Las cianobacterias han proliferado en los ambientes acuáticos en coincidencia con el alto grado de eutrofización antropogénica y el cambiante ambiente acuático, modificado por el cambio climático global.

Tanto las cianobacterias como las cianotoxinas pueden generar efectos adversos en la salud del hombre y los animales. Este grave problema sanitario presenta sintomatologías similares a otras afecciones, por lo que es posible que no sea correctamente diagnosticado.

Por ello, el manual ha sido pensado para el personal del área de la salud que enfrenta esta nueva problemática. Contempla las consideraciones generales de las cianobacterias y cianotoxinas, los factores ambientales y antropogénicos que las modulan, los efectos más notorios vinculados de la exposición aguda y crónica en la salud humana y animal, los efectos en el ecosistema acuático, los nuevos métodos de detección, las perspectivas para su control, los riesgos en los ambientes de trabajo, y la gestión desde el Estado Nacional. Es de esperar que, conociendo las bases científicas de las cianobacterias y cianotoxinas, podamos en conjunto diagnosticar y tratar las afecciones en humanos, así como tender a la prevención y control del fenómeno que afecta a diversas áreas de nuestro país.

CIANOBACTERIAS COMO DETERMINANTES AMBIENTALES DE LA SALUD

Salud Ambiental

CIANOBACTERIAS

COMO DETERMINANTES AMBIENTALES DE LA SALUD

Edición 2017

SERIE: TEMAS DE SALUD AMBIENTAL Nº 5

PROGRAMA NACIONAL CALIDAD DE AGUA Y SALUD
DEPARTAMENTO DE SALUD AMBIENTAL

República Argentina
salud.gob.ar
Av. 9 de Julio 1925. Buenos Aires. Argentina

Ministerio de Salud
Presidencia de la Nación

COBERTURA UNIVERSAL de SALUD

Ministerio de Salud
Presidencia de la Nación

Cianobacterias como determinantes ambientales de la salud / Tatiana Petcheneshsky ... [et al.] ; compilado por Leda Giannuzzi ; Tatiana Petcheneshsky ; editor literario Leda Giannuzzi ; Tatiana Petcheneshsky ; Marcelo Hansen. - 2a ed. ampliada. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Ministerio de Salud de la Nación. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación, 2017.
Libro digital, PDF - (Temas de salud ambiental / de Titto, Ernesto; 5)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-38-0255-7

1. Salud Pública. 2. Bacterias. I. Petcheneshsky, Tatiana II. Giannuzzi, Leda, comp. III. Petcheneshsky, Tatiana, comp. IV. Giannuzzi, Leda, ed. Lit. V. Petcheneshsky, Tatiana, ed. Lit. VI. Hansen, Marcelo, ed. Lit.
CDD 613.6

Cianobacterias como Determinantes Ambientales de la Salud

Primera edición: 2011
Segunda edición corregida y ampliada (digital) 2017

Serie: Temas de Salud Ambiental

© Departamento de Salud Ambiental. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud.
Ministerio de Salud de la Nación

Ministerio de Salud de la Nación
Av. 9 de Julio 1925, Piso 12
CP C1073ABA – Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Teléfono: (011) 4379-9086 (directo) Conmutador: 4379-9000 Int. 4854 Fax: 4379-9133
www.msal.gov.ar

ISBN 978-950-38-0255-7

Foto de tapa: muelles del Club de la Asociación de Pescadores y Cazadores Aficionados Cordobeses (APYCAC), 2010. Gentileza del Área de Limnología Aplicada y Calidad de Aguas, INA-CIRSA.

Fecha de publicación: Noviembre de 2017

Libro de edición argentina

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723

Este documento puede ser reproducido en forma parcial o total sin permiso especial, siempre y cuando se mencione la fuente de información.

CAPITULO 6

Efecto de las floraciones sobre el ecosistema acuático. Revisión actualizada

María Valeria Amé y Daniel Alberto Wunderlin
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Resumen
Las cianobacterias son uno de los grupos más diversos de procariotas gram-negativos fotosintéticos. Su alta capacidad de adaptación a cambios en las condiciones ambientales les permite sobrevivir y dominar los distintos ambientes acuáticos en que se desarrollan. Muchas de sus especies pueden además producir un amplio rango de metabolitos secundarios tóxicos, conocidos como cianotoxinas.

El alto número de células que alcanzan durante los florecimientos y la presencia de las cianotoxinas hacen inevitable que su impacto en el ecosistema acuático sea significativo.

En este capítulo se presentan los principales resultados obtenidos en trabajos científicos realizados en los últimos años que pretenden explicar los efectos que tienen los florecimientos de cianobacterias (tóxicos o no) sobre un ecosistema acuático y los organismos que allí habitan.

Palabras clave: efectos ecotoxicológicos, fitoplancton, zooplancton, plantas, peces, aves.

1. Introducción

Los florecimientos de cianobacterias son en la actualidad un gran desafío para la integridad ecológica y sostenibilidad de algunos de los cuerpos de agua más grandes y ricos del mundo.

La *integridad ecológica* es la capacidad de un ecosistema para soportar y mantener las comunidades biológicas comparables a las que se encuentran en hábitats relativamente poco perturbados de la región, incluye tanto a los organismos vivos como a los elementos físicos del ecosistema (suelo, aire, agua, etc).

Si bien ya es bien conocida la relación entre altos niveles de nutrientes y la dominancia de florecimientos de cianobacterias, otros cambios ambientales como el calentamiento global podrían estar jugando un rol importante en la aparición y desarrollo de estos florecimientos.

Los lagos, ríos y estuarios que experimentan floraciones de cianobacterias en forma frecuente y prolongada poseen una estructura en su ecosistema que puede afectar la calidad del agua, las comunidades biológicas y los servicios del mismo ecosistema. Algunos de estos efectos pueden ser directos, incluyendo la posible toxicidad de las cianotoxinas (CTX) en peces, invertebrados y otra fauna acuática, o bien, indirectos como la disminución de la población de plantas sumergidas cuando la biomasa del plancton se vuelve muy alta.

Este capítulo es una breve revisión actualizada de los florecimientos de cianobacterias y el posible impacto en la estructura del ecosistema acuático.

2. Floraciones de cianobacterias

El fitoplancton o algas microscópicas en suspensión son de importancia fundamental para mantener la productividad de los ecosistemas acuáticos. El fitoplancton utiliza luz, dióxido de carbono y una serie de nutrientes orgánicos e inorgánicos para producir, a través de la fotosíntesis, la biomasa que provee la energía y el material base de las cadenas tróficas acuáticas (1).

En la mayoría de los cuerpos de agua existe un balance estrecho entre la adecuada irradiación y el nivel de nutrientes que determina la velocidad de producción de la biomasa fitoplanctónica o producción primaria. La biomasa de fitoplancton generada es consumida por los herbívoros planctónicos que controlan así la producción de fitoplancton. El balance entre la generación y el consumo resulta en la producción neta del fitoplancton. Factores físicos como la mezcla vertical y la velocidad de flujo (ej. tiempo de residencia) del agua en un embalse o río son controles adicionales en tiempo y espacio a la producción del fitoplancton (Fig. 1).

La interacción entre factores físicos, químicos y bióticos define la heterogeneidad ambiental, factor clave en la determinación de la diversidad y patrones de sucesión del fitoplancton. En condiciones óptimas de crecimiento se observan altas tasas de productividad primaria. La producción primaria se refiere a la biomasa vegetal generada a través del proceso de fotosíntesis. La energía del sol es utilizada por los organismos vegetales para sintetizar glucosa a partir de dióxido de carbono y nutrientes, como nitrógeno y fósforo. Si el consumo no se equipara a la generación, ocurrirá la acumulación del exceso de fitoplancton que se conoce como florecimiento o “bloom”(1).

Las cianobacterias (algas verdeazuladas) son el grupo taxonómico algal más distribuido y nocivo que puede encontrarse en cuerpos de agua dulce. Poseen una extraordinaria capacidad de adaptación que les permiten dominar en una amplia variedad de ecosistemas, desde océanos oligotróficos a lagos eutróficos y desde los trópicos a regiones polares. Esta capacidad las hace frecuentes organismos formadores de floraciones. Las cianobacterias son también capaces de estar presentes como endosimbiontes (asociación de un organismo que habita en el interior del otro) en diatomeas, esponjas, corales, líquenes, helechos y una gran variedad de otros organismos. Son además los únicos fotótrofos oxigénicos conocidos capaces de fijar nitrógeno atmosférico, lo que les asegura un acceso a una provisión de nitrógeno virtualmente ilimitada no disponible para sus competidores (2).

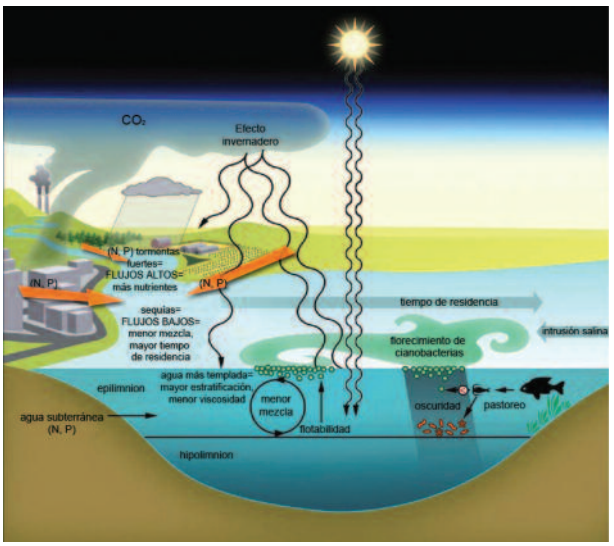

Fig. 1: *Figura conceptual mostrando los controles ambientales en la dinámica de un florecimiento de cianobacterias (Modificada desde Paerl y Huisman; 2009, (2).*

El aspecto más problemático y visible del oportunismo de las algas verdeazuladas es el desarrollo superficial y sub-superficial de floraciones en ecosistemas ricos en nutrientes tanto en aguas dulces como salobres.

Cuando una floración cuenta con densidades celulares altas puede disminuir rápidamente los nutrientes, aumentar la turbidez, agotar las reservas de carbono inorgánico (CO_2) en el agua y otros recursos esenciales causando

una disminución abrupta en la biomasa. La consecuencia es en general la formación de espumas con material en descomposición, mal olor y desagradable a la vista. Las espumas pueden albergar patógenos microbianos y disminuir el oxígeno del agua subyacente causando cambios químicos y biológicos significativos como la hipoxia (concentraciones de oxígeno disuelto menores a 4 $mg.L^{-1}$, donde la mayor parte de la fauna acuática se ve afectada), anoxia (no se detecta oxígeno, fatal para la mayoría peces y crustáceos), generación de sulfuro de hidrógeno tóxico y una liberación acelerada de los nutrientes desde los sedimentos que agrava la eutrofización y el desarrollo de floraciones (3). Por otro lado, y como ya se ha descripto en capítulos anteriores, algunas especies de cianobacterias son capaces de producir compuestos tóxicos para la biota incluyendo invertebrados, peces y crustáceos, así como vertebrados que consumen el agua considerando entre ellos al hombre (4).

3. Efectos ecológicos de florecimientos de cianobacterias frecuentes o persistentes

Evento	Respuesta	Efecto
Desarrollo de los florecimientos	Disminución de la transparencia	Limitación de luz para las plantas acuáticas, los organismos epífitos, algas bénticas y fitoplancton
	Aumento del pH	Efectos letales y sub-letales en poblaciones de peces
	Disminución del CO_2	Interacciones competitivas alteradas entre el fitoplancton
	Aumento del tamaño de las algas	Efectos sobre el pastoreo del zooplancton y la eficiencia de la cadena trófica
	Producción de toxinas	Alelopatía, efectos letales y sub-letales sobre peces, zooplancton, macro-invertebrados, aves y otros vertebrados acuáticos
Colapso de los florecimientos	Hipoxia/Anoxia	Impacto letal o sub-letal en la biota (ej. muerte de peces)
	Amonio	

La Tabla 1 resume los efectos ecológicos de los florecimientos de cianobacterias y sus potenciales efectos adversos en un ecosistema acuático.

Cuando se desarrolla un florecimiento de cianobacterias la irradiación disminuye en la columna de agua, reduciendo el desarrollo de otros productores que no pueden mantener su posición cercana a la superficie del agua, incluyendo organismos epífitos, algas bénticas y plantas vasculares con raíz. Por lo tanto, en aquellos cuerpos de agua con florecimientos muy densos, especialmente los que son frecuentes o de larga duración, no presentan grandes poblaciones de otros organismos capaces de utilizar energía solar, (plantas verdes) para producir compuestos orgánicos que necesita como nutrientes, a partir de compuestos inorgánicos más simples que obtienen de su entorno o ambiente (3).

En lagos eutrofizados de poca profundidad se observó que la transición de la dominancia de plantas a fitoplancton puede ocurrir rápidamente. Una mayor carga de nutrientes lleva a un ligero aumento en la biomasa del fitoplancton cuando las plantas y el perifiton se encuentran presentes. Sin embargo, cuando la turbidez alcanza un nivel crítico el crecimiento de plantas pasa a tener una tasa negativa y es reemplazado por el fitoplancton. Cuando esto ocurre se observa un rápido aumento en la turbidez (biomasa de fitoplancton) con un poco o casi ningún aumento en el contenido de nutrientes. Para que vuelvan a restablecerse las plantas será necesario que los niveles de nutrientes alcancen valores menores aún a los que se encontraban antes de ser desplazadas (5). Este fenómeno se ha descripto no sólo para interacciones planta-alga sino también en la dominancia de diferentes de algas (ej. dominancia alternativa de *Oscillatoria* con otras algas en lagos poco profundos). Se desconoce aún si esta alternancia en la dominancia se debe exclusivamente al aumento de nutrientes o si existen otros factores que fuerzan esta situación como el aumento en la turbidez del agua o intensos vientos que producen el desarraigo de las plantas (6).

Durante la presencia de florecimientos intensos la actividad fotosintética disminuye el CO_2 libre del agua y se produce un aumento del pH. Algunos autores consideran que esta situación favorece el desarrollo de cianobacterias que tienen mayor capacidad de supervivencia frente a bajos niveles de CO_2 que otros competidores. Poco CO_2 puede estimular a su vez la formación de espumas superficiales y la dominancia extrema de grupos de cianobacterias que pueden moverse hacia la interfase agua-aire donde la disponibilidad de CO_2 es mayor (2). Existen evidencias que el pH elevado que se alcanza durante los florecimientos de cianobacterias puede ser tóxico para ciertas especies de peces, si bien esta situación puede observarse no sólo con cianobacterias sino para desarrollos masivos de otras algas, bacterias y plantas (3).

Las floraciones de cianobacterias pueden afectar la alimentación del zooplancton por interferencia mecánica con el sistema de filtración del organismo. Se ha demostrado que elevados niveles de la relación C: P que se observan en los blooms pueden llevar a una limitación en crecimiento de zooplancton como *Daphnia*, especie que generalmente es considerada uno de los consumidores más efectivo de algas. Como resultado de esta sensibilidad, componentes de menor tamaño del zooplancton (ej. *Bosmina* y varios rotíferos) se vuelven dominantes en lagos que pasan de mesotróficos a eutróficos. Al mismo tiempo, el tamaño promedio del fitoplancton aumenta (3). Esta convergencia entre el tamaño del zooplancton y del fitoplancton lleva a un cuello de botella energético en el cual la cadena alimentaria de pastoreo fluye hacia niveles tróficos más altos. En un lago eutrofizado con presencia de cianobacterias, las vías microbianas se vuelven relativamente más importantes y la eficiencia global de la cadena trófica se reduce. En cierta medida, la pérdida de *Daphnia* puede deberse a un aumento en la depredación ya que la biomasa de peces planctívoros y omnívoros aumentan con la eutrofización (7).

La disminución del oxígeno que se observa en el agua durante la senescencia de un florecimiento también puede tener un impacto biológico negativo, siendo el más visible la muerte de peces. Existen evidencias de efectos adversos de altos niveles de amonio durante la senescencia del florecimiento cuya toxicidad no sólo ha sido demostrada en peces, sino también en caracoles y otros macroinvertebrados (8).

Considerando todos estos cambios biológicos es importante indagar sobre los posibles efectos que tienen los florecimientos de cianobacterias sobre la estructura taxonómica de las poblaciones de peces, en particular, de especies con importancia comercial y recreativa. En principio, el efecto dependería de la Latitud. En regiones templadas y boreales, donde los piscívoros (salmónidos) requieren refugios de agua fría durante el verano, la eutrofización puede desplazar estos peces si el hipolimnion se vuelve anóxico. Por el contrario, altas densidades de piscívoros pueden existir en lagos altamente eutrofizados ubicados en regiones subtropicales ya que las especies que allí se desarrollan no tienen requerimientos de aguas frías. No obstante esto ocurre siempre que persistan en el cuerpo de agua ensambles diversos de plantas acuáticas (3,9).

Existen evidencias que un aumento en los niveles de fósforo y nitrógeno en lagos ultra-oligotróficos aumenta la productividad de especies de peces utilizadas para la pesca deportiva por una mejora en la eficiencia de las cadenas tróficas planctónicas. Sin embargo, la relación entre la estructura de estas cadenas tróficas y la productividad de peces ubicados en dos extremos del espectro trófico no está bien documentada, especialmente bajo el efecto de anoxia hipolimnética y pérdida de la población de plantas.

La producción de CTX por ciertas especies de cianobacterias (ej. *Anabaena circinalis, Aphanizomenon flos-aquae, Cylindrospermopsis raciborskii, Microcistis aeruginosa*) puede generar una gran variedad de impactos biológicos. Estos efectos se discuten en mayor detalle en la próxima sección.

4. Efectos ecotoxicológicos de cianotoxinas

La presencia de CTX se ha detectado en diversos grupos de la biota acuática a través de estudios realizados tanto en laboratorio como en campo. La mayoría de estos trabajos evalúan la aparición y el efecto de

microcystinas (MCs), en particular, de MC-LR. El énfasis puesto en el estudio de esta familia en particular de CTX estaría justificado, al menos en forma parcial, a que en varios países se ha encontrado que estas toxinas son las CTX predominantes. El foco puesto en MC-LR (una de las 70 variantes descriptas de MCs) puede deberse a que gran parte de los estudios realizados en laboratorio dependen de la disponibilidad comercial del compuesto puro, muchas veces limitado a esta variante.

En esta sección se desarrollará no sólo el efecto ecotoxicólogico de MC-LR sino también de otros congéneres de MC, así como de otras toxinas de cianobacterias descriptas en Argentina ya especificadas en el capítulo 3.

4.1. Exposición de la biota acuática a cianotoxinas. Bioacumulación

Las CTX una vez sintetizadas permanecen en el interior de la célula productora. La liberación de estas toxinas al medio ocurriría, si bien no exclusivamente, durante la senescencia, muerte y lisis de las cianobacterias. En estudios de laboratorio se determinó que entre un 10 y un 20% de las toxinas celulares (MCs, Nodularinas, Saxitoxinas) se liberan al medio en la fase de crecimiento de un cultivo. Cuando llegan a la fase estacionaria aumenta la mortandad de células y por ende, la concentración de toxinas solubles (19). En el ambiente una vez que las CTX son liberadas al agua circundante los mecanismos que pueden determinar su destino final pueden encontrarse entre: la dilución con agua no contaminada, la degradación química directa, la absorción en los sedimentos, sólidos suspendidos o materia orgánica disuelta, la degradación por fotólisis indirecta en presencia de sustancias húmicas y/o pigmentos, la degradación microbiana por bacterias acuáticas y la incorporación a organismos acuáticos.

La biota acuática puede incorporar CTX por dos vías principales:

- Por contacto cutáneo: toxinas disueltas.
- Por ingestión: al consumir alimentos contaminados (células de cianobacterias u organismos que hayan acumulado CTX previamente) (11).

Una vez absorbidas podría tomar lugar un rápido transporte a través del organismo. De esta forma las CTX pueden ser distribuidas por el torrente sanguíneo a varios tejidos. Las toxinas se distribuyen especialmente en aquellos órganos altamente irrigados como branquias, hígado, intestino, riñón, etc. En los diferentes órganos pueden ser biotransformadas para posteriormente ser eliminadas, o bien, bioacumularse (11).

La bioacumulación de CTX en organismos acuáticos puede incrementar el riesgo de exposición de los organismos ubicados en los niveles tróficos más altos de la cadena alimentaria, ya que aún cuando el fitoplancton produzca pequeñas cantidades de toxina la transferencia a través del alimento resulta en mayores concentraciones en el organismo consumidor que en su dieta (biomagnificación) (11).

Se ha demostrado que la biotransformación de MC ocurre por unión al tripéptido glutatión, reacción que es catalizada por la enzima glutatión S-transferasa. Esta conjugación se comprobó en peces, dáfnidos, mejillones y macrófitas acuáticas (4).

Existen estudios de acumulación de CTX en cuatro grupos de organismos acuáticos: en aves acuáticas, peces, macroinvertebrados (ej. bivalvos, cangrejos, camarones, caracoles) y zooplancton.

Los estudios sobre aves acuáticas expuestas a CTX son muy limitados. Los casos descriptos se restringen a la presencia de anatoxinas y MCs con la característica de haber sido asociadas a la muerte de flamencos en África (12).

Para peces existen en cambio muchas más publicaciones, si bien comparten con las aves el hecho de que mortandades de poblaciones de peces hayan sido relacionadas con floraciones tóxicas de cianobacterias. Las

CTX en peces han sido analizadas a través de la exposición por diferentes vías, la mayoría en relevamientos de campo. Estos estudios demostraron que en el ecosistema acuático las comunidades de peces están expuestas principalmente por la ingestión (11). Las MCs tienen una tendencia general a acumularse en la cadena trófica alcanzando concentraciones mayores en peces carnívoros y menores en peces herbívoros (13). Las mayores concentraciones de MCs se encontraron en hígado e intestino, en menor medida en branquias, riñones y gónadas y en menor nivel aún en músculo y cerebro (13, 14, 15, 16, 17, 18).

En la Fig. 2 se muestra las distintas vías de entrada, absorción, distribución, metabolismo, acumulación y excreción de MCs propuestas para peces (19).

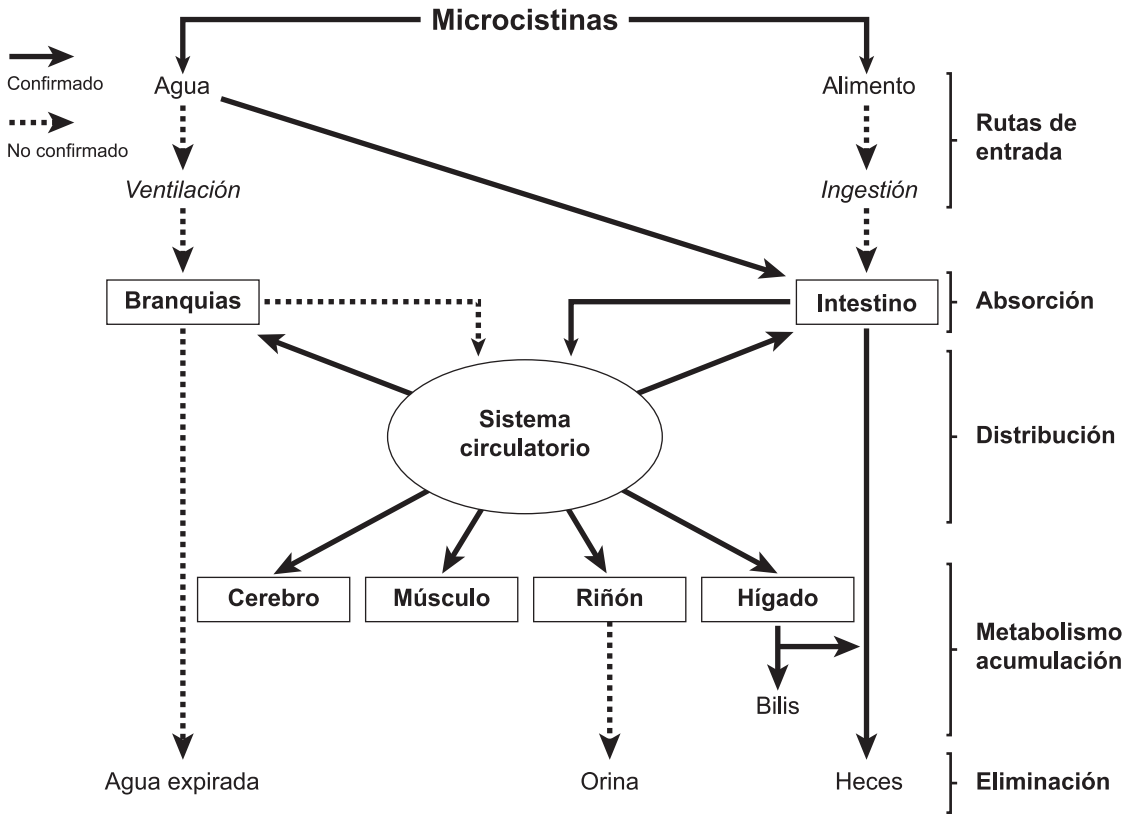

Fig. 2: *Representación esquemática de las vías de entrada, absorción, distribución, metabolismo, acumulación y excreción de MCs en peces (Reproducida desde Cazenave; 2006 (19).*

La presencia de Nodularinas en peces también ha sido probada, siendo la ingestión la principal vía de exposición y el hígado el principal órgano de acumulación (13).

En macroinvertebrados se comprobó la acumulación y la depuración de CTX. Diversos estudios permitieron demostrar la presencia de MCs, Nodularinas, Saxitoxinas y Cilindrospermopsinas (CYN) en estos organismos (13). La acumulación sería dependiente del tiempo de exposición mientras que la depuración ocurriría en dos fases. En general se encontró que en pocos días se elimina la mayor parte de la toxina absorbida pero que después de un período de tiempo considerable, la eliminación no llega a ser completa (11). Este hecho fue demostrado para Nodularinas acumuladas en mejillones (*Mytilus edulis*) durante una exposición natural en el Mar Báltico que persistieron durante al menos tres meses en los tejidos (20). Consecuentemente los mejillones son considerados un vector de riesgo para posibles predadores incluido el hombre (11).

MCs, Nodularinas, Saxitoxinas y CYN se detectaron también en componentes del zooplancton. Los estudios disponibles sugieren que en especies filtradoras como *Daphnia* se encontrarían mayores niveles que en otros organismos pertenecientes a este grupo (21).

4.2. Efectos ecotoxicológicos de Microcistinas

4.2.1. Interacciones alga/alga

Los cambios en la dinámica de las poblaciones fitoplanctónicas en un sistema eutrofizado pueden ser indicativos de las interacciones que existen entre las especies componentes del fitoplancton.

Las interacciones alelopáticas cianobacteria/alga han sido observadas en numerosos estudios, si bien no completamente comprendidas hasta el momento. Se ha visto que *Chlamydomonas reinhardtii* se paraliza en presencia de MCs, lo que causa una sedimentación más rápida de esta alga verde. En otro ensayo de laboratorio, se observó que *Microcystis aeruginosa* aumenta su producción de toxinas cuando se agrega al medio un cultivo no tóxico de *Planktothrix agardhii*. Efectos alelopáticos similares, como la disminución en el crecimiento y en la fotosíntesis, se evidenciaron en el dinoflagelado *Peridinium gatunense* expuesto a células de *Microcystis* sp.(4).

Estos resultados darían indicios en cuanto al posible modo de acción de los metabolitos secundarios de cianobacterias en comunidades fitoplanctónicas en lagos. Resta aún comprender la asociación entre estas interacciones y la dinámica anual fitoplanctónica.

4.2.2. Plantas

Las plantas acuáticas como parte del ecosistema acuático pueden estar expuestas a altos niveles de CTX. La reacción de plantas terrestres a las toxinas de cianobacterias es interesante considerando la posible contaminación a través del riego. Sin embargo, todas ellas se han investigado en menor medida que otros organismos posiblemente expuestos.

Como se describió previamente, uno de los efectos más serios de la eutrofización en los sistemas acuáticos es la desaparición de macrófitas sumergidas y un desplazamiento hacia un estado de dominancia del fitoplancton.

Distintas estrategias se han utilizado con el fin de explicar este hecho. La exposición de la planta sumergida *Ceratophyllum demersum* a 1.0 $\mu g.L^{-1}$ y 5 $\mu g.L^{-1}$ de MC-LR produjo una disminución en su crecimiento después de 6 y 3 semanas respectivamente (22). Este efecto podría deberse a una reorganización en el citoesqueleto (23). En *Spirodela oligorrhiza* se observó una disminución en el 50% del número de hojas después de una exposición a MC-LR en concentraciones de 0.1 y 0.2 $\mu g.L^{-1}$ (24). Otros parámetros fisiológicos como un disminución en el nivel de clorofila y carotenoides, así como en la eficiencia de la fotosíntesis se demostraron en plantas acuáticas como *Ceratophyllum demersum, Phragmites australis, Lemna minor, Myriophyllum spicatum, Elodea canadensis* y en la macroalga *Cladophora* sp., al ser expuestas a niveles de 0,1 a 0,5 $\mu g.\ L^{-1}$ de MC-LR (4).

Por otro lado, las plantas terrestres también sufrirían los efectos de estas CTX. En un estudio realizado en Arabia Saudita se demostró que plantas de rábanos, rúcula, lechuga, eneldo, perejil y repollo regadas con agua contaminada con MCs (MC-YR principalmente) eran capaces de acumular estas toxinas (25). Con similar exposición, pero a través de un estudio de laboratorio, se determinó que el riego con agua en presencia de MC es capaz de afectar el crecimiento, la acumulación de nutrientes y la actividad fotosintética de cultivos de trigo, maíz, arvejas y lentejas (26). La acumulación y efecto tóxico también se confirmó en cultivos de alfalfa, brócoli y mostaza (27, 28).

Estos datos indicarían que el uso de agua conteniendo MCs para el riego de cultivos podría afectar tanto el rendimiento como la calidad de los mismos. Por otro lado, la acumulación de MC en plantas comestibles pone en riesgo la salud humana y animal en caso que pudieran excederse los límites tolerables recomendados.

En estas plantas resultaría interesante conocer si las MCs son capaces de formar uniones estables con componentes estructurales que les permitan también acceder a distintos niveles de la cadena trófica.

4.2.3. Zooplancton

Diferentes clones de *Daphnia* cultivados con células de *Microcystis* productoras y no productoras de MC manifestaron una disminución en la filtración y en los latidos del corazón de los organismos en presencia de MC. La concentración de la toxina se correlacionó con la letalidad observada en este estudio, pero no con la disminución en la alimentación. La insuficiencia nutricional causada por la ingestión reducida fue observada no sólo ingiriendo diferentes cepas de *Microcystis* sino también con mezclas de la cianobacteria con un alga verde (*Scenedesmus obliquus*). La explicación a este resultado radicaría en que las cianobacterias poseen bajas concentraciones de esteroles y son por lo tanto una fuente nutricional muy pobre para el zooplancton. Esta podría ser una razón adicional para explicar el poco control del fitoplancton que puede realizar el zooplancton (29).

La susceptibilidad del zooplancton a *M. aeruginosa* y a MCs puras dependería de la especie zooplanctónica. *Daphnia pulex* mostró mayor sensibilidad que *Daphnia pulicaria*, mientras que el copépodo *Diaptomus birgeri* sufrió un efecto intermedio. Este resultado podría deberse a la capacidad de *D. birgeri* para seleccionar su comida (30). En el caso de *D. magna* se observó que después de dos exposiciones a cultivos de *Microcystis* productora aumentaba su tolerancia al efecto tóxico. En este caso se atribuye esta respuesta diferencial a la inducción previa de los sistemas de biotransformación y de mecanismos de reparación que dependería, entre otros factores, de la edad del organismo (31). Por otro lado, se ha demostrado que la presencia de MC afectaría la reproducción de *D.magna* y generaría malformaciones en huevos, embriones y neonatos que verían también afectada su superviviencia (32).

La susceptibilidad a MCs también dependería de la variante de MC. Ensayos realizados en el protozoo ciliado *Tetrahymena pyriformis* mostraron mayor efecto tóxico cuanto mayor es la hidrofobicidad de la MC ensayada (31). Las variantes más hidrofóbicas (MC-LF y LW) manifestaron también una mayor actividad superficial en bicapas artificiales al compararse con la MC-LR, lo que les permitiría interaccionar más fácilmente con las membranas biológicas (33).

A partir de estos resultados podría suponerse que frente a un florecimiento tóxico la comunidad zooplanctónica cambiaría hacia especies menos sensibles o especies que no se alimenten de cianobacterias tóxicas generando una disponibilidad de estos organismos para sus predadores. El deterioro en la dinámica poblacional de los nanoflagelados heterotróficos más susceptibles también va a verse reflejado en la población fitoplanctónica por la deficiencia nutricional que se genera en el mismo nivel trófico (4).

4.2.4. Bivalvos

Los bivalvos pueden ingerir toxinas de cianobacterias filtrando agua que contenga células para alimentarse, y en menor medida, absorbiendo directamente las toxinas disueltas (11). Aparentemente *Dreissena polymorpha* sería capaz de alimentarse selectivamente eliminando por pseudoheces el alimento no deseado (34). Como se discutió previamente, la acumulación de MC en distintas especies de bivalvos ya ha sido demostrada. Sin embargo, toxinas extraídas de los mismos mejillones en los que no se observan daños, son tóxicos para ratones. La biotransformación de MC fue demostrada en *D. polimorfa* por vía GST,

observándose adicionalmente una oxidación en el pool de glutatión y actividad aumentada de la enzima antioxidante Glutatión peroxidada (4).

No está muy claro qué mecanismos protegen a los mejillones considerando que la inhibición de Proteín Fosfatasas 2A se observa a 0,25 nM (en el mismo rango que la inhibición de estas enzimas en mamíferos y plantas; aproximadamente 0,1 nM). Se postula que podría deberse a la presencia del Sistema de Resistencia a Multixenobióticos localizado en las membranas lisosomales que permitiría la incorporación y acumulación (restringiendo la biodisponibilidad) de estas toxinas en el interior lisosomal. Este mecanismo de acumulación convertiría a los bivalvos en vectores de transferencia de CTX en la cadena trófica (incluyendo al hombre) (35).

4.2.5. Crustáceos y cangrejos

Los crustáceos de agua dulce toleran y se desarrollan correctamente al ser alimentados con cultivos tóxicos de *Microcystis* sp. Resultados similares se observaron en el crustáceo *Pacifastacus leniscul*us al ser alimentado con *Oscillatoria sacta* y en criaderos de camarones en Australia donde, si bien se observó acumulación de MC en distintos tejidos, no se detectaron efectos tóxicos (4).

Resultados diferentes se encontraron en branquias del cangrejo *Chasmagnatus granulatus* donde se observó inhibición de Na^+ K^+ ATPasas, un aumento en la actividad de GST y en la capacidad antioxidante. Estos últimos resultados coinciden con mecanismos de defensa encontrados en mamíferos como son la biotransformación y actividad antioxidante y que podrían explicar la mayor resistencia de estas especies a la acción tóxica de MCs (4).

4.2.6. Peces

El efecto de MCs en peces juveniles y adultos es análogo aunque no idéntico. Estudios realizados en diversas especies indican que la exposición crónica a MCs afecta el crecimiento, indicadores medidos en sangre, la regulación iónica, la histopatología y el ritmo cardíaco (34).

En estadios tempranos del desarrollo, los peces son más susceptibles al efecto tóxico que los individuos adultos ya que poseen una capa epitelial más fina, una mayor tasa metabólica y una movilidad limitada. Estos efectos podrían interferir en procesos del desarrollo y el funcionamiento de diversos órganos que redundarían en una disminución de la supervivencia afectando efectivamente las poblaciones ictícolas (34).

En peces los principales órganos afectados por MCs son el hígado y los riñones. En estos tejidos se observan síntomas semejantes a los descriptos en mamíferos (ej. pérdida total de la arquitectura hepática que causa disfunción en este órgano y necrosis) (4, 36).

La vía de exposición resulta determinante para los efectos tóxicos en peces. La exposición por el medio generaría un efecto mucho menor y sin mortalidad asociada en comparación a la vía oral (13).

La comparación de la sensibilidad a MC entre la trucha arcoíris (predador) y la carpa (omnívoro) reveló que la carpa es mucho más sensible a una exposición oral de *Microcystis*. Por otro lado, tilapia (*Oreochromis niloticus*) y la carpa plateada (*Hypophthalamichtys molitrix*) demostraron ser capaces de seleccionar como alimento cepas *Microcystis* no tóxica en lugar de cepas tóxicas evitando por lo tanto la contaminación (4).

Más allá del riesgo fisiológico y toxicológico, las MCs pueden causar cambios conductuales. Concentraciones ambientalmente relevantes de estas toxinas influyeron en ritmo diurno del pez cebra llevándolo a un deterioro en su alimentación y reproducción. En la especie neotropical *Jenynsia multidentata* se observó un aumento en la actividad natatoria a bajas concentraciones de MC-RR (0.01 and 0.1 $mg.g^{-1}$)

indicando un posible efecto neurotóxico, mientras que mayores concentraciones (1 mg g^{-1}) produjeron el efecto contrario sugiriendo la reasignación de energía para la detoxificación del compuesto (4, 37).

La comprensión de la susceptibilidad diferencial de las especies de peces a las distintas variantes de MC se encuentra aún en estudio. No se conoce tampoco si productos metabólicos de las MCs en los organismos vivos son capaces de acumularse y transferirse en la cadena alimentaria produciendo así efectos tóxicos en los niveles tróficos superiores.

4.3. Efectos ecotoxicológicos de Nodularinas

La toxicidad de Nodularinas es mediada por una unión con las serina/treonina proteín-fosfatasas 1 y 2A que, a diferencia de la unión con MCs, no es covalente (10).

A través de la exposición de macroalgas (*Furcellaria lumbricalis*) a un extracto crudo conteniendo Nodularinas se observó que la toxina ingresa al alga, produce estrés oxidativo y activa sistemas enzimáticos antioxidantes (38).

En plantas, y considerando la posibilidad de exposición de las plantas terrestres por medio de riego con agua contaminada, se realizaron hasta el momento estudios con espinaca (*Spinachia oleracea*) exponiéndolas a un extracto acuoso de cultivos productores y no productores de *Nodularia* sp. Estos ensayos indicarían que Nodularina se acumula en la planta y produce estrés oxidativo acompañado de una inhibición en el crecimiento y decoloración de las hojas (39).

El efecto de estas CTX sobre el zooplancton dependería significativamente de la especie en estudio. *Eurytemora affinis* (Copépodo), *Synchaeta* spp. (Rotífero) y *Bosmina longispina maritima* (Cladócero) se desarrollaron y reprodujeron exitosamente en un ensayo de mesocosmo mientras que la población de *Acartia bifilosa* (Copépodo) se redujo. Dos especies dominantes en el Mar Báltico (*E. affinis y A. bifilosa-Copépodos*) se alimentaron con *Nodularia spumigena* pero mantuvieron su habilidad para producir huevos (4).

La acumulación de Nodularinas en el zooplancton podría ser la vía de entrada de estas toxinas a la cadena trófica ya que se detectaron en camarones y en peces alimentados con copépodos consumidores de cianobacterias (40).

En truchas recolectadas en el Mar Báltico se observó una pérdida reversible de la arquitectura hepática después de una única dosis oral de Nodularina. Más aún, los florecimientos de Nodularia se sospecha que serían los responsables de una disminución en la abundancia de peces en el Mar Báltico (4). En el crustáceo *Artemia salina* se verificó que la biotransformación de Nodularina ocurre por conjugación con glutatión vía Glutatión S-Transferasa. Resultados similares se observaron en la trucha marina (*Salmo trutta*) (4).

El modo de acción de las Nodularinas en los diferentes componentes del ecosistema marino desde el zooplancton, almejas y mejillones hasta peces se encuentra bastante estudiado y existe disponibilidad de datos de bioacumulación y biotransformación. Sin embargo, no se conoce todavía la transferencia de estas toxinas a vertebrados como por ejemplo a aves acuáticas.

4.4. Efectos ecotoxicológicos de Saxitoxinas

Las Saxitoxinas bloquean canales de sodio en la sinapsis neuronal e interfieren en la transmisión de los impulsos eléctricos en los nervios. En mamíferos, esta parálisis muscular lleva a un paro respiratorio con la posterior muerte del individuo (10).

La acumulación de estas toxinas en el zooplancton y su transporte a través de la cadena trófica es un mecanismo central para la disponibilidad de estos compuestos en los niveles tróficos mayores (41). La

acumulación de Saxitoxinas se ha demostrado en copépodos (*Tigriopus californicus*), cangrejos y moluscos (4). Sin embargo en ensayos realizados con el molusco bivalvo *M. edulis* no se observaron efectos tóxicos frente a estos compuestos.

Las Saxitoxinas pueden acumularse en moluscos marinos y crustáceos. Si bien estos organismos parecen no ser afectados por las toxinas, son posibles los efectos severos en organismos de niveles más altos en la red trófica. Se necesitan investigaciones futuras buscando determinar factores ambientales que promuevan la dominancia de cianobacterias productoras y marcadores genéticos que definan el contenido y perfil de estas toxinas en florecimientos de cianobacterias.

4.5. Efectos ecotoxicológicos de Anatoxinas

En aves y mamíferos anatoxina-a imita al neurotransmisor acetilcolina uniéndose irreversiblemente al receptor nicotínico de acetilcolina. Los canales de sodio quedan esencialmente abiertos en forma permanente y así el ingreso de iones de sodio produce la sobre-estimulación de las células musculares. Cuando el efecto se produce sobre los músculos respiratorios disminuye el oxígeno en el cerebro y consecuentemente se desencadenan convulsiones (10).

Existen pocos estudios sobre la acumulación de anatoxina-a en animales acuáticos. Por un lado, se observó que la bioacumulación de anatoxina-a fue significativa en carpas (0.768 µg de anatoxina-a por gramo de peso seco) (42), siendo mucho menor en el molusco *Mytilus galloprovincialis* (6.6 ng por gramo de peso seco) (43). No se conoce todavía si esta acumulación puede tener un impacto en las cadenas alimentarias acuáticas. En la planta acuática *Lemna minor* se observaron menores niveles de oxígeno producido por fotosíntesis después de exposiciones a 5 y 20 $\mu g.mL^{-1}$ de anatoxina-a. A estas mismas concentraciones se detectaron actividades elevadas de Glutatión S-transferasa. En exposiciones realizadas a 25 $\mu g.mL^{-1}$ de la misma toxina se observó un aumento en la actividad de la enzima antioxidante Peroxidasa en *L. minor* y en *Chladophora fractal* (4). Estos resultados indicarían que la toxina es capaz de ingresar a las especies vegetales estudiadas y producir estrés oxidativo aunque el organismo intente detoxificarla vía GST.

En rotíferos (*Asplancha girodi* y *Brachionus calyciflorus*) una exposición a cultivos de *Anabaena* productora de esta anatoxina produjo una disminución en la reproducción. La fecundidad y supervivencia de *D. pulex* también sufren el efecto tóxico de anatoxina-a (4).

Además de los casos de muerte ya descriptos en aves, la ingesta de agua contaminada con anatoxina-a en un lago escocés se ha relacionado con la muerte de perros (4).

Anatoxina-a(s) es un potente inhibidor de acetilcolinesterasa y 10 veces más tóxica en ratones que anatoxina-a (10). En organismos acuáticos la inhibición de esta enzima sólo ha sido demostrada en *Daphnia pulicaria* (4).

El mecanismo de acción tóxica de las anatoxinas ya ha sido estudiado en vertebrados. Sin embargo son muy pocos los conocimientos de los efectos en el ecosistema acuático y en algunos de sus componentes como algas, plantas, invertebrados o peces.

4.5. Efectos ecotoxicológicos de Cilindrospermopsinas

La mortalidad de ganado e intoxicaciones humanas en Queensland (Australia) han sido atribuidas a la presencia de florecimientos de *Cylindrospermopsis* (44). Las CYN son alcaloides sulfatados capaces de producir en ratones daños citotóxicos en el hígado, riñón, timo y corazón. Podrían tener actividad mutagénica

y carcinogénica, y, si bien no inhiben Proteín Fosfatasas, son inhibidores irreversibles de la biosíntesis de proteínas. Existen evidencias de que estos compuestos necesitan una activación por el complejo enzimático citocromo P450 para su citotoxicidad, pero no para la inhibición de la síntesis proteica. No se conoce aún si ocurre alguna otra biotransformación (ej. reacción de fase II) para favorecer su eliminación (4).

Debido a su bajo peso molecular las CYN podrían difundir al interior celular y sólo una pequeña fracción ingresaría por transportadores de ácidos biliares. En la langosta australiana (*Cherax quadricarinatus*) se detectó la presencia de CYN en el hepatopáncreas y en tejidos musculares cuando se los alimentó con cultivos de *Cylindrospermopsis*. Sin embargo no se observaron efectos tóxicos (4). En el bivalvo *Anodonta cygnea*, se encontró que las CYN se acumularían durante la filtración alcanzando las mayores concentraciones en la hemolinfa. Sólo la mitad de la toxina acumulada se eliminó después de dos semanas de depuración (45). En juveniles de *Daphnia magna* expuestos a cultivos productores y no productores de *Cylindrospermopsis* se observaron defectos en la supervivencia y en el desarrollo. Se observó además una activación en los sistemas de biotransformación (Glutatión S-transferasa), se observó un mayor gasto energético para estos procesos que para el desarrollo y otros procesos metabólicos (46). La toxicidad de CYN se estableció también en *Artemia salina*. En cuerpos de agua naturales se observó que un alto número de filamentos de *Cylindrospermopsis raciborskii* redujeron el tamaño y la diversidad del zooplancton, posiblemente debido a la falta alimentos, ya que organismos como rotíferos y cladóceros no pueden alimentarse con estas algas (4).

Si bien ya se conoce el modo de acción y las vías de ingreso de las CYN se necesitan aún estudios que expliquen el impacto tóxico sobre los distintos compartimentos del ecosistema acuático.

4.6. Efectos ecotoxicológicos de Lipopolisacáridos

Los lipopolisacáridos (LPS) de cianobacterias son altamente inflamatorios y responsables de numerosas respuestas celulares e inmunológicas. Estos compuestos se encuentran generalmente en la membrana externa de la pared celular de bacterias gran-negativas y están compuestos por el lípido A, un núcleo de polisacáridos y una cadena lateral de polisacáridos. Si bien los trabajos científicos realizados con estos compuestos son muy limitados en cianobacterias, se conoce que los LPS de las algas verdeazules son 10 veces menos tóxicos en mamíferos que los LPS de *Salmonella abortus equi*. Sin embargo, en embriones de pez cebra (*Danio rerio*), se observó que estos LPS son capaces de inhibir la actividad de Glutatión S-transferasas (47). Estas enzimas son responsables de la biotransformación de MCs y una gran variedad de otros compuestos tóxicos. La inhibición de este sistema de defensa generaría en los organismos afectados una mayor susceptibilidad no sólo a la acción de estas CTX sino a la de todos los tóxicos exógenos y endógenos presentes simultáneamente. Por otro lado, en la trucha arcoíris, la exposición a cianobacterias es capaz de producir un desbalance osmótico por estimulación de la ingestión de agua atribuyéndose este efecto principalmente a la presencia de los LPS (47).

Los LPS son componentes de la pared celular de las cianobacterias y por lo tanto, resulta necesario determinar su contribución en la toxicidad de estas algas o en la modulación del efecto tóxico.

5. Conclusiones

Las cianobacterias son componentes frecuentes del fitoplancton de aguas marinas, salobres y dulces en todo el mundo. Tienen el potencial para desarrollarse masivamente en una amplia variedad de ambientes alterando el equilibrio del ecosistema afectado. Por otra parte, numerosas especies de cianobacterias son capaces de sintetizar metabolitos secundarios tóxicos conocidos como cianotoxinas. Para la mayoría de las toxinas de cianobacterias descriptas hasta el momento se necesitan aún estudios que expliquen su rol en las células productoras y su función en la naturaleza así como el impacto y destino que tienen en el

ecosistema acuático. Se desconocen también numerosos aspectos en la biosíntesis de estos compuestos y su degradación. El impacto en los recursos acuáticos, en acuacultura y en la pesca son también temas importantes a estudiar considerando las posibles implicancias en la salud humana.

Referencias

1. Paerl HW, Fulton RS, Moisander PH, Dyble J. Harmful Freshwater algal blooms, with an enphasis on cyanobacteria. TheScientificWorld. 2001; 1: 76-113.
2. Paerl HW, Huisman, J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. Environ. Microbiol. Rep. 2009; 1 (1): 27-37.
3. Havens K.E. Cyanobacterial blooms: effects on aquatic ecosystems. En Hudnell (ed.) Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of Science and Research Needs. New York: Springer; 2008. p. 733-747.
4. Wiegand C, Pflugmacher S. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. Toxicol. Appl. Pharmacol. 2005; 203: 201-218.
5. Scheffer M, Hosper SH, Meijer M-L, Moss B, Jeppesen E. Alternative equilibria in shallow lakes. Trends Ecol. Evol. 1993; 8: 275–279.
6. Janse JH, Scheffer M, Lijklema L, Van Liere L, Sloot JS, Mooij WM. Estimating the critical phosphorus loading of shallow lakes with the ecosystem model PCLake: Sensitivity, calibration and uncertainty. Ecol. Model. 2010; 221: 654–665.
7. Jeppesen E, Lauridsen TL, Mitchell SF, Christoffersen K, Burns CW. Trophic structure in the pelagial of 25 shallow New Zealand lakes: changes along nutrient and fish gradients. J. Plank. Res. 2000; 22: 951–968.
8. Camargo JA, Alonso A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. Env. Int. 2006; 32: 831–849.
9. Havens KE, Fox D, Gornak S, Hanlon C. Aquatic vegetation and largemouth bass population responses to water level variations in Lake Okeechobee, Florida (USA). Hydrobiologia. 2005; 539: 225–237.
10. Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins. En I. Chorus and J. Bartram (ed.) Toxic Cyanobacteria in Water- A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. London: E&FN Spon; 1999. p. 41-111.
11. Ibelings BW, Chorus I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences fro public health: A review. Environ. Poll. 2007; 150: 177–192.
12. Krienitz L, Ballot A, Kotut K, Wiegand C, Putz S, Metcalf JS, Codd GA, Pflugmacher S. Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Flamingos at Lake Bogoria, Kenya. FEMS Microbiol. Ecol. 2003; 43(2): 141–148.
13. Ibelings BW, Havens KE. Cyanobacterial toxins: a qualitative meta–analysis of concentrations, dosage and effects in freshwater, estuarine and marine biota. En Hudnell (ed.) Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of Science and Research Needs. New York: Springer; 2008. p. 671-732.
14. Cazenave J, Wunderlin DA, Bistoni MA, Amé MV, Krause E, Pflugmacher S, Wiegand C. Uptake, tissue distribution and accumulation of Microcystin-RR in *Corydoras paleatus, Jenynsia multidentata* and *Odontesthes bonariensis*. Aquat. Toxicol. 2005; 75: 178–190.
15. Amé MV, Galanti L, Menone ML, Gerpe MS, Moreno VJ, Wunderlin DA. Microcystin–LR, -RR, -YR and –LA in water samples and fishes from a shallow lake in Argentina. Harmful Algae. 2010; 9: 66–73.
16. Li XY, Chung IK, Kim JI, Lee JA. Subchronic oral toxicity of microcystin in common carp (*Cyprinus carpio L.*) exposed to Microcystis under laboratory conditions. Toxicon. 2004; 44(8): 821–827.
17. Soares RA, Magalhaes VF, Azevedo S. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. Aquat. Toxicol. 2004; 70(1): 1–10.
18. Xie LQ, Xie P, Guo LG, Li L, Miyabara Y, Park H-D. Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic Lake Chaohu, China. Environ. Toxicol. 2005; 20(3): 293–300.
19. Cazenave J. Respuesta morfofisiológica y conductual en peces de agua dulce expuestos a Microcistinas. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba; 2006.

20. Kankaanpää H, Leiniö S, Olin M, Sjövall O, Meriluoto J, Lehtonen KK. Accumulation and depuration of cyanobacterial toxin nodularin and biomarker responses in the mussel Mytilus edulis. Chemosphere. 2007; 68 (7): 1210-1217.
21. Ibelings BW, Bruning K, de Jonge J, Wolfstein K, Pires LMD, Postma J, Burger T. Distribution of microcystins in a lake foodweb: No evidence for biomagnification. Microb. Ecol. 2005; 49(4): 487–500.
22. Pflugmacher S. Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. Environ. Toxicol. 2002; 17: 407– 413.
23. Szigeti ZM, Jámbrik K, Roszik J, M-Hamvas M, Tándor I, Beyer D, Vasas G, Vereb G, Surányi G, Máthé C. Cytoskeletal and developmental alterations in *Ceratophyllum demersum* induced by microcystin-LR, a cyanobacterial toxin. Aquat. Bot. 2010; 92: 179–184.
24. Romanowska-Duda Z, Tarczynska M. The influence of microcystin- LR and hepatotoxic extract on the water plant *Spirodela oligorrhiza*. Environ. Toxicol. 2002; 17: 434– 440.
25. Mohamed ZA, Al Shehrib AM. Microcystins in groundwater wells and their accumulation in vegetable plants irrigated with contaminated waters in Saudi Arabia. J. Hazard. Mater. 2009; 172: 310–315.
26. Saqrane S, Ouahid Y, El Ghazali I, Oudra B, Bouarab L, del Campo FF. Physiological changes in *Triticum durum, Zea mays, Pisum sativum* and *Lens esculenta* cultivars, caused by irrigation with water contaminated with microcystins: A laboratory experimental approach. Toxicon. 2009; 53: 786–796.
27. Peuthert A, Pflugmacher S. Influence of the cyanotoxin microcystin-LR on tocopherol in Alfalfa seedlings (*Medicago sativa*). Toxicon. 2010; 56: 411–417.
28. Järvenpää S, Lundberg-Niinistö C, Spoof L, Sjövallb O, Tyystjärvic E, Meriluoto J. Effects of microcystins on broccoli and mustard, and analysis of accumulated toxin by liquid chromatography–mass spectrometry. Toxicon. 2007; 49: 865–874.
29. Rohrlack T, Dittmann E, Boerner T, Christoffersen K. Effects of cell bound microcystins on survival and feeding of *Daphnia* spp. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67: 3523– 3529.
30. DeMott WR, Zhang QX, Charmichael WW. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. 1991; Limnol. Oceanogr. 36: 1346– 1357.
31. Ward CJ, Codd GA. Comparative toxicity of four microcystins of different hydrophobicities to the protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. J. Appl. Microbiol. 1999; 86: 874– 882.
32. Dao TS, Do-Hong LC, Wiegand C. Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. Toxicon 2010; 55: 1244–1254.
33. Vesterkvist PSM, Meriluoto JAO. Interaction between microcystins of different hydrophobicities and lipid monolayers. Toxicon. 2003; 41: 349– 355.
34. Amado LL, Monserrat JM. Oxidative stress generation by microcystins in aquatic animals: Why and how. Environ. Internat. 2010; 36: 226–235.
35. Contardo-Jara V, Pflugmacher S, Wiegand C. Multi-xenobiotic-resistance a possible explanation for the insensitivity of bivalves towards cyanobacterial toxins. Toxicon 2008; 52:936–43.
36. Cazenave J, Bistoni Mde L, Zwirnmann E, Wunderlin DA, Wiegand C. Attenuating effects of natural organic matter on microcystin toxicity in zebra fish (*Danio rerio)* embryos- Benefits and costs of microcystin detoxication. Environ Toxicol. 2006; 21(1):22-32.
37. Cazenave J, Nores ML, Miceli M, Díaz MP, Wunderlin DA, Bistoni MA. Changes in the swimming activity and the glutathione S-transferase activity of *Jenynsia multidentata* fed with Microcystin-RR. Water Res. 2008; 42(4-5):1299-307.
38. Pflugmacher S, Olin M, Kankaanpää H. Oxidative stress response in the red alga *Furcellaria lumbricalis* (Huds.) Lamour. due to exposure and uptake of the cyanobacterial toxin nodularin from *Nodularia spumigena*. Harmful Algae. 2010; 10: 49–55.
39. Lehtimäki N, Shunmugam S, Jokela J, Wahlsten M, Carmel D, Keränen M, Sivonen K, Aro E-M, Allahverdiyeva Y, Mulo P. Nodularin uptake and induction of oxidative stress in spinach (Spinachia oleracea). J. Plant Physiol. 2011; 168: 594–600.
40. Engstrfm-Ost J, Lehtiniemi M, Green S, Kozlowsky-Suzuki B, Viitasalo M. Does cyanobacterial toxin accumulate in mysid shrimps and fish via copepods? J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 2002; 276, 95–107.

41. Osswald J, Rellán S, Gago A, Vasconcelos V. Uptake and depuration of anatoxin-a by the mussel Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) under laboratory conditions. Chemosphere. 2008; 72: 235–1241.
42. Osswald J, Réllan S, Carvalho AP, Gago A, Vasconcelos V. Acute effects of an anatoxin-a producing cyanobacterium on juvenile fish—Cyprinus carpio L. Toxicon. 2007; 49: 693–698.Turner JY, Doucette GJ, Powell CL, Kulis DM, Keafer BA, Anderson DM. Accumulation of red tide toxins in larger size fractions of zooplankton assemblages from Massachusetts Bay, USA. Mar. Ecol.: Prog. Ser. 2000; 203: 95–107.
43. Griffiths DJ, Saker ML. The palm island mystery disease 20 years on: a review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin. Environ. Toxicol. 2003; 18: 78–93.
44. Saker ML, Metcalf JS, Codd GA, Vasconcelos VM. Accumulation and depuration of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. Toxicon. 2004; 43: 185– 194.
45. Nogueira, I.C.G., Saker, M.L., Pflugmacher, S., Wiegand, C., Vasconcelos, V.M., 2004. Toxicity of the cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii to Daphnia magna. Environ. Toxicol. 19, 453– 459.
46. Best JH, Pflugmacher S, Wiegand C, Eddy FB, Metcalf JS, Codd GA. Effects of enteric bacterial and cyanobacterial lipopolysaccharides, and of microcystin-LR on glutathione S-transferase activities in zebra fish (*Danio rerio*). Aquat. Toxicol. 2002; 60: 223–231.
47. Best JH, Eddy FB, Codd GA. Effects of Microcystis cells, cell extracts and lipopolysaccharides on drinking and liver function in rainbow trout O*ncorhynchus mykiss* Walbaum. Aquat. Toxicol. 2003; 64: 419–426.