

Cyanobakterier (blågrønnalger)

oppblomstring
og toksinproduksjon

Nina Gjølme
Truls Krogh
Hans Utkilen

Rapport 2010:4
Nasjonalt folkehelseinstitutt

Tittel:

Cyanobakterier (blågrønnalger) Oppblomstring og toksinproduksjon

Forfattere:

Nina Gjølme
Truls Krogh
Hans Utkilen

Utgitt av Nasjonalt folkehelseinstitutt
Divisjon for miljømedisin
Avdeling for vannhygiene
November 2010

Bestilling:

Rapporten kan lastes ned som pdf
på Folkehelseinstituttets nettsider: www.fhi.no

Rapporten kan også bestilles fra
Nasjonalt folkehelseinstitutt
Postboks 4404 Nydalen
NO-0403 Oslo
E-post: publikasjon@fhi.no
Telefon: 21 07 82 00
Telefaks: 21 07 81 05

Design:

Per Kristian Svendsen

Layout:

Grete Søimer

Opplag: 200

Forsidefoto:

Inger Anne Kvernød

ISSN: 1503-1403
ISBN: 978-82-8082-434-9 trykt utgave
ISBN: 978-82-8082-435-6 elektronisk utgave

Forord

Cyanobakteriene (tidligere kalt blågrønnalger) er en viktig organismegruppe som antakelig er blant de eldste på jorden. De var med på å forandre jordens atmosfære slik at det ble tilstrekkelig oksygen til at høyerestående dyr etter hvert kunne utvikle seg, og livet kunne bli slik vi kjenner det i dag. Selv om cyanobakteriene fortsatt har en viktig rolle i naturen, fokuseres det i dag gjerne mer på at cyanobakteriene kan skape problemer for vann i vassdrag og drikkevannsproduksjon. De kan opptre i masseforekomst slik at de setter sitt synlige preg på vannet (vannblomst), og de kan derved skape problemer med dårlige oksygenforhold i bunnvannet når oppblomstringen kollapser. Mange av cyanobakteriene kan produsere luktstoffer og/eller toksiner.

Instituttet ble først engasjert i problemstillinger omkring cyanobakterier da det i august/september 1976 skjedde en kraftig oppblomstring av *Oscillatoria bornetii* f. *tenuis* på 10 til 12 meters dyp i Mjøsa, og vannet fra Hamar vannverk fikk en kraftig jordaktig lukt, slik at mange vegret seg mot både å drikke det og å dusje. Den gangen konsentrerte instituttet seg om å finne vannbehandlingsmetoder som effektivt kunne fjerne lukten fra drikkevannet. Luktstoffet ble vist å være geosmin.

Avdeling for vannhygiene har nå i mer enn 30 år forsket på cyanobakterienes liv og levned, og utredet hvilken betydning de kan ha for drikkevann og badevann. I begynnelsen ble arbeidet mest rettet mot problemene de forårsaket med lukt og smak på vannet, siden ble det lagt mer vekt på forskningen omkring betydningen av toksinproduksjonen og hvilke forhold som påvirker den. Vi fant ut at tiden nå var inne til å presentere resultater av disse mer enn 30 år med forskning i en form som kan være tilgjengelig for alle. Rapporten er basert på egenforskning og på kunnskap ervervet fra andre forskningsmiljøer.

Oslo, november 2010

Geir Stene-Larsen
direktør

Innhold

Forord	3
1 Innledning.....	7
2 Cyanobakterier/cyanophyta/blågrønnalger	9
3 Spesielle egenskaper hos cyanobakterier.....	10
3.1 Lyshøstende pigmenter	10
3.2 Veksthemming ved høy lysintensitet	11
3.3 Energibalanse	12
3.4 Gassvakuoler	13
3.5 Anaerob fotosyntese	14
3.6 Akineter	14
3.7 Nitrogenfiksering	14
3.8 Evnen til å lagre næringsstoffer	14
4 Cyanobakteriedominans.....	15
4.1 Betydningen av lysklimaet	15
4.2 Veksthastighet som funksjon av temperatur, fosfor og nitrogen	16
4.3 Mekanismen bak en oppblomstring	17
4.4 Teorier for cyanobakteriedominans	19
5 Toksikologiske problemer og lukt-/smaksproblemer	22
5.1 Toksiske effekter	22
5.2 Lukt- og smaksproblemer	24
6 Cyanobakterietoksiner	25
6.1 Nevrotoksiner	25
6.1.1 Anatoksiner	25
6.1.1.1 Nedbrytning	26
6.1.2 Saksitoksin	26
6.1.2.1 Nedbrytning	26
6.2 Hepatotoksiner	26
6.2.1 Microcystin	26
6.2.1.1 Egenskaper	27
6.2.1.2 Nedbrytning	27
6.2.1.3 Karsinogenitet	28
6.2.1.4 Gentoksisitet	29
6.2.1.5 Grenseverdier	29
6.2.1.6 Behandling ved forgifning	30
6.2.1.7 Akkumulering i næringskjeden	30
6.2.2 Nodularin	30
6.2.2.1 Egenskaper	31
6.3 Andre toksiner	31
6.3.1 Microviridin	31
6.3.1.1 Egenskaper	32
6.3.1.2 Nedbrytning	32
6.3.2 Cylindrospermopsin	32
6.3.2.1 Egenskaper	33
6.3.3 Endotoksin	33
6.3.3.1 Egenskaper	33

7 Ikke karakteriserte toksiner	34
8 Faktorer som påvirker toksinproduksjonen i cyanobakterier	35
8.1 Microcystin	35
8.2 Anatoksin	38
8.3 Aphantoksin	38
9 Helseeffekter	39
9.1 Allergier og irritasjonsreaksjoner	39
9.2 Potensialet for humane forgiftninger	39
9.3 Effekten av subakutte konsentrasjoner	40
10 Innsamling av prøver til toksinanalyse	41
11 Vannbehandling	42
11.1 Filtrering	42
11.2 Lufting	42
11.3 Koagulering (kjemisk felling)	42
11.4 Koagulering/sandfiltrering	42
11.5 Aktivt kull-, ozon- og klorbehandling	43
12 En studie ved et norsk vannverk	44
13 Toksinproduserende cyanobakterieoppblomstringer i Norge	45
14 Potensiell bakteriologisk risiko knyttet til cyanobakterieoppblomstringer	48
15 Referanser	49

1 Innledning

"Kjært barn har mange navn". Dette er godt illustrert ved organismegruppen som går under navn som blågrønnalger, myxophyceae, cyanophyceae, cyanophyta, cyanoprokaryoter eller cyanobakterier. Dette er de navn som brukes eller har vært brukt (40) på de fotosyntetiske mikroorganismer som beskrives her. Denne tilsynelatende forvirringen i bruk av navn viser hvordan disse organismene har fulgt utviklingen av biologi som vitenskap, fra de tidligste observasjonene til botanikere (47) til omtalen i moderne lærebøker (2). Enkelte arter har også endret navn som for eksempel *Oscillatoria* som nå heter *Planktothrix*.

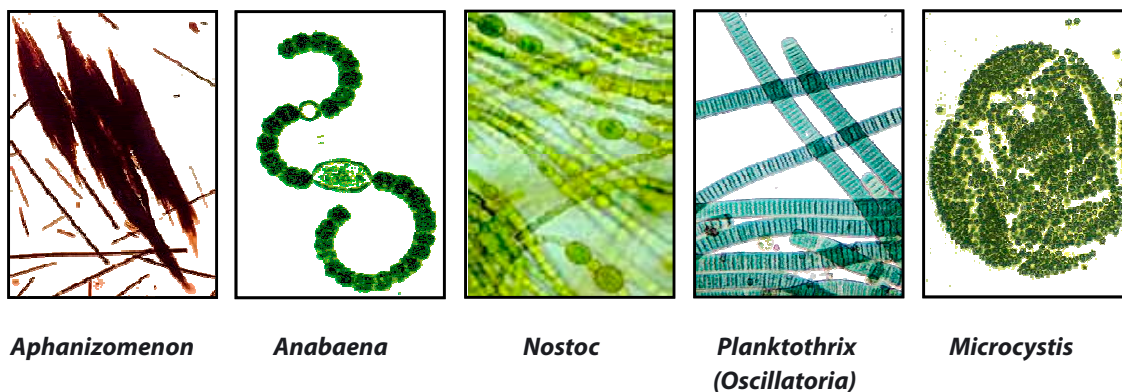
Kombinasjonen av algenes og bakterienes egenskaper, som disse organismene har, er en kilde til fascinasjon for mange forskere. Cyanobakteriene er blant de eldste nålevende organismene på jorden. Det er funnet mange fossiler av cyanobakterier som stammer fra tidlig prekambrium, de eldste fossilene er 3,6 milliarder år gamle. Prekambriumperioden er derfor ofte kalt "cyanobakterienes tidsalder" (40). Cyanobakteriene antas å ha fylt atmosfæren med oksygen (58). I dag finnes cyanobakteriene over hele kloden i miljøer som varierer fra vulkanske, varme kilder til arktisk jord, og ofte finnes de der ingen andre organismer kan vokse (40). De forekommer i vann med stor variasjon i saltholdighet, og vokser i jord og på stein, og lever i symbiose med mange andre organismer (26, 181). De trives best ved nøytral eller svakt basisk pH (104). Cyanobakterier har innvirkning på dagliglivet til mange mennesker (77), og de har økonomisk betydning (96). De er betydelige primærprodusenter med høy næringsverdi, men mange av dem kan produsere potente toksiner. Nitrogenfikserende arter bidrar til den globale nitrogengjødslingen av jord og vann.

Bruken av cyanobakterier har et lovende potensial i matproduksjon og til å omdanne solenergi til mer anvendbare energiformer (96).

Cyanobakterier kan være en betydelig pest og plage i mange situasjoner. Omfattende vekst av cyanobakterier i vannkilder skaper praktiske problemer for utnyttelsen av vannkilden. Utviklingen av arter som produserer flere potente toksiner, er vanlig i forurensede ferskvann, brakkvann og i noen kystnære farvann over hele kloden. Slike cyanobakterier, og toksinene de produserer, har ved flere anledninger ført til humane dødsfall og alvorlige helseproblemer (20). Mange cyanobakterier produserer toksiner som er potente hemmere av nerveimpulser (nevrotoksiner), eller toksiner som er leverødeleggende (hepatotoksiner). Nevrotoksiner og hepatotoksiner har ført til massedød av fugl, fisk, husdyr og flere dødsfall blant mennesker (20). Det er vist at noen cyanobakterier produserer en nevrotoksisk aminosyre, β -N-methylamino-L-alanine (BMAA), som muligens kan kobles til sykdommene Alzheimer, Parkinson og ALS (24). Alle cyanobakterier produserer lipopolysakkarider (LPS), som er en del av celleveggen. LPS kan utløse både allergiske og toksiske reaksjoner hos mennesker, men lite er kjent om de akutte og kroniske effektene (20).

Forbedring av vannkvaliteten for å hindre cyanobakterieoppblomstringer er en meget kostbar affære. Mjøsa-aksjonen på slutten av 1970-tallet skyldtes en oppblomstring av *Planktothrix* (den gang kalt *Oscillatoria*), som produserte to lukt- og smaksstoffer. Opprydningsarbeidet for å stoppe eutrofieringen av Mjøsa og hindre vekst av cyanobakterier kostet ca 1 milliard NOK. I 2006 regnet myndighetene med at det ville koste ca 300 000 kroner bare å utrede tiltak som kunne hindre videre eutrofieringen av Vannsjø og vekst av cyanobakterier der.

De viktigste produsentene av nevrotoksiner og/eller hepatotoksiner er *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Planktothrix* (tidl. *Oscillatoria*) og *Microcystis* (Fig. 1) som alle danner vannblomst (synlig masseforekomst) i norske vann.



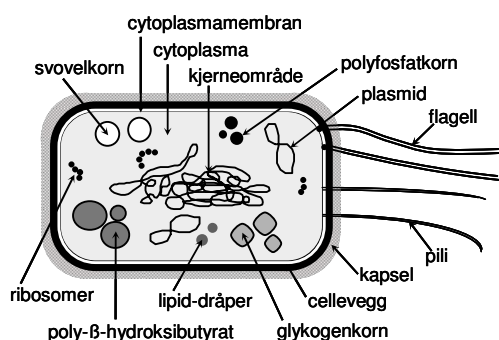
Figur 1. De viktigste nevro- og hepatotoksinproduserende artene i norske vann

Cyanobakterieoppblomstringer er et globalt fenomen som kan forårsake toksikologiske og estetiske problemer i drikkevannskilder og i vann brukt til rekreasjon.

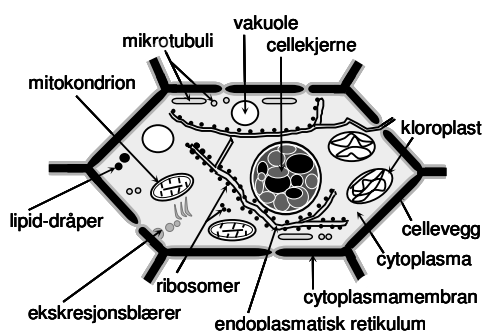
2 Cyanobakterier/cyanophyta/blågrønnalger

Cyanobakterier er fotosyntetiske mikroorganismer med mange navn, noe som kan være forvirrende. Organismegruppen, som tradisjonelt ble omtalt som blågrønnalger, ble på 1970-tallet vist å tilhøre bakteriene (eubakteriene), derfor beskrives de nå oftest som cyanobakterier eller cyanophyta (2, 146).

Den historiske årsaken til at organismegruppen ble beskrevet som alger er at de inneholder klorofyll-a, slik som høyere planter og alger, og ikke bakterieklorofyll som er karakteristisk for fotosyntetiske bakterier. Senere studier har imidlertid vist at "blågrønnalgene" har mange strukturelle og funksjonelle likheter med bakteriene. De har en enkel cellestruktur sammenlignet med alger og høyere planter, en såkalt prokaryot cellestruktur (Fig. 2A). Prokaryot cellestruktur er karakteristisk for alle bakterier, mens eukaryot cellestruktur kjennetegner høyere organismer (Fig. 2B).



Figur 2A. Prokaryot cellestruktur



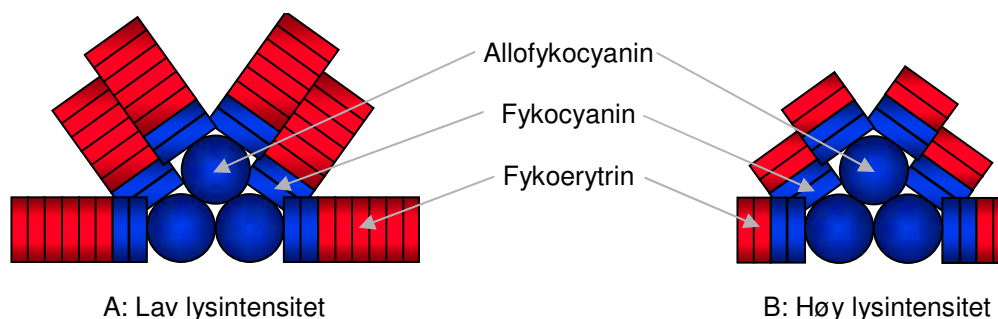
Figur 2B. Eukaryot cellestruktur

3 Spesielle egenskaper hos cyanobakterier

For å forstå forholdene/mekanismene som fører til cyanobakterieoppblomstringer, må en vite litt om cyanobakterienes spesielle egenskaper.

3.1 Lyshøstende pigmenter

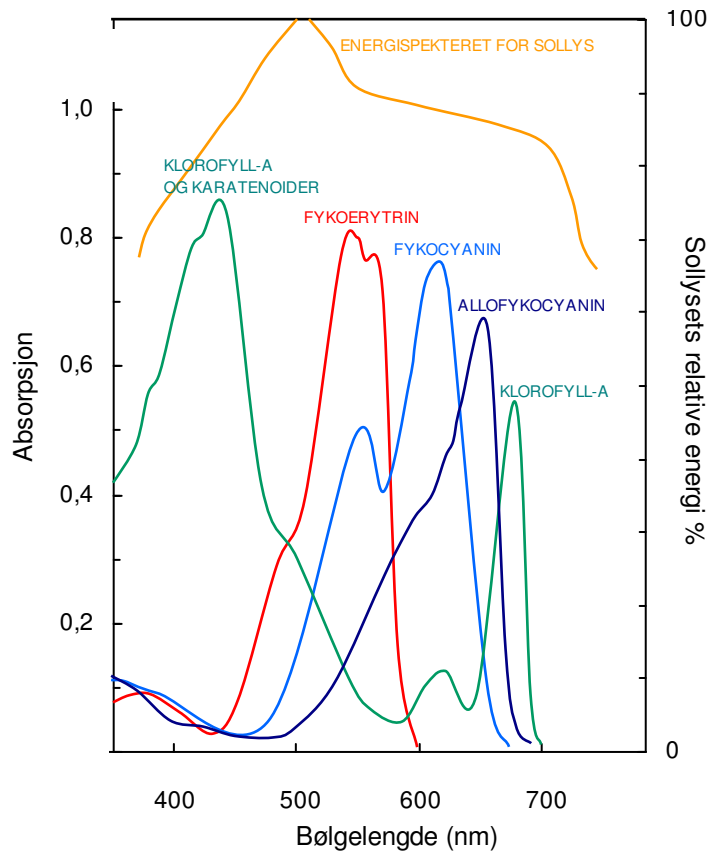
De viktigste lyshøstende pigmentene i cyanobakterier kalles fykobilisomer (Fig. 3).



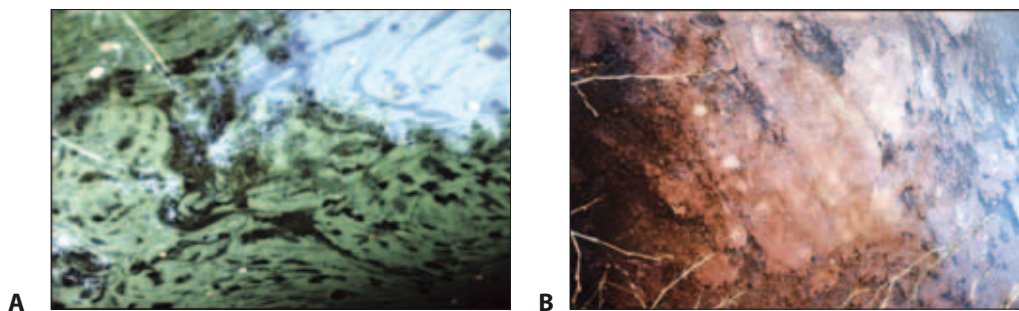
Figur 3. Fykobilisomoppbygging ved lav lysintensitet og høy lysintensitet

Fykobilisomer er bygget opp av lyshøstende fykobiliproteiner som omfatter allofycocyanin (blått), fykocyanin (blått) og fykoerytrin (rødt) (23). Disse pigmentene absorberer lysenergi og overfører denne energien med 100 % effektivitet til klorofyll, hvor energien omdannes til energirike forbindelser (ATP) som cellen kan bruke. Cyanobakterier som inneholder alle fykobiliproteinene, kan utnytte den grønne, gule og oransje delen av lysspekteret (500 til 650 nm) (Fig. 4). Denne delen av spekteret kan ikke utnyttes av andre fotosyntetiske organismer i ferskvann, derfor kan cyanobakteriene høste mer energi (fra lyset) enn de fytoplanktonartene som bare inneholder klorofyll og ikke fykobiliproteiner. Selv om de aller fleste cyanobakteriene bare inneholder fykocyanin og klorofyll, kan de utnytte en større del av sollyset enn de organismene de konkurrerer med (Fig. 4). Cyanobakterienes lyshøstende kapasitet fører til at de vokser bedre ved lave lysintensiteter enn konkurrentene. Cyanobakteriene er derfor bedre enn sine konkurrenter tilpasset et liv ved lave lysintensiteter, og de har ikke problemer med å leve i skyggen av andre fytoplanktonorganismer.

Alle cyanobakterier inneholder blått fykocyanin og grønt klorofyll. Det er blandingen av disse to pigmentene som gir de fleste cyanobakteriene den karakteristiske blågrønne fargen. Noen arter inneholder i tillegg fykoerytrin (rødt) og kan derfor utnytte grønt lys effektivt. Det grønne lyset trenger lengst ned i vannet. Flere av de cyanobakterieartene som inneholder alle tre fykobiliproteinene, kan endre forholdet mellom pigmentene i henhold til endringer i det tilgjengelige lysspekteret (komplementær kromatisk adaptasjon) (9, 152, 167). Avhengig av pigmentinnhold og forholdet mellom de forskjellige pigmentene kan fargen på cyanobakterier variere fra blågrønt til rødt, fiolett eller svart. Ikke alle cyanobakterier er derfor blågrønne (Fig. 5).



Figur 4. Absorpsjonsspekteret for de forskjellige pigmentene i cyanobakterier (46)



Figur 5. Oppblomstring av A: *Microcystis* og B: *Planktothrix rubescens*

3.2 Veksthemming ved høy lysintensitet

Mange cyanobakterier er utsatt for lange perioder med høy lysintensitet. Veksten av *Planktothrix agardhii* hemmes av kontinuerlig lys over $180 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$. Lang eksponering for en lysintensitet på $320 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ har vist seg å være dødelig for denne organismen (167), men når denne høye lysintensiteten ble gitt i intervaller av 8 timer lys per døgn, ble omtrent maksimal veksthastighet oppnådd (94). Til sammenligning er lysintensiteten i overflaten av et vann $700\text{--}1000 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ en sommerdag i Nederland (105).

Cyanobakterier som danner overflateoppblomstringer, synes å ha en stor toleranse for høye lysintensiteter. Dette skyldes en øket produksjon av karotenoider, som har en lysskjermende effekt (118). På den annen side kan kolonier av *Microcystis* og andre cyanobakterier, ved høy lysintensitet i overflaten, regulere egenvekten slik at de synker til et større dyp og lavere lysintensitet (68, 69). Cyanobakteriene kan også beskytte seg mot høye lysintensiteter ved å danne kolonier. Da vil cellene inne i kolonien være beskyttet av dem som ligger ytterst, og dessuten vil en koloni synke fortere enn enkeltceller (162).

3.3 Energibalanse

Cyanobakteriene har spesialisert seg på å leve ved lave lysintensiteter ved å utnytte lysenergien effektivt, i tillegg har de utviklet en gunstig cellulær energibalanse. Cyanobakteriene har en lav spesifikk hastighetskonstant for vedlikeholdsenergi (52, 168), dvs. at organismen bruker lite energi til å opprettholde cellenes funksjon og struktur. For cyanobakterier er denne konstanten i området $0,001 - 0,004 \text{ t}^{-1}$, mens den for grønnalger ligger mellom $0,007$ og $0,020 \text{ t}^{-1}$ (167). Dette fører til at cyanobakteriene kan bruke mer av den tilgjengelige energien til vekst enn konkurrentene.

Evnen til å utnytte lave lysintensiteter og til å regulere egenvekten fører jevnlig til undervannsoppblomstringer av rød *Planktothrix*. I Norge blir det fra enkelte sjøer ofte rapportert om oppblomstringer av denne cyanobakterien på 6-11 meters dyp, mens vannet i overflaten er rimelig klart.

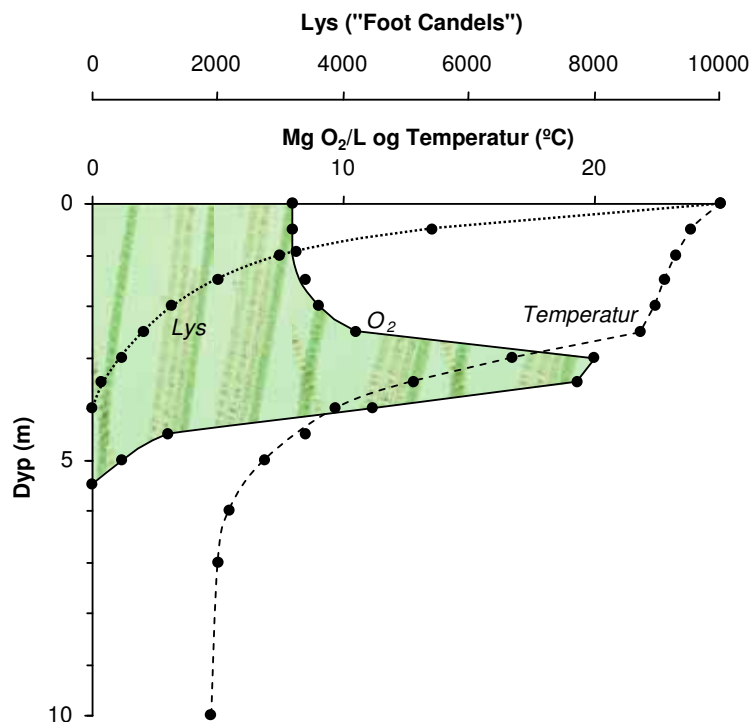
Cyanobakterienes evne til å vokse i de dypere vannlag (ved lave lysintensiteter), hvor andre fytoplanktonorganismer ikke kan vokse, ble tydelig demonstrert av Torsten Källqvist (NIVA) (85). Han viste at *Planktothrix* (tidl. og i tabellen *Oscillatoria*) i Gjersjøen vokste på 5 meters dyp (Tab. 1), mens andre fytoplanktonarter ikke vokste under 2 m i dette vannet. Selv på 2 m vokste *Planktothrix* raskere eller like raskt som arter den ble utkonkurrert av nærmere overflaten.

Tabell 1. Veksthastighet for noen fytoplanktonarter på forskjellige dyp i Gjersjøen, juli 1981 (85)

Dyp m	<i>Oscillatoria agardhii</i> gen/dag	<i>Astrionella formosa</i> gen/dag	<i>Diatoma elongata</i> gen/dag	<i>Synedra acus</i> gen/dag
1	0,52	1,04	1,54	0,67
2	0,54	0,42	0,82	0,54
3	0,63	0	0,55	0
4	0,33	0	0	0
5	0,17	0	0	0

At cyanobakterier er fotosyntetisk aktive (akkumulerer lysenergi) ved meget lave lysintensiteter ble også demonstrert av Baker *et al.* (5), som viste at *Planktothrix* (*Oscillatoria*) hadde størst fotosyntetisk aktivitet, målt som produksjon av O_2 , på dyp hvor lysintensiteten var tilnærmet lik null (Fig. 6). Grunnen til "undervannsoppblomstringer" skyldes nettopp cyanobakterienes evne til å utnytte lave lysintensiteter effektivt. Samtidig er næringstilgangen god i og rundt sprangsjiktet.

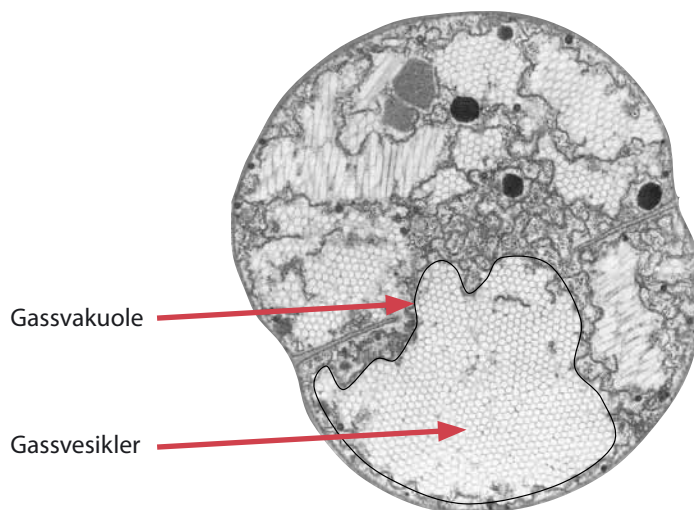
Det at lysforholdene i et vann er viktig for veksten av cyanobakterier, gjør at det er nødvendig å tenke nytt for å legge opp strategier for å unngå problemet med cyanobakterieoppblomstringer. En mulighet er å endre lysklimaet i et vann, slik at det ikke favoriserer cyanobakteriene, ved for eksempel å hindre veksten av andre fytoplanktonorganismer som legger forholdene til rette for cyanobakteriene. Med andre ord må forurensningstilførselen senkes slik at andre fytoplanktonarter ikke kan danne store populasjoner som cyanobakteriene kan leve i skyggen av. Et annet alternativ kan være å benytte mekaniske metoder for å skape sirkulasjon i vannet for å hindre cyanobakterier i å utvikle store populasjoner i nisjer hvor vekstvilkårene er gode.



Figur 6. Fotosyntetisk aktivitet (O_2 -utvikling) for *Oscillatoria agardii* på forskjellige dyp i innsjøen Istasea, Minnesota (5)

3.4 Gassvakuoler

De fleste planktoniske cyanobakteriene inneholder gassvakuoler (173). Gassvakuolene kan enkelt beskrives som "omvendte ballasttanker". "Ballasttankene" er bygget opp av små gassfylte strukturer (gassvesikler), slik at en gjennomskåret gassvakuole ligner på en gjennomskåret bikube (Fig. 7). Gassvesiklene består av et hydrofobt (vannavstøtende) proteinskall som gjør dem ugjennomtrengelige for vann, men gjennomtrengelige for gass. Gassvesiklene er derfor små gassbeholdere som gir organismen oppdrift. En gassvesikkel har en tetthet på rundt en tiendedel av vannets tetthet (174). Gassvakuolene hjelper til med å holde cyanobakteriene flytende, og hjelper cyanobakteriene i å stratifisere (samle seg i lag) på dyp med gunstige vekstforhold. Mengden gassvakuoler i cellene, og dermed flyteevenen, reguleres av lysintensiteten og tilgangen til næringsstoffer (162).



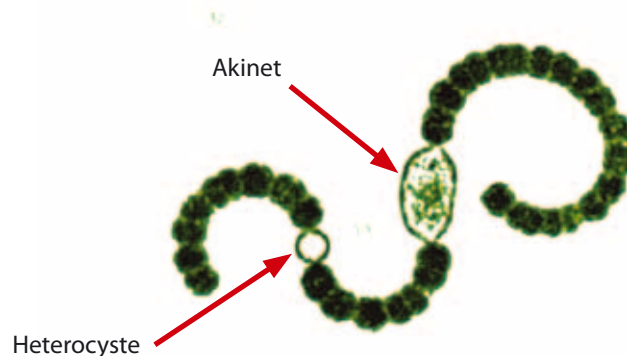
Figur 7. Cyanobakteriecelle med gassvakuoler og gassvesikler

3.5 Anaerob fotosyntese

En del cyanobakterier kan utføre bakteriefotosyntese i anaerobe (oksygenfrie) miljøer, dvs. at de kan bruke H_2S som elektrondonor i stedet for H_2O , og de danner da ikke O_2 i fotosyntesen (18). Da det trengs mindre energi for å spalte H_2S enn H_2O kan denne egenskapen være en fordel når disse cyanobakteriene skal overvintre på bunnen av et vann hvor lysintensiteten er meget lav og miljøet som regel er anaerobt. Dette sammen med det lave behovet for vedlikeholdsenergi kan resultere i at en større del av populasjonen overlever og danner et godt grunnlag for neste års utvikling av en oppblomstring.

3.6 Akineter

Når vekstvilkårene blir ugunstige kan noen cyanobakterier, som *Anabaena*, danne akineter (hvilestadier). Disse avlange, granulerte cellene (Fig. 8) kan overleve i lang tid i sedimenter, og spirer når vekstvilkårene blir gunstige (111).



Figur 8. *Anabaena* med akinet og heterocyste

3.7 Nitrogenfiksering

Noen cyanobakterier kan binde nitrogen under aerobe (oksygenholdige) forhold i spesielle celler som skjærer det nitrogenbindende enzymet nitrogenase mot oksygen. Disse spesialiserte cellene kalles heterocyster (Fig. 8) og er lett synlige i de artene hvor de forekommer. Cyanobakterier som *Anabaena* vil omdanne vegetative celler til heterocyster under nitrogenbegrensede betingelser. Siden heterocystene ikke kan vokse, dele seg eller tilbakedannes til vegetative celler, fører denne prosessen til tap av celler, men de resterende cellene får en mulighet til å overleve de ugunstige forholdene.

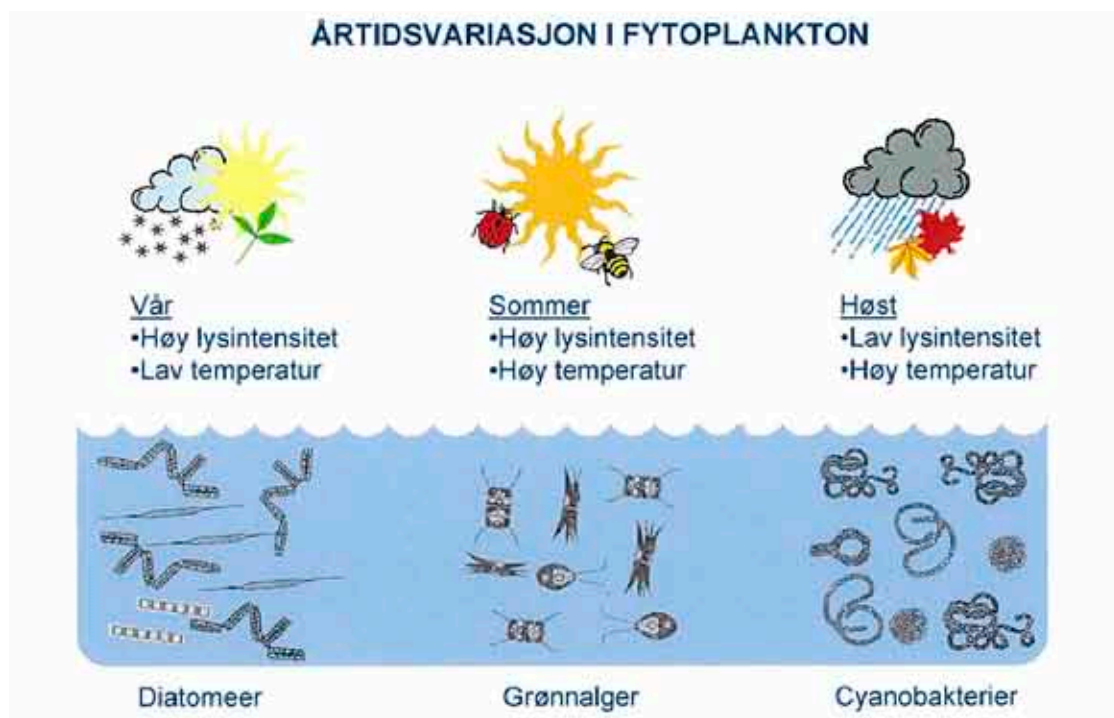
3.8 Evnen til å lagre næringsstoffer

Cyanobakterier er spesielt dyktige til å lagre fosfor. De kan lagre nok fosfor til å gjennomføre to eller tre delinger av celletallet (dvs. 4 til 8 gangers økning i biomasse), etter at alt fosfor er fjernet fra vannet. Mange dominerende cyanobakterier kan betraktes som "hamstrende" arter av næringskomponenter (N, P og C) (127, 144). Ved gunstige betingelser blir mer næring tatt opp enn det som trengs til veksten (luksusopptak). Disse reservene blir lagret og brukt når forholdene ikke er så gunstige (84).

4 Cyanobakteriedominans

4.1 Betydningen av lysklimaet

I de fleste vann hvor cyanobakterieoppblomstringer forekommer, er det en regelmessig rekkefølge av dominerende organismer gjennom vekstsesongen (Fig. 9). Generelt kan en si at diatomeer (kiselalger) dominerer om våren (april, mai) når lysintensiteten er høy og temperaturen er lav. Disse blir så etterfulgt av grønnalger om sommeren (juni, juli) når lysintensiteten fortsatt er høy og temperaturen er blitt høy. Cyanobakterier dominerer gjerne på sensommeren/høsten (august, september) når lysintensiteten er lavere og temperaturen fortsatt er høy. Det er kanskje disse sesongmessige variasjonene i lys og temperatur, sammen med næringskonsentrasjonene, som er de viktigste faktorene for hvilke fytoplanktonarter som blir dominerende.



Figur 9. Dominerende organismer gjennom vekstsesongen

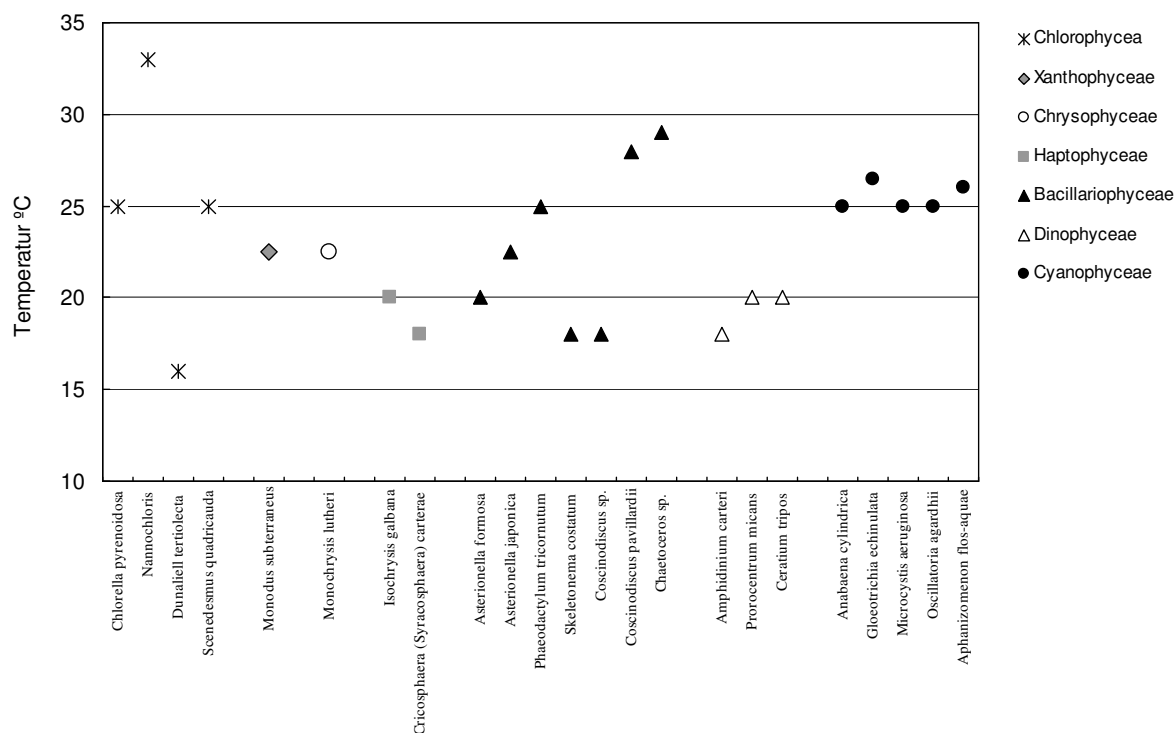
Pearsall (120) gjennomførte en studie av fytoplanktonsammensetningen i forhold til oppløst organisk materiale og konkluderte:

- Forekomsten av store mengder cyanobakterier falt sammen med høye konsentrasjoner av oppløst organisk materiale. En forklaring kan være at høy forekomst av oppløst organisk materiale fremmer veksten av heterotrofe bakterier som bryter ned det oppløste organiske materialet og danner CO_2 som er cyanobakterienes karbonkilde. Økningen i konsentrasjonen av CO_2 kan være årsaken til veksten av cyanobakteriene. En annen forklaring kan være at god vekst av andre mikroorganismer legger forholdene til rette for de lysskye cyanobakteriene ved å skjerme for det sterke sollyset, slik

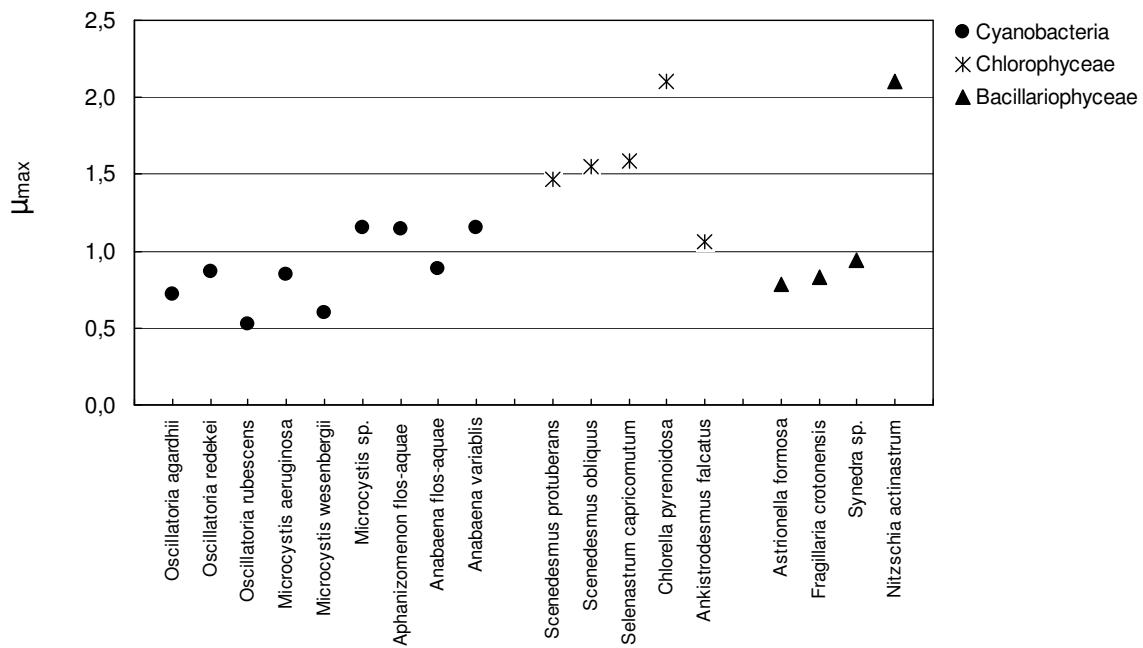
at lysforholdene i vannet blir optimale for vekst av cyanobakterier. På sensommeren og tidlig på høsten, når vanntemperaturen er relativt høy, sollyset er lavt og algeveksten har kulminert, kan forholdene være lagt til rette for utviklingen av cyanobakterieoppblomstringer. Selv om konsentrasjonen av næringsstoffer som nitrogen og fosfor kan være lav på denne tiden på grunn av algeveksten, tyder mange observasjoner på at cyanobakteriene vokser bra. Dette skyldes at cyanobakteriene lagrer nitrogen og fosfor når mye er tilgjengelig, for å bruke det ved lave ytre konsentrasjoner. De har dessuten et effektivt opptakssystem ved lave konsentrasjoner.

4.2 Veksthastighet som funksjon av temperatur, fosfor og nitrogen

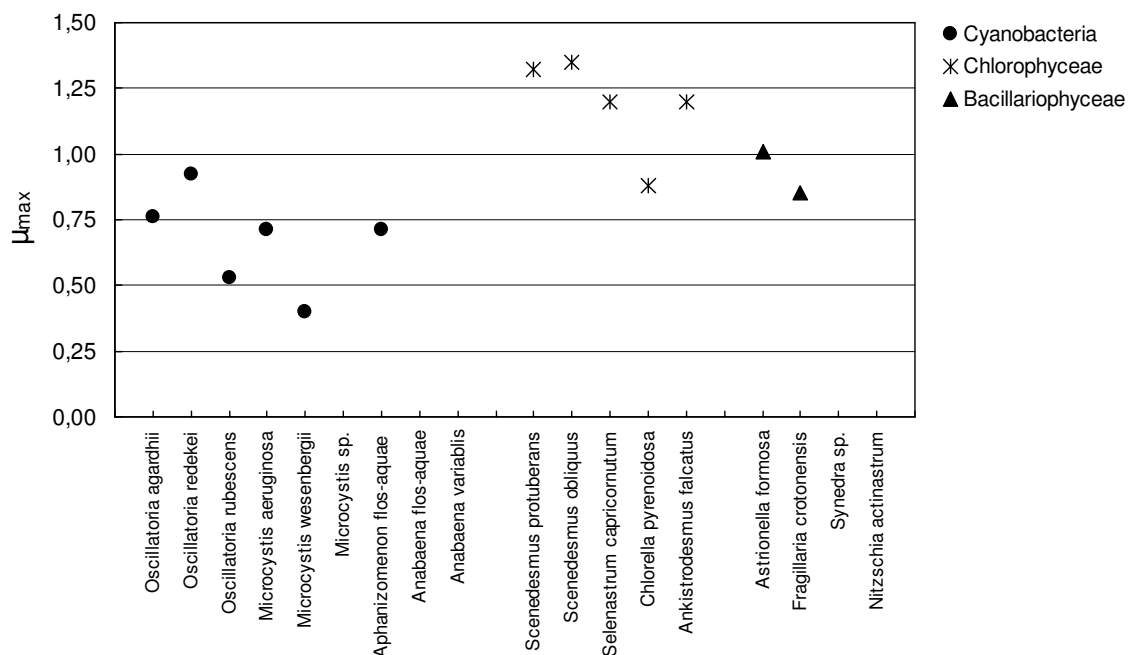
Veksthastigheten til cyanobakterier er som regel lavere enn for andre fytoplanktonarter. Dobblingshastigheten for de mest vanlige planktoniske cyanobakteriene, ved 20 °C og lysmetning, er 0,3-1,4 doblinger per dag, mens den for diatomeer er 0,8-1,9 og for encellede grønnealger 1,3-2,3 (134, 169). Optimal temperatur for vekst av cyanobakterier er noe høyere enn for de fleste konkurrentene (Fig. 10A). Ved P- eller N-begrensning (Fig. 10B, 10C) vokser cyanobakteriene saktere enn konkurrentene. Forskjellen i veksthastighet synes å være den samme ved begge begrensningene. Det er derfor god grunn til å anta at cyanobakteriene under de fleste forhold vil vokse saktere enn de fytoplanktonartene de konkurrerer med, fordi de generelt har lengre generasjonstider. Men for at cyanobakteriene skal bli dominerende, må det være noen forhold som gir cyanobakteriene en fordel. En strategi kan være at ved å vokse sakte har cyanobakteriene god anledning til å lagre næringsstoffer, i stedet for å forbruke næringsstoffer ved å vokse fort. Disse lagrene forbraker cyanobakteriene når næringstilgangen er dårlig, og de kan derfor vokse når de andre fytoplanktonartene blir hemmet av næringsmangel. Veksts sesongen vil da bli lengre, og siden temperaturen på sensommeren er gunstig for cyanobakteriene, blir cyanobakteriene dominerende på denne tiden fordi de da bruker opplagsnæring.



Figur 10A. Optimal temperatur for vekst av fytoplanktonorganismer



Figur 10B. Maksimal veksthastighet for fytoplanktonarter ved P-begrensning



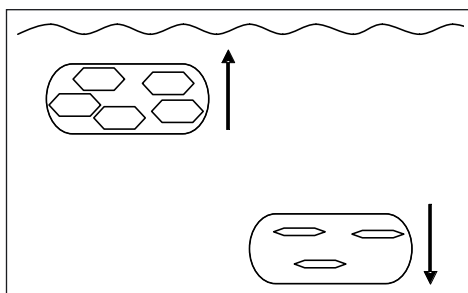
Figur 10C. Maksimal veksthastighet for fytoplanktonarter ved N-begrensning

4.3 Mekanismen bak en oppblomstring

En cyanobakterieoppblomstring er en kraftig økning av cyanobakteriebiomasse i overflaten som ikke kan forklares ved rask vekst, fordi generasjonstiden (doblingstiden) for cyanobakterier er lang. Fenomenet er styrt av gassvesikkelproduksjonen.

Mot slutten av vekstsesongen vil den generelle fytoplanktonveksten føre til at de cyanobakteriene som finnes i vannmassene, stiger til overflaten og samles der ved hjelp av økt gassvesikkelproduksjon på grunn av ugunstige lysforhold i de dypere vannlag. Resultatet er at cyanobakteriene samles i overflaten og danner en biofilm som kan være stabil i en lang periode. Når cyanobakteriene har behov for å synke, som ved for sterkt lys, øker cellenes turgortrykk (cellenes indre trykk mot celleveggen) og gassvaku-

lene klapper sammen (Fig. 11). Noen cyanobakterier kan akkumulere karbohydrat som resulterer i at cellene blir tyngre. Begge disse forholdene fører til at cyanobakteriene synker i vannsøylen (162). Når lysintensiteten avtar med dypet, vil turgortrykket avta, og produserte gassvesikler vil ikke klappe sammen. Senkningen i lysintensitet vil også føre til at organismen må bruke karbohydrater til energi-produksjon. Begge forholdene vil føre til at cellene blir lettere og stiger til overflaten igjen. Denne mekanismen gjør at en oppblomstring kan dannes og forsvinne i løpet av kort tid uten at vekst eller oppløsning av organismene er nødvendig.



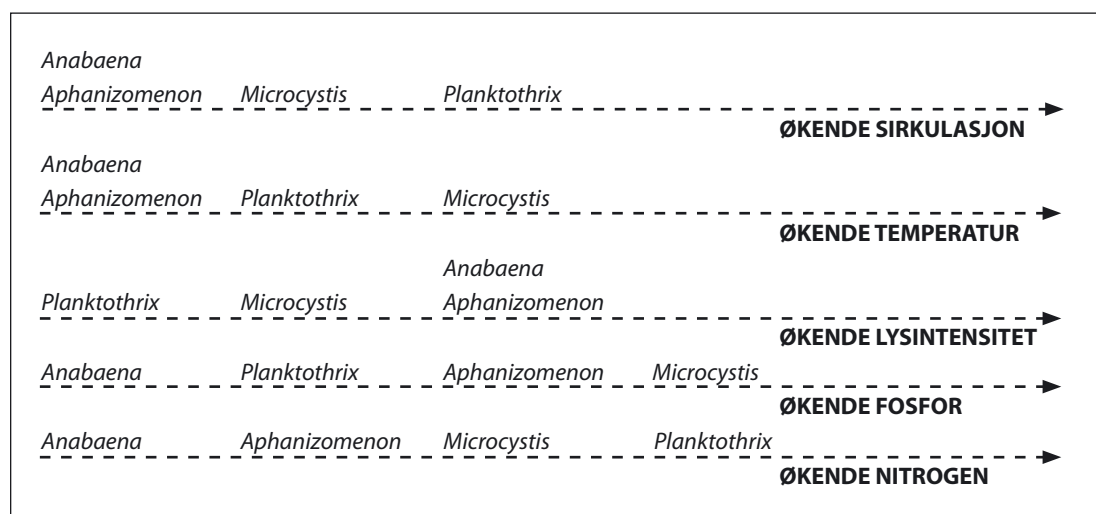
Figur 11. Cyanobakterier med mange gassvakuoler stiger mot overflaten. Cyanobakterier med få eller flatklemt gassvakuoler synker i vannsøylen

Dersom økt forurensning (eutrofiering) har resultert i god vekst av fytoplankton om våren og sommeren, legges forholdene til rette for cyanobakterieoppblomstring ved at intensitet og kvalitet på lyset i vannet endres. Under disse forholdene vil cyanobakteriene vokse godt i skyggen av de andre artene. Når vekstforholdene etter hvert blir ugunstige for cyanobakteriene i de dypere vannlag, vil cyanobakteriene stige til overflaten på grunn av økt gassvesikkelproduksjon og resultere i det som vanligvis kalles vannblomst.

Forurensningen (eutrofieringen) av vann blir da en indirekte årsak til cyanobakterieoppblomstringer, ved at forurensning fremmer vekst av andre organismer som legger forholdene til rette for masseutvikling av cyanobakterier.

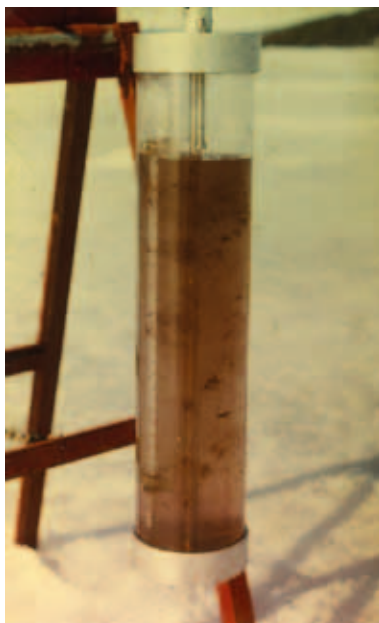
For å unngå cyanobakteriedominans må næringstilførselen senkes slik at veksten av andre fytoplanktonarter reduseres. Dette fører til økt lysinnstråling som hemmer cyanobakterievekst.

Det er trolig ingen enkel faktor som fører til cyanobakteriedominans. Cyanobakteriearter har forskjellige krav til temperatur, lys, næringstoffer og sirkulasjon som vist i figur 12.



Figur 12. Noen toksinproduserende cyanobakteriers innbyrdes suksesjon ved endringer i miljøfaktorer (183) (økende sirkulasjon = synkende sprangsjikt)

Cyanobakterieoppblomstringer forekommer sjelden i vinterhalvåret, men det har vært registrert oppblomstringer av *Oscillatoria* under tykt isdekke i Steinsfjorden (Fig. 13).



Figur 13. Oppblomstring av rød *Oscillatoria* under isen i Steinsfjorden
(foto: Olav Skulberg, NIVA)

4.4 Teorier for cyanobakteriedominans

Siden cyanobakterieoppblomstringer ofte ble observert i vann med høye konsentrasjoner av næringsstoffer (eutrofe vann), trodde en at disse organismene hadde et høyt krav til fosfor og nitrogen. Denne tanken har holdt seg til tross for at cyanobakteriene dominerer på den tiden av året da fosforkonsentrasjonen er lavest, og at cyanobakterieoppblomstringer også forekommer i næringsfattige (oligotrofe) vann.

Flere forhold kan ha betydning for disse observasjonene:

Fosfor kan fremdeles være tilgjengelig for cyanobakterier etter at vårveksten av alger har fjernet det den trenger.

Evnen til å lagre fosfor og nitrogen kan være en viktig årsak til cyanobakterienes dominans på sensommeren.

Jern (Fe) er et vanlig element i naturen som er viktig for veksten av organismesamfunn. Men Fe-forbindelser er som regel tungt løselige og lite tilgjengelig for fytoplankton-organismene, derfor er Fe ofte en begrensende faktor for veksten. Mange cyanobakterier kan (i likhet med andre bakterier) utnytte lave Fe-konsentrasjoner ved å skille ut forbindelser (chelatorer) som binder Fe og transporterer det inn i cellen. Cyanobakterienes evne til å produsere mange chelatorer kan være en fordel i konkurransen med andre fytoplanktonorganismer (108).

Alle organismer må ha nitrogen for å vokse. Cyanobakterier, som *Anabaena* og *Aphanizomenon*, kan skaffe seg nitrogen ved å fikse (binde) nitrogengass som er løst i vann. Når andre nitrogenkilder er begrenset, har disse cyanobakteriene en fordel. Dersom det er nok fosfor og jern vil disse cyanobakteriene kunne dominere i lange perioder.

Det er mulig at andre cyanobakterier kan fikse nitrogen under anaerobe forhold, men det finnes ingen bekræftelse på at dette skjer i åpent vann.

Et lavt forhold mellom tilgjengelig nitrogen (N) og fosfor (P) kan favorisere utviklingen av cyanobakterieoppblomstringer (142, 154), men det er også vist at cyanobakterier ikke alltid dominerer ved et lavt N/P-forhold (143). Cyanobakteriemengden synes å være bedre relatert til forurensningsnivå enn til et lavt N/P-forhold (123).

Generelt vokser cyanobakterier best ved relativt høy pH (7,5-9,0) (82). Dette har ført til en fokusering på karbonkravet til fytoplanktonorganismer. Karbon er nødvendig for å danne sukker ved hjelp av fotosyntesen, og for produksjon av aminosyrer. Karbon blir tatt opp som karbondioksid (CO_2) fra vannet og erstattet fra atmosfæren. Hvis det er en hurtig vekst av fotosyntetiske organismer i et vann, blir CO_2 fjernet raskere enn det blir erstattet. En nedgang i CO_2 -konsentrasjonen fører til pH-økning i bløtt vann (151). Men i hardt vann, som bufres av bikarbonat (HCO_3^-), vil CO_2 bli frigjort og føre til at mer karbon blir tilgjengelig samtidig som pH forblir stabil. Cyanobakteriene trives derfor godt i produktive bløte vann.

- Mange planktoniske alger spises av vannlopper, copopoder og protozoer. Cyanobakteriene spises kun av noen sjeldne ciliater og protozoer. Det at cyanobakteriene produserer toksiner kan være grunnen til dette.
- Cyanobakterier er utsatt for angrep fra sopp, bakterier og virus, men sammenbrudd av populasjoner på grunn av dette er ikke kjent fra naturlige oppblomstringer.
- Cyanobakterier kan regulere oppdriften og derved bli lettere enn vann, mens de fleste konkurrentene vil sedimentere. For å oppnå dominans er det viktig å unngå sedimentering og beiting.

En sammenstilling av resultater fra en rekke europeiske vann (også norske) med cyanobakteriedominans konkluderte med:

Fosfor: Lave fosforkonsentrasjoner (80 og 150 mg m^{-3}) er ingen garanti for å unngå cyanobakterieoppblomstring. I vann med god sirkulasjon synker sannsynligheten for en oppblomstring når totalfosfor er mellom 50 og 100 mg P m^{-3} . Men selv ved konsentrasjoner under 50 mg P m^{-3} kan cyanobakteriedominans ikke utelukkes (134).

I stratifiserte (lagdelte) vann kan *Planktothrix* dominere fytoplanktonpopulasjonen ved totalfosfor under 50 mg m^{-3} .

Nitrogen: Betydningen av nitrogen er som for fosfor og viser at selv ved 2,2 g N m^{-3} kan vannet være dominert av cyanobakterier. Cyanobakteriedominansen avtar for N-konsentrasjoner mellom 1,5 og 2,5 g N m^{-3} (134).

Flere hypoteser for å forklare cyanobakteriedominans i eutrofe innsjøer om sommeren har vært gjennomgått (117, 137, 147), og noen av hypotesene presenteres her:

Vanntemperatur: Maksimal veksthastighet for cyanobakterier oppnås ved høyere temperatur enn for grønnalger og diatomeer (Fig. 10A) (128). Dette kan forklare masseforekomsten av cyanobakterier på sensommeren.

Lysintensitet: Lave lysintensiteter, som forekommer i eutrofe, turbide vann, favoriserer vekst av cyanobakterier fordi disse organismene er tilpasset slike forhold. I konkurranseforsøk mellom *Scenedesmus* og *Planktothrix* er det vist at *Planktothrix* utkonkurrerte *Scenedesmus* ved lave lysintensiteter (106, 107). I et annet forsøk er det vist at både *Aphanizomenon* og *Planktothrix* har en høyere veksthastighet enn *Scenedesmus* ved lave lysintensiteter (187).

Egenvekt: Mange planktoniske cyanobakterier har gassvesikler som gir dem oppdrift. Kolonidannende cyanobakterier, som *Microcystis*, *Anabaena* og *Aphanizomenon*, har fordeler i en stabil vannsøyle der de kan konsentrere biomassen i de øvre lagene og derved øke den daglige lysdosen (69), samtidig som de unngår sedimentering. Dette gir dem en stor konkurransefordel fremfor ikke-egenvektregulerende planktonorganismer som har et høyt sedimentasjonstap i stabile vannsøyler. Stratifiserende

cyanobakterier, som *Planktothrix* og *Aphanizomenon*, kan samles på dyp hvor lysintensitet, lyskvalitet og næringskonsentrasjon gir god vekst (45). Egenvektsreguleringen gjør at organismene kan vandre mellom overflaten hvor lys og karbondioksid er tilgjengelig og til under epilimnion (det øverste vannlaget) hvor næringskomponentene er tilgjengelige (81).

Karbondioksid/pH: Mange cyanobakterier og mikroalger har et aktivt transportsystem for molekylært karbondioksid (CO_2) (101) og bikarbonat (HCO_3^-) (35, 97). Ved hjelp av enzymet karbonanhydrase blir bikarbonat omdannet til karbondioksid. Resultater tyder på at akkumulering av karbondioksid er mer effektivt i cyanobakterier enn andre fytoplanktonorganismer (97, 125). Dette gjør cyanobakteriene meget konkurransedyktige ved høy pH, som er karakteristisk for eutrofe vann. Forsøk i kulturer eller innhegninger har vist at cyanobakteriene utkonkurrerer de eukaryote algene ved høy pH og lav karbondioksid-konsentrasjon. Men det er også antydning at lav pH stimulerer cyanobakterievirus og dermed lysis (oppløsning) av cyanobakterier (78, 135, 136).

Fosforlager: Cyanobakteriene kan bygge opp fosforlagre når de oppholder seg nær sedimentene. Disse lagrene er nok til å gi vekst i den pelagiske (frittlevende) fasen og er en konkurransefordel i forhold til andre fytoplanktonorganismer (122).

Nitrogenkilde: På bakgrunn av innhegningsforsøk har Blomqvist *et al.* (8) funnet at nitrogenforbindelsen som er tilgjengelig, avgjør hvilken cyanobakterieart som blir dominerende. Ikke-nitrogenfikserende cyanobakterier ble favorisert ved ammonium-nitrogen. Dette ble også vist for *Planktothrix* i innhegninger (80). Nitrat-nitrogen favoriserer utviklingen av eukaryote fytoplanktonorganismer og nitrogenfikserende cyanobakterier.

Selv om N/P-forhold, lys, temperatur, egenvektsregulering og beiting kan spille en rolle for cyanobakteriedominans, så kan CO_2 -pH hypotesen alene forklare cyanobakteriedominans eller endringer i cyanobakteriedominans (137). Cyanobakteriedominans er trolig ikke et resultat av en faktor, men heller et resultat av et samspill mellom flere faktorer (8, 170). Flere kortvarige og vedvarende forhold må studeres samtidig når hypoteser skal sammenlignes for å komme frem til en forklaring på hvorfor cyanobakterier dominerer i et spesielt vann.

Konklusjonen blir at det ikke er en entydig forklaring på hvorfor cyanobakterier dominerer vann og vassdrag i så stor grad som de gjør, og at fenomenet globalt øker i omfang. All erfaring tyder på at den økende forurensningen av vannkildene er den viktigste årsaken til utviklingen av dette problemet. Klimaendringer vil også kunne bidra til utviklingen av cyanobakterieoppblomstringer og de toksikologiske og estetiske problemene som oppstår som følge av oppblomstringene.

5 Toksikologiske problemer og lukt-/smaksproblemer

5.1 Toksiske effekter

Cyanobakterier produser hundretalls peptider eller peptidmetabolitter, og flere av disse er potente toksiner (Tab. 2A) (180). De produserer også flere toksiske alkaloider (Tab. 2B).

Tabell 2A. Klasser av peptidtoksiner som produseres av ulike cyanobakterier

Peptidtoksinklasser	Peptidtoksin-varianter	Produsenter
Aeruginosiner	27	<i>Microcystis, Planktothrix, Nodularia</i>
Microgininer	38	<i>Microcystis, Planktothrix, Nostoc</i>
Anabaenopeptiner	32	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Microcystis, Planktothrix, Plectonema, Nodularia, Schizothrix</i>
Cyanopeptoliner	82	<i>Anabaena, Dolabella, Lyngbya, Microcystis, Planktothrix, Scytonema, Symploca</i>
Microcystiner/nodulariner	89	<i>Anabaena, Hapalosiphon, Microcystis, Nodularia, Nostoc, Planktothrix</i>
Microveridiner	10	<i>Microcystis, Planktothrix, Nostoc</i>
Cyclamider	21	<i>Lyngbya, Microcystis, Nostoc, Planktothrix, Stigonema, Westelliopsis</i>

Tabell 2B. Toksiske alkaloider som produseres av cyanobakterier

Alkaloider	Virkesteder	Produsenter
Anatoksin-a	Nervesynapser	<i>Anabaena, Planktothrix</i>
Anatoksin-a(s)	Nervesynapser	<i>Anabaena</i>
Aplysiatoksin-a	Hud	<i>Lyngbya, Schizothrix, Planktothrix</i>
Cylindrospermopsin	Lever	<i>Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Lyngbyatoksin-a	Hud, mage-/tarmsystemet	<i>Lyngbya</i>
Saxitoksiner	Nerveaxoner	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Lyngbya, Cylindrospermopsis</i>

De best studerte cyanobakterietoksinene er hepatotoksinene og nevrotoksinene. Men det er kun hepatotoksinet microcystin som er karakterisert godt nok til at det har vært mulig å sette en grenseverdi for forekomsten i drikkevann (20). Cyanobakteriene produserer endotoksiner (lipopolysakkarider, LPS), men problemer knyttet til LPS i forbindelse med oppblomstringer har fått liten oppmerksomhet. Det er også vist at cyanobakteriene kan resultere i allergiske reaksjoner (62).

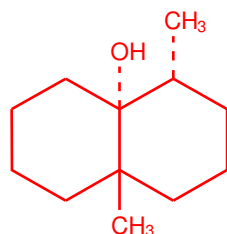
Tabell 3 viser en oversikt over sykdom forbundet med cyanobakterieoppblomstringer.

Tabell 3. Rapporterte tilfeller av sykdom assosiert med cyanobakterie-eksponeringer

Årstall	Sted	Cyanobakterier Involvert	Eksponeringskilde	Oppsummering	Referanser
1930-1931	Charleston og andre småbyer i Virginia USA	Ukjente arter	elver, drikkevann	9 000 av 60 000 innbyggere i Charleston fikk akutt gastroenteritt i en to ukers periode	171 155
1959	Saskatchewan, Canada	<i>Anabaena</i>	innsjøer, vannkontakt	12 personer med akutt gastroenteritt-symptomer, døde dyr	27
1975	Allegheny, Pennsylvania, USA	<i>Schizothrix</i>	åpen drikkevannskilde	62 % av 8 000 innbyggere fikk akutt gastroenteritt	92 150
1979	Palm Island, Australia	<i>Cylindrospermopsis</i>	åpen drikkevannskilde	139 barn og 10 voksne med ubehag, anoreksi, oppkast, ømme lever, hodepine, magesmerter	12 10 60
1980-1981	Lokaliteter i Pennsylvania og Nevada, USA	<i>Anabaena</i> og <i>Aphanizomenon</i>	innsjøer, bading og vannkisport	over 100 personer med øye- og hudirritasjoner, øreverk, høy feber og akutt gastroenteritt	16
1989	Staffordshire, UK	<i>Microcystis</i>	kanopadling med 360 ° ruller og bading	2 tilfeller av lungebetennelse, 16 med sår hals, hodepine, tørrhoste, diaré, oppkast og blemmer i munnen	158 89
1991	Alexandrina-sjøen og Meadows, Australia	<i>Nodularia</i> og <i>Microcystis</i>	vannkontakt	5 voksne og 3 barn med sår hud, såre øyne, sår hals, høyfeber og astma	145
	Elven Murray og byer i Australia	<i>Anabaena</i>	elvevann, regnvanns-/drikkevannstanker og vannkontakt	24 tilfeller, 1-64 år, med hudsystemiske og multiple symptomer	31
1993-1994	Haimen, Kina	<i>Oscillatoria</i>	elver, dype og grunne brønner, drikkevann	sammenheng mellom primær leverkreft og microcystin i drikkevann	159
1996	Rio de Janeiro, Brasil	<i>Microcystis</i>	dialysevæske som inneholdt microcystin	over 45 pasienter døde	20

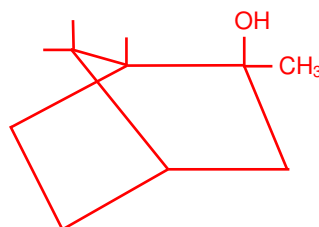
5.2 Lukt- og smaksproblemer

Cyanobakterier skaper også estetiske problemer, fordi mange arter kan produsere lukt- og smaksstoffer. De mest kjente forbindelsene er geosmin og metylisoborneol (2-MIB) (Fig. 14), som har en lukterskel på under 10 ng/l (95). Den lukten de fleste assosierer med disse forbindelsene, er jord eller kamfer.



Geosmin

Luktgrense 4 ng/L



Metylisoborneol

Luktgrense 9 ng/L

Figur 14. Geosmin og metylisoborneol

Dette er forbindelser som fører til negative reaksjoner hos de fleste drikkevannskonsumenterne. Forbindelsene er ikke giftige, men setter også lukt og smak på fisk som lever i vann hvor luktkomponentene forekommer. Melk og egg vil lukte og smake geosmin eller metylisoborneol dersom dyrene blir tilført disse forbindelsene med drikkevannet.

Cyanobakteriene som er kjent for å produsere geosmin, er *Anabaena*, *Planktothrix*, *Phormidium*, *Schizothrix* og *Symploca* (121). Alle disse (unntatt *Symploca*) er kjent som toksinproduserende arter. På grunn av dette er det undersøkt om lukt/smak kan brukes som en tidlig indikasjon på toksinproduserende cyanobakterier, men en oppsummering av en litteraturstudie over sammenhengen mellom toksin- og lukt-/smaksproduksjon konkluderer med at det ikke er en sammenheng (20).

6 Cyanobakterietoksiner

Cyanobakterieoppblomstringer i eutrofe ferskvannskilder forringer vannkvaliteten drastisk, blant annet fordi mange cyanobakteriearter produserer toksiner og/eller lukt-/smakstoffer. Toksinene har ført til humane forgiftninger og dødsfall (72), mens lukt-/smaksproblemer har resultert i omfattende og kostbare tiltak for å forbedre situasjonen. Derfor har Verdens helseorganisasjon (WHO) og Environmental Protection Agency i USA (US EPA) uttrykt bekymring for utbredelsen og alvorligheten av cyanobakterieoppblomstringer. De toksinene som er best studert og som oftest rapporteres, er en gruppe peptider (microcystiner, ca 90 varianter) som resulterer i leverskader (17) og som er mistenkte tumorpromotorer (185, 186). I tillegg påvises ofte en gruppe svært potente nevrotoksiske alkaloider (anatoksiner, ca 10 varianter) i cyanobakterier. I Norge har oppblomstringer med disse toksinene vært påvist (140).

6.1 Nevrotoksiner

Cyanobakteriene produserer en gruppe alkaloider som blokkerer nerveimpulser. Disse alkaloidene kalles anatoksiner etter cyanobakteriearten *Anabaena*. Det er også vist at cyanobakterier produserer saksitoksin, en forbindelse som er et velkjent nevrotoksin fra det marine miljøet.

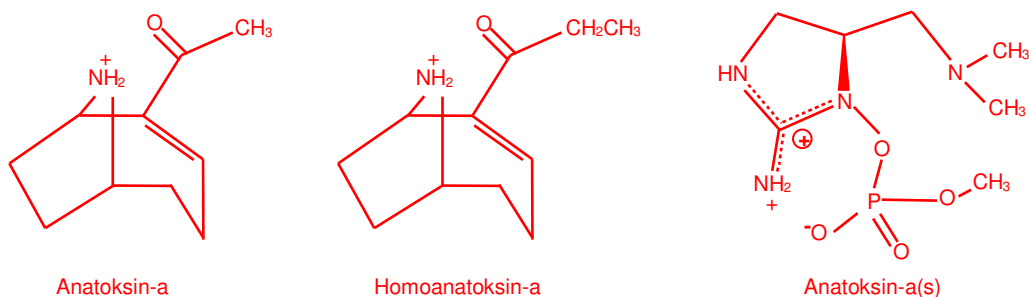
6.1.1 Anatoksiner

To anatoksiner er godt beskrevet:

Anatoksin-a (Fig. 15) er et bisyklisk sekundært amin med samme virkemekanisme som acetylcholin, den naturlige signalsubstansen for overføring av nerveimpulser fra en nervetråd til den neste. Denne signalsubstansen fører til en stimulering av muskelkontraksjonen, men i motsetning til acetylcholin fjernes ikke anatoksin-a. Dette toksinet fører derfor til en konstant kontraksjon av muskelen, som utmattes og paralyseres. Anatoksin-a produseres av *Anabaena*, *Planktothrix* og *Aphanizomenon*. En variant av anatoksin-a, kalt homoanatoksin-a (Fig. 15), produseres av *Planktothrix*.

Anatoksin-a(s) (Fig. 15) hemmer enzymet cholinesterase som fjerner acetylcholin. Derfor fører dette toksinet også til konstant muskelkontraksjon og paralyse. Anatoksin-a(s) produseres av *Anabaena*.

Anatoksin-a og anatoksin-a(s) resulterer i symptomer som krampe, redusert bevegelighet, gispende åndedrett, cyanose (blålig farge på grunn av lavt oksygeninnhold i blodet) og død. Nevromuskulær blokkering av åndedrettsmuskulaturen er den mest sannsynlige dødsårsaken.



Figur 15. Strukturformlene for anatoksin-a, homoanatoksin-a og anatoksin-a(s)

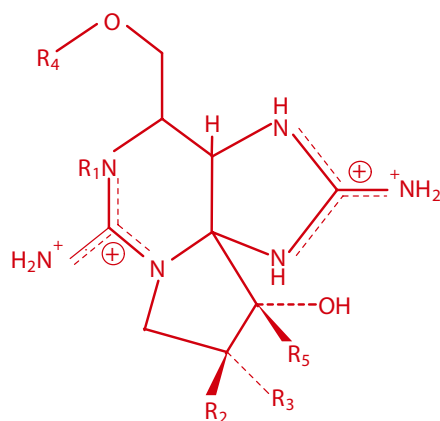
6.1.1.1 Nedbrytning

Anatoksin-a er relativt stabilt i mørke, men i ren løsning skjer en rask degradering i sollys. Nedbrytningen økes under basiske forhold (148). Halveringstiden for fotokjemisk nedbrytning er 1-2 timer.

Anatoksin-a(s) nedbrytes raskt i basiske løsninger, men er relativt stabil i nøytral eller sur løsning (98).

6.1.2 Saksitoksin

Saksitoksin (Fig. 16) resulterer i en omfattende blokkering av natriumionekanalene i nervemembranen. Dette påvirker impulsdannelsen i de perifere nervene og skjelettmuskulaturen (19). Resultatet av dette er paralyse, nedsatt respirasjon eller respirasjonsstans. Saksitoksin produseres av cyanobakteriene *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Lyngbya* og *Cylindrospermopsis*. Den mest omfattende forgiftningsepisoden med saksitoksin skjedde sommeren 1990 i Australia. En oppblomstring av *Anabaena circinalis* førte til at tusenvis av husdyr omkom, og drikkevannet til flere byer ble forurensset med dette toksinet (67).



Figur 16. Generell strukturformel for saksitoksin

6.1.2.1 Nedbrytning

Saksitoksinene gjennomgår en sakte hydrolyse i mørke, med en halveringstid på 1-10 uker (75). Hydrolysen fører blant annet til dannelse av decarbamyl-gonyatoksin som er mer toksisk (10-100 x) enn saksitoksin. Det er vist at for en oppblomstring av *Anabaena circinalis*, som produserte saksitoksin, økte toksisiteten over en periode på 1-2 uker fordi decarbamyl-gonyatoksin ble dannet (110).

6.2 Hepatotoksiner

To grupper hepatotoksiner, microcystin og nodularin, er isolert fra cyanobakterier.

6.2.1 Microcystin

Microcystin er et lite syklisk peptid med molekylvekt rundt 1000 dalton (Fig. 17). Peptidet har fått navn etter cyanobakteriearten *Microcystis*. Det er siden vist at denne typen toksiner produseres av flere cyanobakterier som *Anabaena*, *Planktothrix* og *Gomphosphaeria*.

Ca. 90 varianter av dette toksinet er kjent (180), og toksisiteten til de forskjellige varierer sterkt (se microcystin-LR og microcystin-RR, Tab. 4). Den generelle strukturen for microcystinene er:

(-D-Ala-X-D-MeAsp-Y-Adda-D-Glu-Mdha-)

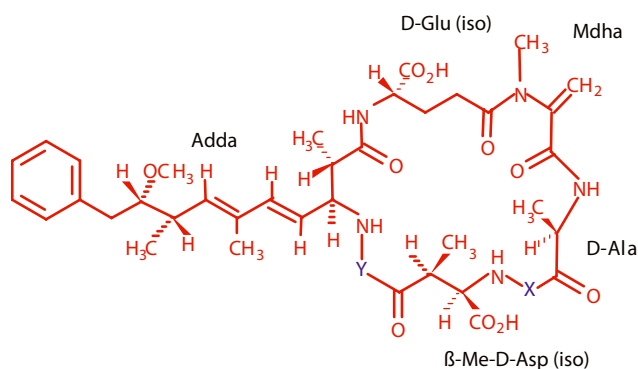
hvor:

X og Y er variable aminosyrer,

D-MeAsp er D-erythro-β-methylaspartatsyre,

Adda er 3-amino-9-methoxy-10-phenyl-2,6,8-trimethyl-deca-4,6-dienoicysyre

Mdha er N-methyldehydroalanin.



Figur 17. Strukturformel for microcystin

Tabell 4. Toksisiteten for en del biologisk produserte toksiner testet ved i.p. i mus og rotter

TOKSIN	LD ₅₀ µg/kg kroppsvekt
Botulinum toksin a	0,00003
Tetanus toksin	0,0001
Saksitoksin*	9
Nodularin*	30-50
Microcystin-LR*	50
Anatoksin-a*	200
Microcystin-RR*	300-600
Curare	500
Muscarin	1100
Microcystin (epimer)*	1200

* toksiner som produseres av cyanobakterier

Interperitonealt (i.p.) dvs. sprøytet direkte inn i bukhulen. LD₅₀ er den dosen som dreper 50 % av testdyrene i et dyreforsøk.

6.2.1.1 Egenskaper

Fosfatasene er viktige for utviklingen av celler. Microcystinene er fosfatasehemmere, dvs. at de hemmer fjerning av fosfor fra aminosyrer og proteiner.

Levercellene er spesielt utsatt for disse toksinene fordi microcystin raskt tas opp i galletransportsystemet og transporteres til leveren hvor levercellene har et spesifikt opptakssystem for microcystiner. Når toksinet kommer inn i cellene, fører det til celledød (apoptose). Leverskadene og at blod ikke transporteres videre fra leveren, er dødelig. Dødsårsaken er sirkulatorisk sjokk.

Ved å gi radioaktivt microcystin til mus ble det vist at toksinet raskt fjernes fra plasma med en halveringstid på 0,8 minutter, og etter 60 minutter inneholdt leveren 76 %, urin 9 % og avføringen 14 % av det tilsatte toksinet (129, 130). Dette tyder på at toksinet ikke akkumuleres i muskulaturen. En kan derfor anta at fugl og fisk som lever i vann med cyanobakterieoppblomstringer, og som er friske når de fanges, kan konsumeres dersom en unngår leveren.

6.2.1.2 Nedbrytning

Microcystinene er stabile molekyler som tåler koking, men degraderes etter behandling med sterk syre (73). Biologisk nedbrytning av microcystin er påvist. Ved å tilsette microcystin-LR til en rekke forskjellige overflatevann begynte nedbrytningen etter 2-21 dager (57). Når nedbrytningen først hadde startet, var det etter 3-4 dager bare 5 % igjen av den opprinnelige konsentrasjonen. Når microcystin på nytt ble tilsatt vannet, hvor nedbrytningen var indusert tidligere, førte dette til en umiddelbar nedbrytning

av toksinene. Dette skyldes microcystinnedbrytende bakterier som ble aktivert ved første tilførsel av toksinet. Andre har funnet at microcystinnedbrytningen startet etter 10-20 dager (73). Det er også vist at en ren microcystinløsning ikke nedbrytes av sollys, men etter tilsetning av vannløslige pigmenter (fra cyanobakterier) var 90 % av toksinene brutt ned etter ca. 13 dager (157). Nedbrytningshastigheten økte med økende mengde pigmenter. Disse resultatene viser at det må være en betydelig nedbrytning av microcystiner i en cyanobakterieoppblomstring som går i oppløsning, på grunn av bakterieaktivitet og fotokjemiske forhold. Resultatene fra laboratorieforsøk tyder på at tilnærmet all microcystin vil være nedbrutt ca. 21 dager etter at en oppblomstring har gått i oppløsning.

Tørket cyanobakteriemateriale, som lå langs vannkanten, beholdt høy toksisitet i 5-6 måneder etter at det ble skyllet på land og tørket (74).

6.2.1.3 Karsinogenitet

To grupper forbindelser er knyttet til kreftutvikling, tumorinitiatorer som kan starte en kreftutvikling og tumorpromotorer som kan akselerere utviklingen av kreft, men de kan ikke starte en kreftutvikling.

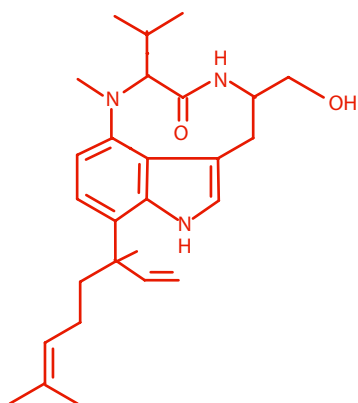
Binding eller fjerning av fosfor i proteiner eller aminosyrer er viktige prosesser i en celledeling. Fjerningen av fosfor fra disse forbindelsene skjer ved hjelp av et enzym som kalles fosfatase. Det er vist at meget lave konsentrasjoner av microcystin hemmer fosfatasen (184). Microcystinforgiftning fører derfor til en dramatisk økning i fosforholdige proteiner. Det er antatt at en økning i mengden fosforylerte (fosforholdige) proteiner fører til en ødeleggelse av celledetallet, og dermed til celledeforring og vevsødeleggelsen.

Hyperfosforylering av cellenes cytoskjelett kan også føre til en økning av antallet mitoser (36). Mitosen er en prosess som styrer celledelingen. En økning i antall mitoser resulterer i en akselererende celledeling som er et tegn på kreftutvikling. Dette har ført til mange studier for å avklare om microcystin er en tumorinitiator eller en tumorpromotor. Flere av disse studiene konkluderer med at microcystin er en tumorpromotor, men det er også vist at microcystin kan være en tumorinitiator (20).

I en studie med 80 mus ble halvparten påført 500 µg av kreftinitiatoren dimethylbenzanthracen (DMBA) på ryggen. En uke etter denne behandlingen ble musene delt i 2 grupper. Kontrollgruppen uten DMBA fikk samme behandling som musene påført kreftinitiatoren DMBA. Halvparten av musene i hver gruppe fikk oralt tilført rent vann, den andre halvparten fikk cyanobakterieekstrakt med microcystin oralt. Etter 52 dager hadde musene i kontrollgruppen ikke utviklet kreftsvulster, mens musene som hadde blitt påført kreftinitiatoren DMBA hadde utviklet svulster på ryggen. Musene som var blitt behandlet med cyanobakterieekstrakt med microcystin hadde utviklet 6,5 ganger større svulster, målt i vekt, enn musene som kun var tilført vann. Studien konkluderer med at microcystin fungerer som en tumorpromotor ved oralt inntak (36).

I et annet forsøk ble mus tilført 20 µg microcystin-LR per kg kroppsvekt interperitonealt 100 ganger i løpet av 28 uker. Da musene ble avlivet, ble svulster på opptil 5 millimeter i diameter funnet i leveren hos alle musene uten bruk av en initiator. I det samme forsøket ble en gruppe mus tilført 80 µg microcystin per kg kroppsvekt oralt 100 ganger i løpet av den samme perioden. Det ble ikke observert svulster på leveren til disse musene (71). Denne studien tyder på at langvarig oralt tilført microcystin ikke initierer svulster, selv om langvarig interperitonealt tilført microcystin er vist å resultere i svulster.

Lyngbya majuskula er en annen cyanobakterie som produserer tumorpromotorer. Kontakt med denne organismen resulterer i hudirritasjon. Organismen produserer lyngbyatoksin A (Fig. 18), aplysiatoksin og debromoaplysiatoksin, som alle er vist å være potente tumorpromotorer (42).



Figur 18. Strukturformel for lyngbyatoksin A

Microcystins tumorpromoverende potensial er gjennomgått og diskutert av Fujiki *et al.* (43). De sammenlignet strukturen og virkemåten til dette cyanobakterietoksinet med okadinsyre, et potent tumorpromoverende toksin som blant annet produseres av dinoflagellater. Okadinsyre har vært nøye studert over lang tid, og microcystin er funnet å være svært likt dette toksinet. Likheten med okadinsyre tyder på at virkemåten til microcystin er den samme som for okadinsyre. Som okadinsyre hemmer microcystin fosfatase-1 og -2A. I tottrinnsmodellen til Fujiki *et al.* (43) fører hemming av fosfatasen til en økning av fosforbinding til tumorhemmende proteiner. Dette resulterer i akselerert tumorutvikling, fordi de tumorhemmende proteinene ikke fungerer som de skal, når fosfat er bundet til disse.

En epidemiologisk studie i det sydøstlige Kina av høy forekomst av primær leverkreft (PLK), viste en høy korrelasjon mellom PLK og det å bruke dammer eller kanaler med cyanobakterieoppblomstringer som drikkevannskilder. Det ble funnet at kildene inneholdt microcystinkonsentrasjoner fra 62 til 469 µg/ml. Funnene støtter hypotesen om at microcystin i drikkevannet kan være en av faktorene som resulterte i den høye forekomsten av PLK i Kina (159).

**En rekke forsøk viser at microcystin er en *tumorpromotor*.
Noen resultater tyder på at microcystin kan være en *tumorinitiator*.**

6.2.1.4 Gentoksisitet

Microcystin-LR er vist å ha gentoksiske effekter. Toksinet fører til oppdeling og nedbrytning av DNA. Studier har vist at graden av oppdeling er avhengig av microcystinkonsentrasjonen (87).

6.2.1.5 Grenseverdier

I Australia er det fastsatt foreløpige retningslinjer for mengden microcystin i drikkevann. Den er basert på forsøk hvor mus ble tilført subakutte microcystinkonsentrasjoner oralt over ett år, samt et oralt toksisitetstestforsøk med microcystininneholdende *Microcystis* gitt til griser over en periode på åtte uker. Ved å legge til sikkerhetsfaktorer kom en frem til en foreløpig retningslinje for microcystin i drikkevann på maksimum 1 µg microcystin per liter for en person på 60 kg som drikker 2 liter per dag (38). Den kinesiske undersøkelsen, som også tar hensyn til tumorpromoveringen av microcystin, konkluderer med en grenseverdi for microcystin i drikkevann på 1 µg per liter ved korttidseksponering og 0,1 µg per liter ved langtidseksponering (159). I et utkast til retningslinjer for microcystin i drikkevann fra WHO er det foreslått en grenseverdi for microcystin-LR (det mest toksiske microcystinet en kjenner i dag) på 1 µg per liter. Grenseverdien fra WHO er under løpende vurdering.

6.2.1.6 Behandling ved forgifning

Behandling for microcystinforgiftning har ikke vært studert i detalj. De behandlingene som trolig er best er med trekullpulver og cholestyramin (149). Selv om cholestyramin er mest effektiv, så er aktivt kull billigere og lettere å få tak i. Terapeutiske støttetiltak kan omfatte tilførsel av blod og glukoseløsninger (25). Noen kjemikalier har vært brukt eksperimentelt på forsøksdyr for å forhindre hepatotoksinforgiftning. Disse stoffene omfatter cyclosporin-A (7, 63), rifampin (63, 64) og silymarin (100). Disse forbindelsene virker best dersom de gis dyrene før eller samtidig med toksineksponeringen.

En dose på 25 mg rifampin per kg mus gitt samtidig med en letal (dødelig) dose microcystin-LR eller gitt 30 og 60 minutter før microcystin-LR, forhindret dødsfall av alle forsøksdyrene. Når 17,5 mg per kg ble gitt, beskyttet dette mot dødsfall i 50 % av musene som fikk microcystin-LR, mens 25 % av musene overlevde når rifampin ble gitt 15 minutter etter microcystin-LR. Ved 10 mg rifampin per kg ble tiden til dødsøyeblikket forlenget, men dyrene overlevde ikke.

Rifampicin (rifampin) og cyclosporin hemmer opptaket av gallesalter i leveren (188). Studier av forbindelser som beskytter mot microcystinforgiftning, viser at de komponentene som har en beskyttende effekt, hemmer gallesaltopptaket (64, 65). Dette er trolig også årsaken til at de må gis før eller samtidig med microcystin for å ha en effekt.

En enkelt injeksjon med tripanrødt i mus gir en ikke-immunologisk beskyttelse mot microcystin-LR i mus i ca tre måneder (1).

6.2.1.7 Akkumulering i næringskjeden

En vet lite om akkumulering av microcystin i næringskjeden. Forsøk har vist at toksinet i hovedsak akkumuleres i leveren hos mus, mens en del skilles ut gjennom urin og avføring (se kapittel 6.2.1.1). Opptaket i leveren skyldes at toksinene transporteres inn i levercellene ved hjelp av galletransportsystemet.

I laboratorieforsøk er det vist at peptidtoksinene fra *Planktothrix* akkumuleres i ferskvannsmuslingen *Anadonta cygena*. Muslingen selv synes ikke å bli påvirket av toksinene. Derfor kan den ikketoksiske muslingen bli svært giftig. Toksinet som ble funnet i muslingen var identisk med det som ble produsert av cyanobakterien. Det var derfor ingen metabolisme av toksinet (34).

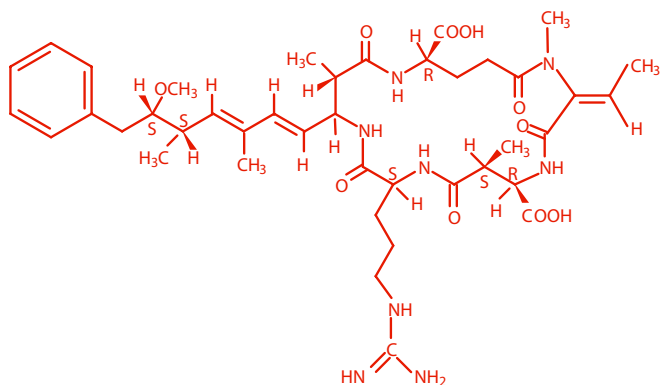
Fisk dør 15 til 240 minutter etter interperitoneal eller oral tilførsel av microcystin (133), og det er vist at fisk er 10 ganger mer følsom for toksinene enn mus (49). Siden fisk dør relativt raskt etter eksponering for microcystin, er sjansen for å bli forgiftet av å spise fisk liten.

Sommeren 1997 ble kreps fra Steinsfjorden undersøkt for innhold av microcystin, fordi det var en oppblomstring av microcystinproduserende *Planktothrix* i innsjøen. I dette tilfelle ble frysetørket halekjøtt og hepatopankreas (lever-bukspyttkjertelen) ekstrahert med vann eller metanol. Etter inndampning og resuspensjon i tween, ble prøvene injisert i bukhulen på mus, men hepatotoksiner ble ikke påvist (4).

Kunnskap om akkumulering av microcystin i næringskjeden er svært mangelfull. En bør derfor undersøke fisk og skalldyr som går til konsum, dersom disse er fanget i vann med cyanobakterieoppblomstringer. Fiskekjøttet kan spises, men leveren må ikke konsumeres. Ferskvannsmuslinger kan ikke spises, for selv etter 2 måneder i rent vann inneholder de microcystin (34).

6.2.2 Nodularin

Nodularin (Fig. 19) er et syklisk pentapeptid med en molekylvekt på 824 dalton og en struktur som ligner microcystin. Nodularin produseres av cyanobakterien *Nodularia spumigena* og kan resultere i leverskader (83, 33).



Figur 19. Nodularin er et hepatotoksin, produsert av cyanobakterien *Nodularia*, med samme egenskaper som microcystin

6.2.2.1 Egenskaper

Nodularin kan føre til leverskader (83). Toksisiteten og virkemåten er lik det en finner for microcystin (132). Nodularin hemmer protein-fosfatasene-1 og -2A like effektivt som microcystin. En tottrinns leverkarsinogentest i mus viste at nodularin, som microcystin, er en tumorpromotor (114).

6.3 Andre toksiner

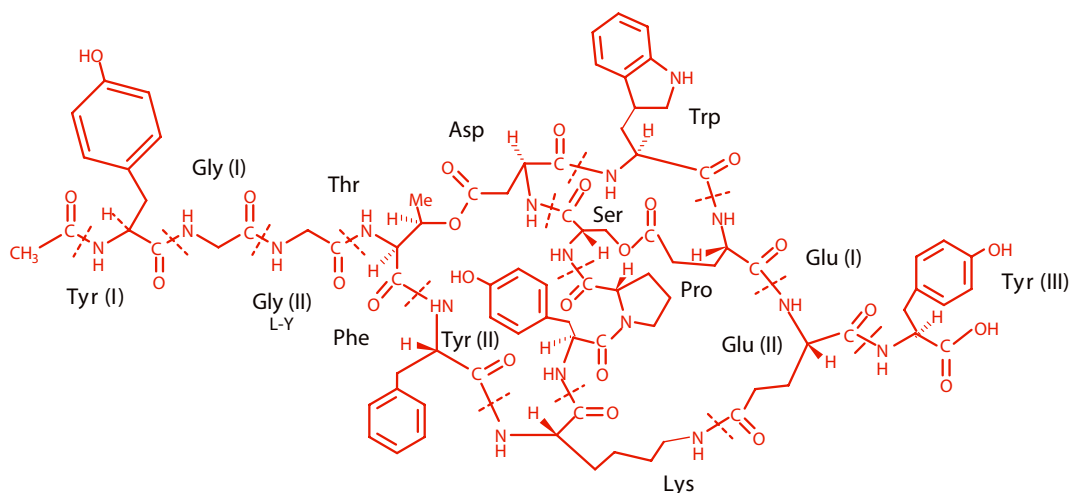
Siden 1980 er et stort antall cyanobakteriemetabolitter isolert og karakterisert, både fra kulturer og oppblomstringer. Så langt er mer enn 600 peptider og peptidmetabolitter beskrevet fra forskjellige arter. Flertallet av sekundærmolekylene som produseres av cyanobakterier er peptider eller har en peptidstruktur (Tab. 5). Disse peptidene blir i hovedsak produsert ved en ikke-ribosomal peptidsyntese (180).

Tabell 5. Toksiner/bioaktive peptider produsert av cyanobakterier

Peptidtoksinklasser	Peptidtoksin varianter	Produsenter
Aeruginosiner	27	<i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Nodularia</i>
Microgininer	38	<i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Nostoc</i>
Anabaenopeptiner	32	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Plectonema</i> , <i>Nodularia</i> , <i>Schizothrix</i>
Cyanopeptoliner	82	<i>Anabaena</i> , <i>Dolabella</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Scytonema</i> , <i>Symploca</i>
Microcystiner/nodulariner	89	<i>Anabaena</i> , <i>Hapalosiphon</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Nodularia</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Planktothrix</i>
Microveridiner	10	<i>Microcystis</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Nostoc</i>
Cyclamider	21	<i>Lyngbya</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Stigonema</i> , <i>Westelliopsis</i>

6.3.1 Microviridin

Microviridin er isolert fra cyanobakterien *Microcystis viridis* (70), og er det første eksempel på et trisyklisk depsipeptid fra en naturlig kilde (Fig. 20).



Figur 20. Strukturformel for microviridin

6.3.1.1 Egenskaper

Microviridin er en protease-hemmer dvs. hemmer nedbrytning av protein (131).

6.3.1.2 Nedbrytning

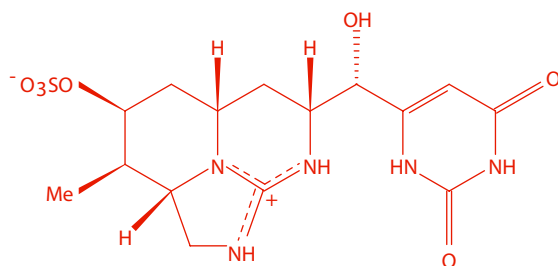
I motsetning til microcystin er microviridin lett nedbrytbar av mikroorganismer. Når rent toksin tilsettes ubehandlet vann brytes det ned i løpet av 6 timer (124)

6.3.2 Cylindrospermopsin

Cylindrospermopsin er et trisykisk guanidin alkaloid, som første gang ble isolert fra *Cylindrospermopsis raciborskii* og karakterisert i begynnelsen av 1990-årene (115, 103) (Fig. 21). Toksinet har en molekylvekt på 415 dalton. Cylindrospermopsin produseres også av *Umezakia natans* (56) og *Aphanizomenon ovalisporum* (6).

Dette toksinet har ført til en rekke humane forgiftninger. Toksinet angriper ikke spesifikt leveren, men fører til skade i en rekke organer og synes å trenge lett inn i celler. Etter oralt inntak kommer toksinet først i kontakt med tarmsystemet, for deretter å trenge inn i leveren. Gastroenteritt og leverskader er derfor de skadene som inntreffer først ved eksponering for dette toksinet. En foreløpig studie har vist at cylindrospermopsin har gentoksiske effekter på gnagere og humane celler, og en studie av tumorutvikling etter dosering med cylindrospermopsin til mus tyder på at det er en tumorinitiator (39).

C. raciborskii regnes som en tropisk cyanobakterieart, men det er nå observert en migrasjon av denne arten til nordlige strøk, kanskje på grunn av klimaendringer. Foreløpig er den observert i Europa, men kun i forbindelse med varme somrer (119).



Figur 21. Strukturformel for cylindrospermopsin

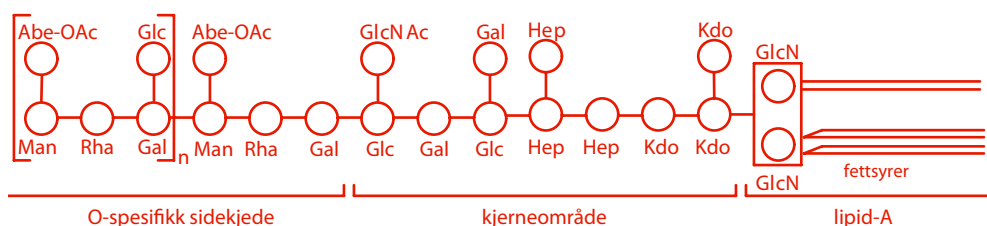
6.3.2.1 Egenskaper

Symptomene på cylindrospermopsinforgiftning er forskjellige fra microcystinforgiftning, og cylindrospermopsin er ikke en proteinfosfatasehemmer. LD₅₀ (i.p. i mus) er 1-2 mg per kg etter 24 timer og 0,2 mg per kg etter 2 til 6 dager (115). Forsøksdyr gitt en minimums letal dose cylindrospermopsin dør alle etter flere dager. Cylindrospermopsin er en generell cytotoxisk forbindelse som skader alle organer (60, 37). Ekstrakter av *C. raciborskii* gitt interperitonealt eller oralt fører til vevsskader og nekroser i lever, nyrer, lunger, hjerte, milt og brissel (60, 61). Cylindrospermopsin ble lenge antatt bare å være et problem i tropiske områder, men i den senere tid er det rapportert om flere cylindrospermopsinproduserende oppblomstringer i Europa.

6.3.3 Endotoksin

Gram-negative bakterier, som cyanobakterier, produserer lipopolysakkarid (LPS), også kalt endotoksin (Fig. 22). LPS er funnet i alle cyanobakterier som er undersøkt (146, 179, 126, 163). Raziuddin *et al.* (126) undersøkte LPS fra *Microcystis aeruginosa* og fant at egenskapene stemte overens med de som er generelle for LPS fra andre Gram-negative bakterier. Cyanobakterie-LPS er ikke like potent som tilsvarende forbindelser fra heterotrofe bakterier (29). Endotoksiner er bundet til cellene og frigjøres når cellene går i oppløsning. Cyanobakterieoppblomstringer kan derfor forurense vann med disse makromolekylene (11).

I både heterotrofe bakterier og cyanobakterier er LPS bygget opp av tre regioner (Fig. 22): et O-spesifikt polysakkarid som består av gjentatte oligosakkarid-enheter som kan variere fra art til art, et kjerne-oligosakkarid og et hydrofobt lipid som kalles lipid-A.



Figur 22. En skjematisk fremstilling av lipopolysakkarid for å demonstrere oppbyggingen av dette kompliserte molekylet. Da det ikke foreligger noen komplett struktur for cyanobakterie-LPS, vises her oppbyggingen av LPS fra *Salmonella*. Selv om fettsyrene og sukrene er forskjellig i cyanobakterier og *Salmonella*, vil strukturen være den samme.

6.3.3.1 Egenskaper

Lipopolysakkarider fra cyanobakterier kan ved hudkontakt resultere i allergiske reaksjoner og hudirritasjoner (20). Inhalering av aerosoler som inneholder LPS kan føre til ubehag, utmattelse og leddsmerter (3). LPS resulterer i feber, ubehag, magesmerter og diaré ved innsprøyting i bukhulen eller blodbanen. Oralt inntak av LPS er ikke vist å være farlig. Feber er den vanligste reaksjonen ettersom toksinet stimulerer vertscellene til å frigjøre proteiner (pyrogener) som påvirker den delen av hjernen som kontrollerer kroppstemperaturen. Foruten feber kan forsøksdyrene utvikle diaré, en rask senkning i antallet lymfocytter, leukocytter og blodplater, og LPS kan føre til en infeksjonstilstand. LPS resulterer også i en senking av blodtrykket.

LPS fra cyanobakterier er pyrogene og toksiske (20), men de er mindre potente enn nevo- og hepatotoksinene, og de er generelt mindre toksiske enn LPS fra *Salmonella* (126). Det er vist at en blanding av LPS og microcystin resulterer i at microcystin blir mer toksisk. I en oppblomstring vil microcystin derfor være mer toksisk enn i studiene som er utført med rene microcystinløsninger.

7 Ikke karakteriserte toksiner

Forekomsten av flere toksiner enn de som er beskrevet tidligere i denne rapporten, har lenge vært kjent.

Carmichael og Gorham (13, 14) har beskrevet fire forskjellige anatoksiner i tillegg til de som er nevnt her. Lincoln og Charmichael (91) påviste et toksin i den encellede cyanobakterien *Synechocystis sp.* som forårsaket paralyse når det ble gitt til høns, men som ikke hadde noen virkning på gris. Mus som ble injisert med denne cyanobakterien, hadde en LD₁₀₀ (i.p.) på 500-700 mg per kg kroppsvekt. Dyrene døde etter 5 til 7 timer, og obduksjonen viste leverskader.

Leeuwangh *et al.* (88) og Codd og Bell (22) påviste at *Gloeotrichia echinulata* førte til forgiftning av mus etter en i.p. injeksjon. LD₅₀ var i området 113-1500 mg per kg kroppsvekt.

Gorham *et al.* (54) fant en toksinproduserende art av *Pseudanabaena catenata* som ikke var dødelig, men resulterte i voldsomme kramper 15-30 sekunder etter injeksjonen i mus.

I 1981 døde 10 av 65 griser som drakk av en oppblomstring med *Anabaena spiroides* var. *contracta* (55). De døde 30 minutter etter å ha drukket vannet. Toksinet forårsaket voldsomme skjelvinger før dyrene døde.

Et hepatotoksisk peptid med lignende effekter som microcystin, men med høyere LD₅₀, er isolert fra *Oscillatoria* (32). Kirpenko og Kirpenko (79) rapporterte om en nevrotoksisk cyanobakterie fra Ukraina, som påvirket hjertemuskulaturen og hadde et bredt spekter av antimikrobielle effekter.

Et toksin med nevrotoksiske effekter er isolert fra *Microcystis* i Japan. Molekylvekten til denne forbindelsen er i området 770-2950 dalton, og det har en LD₁₀₀ på 2,6 mg per kg (i.p. i mus) (175, 176, 177).

Denne oppramsingen av kjente og ukjente toksiner som produseres av cyanobakterier, viser tydelig at cyanobakterier er en kilde til mange toksiske forbindelser. Det er også kjent at cyanobakterieoppblomstringer produserer en rekke andre biologisk aktive komponenter, og at cyanobakterieoppblomstringer i aller høyeste grad må betraktes som en helserisiko.

8 Faktorer som påvirker toksinproduksjonen i cyanobakterier

Toksisiteten til en cyanobakterieoppblomstring kan variere sterk fra sted til sted i en vannkilde (15). Variasjoner i forholdet mellom toksiske og ikketoksiske stammer kan muligens forklare de varierende toksinmålingene i en og samme oppblomstring.

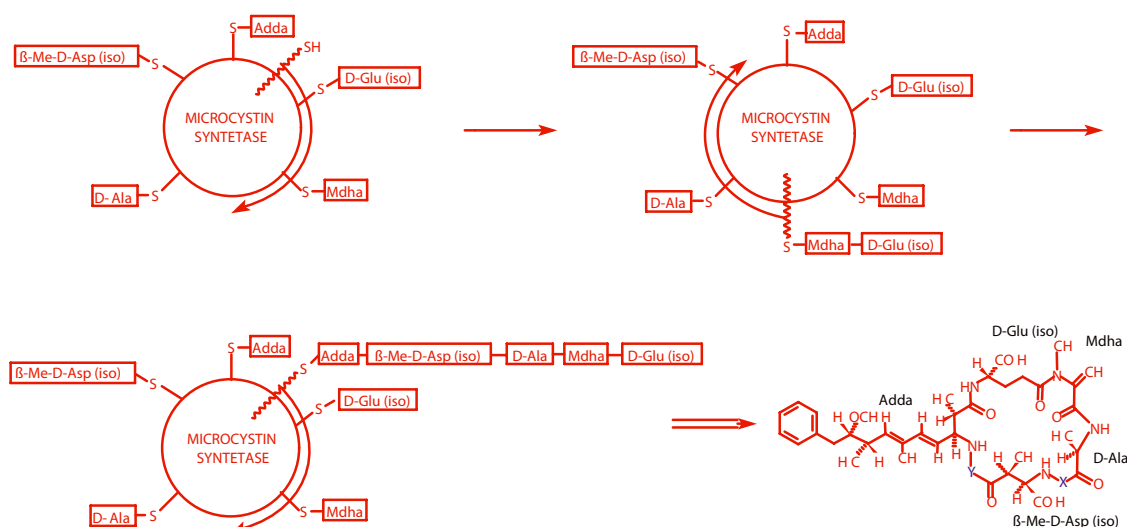
For microcystin er det vist at ikketoksiske stammer kan inneholde genet for toksinproduksjon (99). Når en ikke kan påvise toksinproduksjon i disse isolatene, kan dette skyldes at metodene som brukes ikke er sensitive nok, eller at genet for toksinproduksjon er "slått av". Omfattende forskning pågår for å klarlegge hva som påvirker toksinproduksjonen i cyanobakterier, og hvilke miljøfaktorer som er avgjørende for om cyanobakteriene produserer lite eller mye toksin.

Det har lenge vært kjent at lysintensitet og temperatur påvirker toksinproduksjonen (165, 166). Begge disse faktorene påvirker også veksthastigheten. Det er derfor nærliggende å anta at alle forhold som påvirker veksthastigheten til en cyanobakterie også vil påvirke toksinproduksjonen. Det er vist at toksinproduksjonen følger veksthastighet for *Microcystis aeruginosa* ved nitrogenbegrensning (93), men det er også vist at toksinproduksjonen avtar selv om organismene vokser godt (178).

8.1 Microcystin

Forskning rundt cyanobakterietoksiner har i hovedsak vært konsentrert om microcystiner, muligens fordi de er mest utbredt, og fordi en tidlig fikk gode metoder til å påvise microcystin.

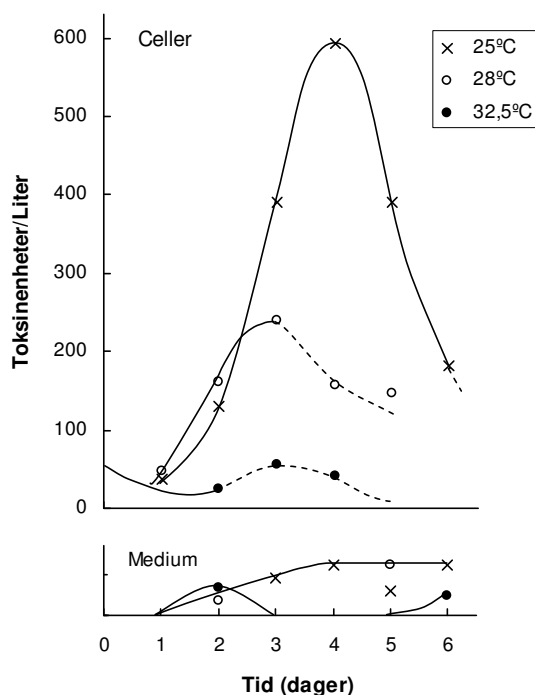
Microcystiner er små peptider som ikke produseres direkte ved hjelp av ribosomer, men ved hjelp av et enzym (syntetase). Synteseveien for microcystin er vist i figur 23. Normalt vil syntesen av peptider skje ved hjelp av ribosomer.



Figur 23. Synteseveien for microcystin, tegnet etter beskrivelse av Welker og von Döhren (180)

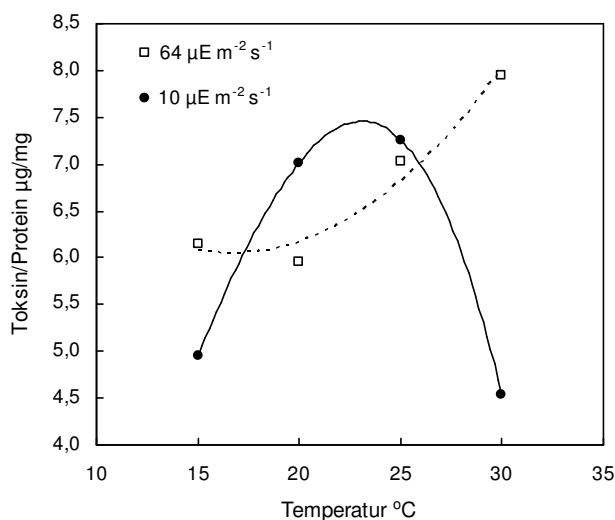
Lignende mekanismer for produksjon av en rekke sykliske peptider har lenge vært kjent, som for eksempel antibiotikaet bacitrasin i *Bacillus* (41). Genet som koder for syntetasen i *M. aeruginosa* er kartlagt (28).

Optimaltemperaturen for microcystinproduksjonen i *M. aeruginosa* er 20-25 °C (Fig. 24). Toksinproduksjonen avtar når temperaturen stiger over 25 °C (56, 107) (Fig. 24). I en naturlig oppblomstring ble det funnet en sammenheng mellom temperatur og toksinproduksjon, også i dette tilfellet var toksinproduksjon høyest rundt 25 °C (182).



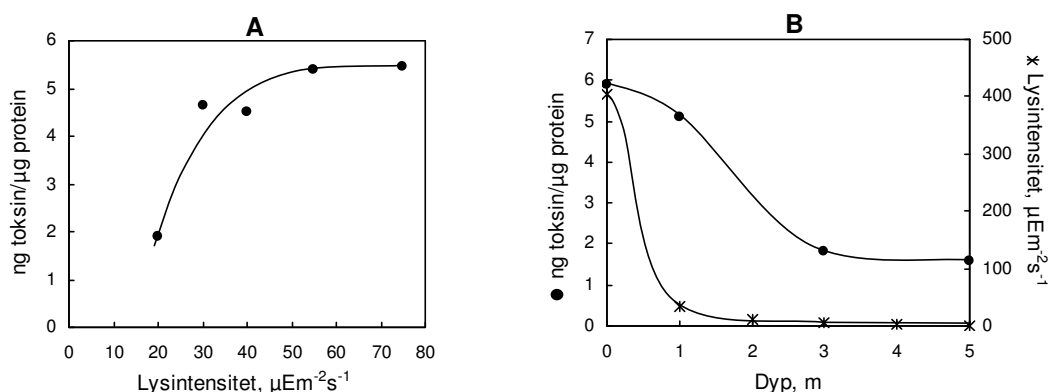
Figur 24. Effekten av temperatur på toksinproduksjonen i *Microcystis* etter Gorham (53)

Optimal temperatur for microcystinproduksjonen kan endres ved å endre lysintensiteten, som vist i figur 25.



Figur 25. Toksinproduksjonen i *M. aeruginosa* som funksjon av temperatur ved høy og lav lysintensitet

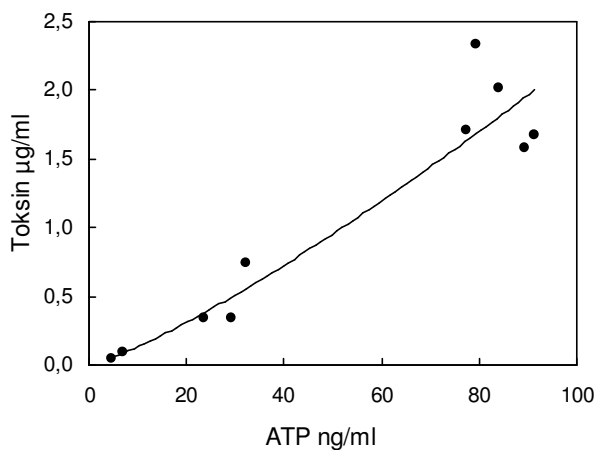
Toksinproduksjonen i *Microcystis* øker med økende lysintensitet opp til ca. $30 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ved 20°C (160, 165, 177) (Fig. 26A). Det er også vist at toksinproduksjonen avtar med dypet i et vann (160) (Fig. 26B). Toksinproduksjonen i en oppblomstring økte med økende solinnstråling (182).



Figur 26. Toksin som funksjon av lysintensitet (A) og som funksjon av dyp (B)

Disse resultatene viser at toksinproduksjonen i *Microcystis* er knyttet til lysintensiteten og derfor også til energimetabolismen. Det er også vist at aktiveringen av genet for microcystinsyntesen er regulert av lysintensiteten (112).

Lysenergi omdannes til ATP som er cellenes kjemisk energikilde. Det er påvist en sammenheng mellom microcystinproduksjonen og ATP-nivået i *M. aeruginosa* (Fig. 27). Det antas at alle forhold som påvirker energinivået også vil påvirke toksinproduksjonen og veksten av cyanobakterier.



Figur 27. Forholdet mellom ATP og microcystinninnhold i *M. aeruginosa*

Når det gjelder næringskomponenter er det foreløpig ikke funnet noen klar sammenheng mellom P- eller N-konsentrasjonen i vannet og toksinproduksjonen. Det er vist at nedgang i N- eller P-konsentrasjonen fører til redusert toksinninnhold når toksinmengden relateres til tørrvekt (177). Når fotosyntetiske organismer blir P- eller N-begrenset, akkumulerer de karbohydrater. Dette resulterer i at cellene blir tyngre, og forholdet toksin/tørrvekt må nødvendigvis avta, selv om toksinmengden per celle ikke har endret seg. Ved å relatere toksinninnholdet til andre celleparametere, har vi funnet at toksinproduksjonen ikke påvirkes av verken P- eller N-konsentrasjonen (161). En omfattende undersøkelse av en *Microcystis*-oppblomstring viste ingen sammenheng mellom toksinproduksjonen og næringssalter (182).

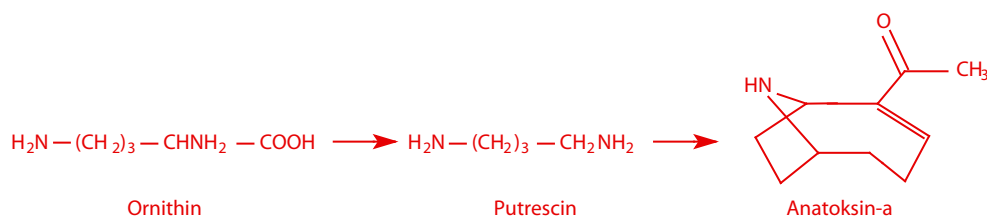
Resultatene så langt tyder på at lys og temperatur er de viktigste faktorene for toksinproduksjonen i *Microcystis*.

Microcystinproduksjonen i *Oscillatoria* er også vist å være avhengig av lysintensitet og temperatur (139).

Når det gjelder de andre cyanobakterietoksinene er kunnskapen om hvilke faktorer som påvirker produksjonen begrenset.

8.2 Anatoksin

Anatoksin-a er det mest studerte anatoksinet. Synteseveien for anatoksin-a er kjent og lik den for andre alkaloider (44). Anatoksin-a produseres fra ornithin via putrescin (Fig. 28).

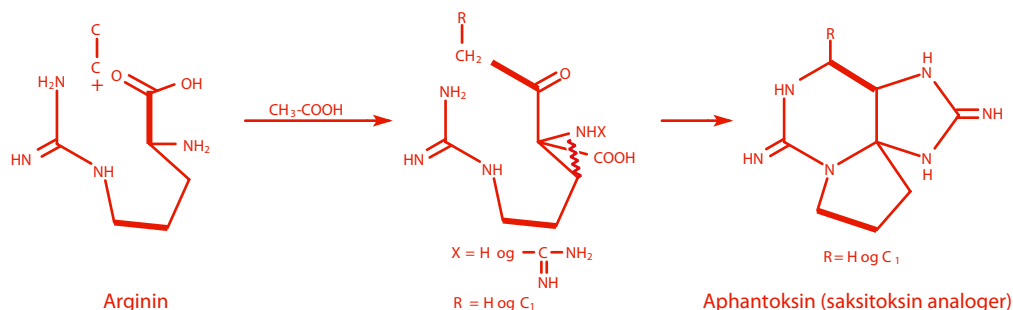


Figur 28. Synteseveien for anatoksin-a

Syntesen av anatoksin-a er lysavhengig. Maksimalt innhold ble oppnådd ved lysintensiteter mellom 2000 og 7500 lux (48), mens toksininnholdet ble sterkt redusert ved 19 000 lux (50 lux tilsvarer $1 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$). Toksinproduksjonen i anatoksin-a økte med temperaturen opp til 22,5 °C (48).

8.3 Aphantoksin

Toksin produsert av *Aphanizomenon* ble først betegent som aphantoksin, men senere studier viste at det er saksitoksin analoger. Synteseveien er kjent (138) og skissert i figur 29.



Figur 29. Synteseveien for aphantoksin (saksitoksin analoger)

Toksininnholdet i *Aphanizomenon* ble halvert ved å øke lysintensiteten fra 5000 til 15 000 lux (49). Det er også vist at toksininnholdet øker med temperaturen fra 15 til 26 °C, og at gamle kulturer er mer toksiske enn unge (49).

Resultatene så langt viser at toksinproduksjonen i cyanobakterier er styrt av lys og temperatur. Når det gjelder effekten av næringsstoffer er det ikke funnet noen klar sammenheng mellom disse og toksinproduksjonen i cyanobakterier.

**Toksinproduksjonen i cyanobakterier er høyest på sensommeren.
Da er rekreasjonsaktivitet høy, og det er viktig å overvåke
og advare publikum mot disse oppblomstringene.**

9.1 Allergier og irritasjonsreaksjoner

I løpet av de siste femti år er det publisert en rekke rapporter om sykdom hos mennesker etter svømming og vannsport i vann med cyanobakterieoppblomstringer (20). Symptomene omfatter allergiske reaksjoner som ligner på høyfeber og gir astma, hud-, øye- og øre-irritasjoner. Ytterligere bevis for de allergiske reaksjonene på cyanobakterier ble fremskaffet av Mittal *et al.* (102), som undersøkte en rekke cyanobakterier fra luftprøver. Hudtester resulterte i positive reaksjoner hos personer som tidligere hadde lidd av nasobronkiale allergier, mens friske personer ikke reagerte på testen. En økning i IgE (antistoff)-nivåene hos de allergiske personene, men ikke i friske frivillige, gir en grunn til å anta at responsene var immunologisk forårsakede allergiske reaksjoner.

Utallige hudirritasjoner er rapportert hos badende langs kysten av Florida, USA og Okinawa, Japan (103). Denne irritasjonen, kjent som "svømmers kløe", fører til utslett, kløe, sår hals, øreverv og svimmelhet. Toksinet som antas å være årsaken, lyngbyatoksin-a er isolert fra *Lyngbya majuscula*. Dette toksinet og to andre toksiner, aplysiatoksin og debromoaplysiatoksin som også er isolert fra *L. majuscula*, gir sterke betennelsesreaksjoner (103).

Human kontaktirritasjon er forårsaket av flere ferskvannscyanobakterier som *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Anabaena* og *Nodularia* (55).

9.2 Potensialet for humane forgiftninger

Alle cyanobakterietoksinene kan forårsake sykdom og død hos mennesker, så vel som hos husdyr, ville dyr, fugl og fisk. Det er i Norge ikke innført overvåkning av disse toksinene i drikkevann, vann brukt til rekreasjon eller jordbruksvanning. Foreløpig har cyanobakterieoppblomstringer ikke ført til humane forgiftninger i Norge. Cyanobakterietoksiner er ikke dødelige i lave doser, men doseresponskurven er bratt. Dette betyr at en må svelge en nesten dødelig dose før tegn på forgiftning kan observeres. Slike høye konsentrasjoner forekommer bare når oppblomstringer samles i overflaten, og spesielt når biomassen konsentreres langs strendene på grunn av vind. Dette er farligst for barn, voksne personer vil unngå slike områder både på grunn av lukt og utseende.

Når oppblomstringer forekommer i drikkevannskilder, kan fortynningen senke toksinnivået til under det som er akutt toksisk. Uten sensitive påvisningsmetoder og en klar forståelse av toksinenes virkningsmekanisme er det vanskelig å bestemme faren for akutt eller kronisk forgiftning. I tabell 3 (kapittel 5.1) er det vist en oversikt over tilfeller av humane forgiftninger som er assosiert med cyanobakterier.

Det er godt dokumentert at cyanobakterieoppblomstringer har ført til død av fisk, fugl, husdyr og ville dyr, også flere humane dødsfall er registrert. Mange mennesker er blitt alvorlig syke etter å ha drukket vann fra kilder med cyanobakterieoppblomstringer (20).

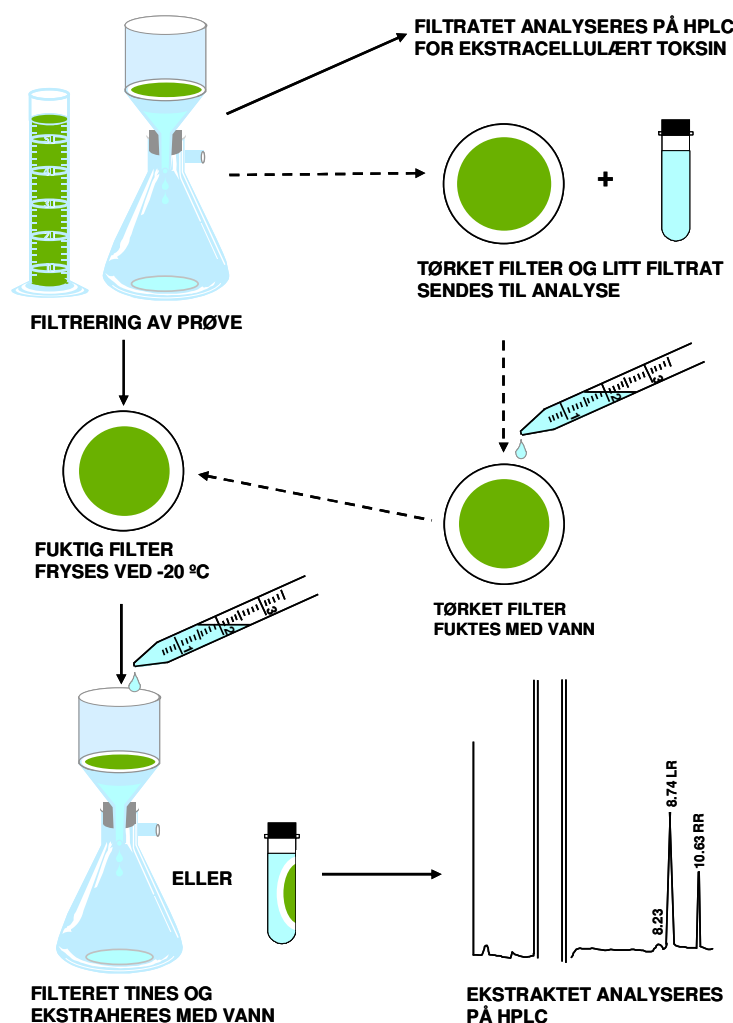
9.3 Effekten av subakutte konsentrasjoner

Den mest sannsynlige trusselen fra cyanobakterietoksiner er subakutte og vedvarende eksponeringer. En vet lite om hvordan en subakutte dose virker, enten det gjelder en enkelt eksponering eller en vedvarende eksponering gjennom drikkevann fra en kilde med en oppblomstring. Forsøk har vist at lave konsentrasjoner av peptidtoksiner kan påvirke tarmsystemet, og det er kjent at de er potente hemmere av proteinfosfatase -1 og -2A. Det er konkludert med at microcystin er en tumorpromotor, og det er vist at peptidtoksiner kan forårsake levertumorer hos gnagere. Den epidemiologiske undersøkelsen fra Kina (kapittel 6.2.1.3) tyder på at det kan være en sammenheng mellom eksponering for lave doser av peptidtoksiner i drikkevann og levertumor hos mennesker.

Cyanobakterieoppblomstringer må alltid betraktes som en mulig helserisiko når den opptrer i vann som benyttes av mennesker.

10 Innsamling av prøver til toksinanalyse

Ved Folkehelseinstituttet er det utviklet en enkel metode for å samle inn prøver til analyse av hepatotoksiner fra cyanobakterieoppblomstringer. Samme metode kan også brukes for å samle inn prøver til analyse av andre cyanobakterietoksiner. Metoden forenkler forsendelsen av prøver til et laboratorium (50, 51). Prinsippet for prøvetaking, forsendelse og analyse er vist i figur 30, og går ut på at vannprøven filtreres på et glassfiberfilter (Whatman GF/C), deretter tørkes filteret mørkt ved romtemperatur natten over før det sendes til et laboratorium for analyse. I laboratoriet blir filteret fuktet med destillert vann og frosset. Denne behandlingen er nok til å ødelegge celleveggen slik at det er lett å ekstrahere toksinene med vann (cyanobakterietoksiner er vannløselige), eller med andre løsningsmidler. Ekstraktet blir deretter analysert ved hjelp av HPLC (høytrykk væskechromatografi).



Figur 30. Metode for innsamling, ekstraksjon og analyse av cyanobakterietoksiner

11 Vannbehandling

Cyanobakterietoksiner utgjør en utfordring i drikkevannsbehandlingen fordi det innebærer fjerning av organiske forbindelser i både bundet og fri form.

De toksinene som har vært undersøkt, microcystin, nodularin og anatoksin, er alle vannløselige. Laboratoriestudier med microcystinproduserende cyanobakterier har vist at toksinene befinner seg i cellene og frigjøres først når cellene blir ødelagt eller går i oppløsning. Så lenge en oppblomstring ikke går i oppløsning på naturlig måte eller ødelegges ved en eller annen form for mekanisk behandling, vil toksinene være i cellene, og fjerning av cellene må være det som prioriteres. Men i en oppblomstring vil det alltid være celler som dør og derved frigir toksiner, derfor vil også fjerning av fritt toksin være ønskelig.

11.1 Filtrering

Vannbehandlingsanlegg har ofte grovsiler for fjerning av "større" forurensninger i vannet. Verken slike siler eller de tradisjonelle vannverkssilene har noen effekt på fjerningen av cyanobakterier eller toksiner. Mikrosiler med porestørrelse/lysåpning ned mot 5 µm kan fjerne større celler eller aggregater. Mouchet og Bonneley (109) viste til at 40-70 % av cyanobakterieartene ble fjernet av mikrofiltre med porestørrelse/lysåpning 25-35 µm, men påpekte at de små artene ble fjernet i liten grad (under 10 %). Problemer knyttet til ødeleggelse av celler og frigjørelse av toksiner ved oppbygging av trykk på filtrene ble ikke studert.

11.2 Lufting

Lufting eller luftstripping har ingen effekt på toksinfjerningen, fordi ingen av toksinene er flyktige.

11.3 Koagulering (kjemisk felling)

Koagulering fører til at små partikler omdannes til større partikler som fjernes ved sedimentering, filtrering eller flotasjon. De vanligst brukte koagulantene i vannbehandling er aluminium- og jernsalter. Aluminiumsulfat og jernklorid er vist å føre til felling av cyanobakterier uten å frigi toksin (172, 21). Også organiske polymerer blir brukt. Leuschner viste at en anionisk polymer resulterte i en omfattende felling av *Planktothrix agardhii* (90). I Norge er det vanligst å benytte organisk polymer som hjelpekoagulant til metallsalter, og da alltid i kombinasjon med etterfølgende filtrering (se under).

11.4 Koagulering/sandfiltrering

I en laboratoriestudie ble effekten av koagulering og sandfiltrering undersøkt på vann som inneholdt intakte toksinproduserende cyanobakterier, men ikke fritt toksin (153). Studien viste at reduksjonen i toksisitet tilsvarte reduksjonen av cellemateriale i vannet. Ved sandfiltrering, med tilbakespylingsintervaller på ett døgn, var det ingen påvisbar lekkasje av toksiner til vannfasen. Derimot ble det funnet at cellebundet toksin, som var fjernet i sedimenteringstrinnet, kunne lekke ut i vannet dersom slammet blir liggende to uker i sedimenteringsbassenget.

11.5 Aktivt kull-, ozon- og klorbehandling

En finsk studie har undersøkt effekten av forskjellige vannbehandlingsprosesser på fritt cyanobakterietoksin (76). Metodene som ble prøvet var:

- Koagulering med aluminiumsulfat eller jernklorid
- Hurtig sandfiltrering
- Klorering
- Ozonbehandling
- Aktiv kullfiltrering

Forsøkene viste at konvensjonell vannbehandling som koagulering, hurtig sandfiltrering og klorering ikke fjernet fritt toksin fra vannfasen. Denne studien omfattet både hepatotoksiner og nevrotoksiner. Derimot ble toksinene fjernet effektivt med aktivt kull. Hepatotoksinene ble fjernet fullstendig, mens nevrotoksinene ble redusert med ca 95 %. Ozonbehandling med en dose på 1,0 mg O₃ per liter brøt ned 100 % av hepatotoksinene og 96 % av nevrotoksinene. Forsøk med lavere doser ozon resulterte i en lavere nedbrytningsgrad.

Forsøk med koagulering og filtrering av vann som inneholdt cyanobakterieceller, har vist en direkte sammenheng mellom fjerning av cyanobakterieceller og reduksjon av intracellulær (inne i cellen) microcystin, mens løst microcystin forble uendret (59).

Klorering med doser på 1 mg per liter, uten etterfølgende aktiv kullfiltrering eller ozonering, førte til en lysning (oppløsning) av de toksinproduserende cyanobakteriene og en økning av fritt toksin i vannet (86).

En annen laboratoriestudie har bekreftet de finske funnene om at konvensjonelle vannbehandlingsprosesser som koagulering, hurtigfiltrering og klorering ikke fjerner fritt cyanobakterietoksin. Effekten av forskjellige mengder aktivt kull tilsatt vannet ble også undersøkt. Resultatene viste at konsentrasjoner på 800 mg aktivt kull per liter var nødvendig for fjerning av en toksinmengde på 8 mg per liter (66).

Studier i pilotskala bekrefter laboratorieforsøkene (76). Toksinkonsentrasjon på 15 µg toksin per liter før behandling ble ikke redusert med konvensjonelle vannbehandlingsmetoder. Med en dose aktivt kull på 20 mg per liter ble mer enn 90 % av cyanobakterietoksinene fjernet, mens doser på 100 og 200 mg aktivt kull per liter fjernet 100 % av toksinene. Ozonbehandling (1-1,5 mg O₃ per liter) brøt ned mer enn 90 % av cyanobakterietoksinene.

Det er utført en studie av *M. aeruginosa*-oppblomstringer i Akersvannet (164). Akersvannet, en næringsrik innsjø med regelmessige oppblomstringer av *M. aeruginosa* som produserte microcystin, var reservedrikkevannskilde for Vestfold Interkommunale Vannverk. Vannverket, som var knyttet til denne kilden, ble i 1986 benyttet i en studie for å måle renseeffekten av cyanobakterietoksiner (113). Da studien ble gjennomført var ikke Akersvannet brukt som drikkevannskilde, og det rensede vannet ble ikke distribuert.

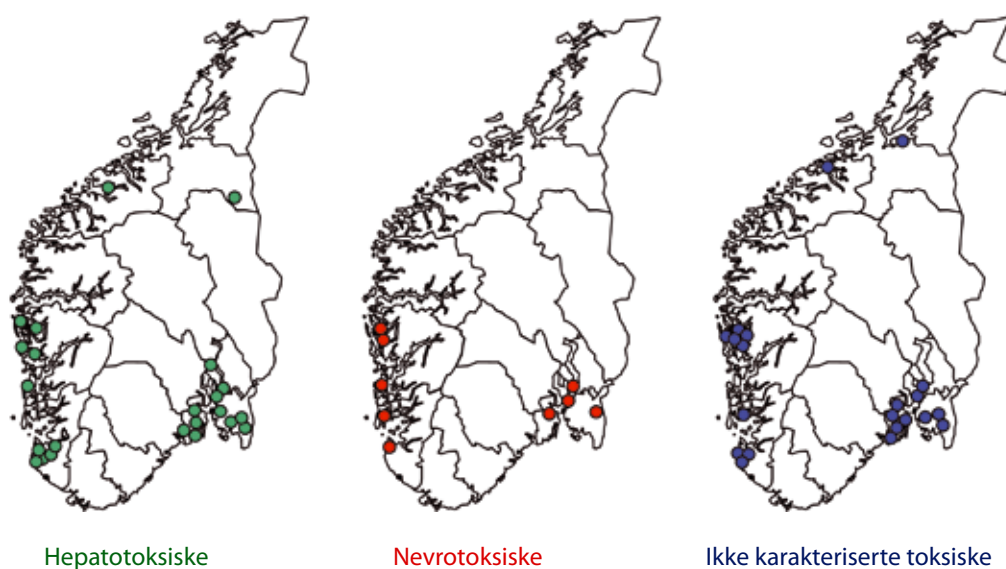
Vanninntaket lå på 7 m dyp og ca 1,5 m over bunnen. Vannbehandlingsprosessen besto av tomedia direktefiltrering med sand og antrasitt. Under forsøkene ble det brukt aluminiumsulfat og Magnafloc LT-20 som hoved- og hjelpekoagulant. Vannets pH ble justert til optimum for koagulering ved hjelp av karbondioksid. Tilbakeholdingseffekten med hensyn på klorofyll-a, et mål for mengden alger og cyanobakterier, var fra 88 til 98 %. Tilbakeholdingseffekten med hensyn til *M. aeruginosa* i antall celler per liter var mellom 97,5 og 99,95 %. Microcystin ble redusert med 93-98 %, da microcystin hovedsakelig forelå intracellulært. Til tross for en tilbakeholdingseffekt på minst 93 %, så kunne toksinmengden i det rensede vannet være på 1,3 µg per liter. Letal dose for en 20 g mus er 50 µg per kg kroppsvekt. Det innebærer at den toksinmengden som var i 0,8 l rensed vann var nok til å ta livet av en 20 g mus. Grenseverdien for microcystin i drikkevann er foreslått satt til 1 µg per liter av Verdens helseorganisasjon.

Akersvannet er fra 2007 nedlagt som vannkilde for Vestfold Interkommunale Vannverk.

13 Toksinproduserende cyanobakterie-oppblomstringer i Norge

Det er et stort behov for å få kartlagt hvordan giftproduserende cyanobakterier utvikler seg i norske vannforekomster. De økologiske forhold og konsekvenser under vannblomstdannelse bør undersøkes. Hvilke toksiner som forekommer, deres bevegelse i næringskjeden og nedbrytning i miljøet trenger oppmerksomhet. I praktisk sammenheng er det behov for et analyseverktøy for de aktuelle toksinene, som kan danne holdepunkter for nødvendige risikobedømmelser og tiltak.

Fra 1989 til 1991 registrerte Folkehelseinstituttet i samarbeid med NIVA og NVH toksinproduserende oppblomstringer og toksinene som de produserte. Resultatene er vist i figur 31.



Figur 31. Utbredelsen av hepatotoksiske, nevrotoksiske og ikke karakteriserte toksiske cyanobakterieoppblomstringer i Sør-Norge i perioden 1989-1991

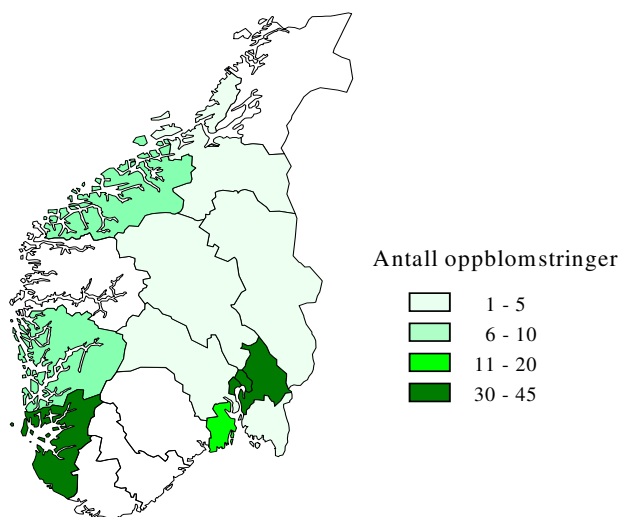
I prøver fra norske vannkilder er det totalt bestemt 20 forskjellige cyanobakteriearter som produserer ett eller flere toksiner (tabell 6).

Tabell 6. Toksinproduserende cyanobakterier fra norske vannkilder (141)

Grupper	Toksiner	Forgiftningstype
Chroococcales		
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Microcystis botrys</i> Teil.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Microcystis</i> Lemmermann sp.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Snowella lacustris</i> (Chod.)Kom. et. Hind.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Woronichinia naegeliana</i> (Unger) Elenk.	Microcystiner	Hepatotoksisk
Nostocales		
<i>Anabaena circinalis</i> Rabenh.	Ukjent	Ikke spesifikk
<i>Anabaena flos-aquae</i> (Lyngb.) Bréb.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Anabaena lemmermannii</i> P. Richt.	Microcystiner Anatoksin	Hepatotoksisk Nevrotoksisk
<i>Anabaena mendotae</i> Trel.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Anabaena solitaria</i> Kleb.	Ukjent	Ikke spesifikk
<i>Anabaena spiroides</i> Kleb.	Ukjent	Ikke spesifikk
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (L.) Ralfs	Ukjent	Ikke spesifikk
<i>Nostoc Vaucher</i> spp.	Ukjent	Ikke spesifikk
Oscillatoriales		
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gom.) Anagn. et Kom.	Microcystiner Anatoksin	Hepatotoksisk Nevrotoksisk
<i>Planktothrix mougeotii</i> (Bory ex Gom.) Anagn. et Kom.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Planktothrix rubescens</i> (DC. ex Gom.) Anagn. et Kom.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Planktothrix prolifica</i> (Gom.) Anagn. et Kom.	Microcystiner	Hepatotoksisk
<i>Phormidium formosum</i> (Bory ex Gom.) Anagn. et Kom.	Homoanatoksin Microcystiner	Nevrotoksisk Hepatotoksisk
<i>Phormidium</i> Kützinger spp.	Ukjent	Ikke spesifikk
<i>Trichodesmium lacustre</i> Kleb.	Ukjent	Ikke spesifikk

En oppsummering av alle dataene vi har over utbredelsen av og antallet hepatotoksiske oppblomstringer i Sør-Norge fra 1968 til 1996, er gjengitt i figur 32.

Resultatene presentert i figur 31 og 32 er ikke basert på en systematisk undersøkelse av alle cyanobakterieoppblomstringer som forekom i denne perioden, men på prøver som i hovedsak er sendt inn av kommunale næringsmiddeltilsyn (nå Mattilsynets distriktskontorer) eller private personer som har reagert på sterkt grønnfarget vann. I denne perioden mottok vi ingen prøver fra Nord-Norge. Figurene gir derfor ikke et fullstendig bilde over utbredelsen av toksinproduserende oppblomstringer, men er heller en indikasjon på i hvilke områder dette fenomenet har vært så omfattende at det er blitt reagert på. Figurene viser at cyanobakterieoppblomstringer er et vanlig fenomen i Sør-Norge hvor det er intensivt jordbruk. De innsamlede dataene viste at det er de trådformede cyanobakteriene *Anabaena* og *Planktothrix* (*Oscillatoria*) som i hovedsak utgjør de hepatotoksinproduserende cyanobakteriene i norske vannkilder.



Figur 32. Fylkesvis fordelingen av hepatotoksiske oppblomstringer i perioden 1968-1996

I naturen er det få organismer eller partikler som er helt fri for en kolonisering av andre organismer. Cyanobakteriene er intet unntak. Mange observasjoner viser at cyanobakterier ofte er utsatt for intens kolonisering av bakterier og sopp (116). Cyanobakteriene kan vokse i vidt forskjellige miljøer som golde jordsmonn (ørken), varme kilder, brakkvannsmudder og næringsrike innsjøer. I alle disse miljøene blir cyanobakteriene kolonisert av heterotrofe bakterier. Bakteriekolonisering er tradisjonelt forbundet med nedbrytning av organismen, men dette er ikke alltid tilfelle. Cyanobakterier er kolonisert av heterotrofe bakterier gjennom hele sin livssyklus. Dette synes ikke å ha negativ effekt på cyanobakteriene. Utskillelsen av organiske forbindelser og produksjon av oksygen er opplagte årsaker til at heterotrofe bakterier har fordel av å vokse sammen med cyanobakterier, og mye tyder på at cyanobakterier nytter CO₂ som produseres av heterotrofe bakterier. Det er isolert mange heterotrofe bakteriearter fra cyanobakterieoppblomstringer (30). Noen av disse bakteriene kan være opportunistisk humanpatogene (miljøbakterier som kan være sykdomsfremkallende for mennesker). Forsøk har vist at cyanobakterier fremmer veksten av *Vibrio cholerae*, andre vibrioarter (30) og *Legionella* (156). *V. cholerae*-populasjoner er påvist langs svenskekysten, i områdene der det er årlige oppblomstringer av cyanobakteriearten *Nodularia* (30).

En cyanobakterieoppblomstring i stillestående vann gir som regel et relativt tykt lag som flyter i overflaten på grunn av gassvakuolene (kapittel 3.4). En cyanobakterieoppblomstring kan derfor betraktes som en biofilm hvor mikroorganismer kan feste seg for å unngå sedimentering. Cyanobakteriene produserer et næringsrikt miljø rundt seg. Det er ikke utenkelig at opportunistisk patogene bakterier som tilføres vannkilden, men som normalt ikke vil leve i disse omgivelsene, kan bruke en cyanobakterieoppblomstring til å etablere seg. Det er derfor viktig å studere samspillet mellom cyanobakterier og heterotrofe bakterier nærmere for å kartlegge om cyanobakterieoppblomstringer kan være en kilde til opportunistisk humanpatogene bakterieforekomster.

Cyanobakterieoppblomstringer kan utgjøre helseproblem på grunn av toksinproduksjon og opportunistisk humanpatogene bakterier som kan etablere seg i disse oppblomstringene.

Cyanobakterieoppblomstringer er et økende verdensomspennende problem som forverrer tilgangen til rent vann. Klimaendringer vil trolig akselerere denne utviklingen på den nordlige halvkule og føre til at enkelte arter sprer seg nordover.

Kunnskap om utvikling og spredning av cyanobakterier er nødvendig for å bekjempe oppblomstringer med allerede etablerte og nyetablerende arter og for å håndtere den helserisiko det kan medføre.

15 Referanser

1. Adams, W.A., Stoner, R.D., Adams, D.G., Read, H., Slatkin, D.N. & Siegelman, H.W. (1989). Prophylaxis of cyanobacterial and mushroom cyclic peptide toxin. *J. Pharmacol. Exp. Therapeutics*. 249:552-556.
2. Anagnostidis, K. & Komarek, J. (1985). Modern approach to the classification system of cyanophytes. 1. Introduction. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 71:291-302.
3. Annadotter, H., Cronberg, G., Nystrand, R., Rylander, R. (2005). Endotoxins from cyanobacteria and Gram-negative bacteria as the cause of an acute influenza-like reaction after inhalation of aerosols. *EcoHealth* 2: 209 – 221.
4. Aune, T., Ramstad, H., Skulberg, O.M., Underdal, B., Yndestad, M. & Østenvik, Ø. (1997). Cyanotoksiner og edelkrepss – toksinproduserende blågrønnalger i Steinsfjorden sommeren 1997. Rapport fra Norges veterinærhøgskole. Institutt for farmakologi, mikrobiologi og næringsmiddelhygiene og Norsk institutt for vannforskning.
5. Baker, A.L., Brook, A.J. & Klemer, A.R. (1969). Some photosynthetic characteristics of a naturally occurring population of *Oscillatoria agardhii* Gomont. *Limnol. Oceanogr.* 14:327-333.
6. Banker, R., Carmeli, S., Hadas, O., Teltsch, B., Porat, R. & Sukenik, A. (1997). Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *J. Phycol.* 33:613-616.
7. Beasley, V.R., Coppock, R.W., Simon, J., Ely, R., Buck, W.B., Corley, R.A., Carlson, D.M. & Gorham, P.R. (1983). Apparent blue-green algae poisoning in swine subsequent to ingestion of a bloom dominated by *Anabaena spiroides*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182:413-414.
8. Blomqvist, P., Pettersson, A. & Hyenstrand, P. (1994). Ammonium-nitrogen: A key regulatory factor causing dominance of non-nitrogen-fixing cyanobacteria in aquatic systems. *Arch. Hydrobiol.* 132:141-164.
9. Bogorad, L. (1975). Phycobiliproteins and complementary chromatic adaptation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26:369-401.
10. Bourke, A.T.C., Hawes, R.B., Neilson, A. & Stallman, N.D. (1983). An outbreak of hepato-enteritis (The Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication. *Toxicon Suppl.* 3:45-48.
11. Buttkie, T.M. & Ingram, L.O. (1975). Comparison of lipopolysaccharides from *Agmenellum quadruplicatum* to *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* by using thin-layer chromatography. *J. Bacteriol.* 124:1566-1573.
12. Byth, S. (1980). Palm Island mystery disease. *Med. J. Aust.* 2:40-42.
13. Carmichael, W.W. & Gorham, P.R. (1978). Anatoxins from clones of *Anabaena flos-aquae* isolated from lakes of western Canada. *Mitt. Int. Ver. Limnol.* 21:285-295.
14. Carmichael, W.W. & Gorham, P.R. (1980). Freshwater cyanophyte toxins: types and their effects on the use of microalgae biomass. In: *Algae biomass: production and use* (eds. G. Shelef & C.J. Soeder). Elsevier North Holland Press, Amsterdam. pp. 437-448.
15. Carmichael, W.W. & Gorham, P.R. (1981). The mosaic nature of toxic blooms of cyanobacteria. In: *The water environment: algal toxins and health* (ed. W.W. Carmichael). Plenum Press, New York. pp. 161-172.
16. Carmichael, W.W., Jones, C.L.A., Mahmood, N.A. & Theiss, W.C. (1985). Algal toxins and water-based diseases. *CRC Crit. Rev. Environ. Contr.* 15:275-313.
17. Carmichael, W.W. (1992). A status report on planktonic cyanobacteria (blue-green algae) and their toxins. United States environmental protection agency/600/R-92/079, USA.
18. Castenholz, R. & Utkilen, H.C. (1984). Physiology of sulfide tolerance in a thermophilic *Oscillatoria*. *Arch. Microbiol.* 138:299-305.
19. Catterall, W. (1980). Neurotoxins that act on voltage-sensitive sodium channels in excitable membranes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20:15-43.

20. Chorus, I. & Bartram, J. (1999). Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. WHO publication. E & FN Spon, London and New York.
21. Chow, C.W.K., House, J., Velzeboer, R.M.A., Drikas, M., Burch, M.D. & Steffensen, D.A. (1998). The effect of ferric chloride flocculation on cyanobacterial cells. *Water Res.* 32:808-814.
22. Codd, G.A. & Bell, S.G. (1985). Eutrophication and toxic cyanobacteria in freshwaters. *J. Wat. Pollut. Contr.* 84 (2):225-232.
23. Cohen-Bazire, G. & Bryant, D.A. (1982). Phycobilisomes: Composition and structure. In: *The biology of cyanobacteria* (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 143-190.
24. Cox, P.A., Banack, S.A., Murch, S.J., Rasmussen, U., Tien, G., Bidigare, R.R., Metcalf, J.S., Morrison, L.F., Codd, G.A. & Bergman, B. (2005). Diverse taxa of cyanobacteria produce β -N-methylamino-L-alanine, a neurotoxic amino acid. *PNAS* 102:5074-5078.
25. Dahlem, A.M., Hassan, A.L., Swanson, S.P., Carmichael, W.W. & Beasley, V.R. (1988). A model system for studying the bioavailability of intestinally administered microcystin-LR, a hepatotoxic peptide from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in rat. *Pharmacol. Toxicol.* 63:1-5.
26. Desikachary, T.V. (1959). *Cyanophyta*. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, India.
27. Dillenberg, H.O. & Dehnel, M.K. (1960). Toxic waterbloom in Saskatchewan, 1959. *Can. Med. Assoc. J.* 83:1151-1154.
28. Dittman, E., Meissner, K. & Börner, T. (1996). Conserved sequences of peptide synthetase genes in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Phycologia* 35:62-67.
29. Drews, G. & Weckesser, J. (1982). Function, structure and composition of cell walls and external layers. In: *The biology of cyanobacteria* (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 333-357.
30. Eiler, A. (2007). The niches of bacterial populations in productive waters. Dr. thesis, Uppsala University.
31. El Saadi, O. & Cameron, A.S. (1993). Illness associated with exposure to blue-green algae. *Med. J. Austr.* 158:792-793.
32. 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.
33. Eriksson, J.E., Meriluoto, J.A.O., Kujari, H.P., Österlund, K., Fagerlund, K. & Hallbom, L. (1988). Preliminary characterization of a toxin isolated from the cyanobacterium *Nodularia spumigena*. *Toxicon* 26:161-166.
34. Eriksson, J.E., Meriluoto, J.A.O. & Lindholm, T. (1989). Accumulation of peptide toxin from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii* in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Hydrobiologia* 183:211-216.
35. Espie, G.S., Miller, A.G., Kandasamy, R.A. & Canvin, D.T. (1991). Active HCO_3^- -transport in cyanobacteria. *Can. J. Bot.* 69:936-944.
36. Falconer, I.R. (1991). Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6:177-184.
37. Falconer, I.R. (1993). Measurement of toxins from blue-green algae in water and foodstuffs. In: *Algal toxins in seafood and drinking water* (ed. I.R. Falconer). Academic Press pp. 165-175.
38. Falconer, I.R., Burch, M.D., Steffensen, D.A., Choice, M. & Coverdale, O.R. (1994). Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Env. Toxicol. Water Qual.* 9:131-139.
39. Falconer, I.R. & Humpage, A.R. (2001). Preliminary evidence for in vivo tumour initiation by oral administration of extracts of the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii* containing the toxin cylindrospermopsin. *Environ. Toxicol.* 16:192-195.
40. Fogg, G.E., Stewart, W.D.P., Fay, P. & Walsby, A.E. (1973). *The blue-green algae*. Academic Press, London and New York.

41. Frøyshov, Ø. (1984). The bacitracins: properties, biosynthesis and fermentation. In: Biotechnology of industrial antibiotics (ed. E. J. Vandamme). Marcel Dekker, New York. pp. 665-694.
42. Fujiki, H., Ikegami, K., Hakii, H., Suganuma, M., Yamaizami, Z., Yamazato, K., Moore, R.E. & Sugimura, T. (1985). A blue-green alga from Okinawa contains aplysiatoxins, the third class of tumor promoters. *Jpn. J. Cancer Res.* 76:257-259.
43. Fujiki, H., Suganuma, M., Hakii, H., Bartolini, G., Moore, R.E., Takeyama, S. & Sugimura, T. (1984). A two-stage mouse skin carcinogenesis study of lyngbyatoxin-a. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 108:174-176.
44. Gallon, J.R., Chit K.N. & Brown E.G. (1990). Biosynthesis of the tropane-related cyanobacterial toxin anatoxin-a: role of ornithine decarboxylase. *Phytochem.* 29:1107-1111.
45. Ganf, G.G. & Oliver, R.L. (1982). Vertical separation of light and available nutrients as a factor causing replacement of green algae by blue-green algae in plankton of a stratified lake. *J. Ecol.* 70:829-844.
46. Gantt, E. (1975). Phycobilisomes: Light-harvesting pigment complexes. *BioScience* 25:781-788.
47. Geitler, L. (1932). Cyanophyceae. In: Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz (ed. L. Rabenhorst). Vol 14 Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
48. Gentile, J.H. (1971). Blue-green and green algal toxins. In: Microbial toxins. Volume VII algal and fungal toxins (eds. S. Kadis, A. Ciegler & S.J. Ajl). Academic Press. pp. 27-66.
49. Gentile, J.H. & Maloney, T.E. (1969). Toxicity and environmental requirements of a strain of *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs. *Can. J. Microbiol.* 15:165-173.
50. Gjølme, N. & Utkilen, H. (1994). A simple and rapid method for extraction of toxic peptides from cyanobacteria. In: Detection methods for cyanobacterial toxins (eds. G.A. Codd, T.M. Jefferies, C.W. Keevil & E. Potter). The Royal Soc. of Chemistry. pp. 168-171.
51. Gjølme, N. & Utkilen, H. (1996). The extraction and stability of microcystin-RR in different solvents. *J. Phycol.* 35 (6):80-82.
52. Gons, H.J. (1977). On the light-limited growth of *Scenedesmus protuberans* Fritsch. Thesis, University of Amsterdam.
53. Gorham, P.R. (1964). Toxic algae. In: Algae and man (ed. D.F. Jackson). Plenum Press, New York. pp. 307-336.
54. Gorham, P.R., McNicholas, S. & Allen, E.A.D. (1982). Problems encountered in searching for new strains of toxic planktonic cyanobacteria. *S. Afr. J. Sci.* 78:357-362.
55. Gorham, P.R. & Carmichael, W.W. (1988). Hazards of freshwater blue-greens (cyanobacteria). In: Algae and human affairs (eds. C.A. Lembi & J.R. Waaland). Cambridge Univ. Press. pp. 403-431.
56. Harada, K.I., Ohtani, I., Iwamoto, K., Suzuki, M., Watanabe, M.F., Watanabe, M. & Terao, K. (1994). Isolation of cylindrospermopsin from a cyanobacterium *Umezakia natans* and its screening method. *Toxicon* 32:73-84.
57. Harada, K.I., Tsuji, K., Watanabe, F.M. & Kondo, F. (1996). Stability of microcystin from cyanobacteria – III. Effect of pH and temperature. *Phycologia* 35: 83-88.
58. Harlin, M.M. & Darley, W.M. (1988). The algae: an overview. In: Algae and human affairs (eds. C.A. Lembi & J.R. Waaland). Cambridge University Press, Cambridge. pp. 3-27.
59. Hart, J., Fawell, J.K. & Croll, B. (1997). The fate of both intra- and extracellular toxins during drinking water treatment. In: Algal toxins in surface waters: origins and removal during drinking water treatment processes. International Water Supply Association World Congress, 1997. Blackwell Science Ltd., Madrid, Spain.
60. Hawkins, P.R., Runnegar, M.T.C., Jackson, A.R.B. & Falconer, I.R. (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green alga), *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1292-1295.
61. Hawkins, P.R., Chandrasena, N.R., Jones, G.J., Humpage, A.R. & Falconer, I.R. (1997). Isolation and toxicity of *Cylindrospermopsis raciborskii* from an ornamental lake. *Toxicon* 35:341-346.

62. Heise, H.A. (1951). Symptoms of hay fever caused by algae. II. *Microcystis*. Another form of algae producing allergenic reactions. *Ann. Allergy* 9:100-101.
63. Hermansky, S.J., Casey, P.J. & Stohs, S.J. (1990). Cyclosporin A – a chemoprotectant against microcystin-LR toxicity. *Toxicol. Lett.* 54:279-285.
64. Hermansky, 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.
65. Hermansky, S.J., Wolff, S.N. & Stohs, S.J. (1990). Use of rifampin as an effective chemoprotectant and antidote against microcystin-LR toxicity. *Pharmacology* 41:231-236.
66. Hoffman, J.R.H. (1976). Removal of microcystis toxins in water purification processes. *Water SA*. 2:732-734.
67. Humpage, A.R., Rositano, J., Bretag, A.H., Brown, R., Baker, P.D., Nicholson, B.C. & Steffensen, D.A. (1994). Paralytic shellfish poisons from Australian cyanobacterial blooms. *Aust. J. Mar. Freshwat. Res.* 45:761-771.
68. Ibelings, B.W., Mur, L.R., Kinsman, R. & Walsby, A.E. (1991). *Microcystis* changes its buoyancy in response to the average irradiance in the surface mixed layers. *Arch. Hydrobiol.* 120:385-401.
69. Ibelings, B.W., Mur, L.R. & Walsby, A.E. (1991). Diurnal changes in buoyancy and vertical distribution in populations of *Microcystis* in two shallow lakes. *J. Plankt. Res.* 13:419-436.
70. 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.
71. Ito, E., Kondo, F., Terao, K. & Harada, K.I. (1997). Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicon* 35:1453-1457.
72. Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., An, J.S., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B., de Melo Filho, D.A., Lyra, T.M., Barreto, V.S.T., Azevedo, S.M.F.O. & Jarvis, W.R. (1998). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *New Engl. J. Med.* 338:873-878.
73. Jones, G.J. & Orr, P.T. (1994). Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Wat. Res.* 28:871-876.
74. Jones, G.J., Falconer, I.F. & Wilkins, R.M. (1995). Persistence of cyclic peptide toxins in dried cyanobacterial crusts from Lake Mokoan, Australia. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 10:19-24.
75. Jones, G.J. & Negri, A.P. (1997). Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwater. *Wat. Res.* 31:525-533.
76. Keijola, A.M., Himberg, K., Esala, A.L., Sivonen, K. & Hiisvirta, L. (1988). Removal of cyanobacterial toxins in water treatment processes: Laboratory and pilot-scale experiments. *J. Toxicity Assessment* 3:643-656.
77. Kerby, N.W. & Rowell, P. (1992). Potential and commercial applications of photosynthetic prokaryotes. In: *Photosynthetic prokaryotes* (eds. N.H. Mann. & N.G. Carr). *Biotechnology handbooks* vol 6, Plenum Press, New York. pp. 233-254.
78. King, D.L. (1970). The role of carbon in eutrophication. *J. Water Pollut. Control. Fed.* 40:2035-2501.
79. Kirpenko, Y.A. & Kirpenko, N.I. (1980). Biological activity of the algal toxin of blue-green algae responsible for algal bloom. *Hydrobiol. J.* 16:41-45.
80. Klemer, A.R. (1976). The vertical distribution of *Oscillatoria agardhii* var. *isothrix*. *Arch. Hydrobiol.* 78:343-362.
81. Konopka, A. (1989). Metalimnetic cyanobacteria in hard-water lakes: Buoyancy regulation and physiological state. *Limnol. Oceanogr.* 34:1174-1184.
82. Kratz, W. A. & Myers, J. (1955). Nutrition and growth of several blue-green algae. *Amer. J. Bot.* 42:282-287.

83. Krishnamurthy, T., Carmichael, W.W. & Sarver, E.W. (1986). Toxic peptides from freshwater cyanobacteria (blue-green algae). I. Isolation, purification and characterization of peptides from *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae*. *Toxicon* 24:865-873.
84. Kromkamp, J.C. (1987). Formation and functional significance of storage products in cyanobacteria. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.* 21:457-465.
85. Källqvist, T. (1981). Hydroecological field experiment 1981. Incubation of natural phytoplankton in Lake Gjørsjøen. F-80402, Norsk institutt for vannforskning, Oslo. pp. 21.
86. Lahti, K. & Hiisvirta, L. (1992). Toxic cyanobacteria-measures taken by the Finnish health authorities. In: Proceedings of the third Nordic symposium on toxinproducing algae, Oslo - 1988 (eds. O.M. Skulberg & R. Skulberg). NIVA, Oslo.
87. Lakshmana Rao, P.V. & Bhattacharya, R. (1996). The cyanobacterial toxin microcystin-LR induced DNA damage in mouse liver in vivo. *Toxicology* 114:29-36.
88. Leeuwangh, P., Kappers, F.I., Dekker, M. & Koerselman, W. (1983). Toxicity of cyanobacteria in Dutch lakes and reservoirs. *Aquat. Toxicol.* 4:63-72.
89. Lawton, L.A. & Codd, G.A. (1991). Cyanobacterial (blue-green algal) toxins and their significance in UK and European waters. *J. Inst. Wat. Environ. Manag.* 5:460-465.
90. Leuschner, C. (1984). Auswirkungen der Phosphateliminierungsanlage Beelitzhof auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Phytoplanktonpopulation im Wannseewasser bei der Überleitung in den Schlachtensee. Report for the Institute of Water, Air and Soil Hygiene, Federal Environmental Agency, Berlin. pp. 62.
91. Lincoln, E.P. & Carmichael, W.W. (1981). Preliminary tests of toxicity of *Synechocystis* sp. grown in wastewater medium. In: The water environment. Algal toxins and health (ed. W.W. Carmichael). Plenum press, New York. pp. 223-230.
92. Lippy, E.C. & Erb, J. (1976). Gastrointestinal illness at Sewickley, Pa. *J. Am. Water Works Assoc.* 68:606-610.
93. Long, B.M., Jones, G.J. & Orr, P.T. (2001). Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:278-283.
94. Loogman, J.G. (1982). Influence of photoperiodicity on algal growth kinetics. PhD thesis, University of Amsterdam.
95. Mallevialle, J. & Suffet, I.H. (1987). Identification and treatment of tastes and odors in drinking water. American Water Works Association, Denver CO.
96. Mann, N.H. & Carr, N.G. (1992). Photosynthetic prokaryotes. Biotechnology handbooks, vol. 6 Plenum Press. New York and London.
97. Marcus, Y., Zenvirth, D., Harel, E. & Kaplan, A. (1982). Induction of HCO₃ transporting capability and high photosynthetic affinity to inorganic carbon by low concentration of CO₂ in *Anabaena variabilis*. *Plant Physiol.* 69:1008-1012.
98. Matsunaga, S., Moore, R.E., Niemczura, W.P. & Carmichael, W.W. (1989). Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *J. Amer. Chem. Soc.* 111:8021-8023.
99. Meissner, K., Dittmann, E. & Börner, T. (1996). Toxic and nontoxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* contain sequences homologous to peptide synthetase genes. *FEMS Microbiol. Letters* 135:295-303.
100. Merish, K.A., Bunner, D.L., Ragland, D.R. & Creasia, D.A. (1991). Protection against microcystin-LR induced hepatotoxicity by silmarin-biochemistry, histopathology and lethality. *Pharmacol. Res.* 8:273-277.
101. Miller, A.G., Espie, G.S. & Canvin, D.T. (1990). Active CO₂ transport in cyanobacteria. *Can. J. Bot.* 69:925-935.
102. Mittal, A., Argarwal, M.K. & Schivpuri, D.N. (1979). Respiratory allergy to algae: clinical aspects. *Ann. Allergy* 42:253-256.

103. Moore, R.E., Ohtani, I., Moore, B.S., De Koning, C.B., Yoshida, W.Y., Runnegar, M.T.C. & Carmichael, W.W. (1993). Cyanobacterial toxins. *Gazz. Chim. Ital.* 123:329-336.
104. Moss, B. (1973). The influence of environmental factors on the distribution of freshwater algae: An experimental study. II. The role of pH and the carbon dioxide-bicarbonate system. *J. Ecol.* 61:157-177.
105. Mur, L.R. (1983). Some aspects of the ecophysiology of cyanobacteria. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* 134b:61-72.
106. Mur, L.R. & Beydorff, R.O. (1978). A model of the succession from green to blue-green algae based on light limitation. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20:2314-2321.
107. Mur, L.R., Gons, H.J. & Van Liere, L. (1977). Some experiments on the competition between green algae and blue-green bacteria in light-limited environments. *FEMS Microbiol. Letters* 1:335-338.
108. Murphy, T.P., Lean, D.R.S. & Nalewajko, C. (1976). Blue-green algae: their excretion of iron-selective chelators enables them to dominate other algae. *Science, N.Y.* 192:900-902.
109. Mouchet, P. & Bonnellye, V. (1998). Solving algae problems: French expertise and worldwide applications. *J. Water Suppl. Res. Technol. – Aqua.* 47:125-141.
110. Negri, A.P., Jones, G.J., Blackburn, S.I., Oshima, Y. & Onodera, H. (1997). Effect of culture and bloom development and of sample storage on paralytic shellfish poisons in the cyanobacterium *Anabaena circinalis*. *J. Phycol.* 33:26-35.
111. Nichols, J.M. & Adams, D.G. (1982). Akinetes. In: *The biology of cyanobacteria* (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 387-412.
112. Nishizawa, T., Asayama, M., Fujii, K., Harada, K. & Shirai, M. (1999). Genetic analysis of the peptide synthetase genes for a cyclic heptapeptide microcystin in *Microcystis* spp. *J. Biochem.* 126:520-529.
113. Ohren, J.A. (1988). Renseeffekter for alger og algetoksiner i direktefiltrering. *Vann* 1:159-166.
114. Ohta, T., Sueoka, E., Iida, N., Komori, A., Suganuma, M., Nishiwaki, R., Tatematsu, M., Kim, S.J., Carmichael, W.W. & Fujiki, H. (1994). Nodularin, a potent inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A, is a new environmental carcinogen in male F344 rat liver. *Cancer Res.* 54:6402-6406.
115. Ohtani, I., Moore, R.E. & Runnegar, M.T.C. (1992). Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborski*. *J. Am. Chem. Soc.* 114(20):7941-7942.
116. Pearl, H.W. (1982). Interactions with bacteria. In: *The biology of cyanobacteria* (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 441-461.
117. Paerl, H.W. (1988). Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnol. Oceanogr.* 33:823-847.
118. Paerl, H.W., Tucker, J. & Bland, P.T. (1983). Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnol. Oceanogr.* 28:847-857.
119. Padiśák, J. (1997). *Cylindrospermopsis raciborski* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 107:563-593.
120. Pearsall, W.H. (1932). Phytoplankton in the English lakes. II. The composition of the phytoplankton in relation to dissolved substances. *J. Ecol.* 20:241-262.
121. Persson, P.E. (1983). Off-flavours in aquatic ecosystems - an introduction. *Water Sci. Technol.* 15:1-11.
122. Pettersson, K., Herlitz, E. & Istvanovics, V. (1993). The role of *Gloeotrichia echinulata* in the transfer of phosphorus from sediments to water in Lake Erken. *Hydrobiologia* 253:123-129.
123. Pick, F.R. & Lean, D.R.S. (1987). The role of macronutrients (C, N, P) in controlling cyanobacterial dominance in temperate lakes. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.* 21:425-434.
124. Premazzi, G. & Volterra, L. (1993). Microphyte toxins. A manual for toxin detection, environmental monitoring and therapies to counteract intoxications. JRC CEC, Luxembourg.
125. Raven, J.A. (1985). The CO₂ concentrating mechanism. In: *Inorganic carbon uptake by aquatic photosynthetic organisms* (eds. W.J. Lucas & J.A. Berry). Waverly Press, Baltimore. pp. 67-83.

126. Raziuddin, S., Siegelman, H.W. & Tornabene, T.G. (1983). Lipopolysaccharides of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. Eur. J. Biochem. 137:333-336.
127. Reynolds, C.S. (1987). Cyanobacterial water-blooms. In: Advances in botanical research (ed. P. Callow). Academic Press, London. 13:67-143.
128. Robarts, R.D. & Zohary, T. (1987). Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. New Zeal. J. Mar. Freshw. Res. 21:391-399.
129. Robinson, N.A., Muir, G.A., Matson, C.F., Dinterman, R.E. & Pace, J.G. (1989). Characterization of chemically tritiated microcystin-LR and its distribution in mice. Toxicon 27:1035-1042.
130. Robinson, N.A., Pace, J.G., Matson, C.F., Muir, G.A. & Lawrence, W.B. (1991). Tissue distribution, excretion and hepatic biotransformation of microcystin-LR in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 256:176-182.
131. Rohrlack, T., Christoffersen, K., Kaebernick, M. & Neilan, B.A. (2004). Cyanobacterial protease inhibitor microviridin J causes a lethal molting disruption in *Daphnia pulicaria*. Appl. Environ. Microbiol. 70:5047-5050.
132. Runnegar, M.T.C., Jackson, A.R.B. & Falconer, I.R. (1988). Toxicity of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* Mertens. Toxicon. 26:143-151.
133. Sawyer, P.J., Gentile, J.H. & Sasner Jr, J.J. (1968). Demonstration of a toxin from *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs. Can. J. Microbiol. 14:1199-1204.
134. Schreurs, H. (1992). Cyanobacterial dominance. Relation to eutrophication and lake morphology. PhD thesis, University of Amsterdam.
135. Shapiro, J. (1973). Blue-green algae: why they become dominant. Science 179:382-384.
136. Shapiro, J. (1984). Blue-green dominance in lakes: the role and management significance of pH and CO₂. Internat. Rev. Ges. Hydrobiol. 69:765-780.
137. Shapiro, J. (1990). Current beliefs regarding dominance by blue-greens: the case for importance of CO₂ and pH. Verh. Internat. Verein. Limnol. 24:38-54.
138. Shimizu, Y., Norte, M., Hori, A., Genenah, A. & Kobayashi, M. (1984). Biosynthesis of saxitoxin analogues: the unexpected pathway. J. Am. Chem. Soc. 106:6433-6434.
139. Sivonen, K. (1990). Effects of light, temperature, nitrate, orthophosphate, and bacteria on the growth of and hepatotoxin production by *Oscillatoria agardhii* strains. Appl. Environ. Microbiol. 56:2658-2666.
140. Skulberg, O.M., Underdal, B. & Utkilen, H. (1994). Toxic waterblooms with cyanophytes in Norway - current knowledge. Algological Studies 75:279-289.
141. Skulberg, O.M. (1996). Toxins produced by cyanophytes in Norwegian inland waters - health and environment. In: Chemical data as a basis of geomedical investigations (ed. J. Låg). The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo. pp. 197-216.
142. Smith, V.H. (1983). Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. Science 221:669-671.
143. Smith, V.H. (1987). Prediction of nuisance blue-green algal growth in North Carolina Waters. Report no. 233, Water Resources Research Institute, University of North Carolina.
144. Sommer, U. (1989). The role of competition for resources in phytoplankton succession. In: Plankton ecology: succession in plankton communities (ed. U. Sommer). Springer Verlag, Berlin. pp. 57-106.
145. Soong, F.S., Maynard, E., Kirke, K. & Luke, C. (1992). Illness associated with blue-green algae. Med. J. Aust. 156:67.
146. Stainer, R.Y. & Cohen-Bazire, G.G. (1977). Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 31:225-274.
147. Steinberg, C.E.W. & Hartmann, H.M. (1988). Planktonic bloom-forming cyanobacteria and the eutrophication of lakes and rivers. Freshw. Biol. 20:279-287.

148. Stevens, D.K. & Krieger, R.I. (1991). Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-a. *Toxicon* 29:167-179.
149. Stowe, C.W., Monson, E., Abdullah, A.S. & Barnes, D. (1981). Blue-green algae poisoning (*Microcystis aeruginosa*) in dairy herd. *Bovine Clin.* 1:6-8.
150. Sykora, J.L. & Keleti, G. (1981). Cyanobacteria and endotoxins in drinking water supplies. In: *The water environment. Algal toxins and health.* (ed. W.W. Carmichael). Plenum Press, New York. pp. 285-302.
151. Talling, J.F. (1976). The depletion of carbon dioxide from lake water by phytoplankton. *J. Ecol.* 64:79-123.
152. Tandeau de Marsac, N. (1977). Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria. *J. Bacteriol.* 130:82-91.
153. Tideström, H. & Rennerfelt, J. (1989). Giftiga blågrönalger - rening av algtoxinfekterat dricksvatten. Naturvårdsverket Rapport 3590.
154. Tilman, D., Kiesling, R.L., Sterner, R., Kilham, S.S. & Johnson, F.A. (1986) Green, bluegreen and diatom algae: Taxonomic differences in competitive ability for phosphorus, silicon and nitrogen. *Arch. Hydrobiol.* 106:473-485.
155. Tisdale, E.S. (1931). The 1930-1931 drought and its effect upon public water supply. *Am. J. Publ. Health* 21:1203-1218.
156. Tison, D.L., Pope, D.H., Cherry, W.B. & Fliermans, C.B. (1980). Growth of *Legionella pneumophila* in association with blue-green algae (cyanobacteria). *Appl. Environ. Microbiol.* 39:456-459.
157. Tsuji, K., Naito, S., Kondo, F., Ishikawa, N., Watanabe, M. F., Suzuki, M. & Harada, K.I. (1994). Stability of microcystins from cyanobacteria: Effect of light on decomposition and isomerization. *Environ. Sci. Technol.* 28:173-177.
158. Turner, P.C., Gammie, A.J., Hollinrake, K. & Codd, G.A. (1990). Pneumonia associated with cyanobacteria. *Br. Med. J.* 300:1440-1441.
159. Uneo, Y., Nagata, S., Tsutsumi, T., Hasegawa, A., Watanabe, M.F., Park, H-D., Chen, G-C., Chen, G. & Yu, S-Z. (1996). Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. *Carcinogenesis* 17 (6):1317-1321.
160. Utkilen, H. & Gjølme, N. (1992). Toxin production by *Microcystis aeruginosa* as a function of light in continuous cultures and its ecological significance. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1321-1325.
161. Utkilen, H. & Gjølme, N. (1995). Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:797-800.
162. Utkilen, H.C., Oliver, R. L. & Walsby, A.E. (1985). Buoyancy regulation in a red *Oscillatoria* unable to collapse gas vacuoles by turgor pressure. *Arch. Hydrobiol.* 102:319-329.
163. Utkilen, H., Aase, B., Bryn, K. & Jantzen, E. (1988). 3-hydroxy-fatty acids as potential determinants for cyanobacterial endotoxins; a preliminary report. In: *Proceedings of the third Nordic symposium on toxinproducing Algae, Oslo - 1988* (eds. O.M. Skulberg & R. Skulberg) NIVA, Oslo.
164. Utkilen, H., Skulberg, O.M., Underdal, B., Gjølme, N., Skulberg, R. & Kotai, J. (1996). The rise and fall of a toxigenic population of *Microcystis aeruginosa* (cyanophyceae/cyanobacteria) - a decade of observations in lake Akersvatnet, Norway. *J. Phycologia* 35 (suppl. 6):189-197.
165. Van der Westhuizen, A.J. & Eloff, J.N. (1985). Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta* 163:55-59.
166. Van der Westhuizen, A.J., Eloff, J.N. & Krüger, G.H.J. (1986). Effect of temperature and light (fluence rate) on the composition of the toxin of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Arch. Hydrobiol.* 108:145-154.
167. Van Liere, L. & Mur, L.R. (1979). Growth kinetics of *Oscillatoria agardhii* Goment in continuous culture, limited in its growth by the light energy supply. *J. Gen. Microbiol.* 115:153-160.
168. Van Liere, L., Mur, L.R., Gibson, C.E. & Herdman, M. (1979). Growth and physiology of *Oscillatoria agardhii* Gomont cultivated in continuous culture with a light-dark cycle. *Arch. Microbiol.* 123:315-318.

169. Van Liere, L. & Walsby, A.E. (1982). Interactions of cyanobacteria with light. In: The biology of cyanobacteria (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publication, Oxford. pp. 9-45.
170. Varis, O. (1993). Cyanobacteria dynamics in a restored Finnish lake: A long term simulation study. *Hydrobiologia* 268:129-145.
171. Velde, M.V. (1931). An epidemiological study of suspected water-borne gastroenteritis. *Am. J. Publ. Health* 21:1227-1235.
172. Velzeboer, R., Drikas, M., Donati, C., Burch, M., & Steffensen, D. (1995). The removal of cyanobacterial cells by alum flocculation In: Proceedings of the Australian Water and Wastewater Association 16th Federal Convention, Sydney.
173. Walsby, A.E. (1981). Cyanobacteria: planktonic gas-vacuolated forms. In: The prokaryotes (eds. M. Starr, H. Stolp, H. Truper, A. Balows & H.G. Schlegel). Springer Verlag, New York. pp. 224-235.
174. Walsby, A.E. (1987). Mechanisms of buoyancy regulation by planktonic cyanobacteria with gas vesicles. In: The cyanobacteria (eds. P. Fay & C. Van Baalen). Elsevier, Science Publ., Amsterdam. pp. 377-392.
175. Watanabe, M.F., Oishi, S. & Nakano, T. (1981). Toxic characteristics of *Microcystis aeruginosa*. *Verh. Int. Verein. Limnol.* 21:1441-1443.
176. Watanabe, M.F. & Oishi, S. (1982). Toxic substances from a natural bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:819-822.
177. Watanabe, M.F. & Oishi, S. (1985). Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:1342-1344.
178. 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.
179. Weckesser, J., Drews, G. & Mayer, H. (1979). Lipopolysaccharides of photosynthetic prokaryotes. *Ann. Rev. Microbiol.* 33:215-239.
180. Welker, M. & von Döhren, H. (2006). Cyanobacterial peptides – Nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiol. Rev.* 30:530-563.
181. Whitton, B.A. (1973). Interactions with other organisms. In: The biology of blue-green algae (eds. N.G. Carr & B.A. Whitton). Blackwell Scientific Publication, Oxford. pp. 415-433.
182. Wicks, R.J. & Theil, P.G. (1990). Environmental factors affecting the production of peptide toxins in floating scums of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in a hypertrophic African reservoir. *Env. Sci. Technol.* 24:1413-1418.
183. Willén, E. & Willén, T. (1995). Massutveckling av cyanobakterier. I: Skadliga alger i sjöar och hav (eds. L. Edler, E. Willén, T. Willén & G. Ahlgren). Naturvårdsverket Rapport 4447. pp. 54.
184. Yoshizawa, S., Matsushi, R., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ichihara, A., Carmichael, W.W. & Fujiki, H. (1990). Inhibition of protein phosphatases by microcystin and nodularin associated with hepatotoxicity. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 116:609-614.
185. Yu, S.Z. (1989). Drinking water and primary liver cancer. In: Primary liver cancer (eds. Z.Y. Tang, M.C. Wu & S.S. Xia). Springer, Berlin. pp. 30-37.
186. Yu, S.Z. (1995). Primary prevention of hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 10: 674-682.
187. Zevenboom, W. & Mur, L.R. (1980). N₂-fixing cyanobacteria: why they do not become dominant in Dutch hypertrophic lakes. *Dev. Hydrobiol.* 2:123-130.
188. Ziegler, K. & Frimmer, M. (1986). Cyclosporin A and a diaziridine derivative inhibit the hepatocellular uptake of cholate, phalloidin and rifampicin. *Biochim. Biophys. Acta* 855:136-142.

