
- SKULBERG O.M., CODD G.A., CARMICHAEL W.W., 1984. Toxic Blue-green algal blooms in Europe : A growing problem. *Ambio*, 13 : 244-247.
- SOURNIA A., ERARD-LE DENN E., GRZEBYK D., LASSUS P., PARTENSKY F., 1990. Plancton nuisible sur les côtes de France. *Pour la Science*, 153 : 60-67.
- STEVENS D.K., KRIEGER R.I., 1991. Stabilities studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid Anatoxin-a. *Toxicon* 29 : 167-179.

- TURNER P.C., GAMMIE A.J., HOLLINRAKE K., CODD G.A., 1990. Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *Br. Med. J.*, 300 (6737) : 1440-1441.
- VANDERWESTHUIZEN A.J., ELOFF J.N., 1985. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta*, 163 : 55-59.
- VANDERWESTHUIZEN A.J., ELOFF J.N., KRUEGER G.H.J., 1988. Effect of culture age and pH of the culture medium on the composition of the toxin of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *S. Afr. J. Bot.*, 54 : 372-374.
- VASCONCELOS V.M., 1990. Preliminary results of a study on the impact of toxic and non toxic cyanobacteria on some freshwater microcrustacean species. *Crustaceana*, 59 : 316-318.
- WATANABE M.F., OISHI S., 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Appl. Env. Microbiol.*, 49 : 1342-1344.
- WATANABE M.F., HARADA K.-I., MATSUURA K., WATANABE M., SUZUKI M., 1989. Heptapeptide toxin production during the batch culture of two *Microcystis* species (Cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.*, 1 : 161-165.
- WATANABE M.F., WATANABE M., KATO T., HARADA K.-I., SUZUKI M., 1991. Composition of cyclic peptides toxins among strains of *Microcystis aeruginosa* (blue-green algae, Cyanobacteria). *Bot. Mag. (Tokyo)*, 104 : 49-57.
- XU ZHENKANG, BURNS C.W., 1991. Development, growth and survivorship of juvenile calanoid copepods on diets of cyanobacteria and algae. *Int. Rev. ges Hydrobiol.*, 76 : 73-87.
- YASUMO M., SUGAYA Y., 1991. Toxicities of *Microcystis viridis* and the isolated hepatotoxic polypeptides on cladocerans. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 24 : 2622-2626.