

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Amar TELIDJI Laghouat



Master 2- Ecologie Végétale

Les cyanobactéries potentiellement toxiques et leur impact sur l'environnement

Préparé par :

Ournid Mohammed ettahir

Membres de jury

- | | | | |
|---|-------------------------------------|------------|---|
| - | Encadrant : ABDESSELAM Amira | MAA | Université Amar Telidji-Laghouat |
| - | Président : SOUFI Ibtissem | MAA | Université Amar Telidji-Laghouat |
| - | Examineur : BOUMEDDIENE M.A | MAA | Université Amar Telidji-Laghouat |

Année Universitaire 2019-2020

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Ma mère qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde ;

La mémoire de mon père disparu trop tôt. j'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde

Mes frères et soeurs, en reconnaissance de leur affection toujours constante

Tous mes proches

Mes amis

Mes camarades de promotion

Tous mes enseignants surtout Mme Amira abedesselem pour encadrement

tous ceux qui m'ont aidé dans la réal

Remerciements

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir
donné la force et
la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive
connaissance à Mme **ABDESSELAM Amira**, maitre conférence à
l'université *Amar TELIDJI* pour avoir encadré et dirigé ce travail avec
une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil et la
confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme **SOUFI Ibtissem**,
professeur à l'université

Amar TELIDJI d'avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également mes vifs remerciements à Mr **BOUMEDDIENE M.A**,
professeur à l'université *Amar TELIDJI* pour l'honneur qu'il nous a
fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

À tous mes amis.

À tous les étudiants de master de la promotion 2020 Ecologie
végétale .

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou
indirectement, à la
réalisation de ce travail

Sommaire

LISTE DES ABBREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....1

I. Les cyanobactéries : Présentation

I-1. Définition et historique2

I-2. Morphologie générale et organisation cellulaire.....2

I-3. Multiplication-reproduction.....5

I-4. Ecologie des cyanobactéries.....7

I-5. Les facteurs favorisant leur développement.....7

I-6. Successions saisonnières.....8

I-7. Eutrophisation.....8

I-8. Prolifération.....8

I-9. Classification.....9

I-10. Les toxines des cyanobactéries.....11

I-10-1. Les hépatotoxines.....11

I-10-2. Les neurotoxines.....13

I-10-3. Les dermatotoxines.....16

I-11. Réglementations pour les cyanotoxines.....16

II. Les impacts des cyanobactéries

II-1. Impact sur la santé humaine.....17

II-2. Impact sur la faune.....19

II-3. Impact sur la flore.....20

II-4. Impact sur le fonctionnement des écosystèmes.....21

II-5. Effets indirects des cyanobactéries toxiques sur le zooplancton.....22

II-6. Impact des cyanobactéries sur les autres consommateurs.....23

II-7. Effets sur les poissons.....	24
II-8. impact des cyanobactéries sur les vertébrés terrestres.....	25

III. Méthodes de détection des cyanotoxines

III-1. Méthodes biologiques.....	25
III-2. Méthodes bioanalytiques.....	28
III-2-1. immunoessais (tests ELISA).....	28
III-2-2. Tests d'inhibition enzymatique.....	30
III-2-3. Test cellulaire sur neuroblastomes.....	32
III-3. Analyse par les méthodes chromatographiques.....	33
CONCLUSION.....	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	39

RESUME

Les cyanobactéries nuisibles ont fait l'objet de maintes recherches scientifiques pour expliquer-le et comprenez ses différents effets. Malgré l'abondance d'information disponible, la complexité et la variabilité des écosystèmes rendent certaines conclusions incertaines, voire même contradictoires. Alors dans Ce travail nous avons présentée une collection des connaissances autour Les cyanobactéries potentiellement toxiques et leur impact sur l'environnement, La première partie de ce travail a été consacrée à l'identification et la classification des cyanobactéries et leurs propriétés physiques et chimiques générales ainsi que les conditions des developpement et les toxine des cyanobactéries. Dans la deuxième partie nous avons parlé sur les impact des cyanobactéries sur l'environnement et sur la santé humaine et les autre d'êtres vivants, enfin en la troisième partie nous avons montré les méthodes de détection des cyanotoxines.

Mots-clés: cyanobactéries, écosystèmes , toxiques, cyanotoxines

ABSTRACT

Harmful cyanobacteria have been the subject of much scientific research to explain and understand its various effects. Despite the abundance of information available, the complexity and variability of ecosystems make certain conclusions uncertain, and even contradictory. So in this work we have presented a collection of knowledge around Potentially toxic cyanobacteria and their impact on the environment, The first part of this work was devoted to the identification and classification of cyanobacteria and their general physical and chemical properties as well as the conditions of development and toxins of cyanobacteria. In the second part we talked about the impact of cyanobacteria on the environment and on human health and other living beings, finally in the third part we showed the methods of detection of cyanotoxins.

Keywords: cyanobacteria, ecosystems, toxicants, cyanotoxins

الملخص

لقد كانت البكتيريا الزرقاء الضارة موضوعًا للكثير من البحث العلمي لشرح وفهم آثارها المختلفة. على الرغم من وفرة المعلومات المتاحة ، فإن تعقيد النظم البيئية وتنوعها يجعل بعض الاستنتاجات غير مؤكدة ، بل ومتناقضة. لذلك في هذا العمل قدمنا مجموعة من المعرفة حول البكتيريا الزرقاء السامة المحتملة وتأثيرها على البيئة ، وقد تم تخصيص الجزء الأول من هذا العمل لتحديد وتصنيف البكتيريا الزرقاء وخصائصها الفيزيائية والكيميائية العامة أيضًا كظروف تطور وسموم البكتيريا الزرقاء. في الجزء الثاني تحدثنا عن تأثير البكتيريا الزرقاء على البيئة وعلى صحة الإنسان والكائنات الحية الأخرى ، وأخيرًا في الجزء الثالث عرضنا طرق الكشف عن السموم الزرقاء.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الزرقاء ، النظم البيئية ، المواد السامة ، السموم الزرقاء

liste des abréviations

A	Adénine
ACP	Acyl-transporteur
Adda	b-acide 3-amino-9-méthoxy-2-,6,8-triméthyl-10-phényldeca-4(E),6(E)- acide diénoïque
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANDRS	Agence Nationale de Développement de la Recherche en Santé.
ARN	Acide ribonucléique
C	Cytosine
CPG	Chromatographie en Phase gazeuse
CPL	Chromatographie en Phase liquide
DL50	Dose létale 50
CLH	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CYN	Cylindropsermopsine
Da	Dalton
DL50	Dose létale 50
EC	Electrophorèse Capillaire
EC50	Concentration effective 50
EDTA	Acide ethyène diaminotétra-acétique
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
G	Guanine
i.p.	Injection intrapéritonéale
KR	β -ketoacyl-ACP-reductase
KS	β -ketoacyl-ACP-synthase
LDH	Lactate déhydrogénase
MCYST	-L Microcystine-LR
Mcs	Microcystines
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONU	Organisation des Nations Unies.
pb	Paire de bases
PCR	Polymerase Chain Reaction
PKS	Polyketide synthase
P.N.E.K.	Parc National d'El – Kala
PP1	Protéine phosphatase de type 1
PP2A	Protéine phosphatase de type 2A
PP3	Protéine phosphatase de type 3
PS	Peptide synthetase
PSP	Paralytic Shellfish Poisoning
PT	Phosphore total
r	Coefficient de corrélation
SM	Spectrométrie de masse.
T	Thymine
TFA	Acide trifluoroacétique
UV	Ultra-violet
WHO	World Health Organization

Liste des figures

Figure 1: Différentes morphologies chez les cyanobactéries, d'après des photos de Luc Brient université de Rennes1.....	5
Figure 2 : Cellules de cyanobactéries appartenant au genre <i>Microcystis</i> sp.....	5
Figure 3: Morphologie générale des cyanobactéries.....	6
Figure 4 : structure chimique des hépatotoxines de cyanobactéries.....	12
Figure 5: structure chimique de la cylindrospermopsine "modifié d'après (SIV.99).....	13
Figure 6: structure chimique de la L' anatoxine-a et de ses analogues.....	14
Figure 7: structure chimique générale de la saxitoxine et de ses analogues D'après (SIV.1999).....	15
Figure 8: structure chimique de la Lα-B-N-méthylamino-L-alanine (BMAA) et de ses isomères.....	16
Figure 9: Mortalité des tortues dans le lac Oubeïra en Algérie suite à une efflorescence de <i>Microcystis</i> sp.....	20
Figure 10: efflorescence de cyanobactérie formant une "écume" à la surface d'un plan d'eau avec des impacts directs sur la pénétration de la lumière dans la colonne d'eau.....	21

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification des cyanobactéries selon les systèmes bactériologiques et botaniques

INTRODUCTION

Les cyanobactéries qui font partie du phytoplancton, sont parmi les plus anciens organismes apparus sur terre (précambrien) et les plus abondants et largement distribués (Paerl et al., 2001). Procaryotes autotrophes, elles sont présentes dans tous les types de milieux, terrestres ou aquatiques, et sous tous les climats. Dans les eaux douces, les cyanobactéries ont des capacités de prolifération importantes, donnant lieu à des « blooms » (épais tapis à la surface de l'eau ou dispersés dans toute la colonne) qui peuvent être observés dans toutes les régions du monde, y compris en Bretagne (Chorus et Bartram, 1999; Brient et al, 2004).

L'activité humaine dans les pays industrialisés entraîne depuis plusieurs années le rejet de phosphore et d'azote dans l'environnement : on assiste alors à l'eutrophisation de nombreux écosystèmes aquatiques et à la prolifération d'algues. Aujourd'hui, en Europe, en Asie et aux USA, plus de 40% des lacs sont eutrophisés et sujets à la prolifération d'algues (Briand et al., 2003). Les proliférations d'algues, en particulier les cyanobactéries, peuvent avoir un impact majeur sur le fonctionnement des écosystèmes ainsi que sur la santé humaine et animale, autant lors de la consommation de l'eau que lors de loisirs aquatiques. L'intérêt pour les cyanobactéries s'est accru ces dernières années, avec l'augmentation des incidents domestiques sur tous les continents, en particulier dans des pays d'Europe du Nord, qui n'étaient pas autant touchés par les proliférations de cyanobactéries il y a quelques années (Jacquet et al., 2003) .

Les cyanobactéries toxiques sont courantes dans le monde entier, étant un signe clair d'eutrophisation. Les toxines des cyanobactéries peuvent affecter la faune aquatique et terrestre ainsi que les humains si elles entrent en contact, ingèrent ou utilisent de l'eau contaminée par des cyanotoxines. Le cas le plus dramatique s'est produit en 1996 à Caruaru, au Brésil, où plus de 60 patients d'une clinique de dialyse sont décédés à la suite de l'utilisation d'eau contaminée par des cyanotoxines hépatotoxiques (Jochimsen et al., 1998). Les toxines de cyanobactéries peuvent être divisées en neurotoxines, hépatotoxines et dermatotoxines, en fonction de leurs effets sur les mammifères; cependant, les hépatotoxines sont les plus courantes et les plus dangereuses. Ils peuvent causer de graves lésions hépatiques et étant des inhibiteurs de la protéine phosphatase, ils semblent être de puissants promoteurs de tumeurs hépatiques (Nishiwaki-Matsushima et al., 1992).

I. Les cyanobactéries : Présentation

I-1. Définition et historique

Les cyanobactéries sont des microorganismes procaryotes photosynthétiques appartenant au règne des eubactéries, encore appelées Cyanophytes ou algues bleues (Woese, 1987), ces micro-organismes portent actuellement le terme "Cyanobactéries" Stanier *et al.*, (1978), Ces derniers se sont basés sur la réalité d'une grande affinité à la fois génotypique, physiologique (photosynthétique) et structurelle (procaryotique) entre les Cyanobactéries et les bactéries pigmentées (Pearl, 1988).

D'un point de vue phylogénétique, les cyanobactéries forment un groupe évolutif monophylétique au sein des eubactéries. Elles forment un des premiers groupes à diverger au sein de la lignée bactérienne ancestrale (Blank, 2004) avec une origine proche des bactéries mésophiles, réductrices de sulfates. La date d'apparition vers 3.5 milliards d'années, mais les données paléobiologiques se basant sur des fossiles des cyanobactéries multicellulaires montrent que celles-ci dateraient de la fin de l'archéen, il y a 2.7 milliards d'années (Cavalier.2006; Cavavalier.2013), quoi qu'il en soit, il est clairement démontré que les cyanobactéries ont joué un rôle significatif dans l'histoire de notre planète, produisant une forte quantité d'oxygène, à l'origine de l'atmosphère actuelle, riche en oxygène (Tomatini et al., 2006)

I-2. Morphologie générale et organisation cellulaire

L'organisation cellulaire reste pourtant de type procaryote et ne présente ni vrai noyau (ADN libre constituant le nucléoplasme), ni mitochondrie, ni appareil de Golgi, ni réticulum endoplasmique (Stanier, 1988) et La présence d'une paroi cellulaire caractéristique des bactéries gram- (Fay.1987 ; Van Den Hoek .1995), les cellules de Cyanobactéries ont une régulation bactérienne mais sont néanmoins séparées des bactéries par d'une activité photosynthétique oxygénée utilisant l'eau comme donneur d'électrons comme chez les algues et les plantes supérieures, et par la présence de la chlorophylle a, de la phycocyanine et de la phycoérythrine (deux composés protéiniques de la famille des phycobiliprotéines, et de pigments hydrosolubles), donnant respectivement les teintes verte, bleue et rouge (Castenholz et Waterbury, 1989).

Les Cyanobactéries vivent dans un état séparé (unicellulaire), en colonies ou en filaments. Les formes unicellulaires peuvent être sphériques, ovoïdes, coccoïdes, en bâtonnets, ou irrégulières (figure 1) (Komarek et Anagnostides, 1999).

L'organisation des thalles de cyanobactéries est caractérisée par une grande variété. Les formes les plus simples sont unicellulaires, sphériques, ellipsoïdales, cylindriques, ovoïdes ou piriformes, nues ou entourées d'une gaine mucilagineuse homogène ou stratifiée (fig03. 1 à 7). Plus complexes sont les colonies, agrégats de cellules (aux formes identiques à celles décrites précédemment) au nombre généralement variable, non jointives, enrobées dans un mucilage commun. La forme des colonies est très diversifiée, allant de la structure monostomatique (colonie plane à une seule couche de cellules) à la structure amorphe (nombreuses cellules dans un mucilage commun sans contour défini), en passant par les formes cubiques, sphériques, linéaires (fig03. 8 à 11). Les thalles les plus élaborés sont organisés sur le modèle filamenteux unisériel (une seule série de cellules jointives) ou plurisériel (plusieurs séries de cellules jointives), non ramifié ou à vraies ou fausses ramifications, sans gaine ou avec gaine mucilagineuse homogène ou stratifiée (fig03. 12 à 16). Une entité nue organisée en une seule série de cellules est qualifiée de trichome, tandis que la même accompagnée d'une gaine porte le nom de filament. La gaine, constituée de polysaccharides, est incolore ou colorée (jaune, orangé, rouge...), car elle est souvent imprégnée par des sels de fer et de manganèse... Elle peut renfermer un ou plusieurs trichomes selon les genres considérés (fig03. 17).

Les caractéristiques morphologiques et fonctionnelles des cyanobactéries sont de plusieurs types, Elles possèdent :

- ✓ **des cellules végétatives:** au contenu peu différencié (en microscopie photonique) sauf lorsqu'elles renferment des vacuoles gazeuses (aérotopes), très réfringentes (responsables de la flottabilité des thalles qui en possèdent), et de couleurs très diverses, conséquence des teneurs respectives en pigments photosynthétiques tels que la chlorophylle a (vert), la phycocyanine (bleu) et la phycoérythrine (rouge) et en substances hélioprotectrices.

- ✓ **des hétérocytes**, à paroi épaisse et au contenu homogène faiblement coloré. Leur forme est sphérique, cylindrique, voire conique. Leur position dans le trichome est soit intercalaire, soit terminale à l'une des extrémités seulement ou aux deux, ou encore latérale (pédicellée) (fig03. 18 à 22). Les hétérocystes sont généralement solitaires mais peuvent aussi apparaître en paire et, plus rarement, en série (fig03. 23 à 25). La présence, dans les hétérocystes, de la nitrogénase leur confère la capacité de fixer l'azote moléculaire dissous dans l'eau pour le transformer en azote assimilable par la cellule.

Les hétérocystes ne sont présents que chez certaines formes filamenteuses et ce seulement lorsque les conditions écologiques nécessaires à leur formation sont réunies.

- ✓ **des akinètes**, Ce sont des cellules généralement plus grandes que les cellules

végétatives et les hétérocystes. Leur paroi est très épaisse et peut être colorée et ornementée. Leur contenu apparaît rempli de gros granules sphériques ou polyédriques. Leur teneur en ADN est plus importante, de même que celles de la cyanophycine (réserve protéique) et du glycogène (réserve de glucides) (Wildman et al, 1975).

Les akinètes sont des cellules de repos, capables de résister à des conditions écologiques très défavorables et qui, après retour à une situation environnementale normale, peuvent germer et redonner un thalle. Les akinètes n'existent que dans certaines structures filamenteuses. Ils sont solitaires ou disposés en série dans le trichome, en position intercalaire ou subterminale, adjacente ou éloignée des hétérocystes (fig03)

✓ **des processus de photosynthèse** qui se déroulent à l'intérieur de la membrane des thylakoides au niveau des photosystèmes I et II (figure 2). La lumière y est collectée par des antennes collectrices positionnées à l'extérieur de ces membranes et composées de phycobilisomes (Grossman et al, 1995). Les phycobilisomes sont constitués de quatre types de phycobiliprotéines : l'allophycocyanine, la phycocyanine, la phycoérythrine et la phycoérythrocyanine avec des chromophores qui déterminent les longueurs d'onde de la lumière captées pour la photosynthèse (entre 500 et 660 nm). Ces longueurs d'onde sont peu utilisées par le phytoplancton eucaryote (Kirk, 1983)

✓ **des vésicules à gaz** (figure 2), structures inertes de nature protéique et perméables au gaz. Celles-ci apportent une flottabilité légèrement positive aux cyanobactéries. La flottabilité est ensuite régulée par l'accumulation ou la dégradation d'hydrates de carbone qui vont moduler la densité des cellules. Lorsque les cellules se retrouvent en surface, le processus de photosynthèse va conduire à l'accumulation d'hydrates de carbone (molécules de poids moléculaire élevé) et à une diminution de la flottabilité des cellules. Lorsque les cellules sédimentent vers les zones profondes où la lumière est insuffisante pour permettre la photosynthèse, les hydrates de carbone sont consommés par respiration conduisant à l'augmentation de la flottabilité des cellules.

✓ **des structures de réserves** telles que les carboxysomes (contenant deux enzymes de fixation du carbone: l'anhydrase carbonique et la Rubisco), les granules de cyanophycine (réserves d'azote) ou de polyphosphates (réserves de phosphates) (Walsby, 1994)

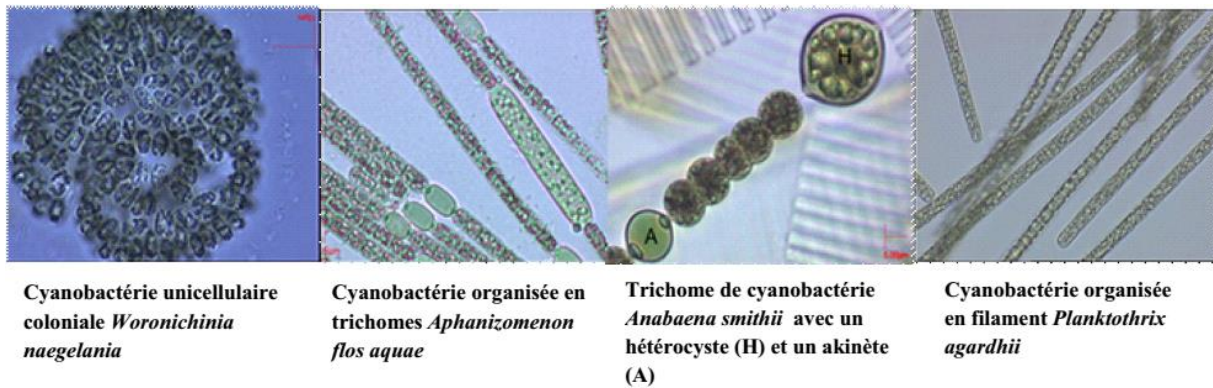


Figure 1 : Différentes morphologies chez les cyanobactéries, d'après des photos de Luc Brient université de Renne1

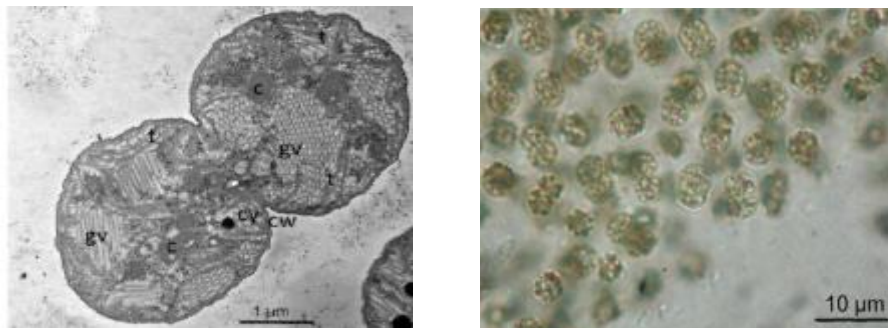


Figure 2: Cellules de cyanobactéries appartenant au genre *Microcystis* sp.
a) : observation au microscope photonique d'une colonie de cellules;
b) : observation en microscopie électronique à transmission d'une cellule en division,
vg : vésicules à gaz; c): carboxysomes, cy: granules de cyanophycine,
t: thylakoïdes. Crédits photos : C. Bemard et C. Djediat, MNHN.

I-3. Multiplication-reproduction

La division cellulaire, chez les cyanobactéries, s'effectue par voie amitotique ou fission binaire qui, à partir d'une cellule maternelle, engendre deux cellules filles. C'est le mécanisme courant chez cet embranchement qui assure la multiplication (végétative ou asexuée). Dans les conditions optimales, sa durée varie entre trente minutes et une heure.

Les individus coloniaux et filamenteux peuvent aussi se multiplier par fragmentation de leur thalle. Chez les formes filamenteuses, les trichomes se brisent, soit à partir des hétérocystes, soit à partir de cellules spécialisées appelées nécridies (cellules en cours de dégradation), soit encore en formant des éléments intercalaires ou terminaux, pluricellulaires, qualifiés d'hormogonies, qui sont libérés et, la plupart du temps, doués de mouvement (fig03. 29 à 31) .

Chez les genres unicellulaires, le contenu des cellules peut se diviser pour donner naissance à des spores. Lorsque celles-ci sont formées à l'extérieur de la paroi maternelle et libérées à partir d'un des apex de la cellule mère (souvent hétéropolaire et fixée au substrat) et en une série unique, elles sont nommées exocytes. Quand elles sont élaborées au sein de la cellule maternelle, de très petite taille, très nombreuses et sans mucilage, elles portent le nom de nanocytes ou baeocytes.

À côté des différents modes de multiplication décrits ci-dessus, il existe chez les cyanobactéries deux modes de transfert de matériel génétique : la transformation et la conjugaison (Kumar & Ueda, 1984; Tandeau de Marsac & Houmard, 1987; Thiel, 1994).

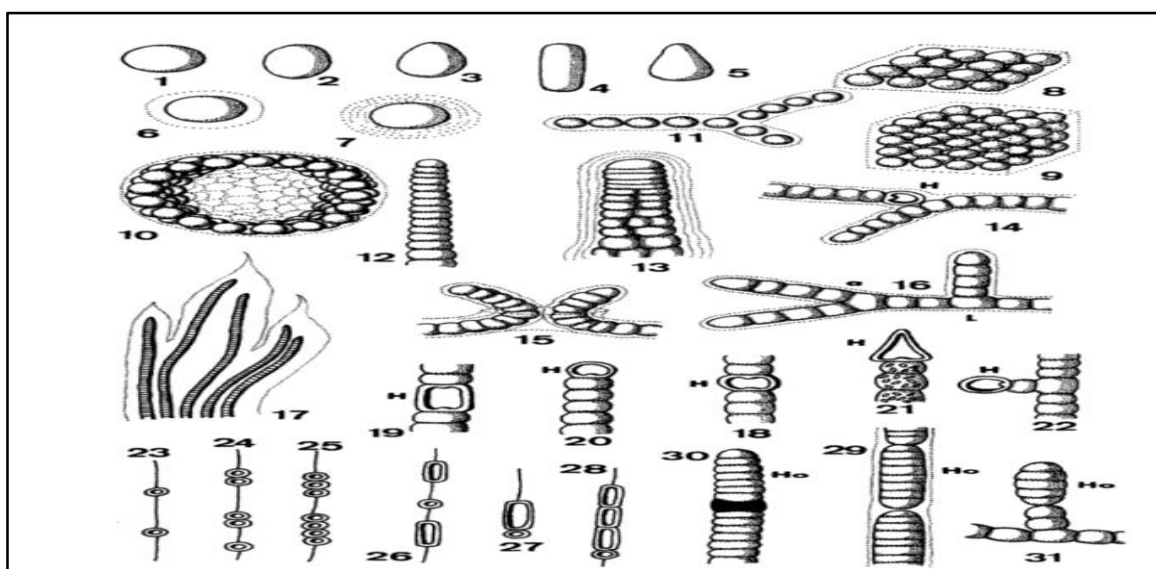


Figure 03 : Morphologie générale des cyanobactéries

1 à 7 Schémas montrant la diversité de la morphologie cellulaire des cyanobactéries 1. Sphérique. 2. ellipsoïdale, 3. ovoïde, 4: cylindrique; 5: piriforme; 6: sphérique à gaine homogène, 7: sphérique à gaine stratifiée.

Figures 8 à 11– Schémas montrant la diversité morphologique des colonies de cyanobactéries 8: colonie plane monostomatique, 9: colonie cubique, 10: colonie sphérique creuse vue en coupe, 11: colonie en chaîne

12 à 16– Schémas montrant la diversité d'organisation chez les cyanobactéries 12: thalle filamenteux unisérié, non ramifié, sans gaine (thichome), 13: thalle filamenteux plurisérié, non ramifié, à gaine stratifiée, 14: thalle filamenteux unisérié, à gaine homogène et fausse ramification (H: hétérocyste); 15: thalle filamenteux unisérié, à gaine homogène et fausse ramification géminée; 16: thalle filamenteux unisérié, à gaine homogène et vraie ramification (a: apicale; L: latérale).

17 Schéma d'un thalle constitué de plusieurs trichomes unisériés, non ramifiés, inclus dans une gaine mucilagineuse homogène commune

18 à 22 Schémas montrant la diversité de la forme et de la disposition des hétérocystes dans le trichome

18–19: intercalaires (18: sphérique, 19: cylindrique); 20–21: terminaux (20: sphérique, 21: conique), 22: latéral terminal (pedicelle).

23 à 25 Schémas montrant la disposition relative des hétérocystes 23: hétérocystes en position solitaire, 24: hétérocystes groupés en deux paires, 25: hétérocystes groupés en séries

26 à 28– Schémas montrant la diversité de la disposition relative des akinètes et de leurs relations avec les hétérocystes

26: position solitaire, intercalaire et éloignée des hétérocystes, 27: akinète subterminal adjacente à un hétérocyste apical, 28: akinète intercalaire, en une série adjacente à un hétérocyste.

29 à 31 Schémas montrant la diversité des hormogonies 29: hormogonie (Ho) intercalaire; 30: hormogonie (Ho) terminale en cours de séparation du trichome par formation d'une necridie (cellule noire); 31: hormogonie (Ho) terminale sur un rameau latéral.

I-4. Ecologie des cyanobactéries

Les cyanobactéries se retrouvent naturellement dans l'écosystème aquatique , et de manière préférentielle dans les eaux douces, mais aussi en milieux saumâtres et marins. En milieu terrestre, on les trouve dans les sols, sur la glace, sur les rochers des hautes montagnes et même dans les déserts, se rencontrent aussi bien dans les régions tropicales que polaires .(Chorus et Bartram, 1999 ; Duy et al , 2000)

Par ailleurs, peuvent être libres ou symbiotiques (delarras et al.2010)

Certaines types des cyanobactériennes peuvent également évoluer vers des milieux« extrêmes » :

elles sont adaptées à un large spectre de température (eaux thermales, lacs arctiques et antarctiques), de pH (eaux carbonatées et tourbières acides) , de salinité (lacs hypersalés à oligotrophes).

Certains genres (Anabaena, Nostoc, Calothrix, Fischerella , Scytonema) peuvent former des liens symbiotiques avec divers organismes tels que les champignons pour la formation de lichens (Taylor et al. 1997, Miura & Yokota 2006), des algues (diatomées) (Brehm et al. 2003) , des bryophytes (Solheim et al. 2004, Adams & Duggan 2008), des ptéridophytes (Peters & Meeks 1989), des plantes (gymnospermes et angiospermes) (Rai et al. 2000 ; Bergman et al. 1997), des animaux (Lambert et al. 1996, Lee et al. 2001).

I-5. Les facteurs favorisant leur développement

a. Facteurs physiques :

Ils comprennent la température de l'eau, l'ensoleillement, les précipitations et la turbidité.

b. Facteurs chimiques :

Ces facteurs sont principalement de l'azote, du phosphore et du fer. Certaines cyanobactéries sont capables de fixer l'azote sous la forme N_2 (azote atmosphérique) alors que d'autres restituent l'azote à partir des nitrates, en milieu anaérobie.

c.Facteurs biologiques :

Dans un écosystème biologique, le phytoplancton est consommé par le zooplancton, lui-même ingéré par les poissons. Cependant, les cyanobactéries ne sont pas facilement digérées par le zooplancton ; ainsi par rapport à d'autres algues (diatomées, chlorophycées), la population de cyanobactéries peut alors augmenter.

I-6. Successions saisonnières

Faisant partie du phytoplancton, les cyanobactéries se développent en général pendant la période été/automne, succédant aux diatomées (algues à paroi siliceuse) et aux algues vertes. Elles prolifèrent dans des milieux riches en phosphore car elles sont très performantes dans son assimilation et dans son stockage. Leur morphologie filamenteuse ou coloniale les rend difficilement ingérables par le zooplancton.

I-7. Eutrophisation

L'eutrophisation est le développement d'algues, de cyanobactéries et de plantes aquatiques qui se fait grâce aux nutriments contenus dans l'eau et les sédiments. Il en résulte un développement anormalement élevé de plantes aquatiques, de lentilles d'eau, de nénuphars ou d'algues. Dans le cas des cyanobactéries la prolifération ou « bloom » (en anglais) est visible à l'œil nu; ce sont les fleurs d'eau en surface ou « efflorescences », c'est-à-dire des taches ou des traînées colorées à la surface de l'eau. La raréfaction de l'oxygène entraîne un largage par les sédiments d'éléments nutritifs (excès d'azote et de phosphore), qui amplifie l'eutrophisation. Quand les cyanobactéries meurent, les cellules sont lysées et leurs métabolites se dispersent. Si elles sont toxiques, leurs toxines sont alors libérées et diffusent dans l'eau. (Delarras et al.2010)

I-8. Prolifération

Les cyanobactéries ont une forte capacité d'adaptation. Leur composition pigmentaire (entre autres, les phycobiliprotéines) leur permet d'utiliser une large partie du spectre solaire et de croître à de faibles intensités lumineuses. La motilité (certaines espèces glissent ou se déplacent dans le milieu par un mouvement hélicoïdal) et/ou la présence de vésicules gazeuses chez différents genres ou espèces leur confèrent la capacité de se déplacer dans la colonne d'eau en fonction de l'éclairement et de la concentration en éléments nutritifs. L'utilisation de l'azote moléculaire dissous dans l'eau, par les formes hétérocystées, est également un avantage compétitif. Enfin, les cyanobactéries ont assez peu de prédateurs, étant rarement consommées par le zooplancton ou les poissons. Leur développement massif est un phénomène largement répertorié dans le monde, quel que soit le climat. Ces proliférations apparaissent dans des eaux souvent eutrophes, suite à un enrichissement en nutriments par les activités urbaines et/ou agricoles. Selon les conditions physiques et chimiques du plan d'eau, on peut observer soit la formation d'une mousse bleu-verdâtre laiteuse à la surface de l'eau, soit une coloration uniforme (bleu-vert, jaune, rouge, verte...) de la colonne d'eau. Ces deux phénomènes sont la conséquence d'une densité importante d'individus correspondant à une multiplication exceptionnelle

appelée bloom, « fleur d'eau - ou encore efflorescence algale. Suivant les espèces de cyanobactéries, des blooms peuvent apparaître et disparaître aussi vite lorsque les conditions environnementales changent. Ainsi, en France, à l'occasion du déroulement du programme Efflocya (Efflorescence à cyanobactéries, ministère de l'Aménagement du territoire et de l'Environnement, 1998 et 1999), des efflorescences à *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis* et *Microcystis* ont été répertoriées, en période estivale, dans tout le territoire (Vézie et al., 1997; Sarazin, 2000). D'autres efflorescences peuvent se produire en période hivernale, comme ce fut le cas plusieurs années de suite dans des lacs alpins avec *Planktothrix rubescens* (Humbert et al., 2000). D'autres, enfin, peuvent se maintenir tout au long de l'année, tel le bloom à *Planktothrix agardhii* dans la région parisienne (Bernard, 2000). La plus ancienne mention d'un tel phénomène a été faite par De Candolle (1825), à propos d'une prolifération d'*Oscillatoria* (*Planktothrix*) *rubescens* D.C., colorant en rouge vif le lac de Morat (Suisse), événement connu sous le nom de sang des Bourguignons ». Depuis, de nombreux travaux ont été publiés sur les efflorescences à cyanobactéries et leur déterminisme (Stauffer & Lee, 1973; Reynolds & Walsby, 1975; Lynch, 1981; Paerl & Ustach, 1982; Skulberg et al., 1984; Paeri, 1988; Trimbee & Prepas, 1988; Klemer & Konopka, 1989; Zohary & Breen, 1989; Lacaze, 1996; Reynolds, 1998; Chorus & Bartram, 1999). Ces efflorescences sont une source de nuisances de plus en plus importante dans l'environnement. Elles perturbent le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, sont souvent la cause de mauvaises odeurs et sont parfois à l'origine du mauvais goût de l'eau et de la chair des poissons. La couleur intense et l'aspect de l'eau qu'elles confèrent aux aires de baignade ou de loisirs sont peu engageants pour les utilisateurs. Leur densité peut également endommager les systèmes de potabilisation de l'eau. Enfin, les efflorescences à cyanobactéries peuvent aussi produire des toxines (dermatotoxines, hépatotoxines et neurotoxines) et poser ainsi de réels problèmes sanitaires (Chorus & Bartram, 1999). Le tableau regroupe la plupart de ces espèces dont les principales sont illustrées par les figures 33 à 58

I-9. Classification

la classification des cyanobactéries dépend à la fois du Code International de Nomenclature Botanique (I.C.B.N) (McNeill et al. 2006) et du Code International de Nomenclature des Bactéries (I.C.N.B) (Lapage et al. 1992) (**tableau 1**). Dans la nomenclature botanique, les cyanobactéries appartiennent toutes à la classe des cyanophycées qui est divisée en quatre ordres (Chroococcales, Nostocales, Oscillatoriales, Stigonématales), eux mêmes divisés en familles regroupant environ 150 genres et 2000 espèces. Dans la nomenclature bactériologique,

les cyanobactéries se répartissent dans 5 sous-sections. La sous-section I comprend les cyanobactéries unicellulaires se divisant par fission binaire (e.g. *Gloeobacter*, *Gloeocapsa*, *Gloeotheca*, *Synechococcus*, *Synechocystis*) ou par bourgeonnement (e.g. *Chamaesiphon*). La sous-section II est constituée des cyanobactéries unicellulaires qui se divisent par fission multiple (formation de baeocytes mobiles et immobiles) ou par fission binaire et multiple (e.g. *Dermocarpa*, *Xenococcus*, *Dermocarpella*, *Myxosarcina*, *Chroococcidiopsis*). La sous-section III regroupe les cyanobactéries filamenteuses dépourvues de cellules différenciées (e.g. *Spirulina*, *Oscillatoria*, *Pseudanabaena*) et la section IV regroupe les cyanobactéries filamenteuses qui possèdent des cellules différenciées telles que les hétérocystes et les akinètes (e.g. *Anabaena*, *Nodularia*, *Cylindrospermum*, *Scytonema*, *Calothrix*). Enfin, la sous-section V contient des cyanobactéries filamenteuses hétérocystées présentant des ramifications vraies (e.g. *Chlorogloeopsis*, *Fischerella*).

Tableau 1 : Classification des cyanobactéries selon les systèmes bactériologiques (I.C.N.B, Lapage et al. 1992) et botaniques (I.C.B.N, McNeill et al. 2006)

Classification Bactérienne (I.C.N.B.)	Classification Botanique (I.C.B.N.)	Description
Section I	Chroococcales	Individus unicellulaires ou coloniaux, à multiplication par fission binaire et/ou formation d'exospores.
Section II	Pleurocapsales	Individus coloniaux (protohalles), à multiplication par fission multiples donnant des baeocytes.
Section III	Oscillatoriales	Formes filamenteuses unisériées, non hétérocystées, sans ramification, à division cellulaires perpendiculaires à l'axe du trichome.
Section IV	Nostocales	Formes filamenteuses à différenciation cellulaire (hétérocystes, akinètes), à divisions cellulaires dans un seul plan.
Section V	Stigonematales	Formes filamenteuses à différenciation cellulaire (hétérocystes, akinètes) présentant des ramifications (vraies ou fausses), à divisions cellulaires dans plusieurs plans.

I-10. Les toxines des cyanobactéries

Les toxines de cyanobactéries également nommées "cyanotoxines". Sont des métabolites dont les effets sont avérés sur la santé animale ou humaine. La diversité des métabolites de cyanobactéries, dont les cyanotoxines (Welker et Von dÖrhen . 2006 ; Van Apeldoorn et al 2007). Les cyanotoxines sont regroupées en trois principales familles en fonction de leur effets toxiques : les hépatotoxines, les neurotoxines et les dermatotoxines .

I-10-1. Les hépatotoxines :

Les hépatotoxines regroupent les microcystines, les nodularines et les cylindrospermopsines. Les hépatotoxines sont les toxines les plus fréquemment rencontrées dans l'environnement (Cathrine et al.2017).

✓ Les microcystines (MCs) :

Les MCs sont des heptapeptides cycliques (entre 800 et 1100 Da) ayant la particularité de présenter deux acides aminés atypiques (la N-méthyldehydroalanine, ou Mdha, et l'acide 3-amino-9-méthoxy-2,6,8-triméthyl-10- phényl-4,6diénoïque, aussi appelé groupement Adda) et deux acides aminés variables en position X et Z (comme la microcystine ayant en X une leucine et en Z une arginine nommée MC- LR, voir figure). À ce jour, plus de 150 variants de microcystines ont été identifiés (Cathrine et al.2017).

Les MCs sont des inhibiteurs puissants des protéines phosphatases (PP) de type 1 , 2A, 3 (pour la MC-LA), 4, 5, et, dans une moindre mesure, la PP de type 2B. L'inhibition des PP1 et PP2A entraîne une phosphorylation accrue des protéines, en particulier dans les hépatocytes, affectant les voies métaboliques (par exemple, la synthèse du glycogène), le transport membranaire, la sécrétion, la division cellulaire, ou la transcription et la traduction de certains gènes (Dawson.1998). Les MCs ont également été reconnues comme de puissants promoteurs de tumeurs, des perturbateurs de fonctions endocrines et comme molécules immunotoxiques (Lian et al. 2006, Wu et al. 2012). Elles peuvent induire des lésions oxydatives de l'ADN, des effets génotoxiques et provoquer l'activation de proto- oncogènes (c-jun, c-fos et c-myc). Les organes ou fonctions principalement atteints lors d'exposition aux MCs sont le foie, les reins, les intestins et le système reproductif.

Les MCs sont produites par des représentants des principaux genres formant des efflorescences tels *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Dolichospermum*, *Limnithrix*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Phormidium*, et *Planktothrix*.

✓ Les nodularines (NODS) :

Les NODS sont des heptapeptides cycliques présentant des analogies de structure avec les microcystines (figure 3). Huit variants ont été décrits à ce jour. Comme les MCs, les NODS se lient aux protéines phosphatases. Leurs effets sont proches de ceux des microcystines (Mazur-Marzec et al.2009).

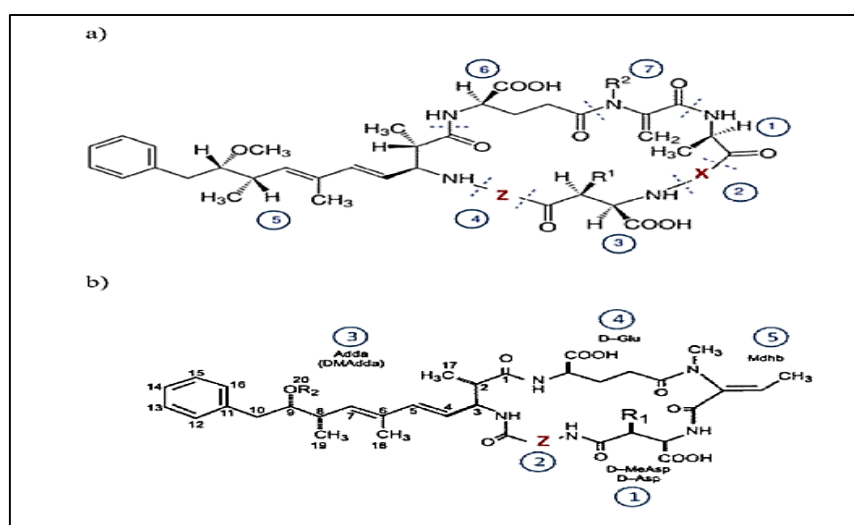


Figure 4 : structure chimique des hépatotoxines de cyanobactéries : les microcystine(a) et les nodularines (b).les chiffres représentent acides aminés au nombre de 7, pour les microcystines et de 5 , pour les nodularines. Les acides aminés en position X et Z sont variables. R=H ou CH₃, modifié d'après (SIV.99)

✓ La cylindrospermopsine et ses dérivés (CYNs)

La cylindrospermopsine (CYN) est un alcaloïde atypique de 415 Da présentant une unité guanidine cyclique (figure 4). La CYN a été caractérisée chez *Cylindrospermopsis raciborskii* (Ohtani et al .1992) mais un nombre croissant de cyanobactéries capables de synthétiser la cylindrospermopsine ou ses dérivés a depuis été décrit (tableau 2.1). Deux variants de la CYN sont actuellement caractérisés (la 7-épicylindrospermopsine et la 7 déoxycylindrospermopsine). La CYN présente une cytotoxicité non spécifique, via l'inhibition de la synthèse protéique ; les

organes cibles principaux sont le foie et les reins (Humpage et al .2005). Un effet mutagène de ce métabolite est également suspecté (Froschio et al .2003).

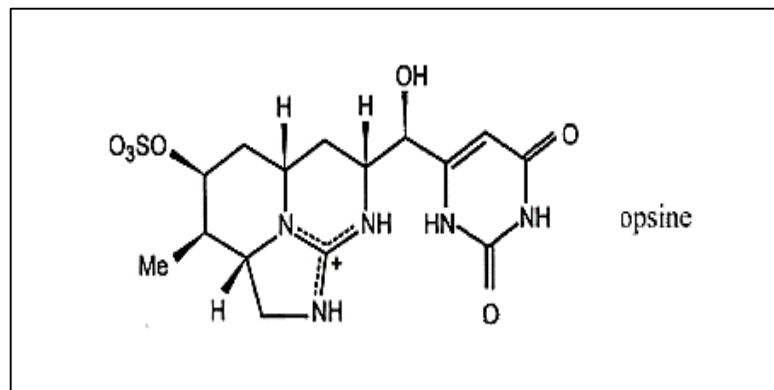


Figure 5: structure chimique de la cylindrospermopsine "modifié d'après (SIV.99)

I-10-2. Les neurotoxines

Les neurotoxines de cyanobactéries se regroupent en trois familles principales : les anatoxines, les saxitoxines et la B-N-méthylamino-L-alanine et ses isomères.

✓ Les anatoxines (ANTX-a)

Les anatoxines sont des alcaloïdes de faibles poids moléculaires (figure 5). L'ANTX-a et son homologue méthylé, l'homoanatoxine-a sont des amines secondaires de 165 Da et 179 Da, respectivement. Ces molécules présentent une grande solubilité dans l'eau et leurs effets toxiques sont similaires. Ce sont des agonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, entraînant une dépolarisation de la membrane post-synaptique et la mort par arrêt respiratoire (Falconer , Hrubec. 1998).

L'anatoxine-a(s) est un ester de phosphate d'une N-hydroxyguanine cyclique de 252 Da. Son mode d'action se caractérise par l'inhibition de l'acétylcholinestérase induisant une

paralysie musculaire due à une surexcitation des axones au niveau post-synaptique (Villatte et al.2002).

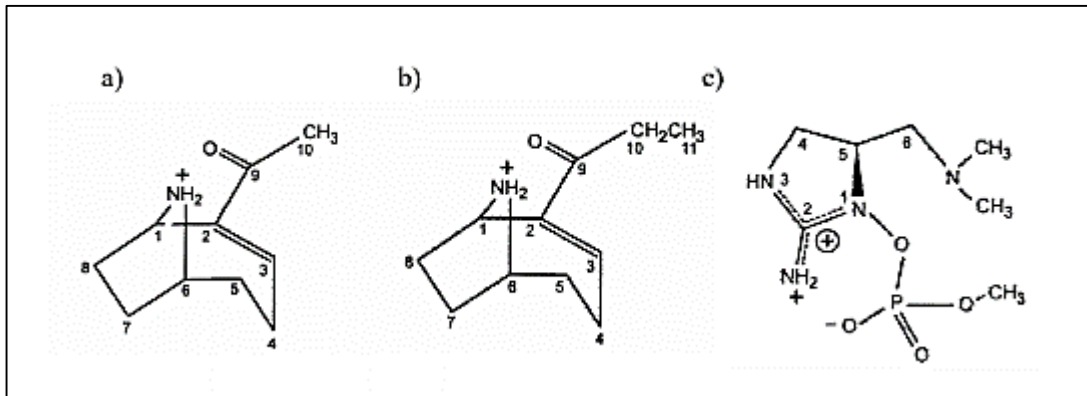


Figure 6 : structure chimique de la L' anatoxine-a et de ses analogues : L' anatoxine-a(a), l'homoanatoxine-a(b), et l'anatoxine-a(c) D'après (SIV.99)

✓ Les saxitoxines et dérivés (STXS)

La saxitoxine (STX) est une trialkyle tetrahydropurine (figure 6). Les variants de saxitoxine sont au nombre de 57 à ce jour. Ils regroupent des formes non-sulfatées (STX et néo-STX), mono-sulfatées (gonyautoxins ou GTXS) et di-sulfatés (C-toxines) (Wiese.2010). Les STXS inhibent les canaux sodium voltages dépendants, induisent une interruption de l'influx nerveux provoquant une paralysie des muscles (autrement dit, des "toxines paralysantes"). Les STXS sont également capables de se lier aux canaux calcium et potassium et, à la saxiphiline, provoquant de paralysies (Llewellyn.2006). Leur structure chimique leur donne une grande solubilité et stabilité dans l'environnement. Les saxitoxines (STXS) et dérivés sont principalement décrits

chez les cyanobactéries des genres *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Chrysosporum*, *Cylindrospermopsis*, *Dolichospermum*, *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Raphidiopsis* et *Umezakia*.

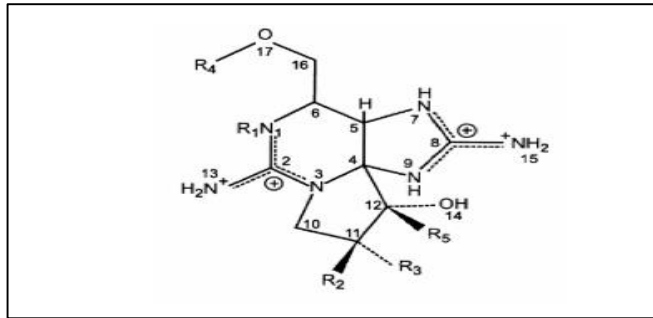


Figure 7 : structure chimique générale de la saxitoxine et de ses analogues
D'après (SIV.1999)

✓ **La B-N-methylamino-L-alanine (BMAA) et ses isomères :**

La B-N-methylamino-L-alanine (BMAA) est un acide aminé non protéique (figure 7). Cette molécule, dont les cibles restent mal connues, semble être associée à des prévalences de maladies

telles que la sclérose latérale amyotrophique (SLA), la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Bradely, 2013). La neurodégénérescence serait liée à une incorporation de la BMAA dans les protéines à la place d'acides aminés standards avec, comme conséquence, un défaut de

repliement des protéines (Rao. 2006). La distribution de la BMAA au sein des cyanobactéries reste, à ce jour, controversée.

Trois isomères ont été décrits : le 2,4- diaminobutyric acid (DAB), la N-(2-aminoéthyl)glycine (AEG) et la B-amino-N- méthylalanine (BAMA).

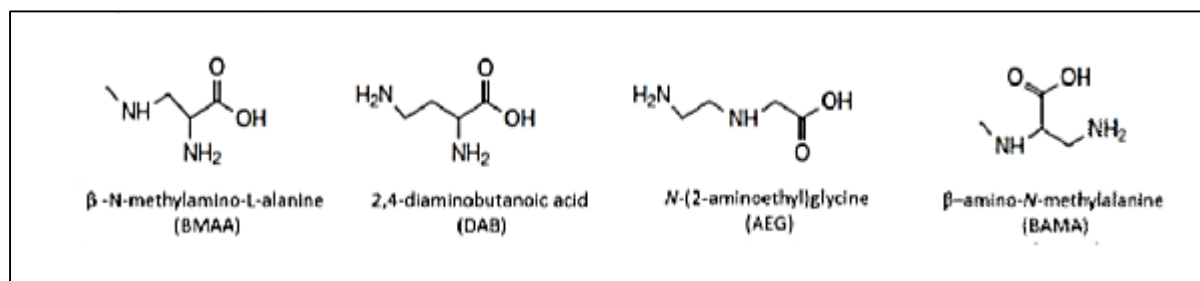


Figure 8 : structure chimique de la β -N-methylamino-L-alanine (BMAA) et de ses isomères : le 2,4-diaminobutyric acid (DAB), la N-(2-aminoéthyl)glycine (AEG) et la β -amino-N-methylalanine (BAMA)

I-10-3. Les dermatotoxines

Les symptômes dermatotoxiques liés à la présence de cyanobactéries ont principalement été décrits en milieu marin (Stevenson et Waterbury. 2006). Un certain nombre d'alcaloïdes ont été isolés de cyanobactéries marines et seraient à l'origine de dermatites. Il s'agit des lyngbyatoxines, des aplysiatoxines et de la debromoaplysiatoxines, ces deux dernières étant également suspectées d'être promotrices de tumeur et activateurs de la protéine kinase C (Fugiki.1990; Mynderse. 1977).

I-11. Réglementations pour les cyanotoxines

En 1998, après avoir évalué les risques pour la santé publique liés aux hépatotoxines de type microcystine, d'après les témoignages disponibles et d'après les consensus scientifiques, l'OMS a mis en place des conduites à tenir et recommande une concentration limite tolérée de 1 pg en équivalent microcystine-LR par litre d'eau potable (WHO, 1998). C'est la valeur en dessous de laquelle la consommation d'eau peut être considérée sans danger, dans le cas d'une exposition aiguë. Une valeur plus faible de 0,5 pg/l a été proposée au Canada. Pour une exposition chronique, une valeur de 0,1 pg/l a été suggérée (Falconer, 1996). Pour les neurotoxines de type saxitoxine et dérivés, plusieurs cas de mortalités animales ont été signalés suite à la consommation d'eau contaminée par ces toxines (Humpage et al., 1994; Negri et al., 1995) mais aucun cas d'intoxication humaine n'a été rapporté. Cependant, les intoxications liées aux

neurotoxines ne sont pas limitées à l'intoxication directe par ingestion d'eau contaminée mais peuvent aussi apparaître après consommation de moules d'eau douce qui ont accumulé ces toxines. Bien que ces coquillages d'eau douce soient peu consommés par l'homme, ils font partie de l'alimentation traditionnelle de certaines populations en Inde et en Australie et pourraient être un facteur de risque pour la santé publique (Christoffersen, 1996; Negri and Jones, 1995). La recommandation pour les neurotoxines de cyanobactéries du type saxitoxine et dérivés reste la même que celle préconisée pour les fruits de mer qui est de 80 pg équivalent saxitoxine par 100 g de chair de moules.

II. Les impacts des cyanobactéries

II-1. Impact sur la santé humaine

L'effet des cyanobactéries est contamination aussi bien les eaux utilisées à des fins récréatives que dans les réservoirs d'eau potable. Le degré d'intoxication dépend de l'âge de la personne, de son sexe et de son état de santé, les enfants étant les plus sensibles. Plusieurs intoxications par des eaux provenant de différents plans d'eau, où des cyanobactéries s'étaient accumulées, ont été identifiées dans le monde. Les intoxications induites par les hépatotoxines cyanobactériennes sont plus fréquentes que celles engendrées par les neurotoxines (Hitzfeld et al. 2000). L'exposition à des microcystines ou à la nodularine-R peut engendrer des symptômes d'intoxication humaine similaires et peut mener, à de fortes concentrations de ces toxines, au coma et la mort par dommages sévères du foie (Carmichael, 1997). Il a été aussi montré récemment chez l'homme que la nodularine-R et les microcystines affectent l'adhésion des leucocytes et portent atteinte aux réactions immunitaires (Hernández et al., 2000).

✓ Allergies :

Les réactions allergiques après contact avec des cyanobactéries dans des eaux de baignades sont relativement fréquentes. Des problèmes respiratoires (asthme, rhume des foins), des irritations des yeux et de la peau, des dermatoses, des fièvres, des troubles gastrointestinaux et hépatiques, des symptômes de grippe, des maux de gorge et des signes de pneumonie se sont déclarés à la suite d'un contact avec certaines espèces des genres *Oscillatoria*, *Nodularia*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Gloeotrichia*, ou *Microcystis* (Carmichael et Falconer, 1993 ; Pilotto et al., 1997). La sensibilité des individus aux réactions allergiques à de faibles densités

en cyanobactéries dans le milieu, est plus élevée que celle attribuée au contenu d'endotoxines de ces micro-organismes (Pilotto et al., 1997).

Tous les symptômes allergiques observés peuvent être attribués aussi bien aux hépatotoxines qu'aux neurotoxines cyanobactériennes (Turner et al. 1990). ont rapporté des intoxications chez des soldats par contact avec une eau contaminée par des microcystines provenant d'une efflorescence de l'espèce *Microcystis aeruginosa* dans le lac Rudyard en Angleterre. Les symptômes observés chez les soldats intoxiqués étaient des maux d'estomac, des diarrhées, des vomissements, une toux sèche et des céphalées. Des cas d'irritation ont été aussi signalés après une douche avec une eau mal traitée contenant des microcystines (Falconer. 1998).

✓ **Intoxication par ingestion :**

En 1931 Tisdale déclare à Le premier cas d'intoxication humaine liée aux cyanobactéries ,un important bloom hépatotoxique de *Microcystis* sp. dans les rivières Ohio et Potomac (U.S.A.) a provoqué des gastroentérites chez plusieurs milliers de personnes ayant consommé l'eau de ces rivières. En 1983, et à Palm Island en Australie, une épidémie d'hépatite et d'entérite a été provoquée par une efflorescence de cyanobactéries toxiques dans un réseau d'approvisionnement en eau : la digue de Salomon. Une semaine après le traitement de l'efflorescence par du sulfate de cuivre, 148 personnes dont 138 enfants ayant bu cette eau ont été sévèrement malades. Les symptômes étaient des hépatites, des lésions rénales et intestinales, des vomissements, des céphalées, des douleurs abdominales, des pertes de sang, de glucose et de protéines dans les urines, des constipations suivies de diarrhées sanglantes profuses et des déséquilibres électrolytiques sévères (Bourke et al., 1983).

Deux espèces de cyanobactéries ont été incriminées dans ces intoxications : une souche d'*Anabaena circinalis* non toxique et une souche de *Cylindrospermopsis raciborskii* très toxique et connue pour la production de la cylindrospermopsine (Hawkins et al., 1985 ; Falconer, 1991). Au cours de la même année, dans la petite ville d'Armidale en Australie, des dommages hépatiques caractérisés par une élévation de l'activité de certaines enzymes du foie ont été observés chez les habitants dont l'eau de boisson provenait d'un réservoir contenant une

efflorescence de *Microcystis aeruginosa*. Des pics de la γ -glutamyl transférase ont été trouvés dans les échantillons du sang des personnes intoxiquées (Falconer et al., 1983).

Cependant, des intoxications humaines plus graves ont engendré la mort. En 1993, une efflorescence massive d'*Anabaena* sp. et de *Microcystis* sp. dans un barrage à Itaparica au Brésil, ce qui a causé la mort de 88 malades en majorité des enfants (Teixera et al., 1993). Une autre intoxication mortelle a eu lieu en 1996 et a engendré la mort de plus de 60 personnes dans un centre d'hémodialyse à Caruaru au Brésil. L'intoxication impliquée était due au développement massif de *Microcystis*, d'*Anabaena* et d'*Anabaenopsis* dans un réservoir d'eau utilisé par le centre (Jochimsen et al., 1998 ; Pouria et al., 1998 ; Azevedo et al., 2002).

Les cyanotoxines de type microcystine (microcystines et nodularines) sont considérées comme de puissants promoteurs tumoraux. Elles possèdent une capacité promotrice équivalente à celle du TPA (12-O- tétradécanoyl-phorbol-13-acétate), mais leur mode d'action diffère. Elles se situent dans une nouvelle classe de promoteurs de type acide okadaïque qui n'activent pas la protéine kinase C mais agissent en inhibant les sérine/thréonine phosphatases de type 1, 2A et 3 chez les eucaryotes.

Dans une étude comparative du pouvoir promoteur tumoral entre la nodularine-R et la microcystine-LR, le test de cancérogenèse hépatique (sans hépatectomie partielle) chez des rats initiés avec du DEN a montré que la nodularine-R est un promoteur tumoral plus puissant que la microcystine-LR (Ohta et al., 1994). Après le foie, les testicules sont le deuxième organe cible, la microcystine traverse les canaux sanguins testiculaires et interfère avec l'ADN en provoquant des dommages à la chaîne d'ADN, apoptose, et l'arrêt de cycle cellulaire. La toxicité des MC- LR perturbe la motilité et la morphologie des spermatozoïdes et affecte aussi les niveaux d'hormones du système reproducteur masculin (Lone et al., 2015).

II-2. Impact sur la faune

Georges Francis, chimiste Australien, fut le premier, le 2 mai 1878, à impliquer les cyanobactéries dans le décès d'animaux d'élevages quand il rapporta la mort de bétail, moutons, chevaux et porcs qui avaient consommé de l'eau contenant une efflorescence hépatotoxique de *Nodularias pumigena* dans le lac Alexandrina, à Milang, dans le Sud de l'Australie (Francis, 1878). Les cyanotoxines peuvent entraîner des symptômes de morbidité ou causer la mort de mammifères, d'oiseaux ou de poissons qui ingèrent une quantité suffisante de cellules toxiques ou de toxines extracellulaires (Codd et al., 1992 ; Carmichael, 1994 ; Kuiper-Goodman et al., 1999). Carmichael (1992) a rapporté la mortalité d'animaux ayant consommé de l'eau

contenant de grands nombres ($>106/\text{ml}$) de cellules cyano- bactériennes. Les animaux incapables de sélectionner leur nourriture comme les oiseaux et les poissons sont directement affectés à la fois par les hépatotoxines et les neurotoxines (Kaebernick et Neilan, 2001). ont rapporté une intoxication des oiseaux d'eau dans un lac au Danemark suite à un fort développement de l'espèce *Anabaena lemmermannii* développant ainsi une neurotoxite. Une mortalité de flamants roses a été enregistrée au lac Bogoria à Kenya suite à une exposition à des neurotoxines et des hépatotoxines de type microcystine (Krienitz et al., 2003).

Récemment, Nasri et al., (2008) ont rapporté la mortalité de deux espèces de tortues *Emys orbicularis* et *Mauremys leprosa* dans le lac Oubeïra en Algérie suite à une efflorescence de *Microcystis* spp (Figure 8). Les concentrations en microcystines les plus importantes ont été détectées au niveau du foie représentant ainsi 87 à 98 % du total de microcystines détectés dans les organes étudiés (viscères et chaire).



Figure 9 : Mortalité des tortues dans le lac Oubeïra en Algérie suite à une efflorescence de *Microcystis* spp. (Nasri et al., 2008).

II-3. Impact sur la flore

Les tissus végétaux peuvent être contaminés par les toxines intracellulaires si ces dernières sont dégagées lors de la lyse des cellules cyanobactériennes (Codd et al., 1999). les plantes aquatiques sont confrontées à l'exposition aux cyanotoxines. Il a été remarqué que l'abondance et la diversité des macrophytes connaissent une nette réduction en présence de blooms de

Cyanobactéries. En 1986 Kirpenko a montré pour la première fois l'inhibition de la croissance des plantes aquatiques *Elodea* sp. et *Lemna* sp. par les toxines isolées à partir d'un bloom naturel. Cette action allélopathique a été confirmée par Weiss et al. (2000). L'effet métabolique des microcystines se manifeste aussi par un changement de l'activité de l'ARNase et de l'acide phosphatase ainsi que par une réduction dans la teneur en chlorophylle (a+b) chez la plante aquatique *Spirodella oligorrhiza* (Romanowska-Duda & Tarczyńska, 2002). Plusieurs études ont montré que la Microcystine-LR peut être accumulée par d'autres macrophytes aquatiques (Pflugmacher et al., 2001).

II-4. Impact sur le fonctionnement des écosystèmes

Les effets de cyanobactéries et de leurs toxines sur le fonctionnement des écosystèmes mettent en jeu de nombreux processus. Le signe le plus visible de la prolifération des cyanobactéries est la formation de « fleurs d'eau » visibles à l'œil nu (figure 2.9). Ces proliférations ont des effets particulièrement délétères sur l'environnement physique et chimique des masses d'eau, comprenant la diminution de la transparence de l'eau, l'augmentation du pH et la diminution drastique de la concentration de l'oxygène en phase de sénescence de la biomasse (Lindholm.1989). Les proliférations de cyanobactéries ont également des impacts additionnels (en comparaison des microalgues eucaryotes) liés à la biomasse, à la comestibilité des cellules et à la production de toxines (figure 9)



Figure 10 : efflorescence de cyanobactérie formant une " écume" à la surface d'un plan d'eau avec des impacts direct sur la pénétration de la lumière dans la colonne d'eau

II-5. Effets indirects des cyanobactéries toxiques sur le zooplancton

Indirectement, le zooplancton peut subir des perturbations associées à la présence des cyanobactéries toxiques. Nous citerons deux exemples ayant trait aux autres compartiments autotrophes du milieu. Les métabolites secondaires (toxines et autres substances) des cyanobactéries sont connus pour avoir des propriétés algicides (Gilbert, 1994). Les perturbations induites sur les communautés algales ont un effet sur le zooplancton qui consommait ces algues (Lundstedt et Brett, 1991). Dans les zones littorales où le zooplancton peut être abondant, les macrophytes ont un rôle important sur l'habitat et l'alimentation de celui-ci (par l'intermédiaire du périphyton). Or, les cyanobactéries peuvent aussi inhiber la croissance des macrophytes (Kirpenko, 1986) et pourraient provoquer ainsi la dégradation de l'habitat du zooplancton.

La diversité des effets des cyanobactéries sur les zooplanctons a des répercussions sur la structure et la dynamique des communautés zooplanctoniques (Gilbert, 1990; Jarvis et al., 1987; Kotak et al., 1996b). Une baisse de la quantité en zooplancton et/ou un changement dans les communautés zooplanctoniques (par exemple, structure en taille des organismes, mode de nage différent selon les populations sélectionnées...) pourrait provoquer un déficit ou un déséquilibre alimentaire pour les compartiments trophiques supérieurs (en particulier pour les alevins de poissons dont les premiers stades ont un régime alimentaire très sélectif; Mayer et Wahl, 1997) et augmenter leur stress, les rendant de ce fait plus sensibles aux toxines présentes dans le milieu. Le zooplancton peut consommer des cyanobactéries toxiques, qu'il soit composé d'organismes plutôt détritivores comme les protozoaires (Cole et Wyne, 1974) ou les rotifères (Fulton et Paerl, 1987; Gulati et al., 1993), ou à tendance herbivore comme les cladocères (Demott, 1999) ou certains copépodes (Kumayer et Jüttner, 1999). Quelques études récentes ont mis en évidence des phénomènes d'accumulation de ces toxines dans les organismes zooplanctoniques (Kotak et al., 1996b; Laurén-Määtä et al., 1995) ont montré expérimentalement que les daphnies pouvaient accumuler jusqu'à 24,5 pg FI de microcystine par gramme de poids sec. Bien que cette dose ne représente pas une concentration létale pour le poisson, elle révèle que des phénomènes de transfert de toxines existent au niveau du réseau trophique (Tencalla et al., 1994). Le zooplancton est susceptible de dégrader les toxines cyanobactériennes mais ce mécanisme de dégradation nécessite la synthèse d'enzymes, c'est donc après un certain laps de temps (quelques heures après l'ingestion) que les toxines sont dégradées (Thøstrup et Christoffersen, 1999). Toutefois, il existe encore trop peu d'informations

sur les effets chroniques de ces toxines sur les écosystèmes (accumulation, toxicité), et certains blooms cyanobactériens peuvent durer plusieurs mois (Feuillade, 1994; Humbert et al., 2000). La filtration des petites formes de phytoplancton par les petits cladocères et les rotifères, en sélectionnant les formes coloniales et filamenteuses des cyanobactéries, pourrait favoriser leur dominance dans le milieu (Kirk et Gilbert, 1992). De plus, (Kumayer et Jüttner, 1999) suggèrent qu'il peut exister des phénomènes de coévolution biochimique entre le zooplancton brouteur et les cyanobactéries toxiques. Ainsi, la présence de zooplancton sélectif vis-à-vis des toxines, favori serait la production de celles-ci par les cyanobactéries du milieu (Demott et Moxter, 1991). Les cyanobactéries toxiques présentent donc des systèmes de défense efficaces contre le zooplancton et « utilisent la pression de sélection de celui-ci pour éliminer indirectement les autres producteurs primaires (phytoplancton).

II-6. Impact des cyanobacteries sur les autres consommateurs

Lors d'une étude sur des mollusques pulmonés, (Zurawell et al. 1999) ont observé que, pour trois espèces de gastéropodes (*Lymnea stagnalis*, *Physa gyrina* et *Helisoma trivolvis*), la concentration en microcystine-LR (hépatotoxine) dans les tissus était corrélée à la concentration en toxines présentes dans le phytoplancton mais pas à celle en toxines libres dans l'eau. Pour les deux premières espèces, une corrélation a, de plus, été observée avec l'abondance relative des *Microcystis* spp. Ces résultats montrent que les toxines présentes dans les tissus proviennent plutôt de la consommation de nourriture contenant les microcystines (microalgues qui peuvent accumuler les microcystines ou cyanobactéries elles-mêmes) que de l'ingestion d'eau contaminée par les toxines. Les auteurs de ces travaux ont aussi observé que des colonies non digérées de *Microcystis* étaient présentes dans le tractus digestif des mollusques. D'autres travaux ont montré que les microcystines pouvaient s'accumuler chez les moules d'eau douce de type anodonte (Prepas et al., 1997; Eriksson et al., 1989) et chez deux espèces de moules marines, *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* (Amorim and Vasconcelos, 1999; Andradi, 1985; Novaczek et al., 1991; Falconer et al., 1992; Watanabe et al., 1997; Williams et al., 1997).

L'ensemble de ces résultats montre que les mollusques peuvent potentiellement jouer un rôle important dans la transmission des toxines cyanobactériennes au travers des réseaux trophiques. Les gastéropodes d'eau douce constituent en effet une importante source de nourriture pour les poissons mais également pour les crustacés, les amphibiens et les oiseaux. En ce qui concerne l'homme, (Amorim et Vasconcelos 1999) signalent que les mesures de surveillance des mollusques issus d'eau saumâtre doivent tenir compte du risque lié à la présence éventuelle

d'hépatotoxines d'origine cyanobactérienne. Chez les crustacés, et plus particulièrement chez les écrevisses *Pacifastacus leniusculus* (Lira V et al., 1998) et *Cherax quadricarinatus* (Saker et Eaglesham, 1999), il a été observé que les toxines cyanobactériennes s'accumulaient principalement dans l'hépatopancréas. Ces toxines proviennent de la consommation des cellules cyanobactériennes mais aussi de l'ingestion directe de toxines libres dans l'eau. Comme les écrevisses ne semblent pas sensibles à ces toxines, elles peuvent accumuler ces métabolites et constituer, de même que les mollusques, une source de contamination importante pour les échelons trophiques supérieurs.

II-7. Effets sur les poissons

il convient de ne pas oublier que les périodes de blooms provoquent également des phénomènes d'anoxie dans les milieux qui peuvent avoir des conséquences mortelles pour les peuplements piscicoles. De nombreux articles ont décrit expérimentalement, les effets des toxines cyanobactériennes et plus particulièrement des microcystines sur la truite et la carpe (Kotak et al., 1996a; Carbis et al., 1996; Bury et al., 1997). Ces travaux ont montré que les principaux organes touchés étaient le foie, les reins et les branchies. En revanche, peu de publications traitent de l'impact en milieu naturel des toxines cyanobactériennes sur le poisson. Des travaux ont cependant montré que les microcystines causaient des dommages au niveau de l'épithélium branchial de populations sauvages de truites, *Salmo trutta* (Rodger et al., 1994) ainsi que de brèmes, *Abramis brama*, et de gardons, *Rutilus rutilus* (Eriksson et al., 1986). De plus, une maladie hépatique (NPLD) a touché des saumons d'élevage sur les côtes américaines et canadiennes. Cette maladie est attribuée à la présence de microcystines, même si l'organisme producteur n'a pas été identifié (Anderson et al., 1993). Enfin, des mortalités de poissons ont été attribuées à l'ingestion, par ces derniers, de cyanobactéries toxiques (Rodger et al., 1994; Tencalla et al., 1994). Concernant les transferts dans les chaînes trophiques, il a été montré que les microcystines s'accumulent principalement dans le foie des poissons (Sahin et al., 1996; Tencalla and Dietrich, 1997). La consommation de cet organe peut donc potentiellement présenter un risque lors de blooms cyanobactériens mais aucun travail n'a jusqu'à présent tenté d'évaluer ce risque.

II-8. impact des cyanobactéries sur les vertébrés terrestres

les petits et grands mammifères sont susceptibles de se trouver en contact avec des cyanobactéries toxiques lorsqu'ils fréquentent des plans d'eau pour se désaltérer. Un nombre important de cas d'empoisonnement est maintenant rapporté dans la littérature concernant les ovins et surtout les bovins. C'est ainsi qu'en Australie, des intoxications sont signalées chez l'homme et les animaux depuis le XIX^e siècle (Francis, 1878; Hayman, 1992). Par la suite, d'autres cas ont été décrits concernant les moutons et les vaches par (Mulhearn, 1959), (McBarron et May, 1966), (McBarron et al, 1975) et plus récemment par (Carbis et al, 1995) et (Thomas et al, 1998). L'espèce la plus souvent impliquée dans ces incidents est la cyanobactérie tropicale *Cylindraspermopsis raciborskii*. Aux USA, de nombreux exemples bien documentés relatent des empoisonnements du bétail dus aux cyanobactéries (Galey et al., 1987; Kerr et al., 1987; Short and Edwards, 1990; Fitzgerald and Poppenga, 1993; Frazier et al., 1998). Dans de nombreux cas, *Mirostis aeruginosa* était l'espèce associée à ces incidents. Enfin, il convient de signaler que d'autres pays tels que l'Afrique du Sud (Van Halderen et al., 1995), le Canada (Gorham, 1960) et la Suisse (Mez et al., 1997) ont connu de tels événements. Dans ce dernier cas, la mort de plus de 100 vaches présentant principalement des symptômes de toxicité hépatique et plus rarement de neurotoxicité, a été reportée en 20 ans dans différents sites du sud-ouest des Alpes suisses. Si la plupart des cas d'intoxication rapportés dans la littérature concernent les animaux domestiques, dont la mort fait l'objet d'investigations en raison des conséquences économiques induites par ces décès, certains d'entre eux se rapportent cependant à la faune sauvage à l'exemple du travail de (Soll and Williams, 1985) qui relatent des mortalités de rhinocéros blancs pouvant probablement être attribuées aux cyanobactéries. De plus, des intoxications d'oiseaux (Steyn, 1945; Brandenburg et Shigley, 1947; Dillenberg et Dehnell, 1960; Jackson et al., 1986) ainsi que de singes (Tustin et al., 1973) ont aussi été signalées.

III. Méthodes de détection des cyanotoxines

Nous allons détailler les méthodes biologiques (test souris, ELISA, inhibition des phosphatases), les Méthodes bioanalytiques puis les méthodes physico-chimiques.

III-1. Méthodes biologiques

Les tests biologiques sur animaux sont insuffisamment sensibles. Le test souris est le seul test reconnu à l'échelle internationale permettant de fournir une première information sur

la présence de toxines dans l'eau de boisson. L'observation des symptômes chez l'animal intoxiqué permet parfois de déterminer le type de toxines (Falconer, 1993). Cependant, ce test n'est pas quantitatif et de moins en moins utilisable pour des raisons d'éthiques (Lahti et al., 1996).

Le test souris a été introduit le premier (Gorham, 1964). Il reste la référence en matière de détection de la toxicité. Il permet de détecter la toxicité d'un échantillon d'eau ou de cyanobactéries ou la toxicité d'une substance purifiée. Un lysat de cellules supposées toxiques ou du produit isolé par analyse est injecté à des souris de laboratoire de 20 à 25 g par voie intrapéritonale. Les symptômes caractéristiques de l'intoxication sont observés pendant 4 heures maximum. Une atteinte du système nerveux se traduisant essentiellement par un blocage de la respiration est imputable à une neurotoxine. La mort intervient rapidement en moins de 30 minutes (Mahmoud & Carmichael, 1987). Une atteinte du foie se traduisant par une augmentation de plus de 50 % de son poids et par une hémorragie. La mort intervient 1 à 3 heures après l'injection et les symptômes observables au bout de 20 minutes comprennent la réduction de l'activité, une érection des poils et une pâleur des yeux et des oreilles (Lovell et al., 1989).

On définit des DL50 ou des DL100, exprimées en μg ou mg de toxine ou d'algue par Kg de la masse corporelle de l'animal. Lorsqu'une efflorescence présente une DL50 supérieure à $1000 \mu\text{g}$ de cyanobactéries sèches / Kg de souris et qu'elle n'induit pas de mortalité chez la souris au bout de 24 heures (Hermansky et al., 1990), elle est considérée comme non toxique.

C'est le test le plus apte à estimer la toxicité d'une substance vis à vis de l'homme. Mais il est peu sensible et ne permet pas de distinguer les homologues des différentes toxines. D'autre part, la toxicité de certains composés est supérieure par injection par voie intrapéritonale à la toxicité par ingestion par voie orale (Carmichael & Gorham, 1978a).

Des tests de toxicité pour la détection des cyanotoxines ont été développés avec des organismes de la faune aquatique et du zooplancton. Ces tests sont techniquement plus abordables que celui de la souris. Dans le test Daphnie, des Daphnies (*Daphnia magna* Strauss) (Klapes, 1990) sont mises en présence de différentes concentrations de toxine ou d'extraits de cyanobactéries. Le comptage des survivants au bout de 14 heures permet d'estimer une DL50, définie comme la concentration en toxine dans le milieu qui produit 50 % de mortalité. Appliqué à des extraits de *Microcystis* et à une toxine de masse avoisinant 950

daltons purifiée à partir de ces extraits. Ce test montre une DL50 de 0,1 mg/l pour la toxine (Penaloza et al., 1990).

Un autre test a été développé avec les larves d'une petite crevette, *Artemia salina* (Kiviranta et al., 1991 ; Lahti et al., 1996). Les larves sont incubées avec les toxines ou les échantillons de cyanobactéries pendant 24 heures. La toxicité est déterminée par le pourcentage de larves mortes après cette période.

Le système Microtox, basé sur la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*, a été utilisé pour tester la toxicité d'efflorescences de cyanobactéries (Lawton et al., 1990).

Par ailleurs, certains auteurs ont montrés que la toxicité in vitro sur les cellules peut être corrélée de manière satisfaisante aux expériences sur les animaux (Aune & Berg, 1986), si bien que les cellules pourraient être utilisées, au lieu des animaux, pour tester la toxicité de cyanobactéries ou de composés isolés. Cependant, certains effets hépatiques de la microcystine-LR in vivo, tels que l'inhibition de la respiration, la formation de mitochondries hydropiques ou la modification des filaments intermédiaires associés à la membrane plasmique n'ont pas pu être reproduits in vitro (Miura et al., 1989).

Les hépatocytes, cibles privilégiées des microcystines, ont été utilisés pour tester la toxicité d'hépatotoxines purifiées à partir de cyanobactéries. Les changements morphologiques des hépatocytes mis en présence de microcystines sont observés au microscope à contraste de phase ou au microscope électronique à balayage. Des boursoufflures apparaissent sur des hépatocytes primaires de rat en 5 minutes avec des concentrations en hépatotoxine de 0.05 à 1 mg /l (1 mg/l de microcystine-LR) (Eriksson et al., 1989a ; Eriksson et al., 1990) et 0.1 mg/l de microcystine-YM (Runnegar et al., 1991). Ainsi, les EC50 pour la déformation des hépatocytes 20 minutes après la mise en incubation sont de 60 mg/l et 1500 mg/l pour la microcystine-LR et la dha7-microcystine-RR, respectivement (Eriksson et al., 1990), alors que les DL50 par le test souris sont de 50 et 180 mg/kg, d'où une plus faible réactivité de la seconde toxine sur les hépatocytes isolés.

Pour atteindre le foie, les microcystines doivent passer du contenu de l'intestin grêle vers les transporteurs sanguins qui véhiculent les peptides directement dans les lobules du foie. Le passage se fait grâce aux entérocytes présents sur l'intestin grêle. L'effet de la

microcystine-YM a été étudié sur des entérocytes de poussin (Falconer et al., 1992c). Deux heures après l'addition de toxine, les entérocytes se déforment et meurent.

Des tests de toxicité sur des fibroblastes de cellules pulmonaires de hamster de la lignée V79 ont été également utilisés pour tester la toxicité d'extraits bruts de Cyanobactéries et de toxines purifiées à partir de *Microcystis aeruginosa* PCC 7820 (Codd et al., 1989b). En se basant sur le pouvoir de blocage des canaux sodiques par les saxitoxines, il a été possible de détecter la présence de celles-ci sur la lignée cellulaire de neuroblastomes de souris (Neuro-2A) (Jochimsen et al., 1998). Ce test de cytotoxicité est actuellement disponible sous forme d'un kit sur plaques 96 puits et permet la détection des PSP dans les produits de mer (Jellet et al., 1998).

L'emploi de nombreuses autres cellules a été envisagé. Des cellules d'épiderme humain carcinoma KB, considérées comme un indicateur fiable de cytotoxicité générale, ont permis d'évaluer la toxicité d'un grand nombre de Cyanobactéries (Patterson et al., 1991) par observation visuelle après 2 à 3 jours d'incubation. La toxicité d'extraits de *Microcystis aeruginosa* a également été étudiée sur des cellules lignées cellulaires de poumon humain, de cerveau humain (HeLa), d'ovaire de hamster (CHO-K1) et de rein de singe (Grabow et al., 1982). Ces cellules réagissent de la même manière que les cellules hépatique par une rupture rapide de la membrane cellulaire (Grabow et al., 1982) ou libération de LDH pour la lignée HeLa (Henning et al., 1992b).

III-2. Méthodes bioanalytiques

Plusieurs méthodes biologiques peuvent être envisagées, basées sur la potentielle bioactivité des toxines, telles l'hépatotoxicité, la neuro-toxicité, la cytotoxicité, l'activité enzymatique et les interactions immunologiques. Étant donné la diversité des toxines produites par les souches environnementales, des méthodes permettant d'accéder rapidement et facilement à une concentration totale en toxines appartenant à un même groupe ou ayant le même mode d'action sont bien adaptées au suivi des blooms sur le terrain. La difficulté réside en une validation de ces méthodes en raison du manque de standards.

III-2-1. immunoessais (tests ELISA)

Ces tests sont basés sur une reconnaissance antigène-anticorps, l'antigène étant la ou les molécules à détecter. Ces dix dernières années, les tests ELISA se sont largement développés

pour la détermination de polluants dans l'environnement et, particulièrement, pour l'analyse semiquantitative de familles de pesticides telles les phénylurées et les triazines (Hennion and Barcelo, 1998).

✓ **Microcystines et nodularine**

Les microcystines ont des structures très proches et il est relativement facile d'obtenir des anticorps. Plusieurs tests ELISA à compétition directe ont été décrits, mettant en œuvre des anticorps polyclonaux anti-Mcyst-LR (Chu et al., 1989, 1990; Carmichael, 1994 ; Mc Dermott et al., 1995). Ces tests présentent une CI50 (concentration en toxine pour laquelle l'absorbance est égale à 50 % de l'absorbance du blanc) de 1 à 3 pg/l pour Mcyst-LR et un domaine de linéarité compris entre 0,5 et 5-10 microgrammes par litre. Le test de laboratoire le plus sensible est un test indirect obtenu à partir d'un anticorps monoclonal anti-Mcyst-LR avec une Clso de 0,125 pg/l et un domaine de linéarité compris entre 0,05 et 0,5 pg/l (Nagata et al., 1995; Ueno et al., 1996a,b).

Les anticorps reconnaissent de façon variable les autres microcystines. Un des tests possède une bonne réactivité croisée avec certaines microcystines toxiques, Mcyst-LR, -RR, -YR, et la nodularine, mais a peu d'affinité pour Mcyst-LY et -LA qui sont pourtant toxiques (Chu et al., 1989). Un autre test réagit avec une quinzaine de microcystines, avec une sensibilité variable. Il ne reconnaît pas les microcystines où le fragment Adda est déméthylé (An and Carmichael, 1994). Le test le plus sensible possède une bonne réactivité croisée avec quatre microcystines et reconnaît très peu les variantes pour lesquelles la double liaison du carbone 6 de Adda est Z au lieu de E (Nagata et al., 1995). Deux kits ELISA sont actuellement commercialisés: l'un utilise les anticorps polyclonaux développés par Chu et al. (1990) et l'autre les anticorps monoclonaux développés par Nagata et al. (1995). Les performances du premier d'entre eux ont été évaluées par Rivasseau et al. (1999a) avec des échantillons réels d'eau de surface et des extraits d'algues. De bonnes répétabilité et reproductibilité des mesures (deux à cinq répliquats par kit, trois kits testés, coefficient de variation inférieur à 10 %) ont été obtenues. Aucun faux négatif n'a été détecté. Les limites de détection déterminées avec de l'eau ultra-pure sont de 0,05 microgramme par litre. Un effet de matrice a été observé avec les eaux potables et de surface aux faibles concentrations en toxines, ce qui se traduit par une détection limite dans ces eaux comprise entre 0,10 et 0,15 pg/l et un risque de faux positifs dans ces gammes de concentration. Les limites de quantification dans les eaux de surface et les eaux potables sont de 0,2 microgramme par litre. Une étape simple d'enrichissement sur cartouche

remplie de silice greffée C18 est alors recommandée pour éviter le risque de faux positifs. L'enrichissement avec une phase immunosélective permet de s'affranchir des effets de matrices des échantillons (Rivasseau and Hennion, 1999). De bonnes corrélations ont été observées entre des mesures par ELISA et des mesures obtenues par enrichissement suivi de détermination par CPL pour des eaux potables et de surface dopées. Avec les extraits d'algues, la réactivité croisée avec d'autres variantes a été mise en évidence par analyse des extraits par CPL-SM, mais la réactivité croisée n'a pas été évaluée avec les diverses variantes par manque de standards. L'utilisation des tests ELISA pour le suivi d'un site est tout à fait envisageable. Elle nécessite de valider la méthode, c'est-à-dire de connaître la production des variantes toxiques de microcystines par la souche toxique prédominante du site, la composition en pourcentage des variantes, et de mesurer la réactivité croisée du test avec les variantes individuellement.

✓ Neurotoxines

Un test ELISA a été décrit pour l'analyse de l'anatoxine-a mais n'est pas commercialisé. Les structures des saxitoxines et de ses dérivés sont trop différentes pour obtenir un anticorps capable de reconnaître le groupe. Des anticorps polyclonaux et monoclonaux anti-saxitoxine ont été produits et aucun n'a montré une réactivité croisée suffisante avec la néosaxitoxine, pour tant de toxicité similaire, ni avec les autres variantes. Il existe un kit commercial utilisant un anticorps anti-saxitoxine mais son utilisation est réduite puisque plusieurs souches produisent peu de saxitoxine.

III-2-2. Tests d'inhibition enzymatique

Puisque les hépatotoxines agissent sur certaines protéines (sérine/thréonine) phosphatases de type 1 et 2A (PP- et PP-2A) (Mackintosh et al., 1990) des méthodes enzymatiques basées sur l'inhibition de l'activité de ces PP ont été envisagées, d'autant plus que ces enzymes sont très sensibles 0,1 pg/1 pour Mcyst-LR. Les premiers tests ont été radiochimiques (Lambert et al., 1994) mais par la suite les tests colorimétriques ont été développés.

Simon & Vernoux en 1994 ainsi que An & Carmichael en 1994 furent les premiers à décrire un test colorimétrique basé sur la transformation d'un substrat incolore, le p-nitrophényl-phosphatase, en un produit jaune, le p-nitrophényl par action de la protéine phosphatase. Lorsque l'enzyme se trouve en présence d'un inhibiteur, elle déphosphoryle moins de substrat et la coloration est moins intense. L'intensité de la coloration est relié à la concentration

inhibitrice en toxine et est évaluée en mesurant l'absorbance à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Tubaro et al., 1996). Des substrats fluorescents ont été utilisés dans le but d'améliorer la sensibilité du test d'inhibition de PP2A, permettant ainsi la détection de quantité très faible en microcystines qui peut être l'ordre du pico-gramme (Fontal et al., 1999).

Le test développé par An & Carmichael en 1994 utilise une protéine recombinante de type PP-1 exprimée chez *E. Coli*. La CL50 obtenue pour Mcyst-LR lorsque le test contient 2,5 ou 5 µg/ml de PP-1 est de 0,25 µg/l et la réponse est linéaire pour une gamme de concentration variant entre 1 et 25 µg/l, soit entre 0,05 et un nanomolaire. Six autres microcystines et deux nodulaires ont été testées, montrant des résultats en accord avec ceux obtenus par le test souris, les variantes non toxiques ne donnant pas de réponse alors que les toxiques inhibent l'enzyme à des concentrations très faibles. Le seul inconvénient de ce test provient de la difficulté de se procurer l'enzyme. Takai et al. en 1995 montrent qu'il y a une forte corrélation entre les MCYST, PP1 et PP2A.

Tubaro et al. en 1996 ont mis au point un test pour la mesure de l'acide okadaïque en utilisant une enzyme commerciale de type PP-2A purifiée à partir d'hématies humaines. Ce test a été adapté à l'analyse des microcystines (Rivasseau et al., 1999b). Le test utilise les microplaques 96 puits permettant l'analyse simultanée de nombreux échantillons en moins d'une heure. Il a été mis au point avec deux milieux réactionnels différents, le premier permettant d'estimer la concentration en microcystines dans une gamme 0,4-10 µg/l le second d'affiner la détermination dans une gamme 0,2-0,8 µg/l, compte tenu des dilutions à effectuer lors de la mise en œuvre du test.

Ces deux tests ont donné de bons résultats pour les eaux potables mais des effets de matrice, sont observés dans certaines eaux de surface à des concentrations très faibles, si bien que l'on peut observer de faux positifs. Bien que la limite de détection du second test optimisé soit de 0,1 pg/l, une procédure d'enrichissement est recommandée pour la mesure de concentrations inférieures à 0,2 microgramme par litre.

Ce test a fait l'objet d'une procédure de validation en utilisant des cultures de cyanobactéries (*in vitro*) et des échantillons environnementaux issus des campagnes de prélèvement du programme national Efflocya (*in vivo*) subventionné par le ministère de l'Environnement. Les cultures de cyanobactéries nous ont permis de purifier quelques variantes dont nous ne possédons pas les standards. Après identifications par CPL-SM et spectrométrie de masse

MALDI-TOF en mode CID-PSD, plusieurs variantes de microcystines ont été isolées et purifiées afin d'évaluer leur réponse au test d'inhibition enzymatique.

L'association d'une pré concentration basée sur une reconnaissance structurale par immuno-extraction et de ce test basé sur le mode de toxicité semble un bon compromis, d'autant plus que les effets de matrice éventuels sont supprimés par la pré concentration (Rivasseau et al., 1999b). Ceci requiert cependant d'appliquer la même procédure de validation à l'immuno-extractant, ce qui est en cours. Actuellement, l'association du test ELISA et de ce test est la procédure de suivi de terrain recommandée par Carmichael en 1997.

III-2-3. Test cellulaire sur neuroblastomes

Le test sur neuroblastomes permet de détecter les substances modulatrices de l'activité des canaux sodiques dépendant du potentiel de membrane. Il permet la détection des neurotoxines de la famille des saxitoxines qui agissent en bloquant les canaux sodiques, empêchant ainsi l'entrée du sodium. Le test repose sur la variation de viabilité des cellules d'une lignée cancéreuse de neuroblastomes de souris. La mort cellulaire est engendrée par l'action conjuguée de la vératridine, à l'origine du flux entrant de sodium au niveau des canaux sodiques, et de la ouabaine qui potentialise les effets de la vératridine par inhibition des pompes Na/K/ATPase. L'augmentation de la pression osmotique du milieu intracellulaire est à l'origine du gonflement et de la lyse des cellules. Selon la nature et la concentration des variantes des saxitoxines, on assiste à une augmentation de la viabilité des cellules. Le test a d'abord été qualitatif, ne considérant que l'altération morphologique des cellules. Les premières mesures quantitatives ont été obtenues en utilisant un colorant, le cristal violet (Jellet et al., 1998).

L'utilisation du MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) ou du rouge neutre a permis d'augmenter sa sensibilité (Manger et al., 1994; Gallacher et Birkbeck, 1992). Une courbe étalon tracée à l'aide de la saxitoxine relie proportionnellement la survie cellulaire à une toxicité globale due à la présence de neurotoxines dans l'échantillon. Ce test a été évalué et optimisé au laboratoire de cryptogamie du MNHN par Testé and Briand avec des échantillons provenant de la culture d'*Anabaena circinalis*. Les résultats confirment son potentiel pour le monitoring des neurotoxines de type saxitoxine et dérivés, mais il doit faire auparavant l'objet d'une procédure de validation, ce qui suppose de préparer les standards manquants, les toxines de type C entre autres.

III-3. Analyse par les méthodes chromatographiques

Les méthodes chromatographiques sont incontournables pour la séparation des toxines dans un extrait naturel. Leur application aux microcystines et nodularines dans des buts analytiques et préparatifs a été revue par Meriluoto (1997). La chromatographie sur couche mince fut la première employée mais reste qualitative, surtout quand on ne dispose pas des standards (Harada, 1996). La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est peu adaptée à l'analyse des microcystines non volatiles et nécessite des réactions de dérivation pour les autres toxines. Cependant, son couplage aisé avec la spectrométrie de masse en fait un outil performant. L'analyse par chromatographie en phase liquide est de loin la méthode prédominante, surtout à l'heure actuelle où le couplage avec la spectrométrie de masse devient accessible à de nombreux laboratoires pour des analyses de routine. L'électrophorèse capillaire couplée à la détection UV à barrette de diodes ou à la spectrométrie de masse a été appliquée à l'analyse des microcystines et des saxitoxines (Pleasant et al., 1992; Locke and Thibault, 1994; Bateman et al., 1995; Bouaicha et al., 1996; Onyewuenyi and Hawkins, 1996; Siren et al., 1999) ont montré que l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse en tandem permettait d'identifier les isomères de position des microcystines plus facilement que la CPL. Cependant, malgré ses bonnes performances et son potentiel, il faut noter que cette méthode reste encore au stade du développement pour l'analyse des toxines, en comparaison avec les techniques de CPL.

✓ Chromatographie en phase gazeuse :

Les microcystines sont des composés peu volatils, impossibles à analyser directement par CPG. Pour les analyser ainsi, il faut au préalable les fragmenter. L'acide obtenu (MMPP ou acide 2-méthyl-3-méthoxy-4-phénylbutyrique) provient de l'oxydation du fragment Adda commun à toutes les microcystines et nodularines; il peut être analysé ensuite par CPG avec détection par ionisation de flamme (Sano et al., 1992). La réaction d'oxydation fut ensuite optimisée en utilisant l'ozone, ce qui eut l'avantage d'être plus rapide et de pouvoir supprimer les étapes d'élimination des réactifs en excès et de purification nécessaires dans les études précédentes (Harada et al., 1996). Avec une analyse par CPG suivie d'une détection par spectrométrie de masse en mode SIM (Single ion monitoring) après ionisation par impact électronique, le contenu global en toxines est déterminé jusqu'à des quantités de l'ordre du nanogramme en 30 minutes. C'est une méthode de surveillance qui ne permet pas de différencier les variantes.

Plusieurs blooms furent analysés par cette méthode et les résultats se montrèrent en bon accord avec ceux donnés par la CPL.

L'anatoxine-a ne peut pas être analysée par CPG sans être dérivée. (Ross et al. 1989) ont comparé l'efficacité de quelques agents de dérivation et ont montré la supériorité de l'utilisation du 1-butyldiméthylsilyl, notamment pour la fragmentation abondante qui a lieu lorsque la détection est réalisée par spectrométrie de masse. La limite de détection est de 0,5 nanogramme. Après dérivation sous forme d'acétylanatoxine-a, (Himberg et al ,1989) a confirmé la présence de cette neurotoxine dans des blooms finlandais en couplant la GC a la détection par spectrométrie de masse en tandem avec une limite de détection non chiffrée, mais bien en dessous de 0,1 nanogramme. Bruno et al. (1994) ont également confirmé la présence de cette même neurotoxine par GC-MS après dérivation avec le

bromure de pentafluorobenzyl. BumkeVogt et al. (1996) ont utilisé la même procédure de dérivation mais avec une simple détection par capture d'électrons.

✓ **Chromatographie en phase liquide :**

Microcystines Du fait de l'hydrophobie de ces toxines, quel que soit leur état d'ionisation, la plupart des analyses sont réalisées par CPL à polarité de phases inversée et, le plus souvent, avec une silice grettée C₁₈ comme phase stationnaire et un mélange acétonitrile comme phase mobile. Il est recommandé d'ajuster la phase mobile à des pH acides (ajout de 0,05 % de TEA par exemple) pour éviter des trainées des pics, dues à l'ionisation des groupements silanol résiduels de la silice C₁₈ qui interagissent à des pH supérieurs avec les groupements aminés des microcystines. Un gradient entre 30 % et 80 % d'acétonitrile permet d'éluer les microcystines dont les polarités sont très différentes. En raison de leurs propriétés acidobasiques, la chromatographie d'échange d'ions peut aussi être mise en œuvre, mais elle présente l'inconvénient d'être limitée à la séparation des composés ionisés (Gathercole and Thiel, 1987). Une colonne ISRP (Internal surface reverse phase) qui combine séparation par polarité de phases inversée et séparation par Exclusion stérique a également été employée (Meriluoto et al., 1990). Elle est adaptée à l'analyse d'échantillons riches en protéines puisque tous les composés de masse supérieure à 5 000 sont exclus. Les séparations sont suivies le plus fréquemment d'une détection UV car la majeure partie des microcystines possède un spectre UV similaire avec un maximum à 238 nanomètres. Seules les variantes contenant les acides aminés tryptophane et tyrosine présentent respectivement un maximum à 225 nm et 252

nanomètres. Ainsi, l'emploi d'un détecteur UV à barrette de diodes permet d'enregistrer les spectres d'absorbance et, par comparaison avec ceux des standards, de déterminer la présence éventuelle d'autres variantes. Cependant, l'identification n'est pas complète si l'on ne possède pas les variantes individuellement. La limite de détection avec les équipements classiques est de l'ordre de quelques ng (Lawton et al, 1994). Etant donné la faible disponibilité des standards, il s'est avéré intéressant de développer la micro-CPL sur colonne de 0,5 mm ou de 1 mm de diamètre interne. En utilisant un détecteur UV à barrette de diodes équipé d'une cellule en forme de U de volume égal à 160 nl, les pics obtenus par injection de 1 pl d'une solution de microcystines à 5 ppm sur colonne de 25 cm x 1 mm sont de même hauteur que ceux obtenus en injectant 20 µl de la même solution sur une colonne de 25 cm x 4,6 mm reliée à détecteur UV à barrette de diodes classique (Rivasseau et al., 1996). L'avantage de la micro-CPL est également son couplage aisé avec la spectrométrie de masse.

Pour accroître la sensibilité, les microcystines peuvent être dérivées avec de la ninhydrine ou de la fluorescamine et détectées par fluorescence. Le marquage se fait sur les fonctions amines du résidu arginine, ce qui limite la détection aux variantes le possédant. Si l'on ne s'intéresse qu'au contenu global en microcystine, on peut les oxyder en MMPP (acide 2-méthyl-j-méthoxy-4-phénylbutyrique) et les faire réagir avec un marqueur fluorescent tel que le 2(2,3-naphtalimino)éthyl trifluoroéthanesulfonate avant l'analyse par CPL (Sano et al., 1992). Les limites de détection atteignent alors le pico gramme. Une publication récente décrit la possibilité de détecter sélectivement les variantes comportant les groupes arginine et tyrosine par détection électrochimique (Meriluoto et al., 1998).

La détection par spectrométrie de masse nécessite des interfaces appropriées. Les premières développées pour coupler la CPL et la SM employaient un thermospray ou un faisceau de particules. Le premier couplage appliqué avec succès aux microcystines utilisait une interface permettant l'ionisation par bombardement d'atomes rapides (FAB), ce qui nécessite de l'assister par une matrice. Il faut donc soit incorporer la matrice à la phase mobile, mais cela affecte la séparation chromatographique à cause des changements de polarité et de viscosité de la phase mobile, soit introduire la matrice coaxialement dans la source d'ions du spectromètre. Cette technique induit un élargissement des pics chromatographiques. Elle fut appliquée à l'identification des microcystines standard et à celles contenues dans un bloom naturel. Elle fournit l'ion moléculaire $[M + H]^+$ et des fragmentations caractéristiques dont celle à m/z 135 issue de la rupture de la liaison en α du groupe méthoxy du résidu Adda (Kondo et al., 1992).

Cependant, sa sensibilité est faible et des quantités de l'ordre du microgramme sont nécessaires pour l'enregistrement d'un spectre. La sensibilité fut grandement améliorée, au niveau du nanogramme, en utilisant une colonne de diamètre 0,3 mm (Kondo et al., 1995).

Le développement de l'ionisation à pression atmosphérique (IPA) par électrospray (ES) ou ionspray (IS) s'est révélé extrêmement efficace pour l'analyse de composés thermolabiles tels que les peptides ou protéines.

Poon et al. (1993) utilisèrent la micro-CPL avec une colonne de silice greftée C18 de un millimètre de diamètre interne éluée par un gradient d'eau et d'acétonitrile acidifiés par 0,1 % d'acide acétique à un débit de 45 pl min. Un diviseur de débit envoie une infime partie (3,5 pl min) dans l'électrospray. La méthode fut appliquée à l'identification par la masse molaire (ion $[M+H]^+$) de plusieurs microcystines, de la nodularine, de l'anatoxine-a et de la saxitoxine. Quand les standards sont disponibles, l'identification a lieu par le temps de rétention, le spectre UV et le spectre de masse. Pour les toxines inconnues, seule la masse molaire guide. Edwards et al. (1993) ont employé le couplage micro-CPL-IS-SM qui fonctionne selon un principe similaire à celui de l'ES. Avec les deux techniques, une fois les composés identifiés, la sensibilité peut être accrue en utilisant le mode SIM. Il suffit de quelques nanogrammes de toxines pour obtenir des données qualitatives et quantitatives. Le potentiel de la SM en tandem permet de fragmenter les microcystines. Le premier filtre de masse permet de sélectionner un ion particulier, qui subit une fragmentation générée par collision induite avant d'être analysé par le second filtre de masse. (Bateman et al. 1995) ont ainsi identifié des nouvelles variantes de microcystines dans la souche *M. aeruginosa* PCC 7820. (Edwards et al., 1993) ont observé que certaines microcystines perdaient un fragment caractéristique de masse 135 correspondant à la perte du fragment CGHs-CH₂-CHOCH₂, du résidu Adda, l'ion pseudomoléculaire correspondant au peptide restant étant observé pour une valeur de m/z égale à $(M^{+1})-134$. Cette fragmentation caractéristique put être obtenue par simple couplage ES-SM, ce qui présente l'avantage d'utiliser du matériel moins coûteux et plus simple d'emploi. Avec l'ES, l'ionisation a lieu dans une zone située à la pression atmosphérique où l'éluant issu de la CPL est porté à une tension de 2 à 4 kV, formant alors un brouillard de fines gouttelettes chargées qui migrent jusqu'à un capillaire avant d'atteindre le premier étage de pompage du spectromètre via un cône permettant la focalisation des ions formés. En jouant sur la tension appliquée entre le capillaire et le cône, des décompositions par collisions induites peuvent être générées, ce qui permet de fragmenter partiellement les microcystines. A bas potentiel, de l'ordre de 50 V, seule

linformation moléculaire est obtenue avec l'ion $[M^+H]$ mais, en imposant un potentiel de 150 V, Rivasseau (1998) a montré que de nombreuses microcystines se fragmentaient en perdant l'ion caractéristique de masse 135. Ceci a permis de mettre au point une stratégie analytique qui tient compte de l'impossibilité actuelle de disposer des standards des microcystines et qui permet leur détection rapide en utilisant la micro-CPL suivie d'une détection UV à barrette de diodes et d'une détection par ES-MS. L'exemple donné dans la figure 6 correspond à l'analyse d'un extrait de cellules obtenu par culture d'une souche axénique (Robillot et al., 2000). Les renseignements fournis par les spectres UV et les spectres de masse ont permis de caractériser 10 microcystines différentes.

CONCLUSION

Les dangers engendrés par les cyanobactéries pour les animaux domestiques et sauvages et pour la santé humaine sont maintenant bien documentés dans la littérature scientifique. Les principales voies d'exposition sont par ingestion et par contact, via les eaux récréatives ou les eaux distribuées. Mais il ne faut négliger l'autre voie moins étudiée qu'est l'inhalation lors de sports nautiques par exemple. La toxicité aiguë englobe les cas d'empoisonnement, de gastro-entérites, d'irritation cutanée, c'est-à-dire tout trouble ponctuel lié à la présence de cyanobactéries. En marge de ce type de toxicité, la toxicité chronique liée au caractère de promoteur de tumeur des hépatotoxines est également très inquiétante. La consommation répétée de faibles doses d'hépatotoxines pourrait engendrer des cancers, ces études montrent bien la nécessité d'une prise de conscience par les services sanitaires des dangers induits par les cyanobactéries pour la santé publique. Il est important d'effectuer une surveillance des communautés phytoplanctoniques dans les eaux récréatives et dans les réservoirs destinés à l'alimentation en eau potable afin de protéger les utilisateurs et consommateurs.

Références bibliographiques

1. **Adams DG, Duggan PS** (2008) Cyanobacteria–bryophyte symbioses. *J. Exp. Bot.* 59:1047– 1058
2. **Amorim A. & Vasconcelos V.**, 1999. Dynamics in microcystins *Mytilus galloprovincialis*. *Toxicon*, 37, 1041–1052.
3. **Anderson R.J., Luu H.A., Chen D.Z.X., Holmes C.F.B., Kent M., Le Blanc M., Taylor F.J.R. & Williams D.E.**, 1993. Chemical and Biological evidence links microcystins to salmon “Net Pen Liver Disease”. *Toxicon*, 31 1315 – 1323.
4. **Andrasi A.**, 1985. Uptake of dissolved *Gonyaulax catenella* toxins from seawater by *Mytilus edulis* L. In: Toxic dinoflagellates. Anderson D.M., White A. W. & Baden D.G. (eds). Elsevier, Amsterdam, 401–406.
5. **Aune T. & Berg K.** 1986. Use of freshly prepared rat hepatocytes to study toxicity of blooms of the blue–green algae *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria agardhii*, *J. Toxicol. Environ. Health*, 19: 325–336.
6. **Azevedo, S. M. F. O., Carmichael, W. W., Jochimsen, E. M., Rinehart, K. L., Lau, S., Shaw, G. R. et Eaglesham, G. K.** (2002). Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru--Brazil. *Toxicology*, 181 –182, 441 –446.
7. **Bateman K.P., Thibault P., Douglas D.J. & White R.L.**, 1995. Mass spectral analyses of microcystins from toxic cyanobacteria using on– line chromatographic and electrophoretic separations. *J.Chromatogr. A*, 712, 253– 268.
8. **Bergman B, Gallon JR, Rai AN, Stal LJ** (1997) N₂ fixation by non–heterocystous cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 19:139–185
9. **Blank C.E.** (2004) « Evolutionary timing of the origins of mesophilic sulfate reduction and oxygenic photosynthesis : a phylogenomic dating approach », *Geobiology*, vol. 2, n° 1, p. 1–20.
10. **Bouaïcha N., Rivasseau C., Hennion M.C. & Sandra P.**, 1996. Detection of cyanobacterial toxins (microcystins) in cells extracts by micellar electrokinetic chromatography. *J.Chromatogr. B*, 685, 53– 57.
11. **Bourke, A. T. C., Hawes, R. B., Neilson, A. and Stallman, N. D** (1983), An Outbreak of Hepato–Enteritis (the Palm Island Mystery Disease) Possibly Caused by Algal Intoxication, *Toxicon* 21: 45–48.
Bradely W.G, Borenstein A.R, Nelson L.M. et al (201 3), «Is exposure to cyanobacteria an environmental risk factor for amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases? » *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, vol. 1 4, n° 5–6, p. 325–333.
12. **Brandenberg T.O. & Shigley F.M.**, 1947. Water bloom as a cause of poisoning in livestock in North Dakota. *JAVMA*, 110, 384.
13. **Brehm U, Krumbein WE, Paliniska KA** (2003) Microbial spheres: a novel cyanobacterialdiatom symbiosis. *Naturwissenschaften* 90:136–140
14. **Briand J.F, Robillot C., Biré R., Nicholson B., Couté A., Bernard C.** 2000. Toxicity studies on cultures of two French *Cylindraspermopsis raciborskii* (cyanobacteria) strains. *Toxicon* (soumis).
15. **Briand J–F., Jacquet S., Bernared C., Humbert J–F.** 2003. Health hazards for terrestrial vertebrates from toxic cyanobacteria in surface water ecosystems . *Vet. Res.* 34 : 361–377.

16. **Bruno M., Barbini D.A., Pierdominici E., Serse A.P. & Ioppolo A., 1994.** Anatoxin-a and previously unknown toxin in *Anabaena planctonica* from blooms found in lake Mulargia (Italy). *Toxicon*, 32, 369–373.
17. **Bumke-Vogt C., Mailahn W., Rotar W. & Chorus I., 1996.** A highly sensitive analytical method for the neurotoxin-a, using GC-ECD and first application to laboratory cultures. *Phycologia*, 35, 51–56.
18. **Bury N.R., Codd G.A., Wendelaar Bonga S.E. & Flik, G., 1997.** Fatty acids from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* with potent inhibitor effects on fish gill Na⁺ / K⁺- ATPase activity. *J. Exp. Biol.* 201, 81–89.
19. **Carbis C.R., Rawlin G.T, Waldron D.L., Mitchell G.F., Anderson J.W. & Mc Cauley L., 1995.** Recovery of hepatic function and latent mortalities in Sheep exposed to the blue green alga *Microcystis aeruginosa*. *Vet. Rec.*, 137.
20. **Carbis C.R., Rawlin G.T., Mitchell G.F., Anderson J.W. & Cauley L., 1996.** The histopathology of carps, *Cyprinus carpio* L., exposed to microcystins by gavage, immersion and intraperitoneal administration. *J.Fish.Dis.*, 19, 199–207.
21. **Carmichael W. W. & Falconer I. R., (1993).** Diseases related to freshwater blue-green algal toxins and control measures, Dans : Falconer, I. algal toxins in seafood and drinking water, Academic Press, London. pp. 187–209.
22. **Carmichael W.W., (1997).** The Cyanotoxins. *Adv. Bot. Res.*, 27, 211–256.
23. **Carmichael W.W. (1994).** The toxins of Cyanobacteria. *Sci. Am.* 270: 78– 86.
24. **Carmichael W.W. (1992).** Cyanobacteria secondary metabolites—the cyanotoxins. *Journal of Applied Bacteriology* 72: 460–466.
25. **Carmichael, W.W. & Gorham, P.R., 1978a.** Anatoxins from clones of *Anabaena flos-aquae* isolated from lakes of western Canada ; *Mitt.int.Ver.Limnol.*, 21: 285–295.
26. **Castenholz R.W., Waterbury J.B., (1989).** Oxygenic photosynthetic bacteria. Gr. I. Cyanobacteria. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Hensyl W.R. Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, 3, 1710–1727.
27. **Cathrine A, Spoof L Bruno M. et al (2017),** « Microcystins and nodularins » dans *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, Wiley, Hoboken.
28. **Cavalier-Smith T., 2013 .** « Symbiogenesis: Mechanisms, Evolutionary Consequences, and Systematic Implications », *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, vol. 44, n° 1, p. 145–172.
29. **Cavalier-Smith T., 2006.** « Rooting the tree of life by transition analyses », *Biology Direct*, vol. 1, n° 19.
30. **Chorus, I et Bartram, eds. (1999),** Toxic cyanobacteria in water : a guide to their public health consequences, monitoring and management. E&FN Spon, Londres.
31. **Christoffersen C., 1996.** Ecological implications of cyanobacterial toxins in aquatic food webs. *Phycologia*, 35, 42–50.
32. **Chu F.S., Huang X. & Wei R.D., 1990.** Enzyme- linked immuno- sorbent assay for microcystins in blue- green algal blooms. *J. Assoc. Analyst. Chem.*, 73, 451– 456.

33. **Chu F.S., Huang X., Wei R.D. & Carmichael W.W., 1989.** Production and characterisation of antibodies against microcystins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1928– 1933.
34. **Codd G.A., Brooks W.P., Priestley T.M., Poon G.K. & Bell S.G., 1989b.** Production, detection and quantification cyanobacterial toxins, toxicity assessment, *An Internat. J.* 4: 499–511.
35. **Codd G.A., Metcalf J.S., Beatties K.A., 1999.** Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce after spray irrigation with water containing cyanobacteria. *Toxicon*, 37, 1181–1185.
36. **Codd, G. A., Edwards, C., Beattie, K. A., Barr, W. M. et Gunn, G. J. (1992).** Fatal attraction to cyanobacteria? *Nature*, 359, 110–1.
37. **Cole G.I., Wyne M.J., (1974).** "Endocystis of *Microcystis aeruginosa* by *Ochromonas Danica*". *J. Phycol.*, 10, 387– 410.
38. **Cole G.I., Wyne M.J., 1974.** Endocystis of *Micruystis aeruginosa* by *Ochromonas danica*. *J. Phycol.*, 10, 387–410.
39. **Dawson R (1998)** « The toxicology of microcystine » *Toxicon*, vol.36, n° 7, p. 953–962.
40. **Delarras C, Trébaol B, Durand J (2010)** "Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux" Réglementation_ Micro-organismes_prélèvements_ Analyses . 2eme edition . Lvoisier
41. **Demott W., (1999).** "Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of a toxic cyanobacterium and a green alga". *Freshw. Biol.*, 42, 263–274.
42. **Demott W., 1999.** foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of a toxic cyanobacterium and a green alga. *Freshw. Biol.*, 42, 263–274.
43. **Demott W., Zhang Q.-X. & Carmichael W.W., 1991.** Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 1346–1357.
44. **Des Marais DJ (2000)** Evolution – When did photosynthesis emerge on earth? *Science* 289:1703–1705
45. **Dillenberg H.O. & Dehnel M.K., 1960.** Toxic waterbloom in Saskatchewan, 1959. *Can. Mad. Assoc.J.*, 83, 151.
46. **Dismukes GC, Klimov VV, Baranov SV, Kozlov YN, DasGupta J, Tyrishkin A (2001)** The origin of atmospheric oxygen on Earth: The innovation of oxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98:2170–2175
47. **Duy, TN, Lam, PKS, Shaw,GR et DW Connell, 2000.** Toxicology and risk assesement of freshwater cyanobacterial (bleu–green algal) toxins in water . *Rev. Environ.Contam. Toxicology*, 163: 113–186.
48. **Edwards C., Lawton L.A., Beattie K. A., Codd G.A., Pleasance S. & Dear G.J., 1993.** Rapid typing and elucidation of new secondary metabolites of intact cyanobacteria using MALDI-TOF mass spectrometry. *Nature Biotech.*, 15, 906–909.
49. **Eriksson J.E., Meriluoto J.A. & Lindholm T., 1989.** Accumulation of a peptide toxin from the cyanobacterium *Oscillatoria agardhii* in the freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Hydrobiologia*, 183, 211–216.
50. **Eriksson J.E., Meriluoto J.A., Lindholm T., 1986.** Can cyanobacterial toxins accumulate in aquatic food chains? In: Perspectives in microbial ecology. Megusar E and Gantar M. (eds). Proceedings of the 4th International Symposium on Microbial Ecology, Ljubliana, 655–658.

51. **Eriksson J.E., Paatero G.I., Meriluoto J.A., Codd G.A., Kass G.E., Nicotera P. & Orrenius S., 1989a.** Rapid microfilament reorganization induced in isolated rat hepatocytes by microcystin-LR, a cyclic peptide toxin. *Exp. Cell Res.*, 185, 86–10.
52. **Eriksson J.E., Toivela D., Meriluto J.A.O., Karaki H., Han Y.G. & Harstshorne D., 1990.** Hepatocyte deformation induced by cyanobacterial toxins reflects inhibition of protein phosphatases, *Biochem. Biophys. Res. Com.* 193 (3), 1347–1353.
53. **Falconer I.R.** (1991). Tumor promotion and liver injury caused by oral consumption of cyanobacteria, *Environ. Toxicol. Water Qual.* 6: 177–184.
54. **Falconer I.R.** (1998) , « Algal toxins and human health », dans **Hrubec J. (dir.)**, The handbook of environmental chemistry, Part C, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
55. **Falconer I.R., 1993.** Measurement of toxins from blue-green algae in water and foodstuffs. In: Falconer I. R. (Ed.), *Algal toxins in seafood and drinking water*, Academic Press, London. 165–175.
56. **Falconer I.R., 1996.** Potential impact on human health of toxic cyanobacteria, *Phycologia* 35. p. 6–11.
57. **Falconer I.R., Choice A. & Hosja W., 1992.** Toxicity of the edible mussel (*Mytilus edulis*) growing naturally in an estuary during a water bloom of the blue-green alga *Nodularia spumigena*. *J. Environ. Toxicol. Water Qual.*, 7, 119–123.
58. **Falconer I.R., Dornbusch M., Moran G. & Yeung S.K. 1992c.** Effect of the cyanobacterial(blue-green algal) toxins from *Microcystis aeruginosa* on isolated enterocytes from the chicken small intestine, *Toxicon*, 30 (7): 790–793.
59. **Falconer, I. R., Cereford, T. et Runnegar, M. T. C.** (1983). Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-gren alga. *Microcystis aeruginosa*. *Med J aust*, 1, 511 –514.
60. **Fay P , Van Baalen C.** (dir), The cyanobacteria , Elsevier, Amsterdam, 1987.
61. **Feuillade J., 1994.** The cyanobacterium (Blue-green algae) *Oscillatoria rubescens* D.C. In: *Studies on Lake Nantua*. Feuillade J. (ed.). *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 41, 77–93.
62. **Figiki H Suganuma M, Suguri H. et al** (1990), « New tumor promoters from marine natural products », dans HALL S, STRICHARTZ G. (dir.), *Marine toxins, origin, structure and molecular pharmacology*, American Chemical Society, Washington, D.C.
63. **Fitzgerald S.D. & Poppenga R.H., 1993.** Toxicosis due to microcystin hepatotoxicosis in three Holstein heifers-J. *Vet. Diagn. Invest.*, 5, 651–653.
64. following ingestion of toxic algae. In: *Liver. Proceedings of the International Liver Congress*. Saunders S.J. & Terblanche J. (eds). Pitman Medical, London, 383– 385. Keeler R.F., Seawright A.A., James L.F. & Hegarty M. (eds), 499–511.
65. **Fontal O.I., Vieytes M.R., Baptista de Sousa J.M.V., Louzao M.C. & Botana L.M., 1999.** A fluorescent microplate assay for microcystin-LR, *Analyt. Biochem.* 269. 289–296.
66. **Francis G., 1878.** Poisonous Australian lake. *Nature*, 18, 11–12.
67. **Francis, G.** (1878). Poisonous Australian lake *Nature*, 18, 11 –12.
68. **Frazier K., Colvin B., Styer E., Hullinger G. & Garcia R., 1998.** Microxystis toxicosis in cattle due to overgrowth of blue-green algae-Vet. *Hum. Toxicol.*, 40, 23–24.

69. **Frosio S.M, Humpage A, Burcham P.C et al** (2003), « Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from acute toxicity in mouse hepatocytes », *Environmental Toxicology*, vol. 18, n° 3, p. 192–195.
70. **Fulton R.S., Paerl H.W.**, (1987). "Toxic and inhibitory effects of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* on herbivorous zooplankton". *J. Plankton Res.*, 9, 837–855.
71. **Galey F.D., Beasley V.R., Carmichael W.W., Kleppe G., Hooser S.B. & Haschek W.M.**, 1987. Blue-green algae (*Microcystis aeruginosa*) hepatotoxicosis in dairy cows. *Amer. J. Vet. Res.*, 48, 1415–1420.
72. **Gallacher S., Birkbeck T.H.**, 1992. A tissue culture assay for direct detection of sodium channel blocking toxins in bacterial culture supernates. *FEMS Microbiol. Lett.*, 92, 101–108.
73. **Gathercole P.S. & Thiel P.G.**, 1987. Liquid chromatographic determination of the cyanoginsins, toxins produced by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Chromatogr.*, 408, 435–440.
74. **Gilbert J.J.** (1990). "Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers, mechanisms and implications". *Ecology*. 71, 1727–1740.
75. **Gilbert J.J.**, (1994). "Susceptibility of planktonic rotifers to a toxic strain of *Anabaena flos-aquae*". *Limnol. Oceanogr.*, 39, 1286–1297.
76. **Gorham P.**, 1964. Toxic algae, in *Algae and Man* : 307–336. Edited by D.F. Jackson, Plenum Press, New York.
77. **Gorham P.R.**, 1960. Toxic water blooms of blue green algae. *Can. Vet. J.*, 1, 235–245.
78. **Grabow W.O.K., Du Randt W.C., Prozesky O.W. & Scott W.E.**, 1982. *Microcystis aeruginosa* toxin: cell culture toxicity, hemolysis and mutagenicity assays, *Applied and Environmental microbiology*, 43 (6), 1425–1433.
79. **Grossman A.R., Bhayad., Apt K.E. et al**, 1995. « Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: diversity, control and evolution », *Annual Review of Genetics*, n 29, p. 231–287.
80. **Gulati R.D., Ejsmont-Karabin J., Postema G.**, (1993). "Feeding in *Euclyptus dialata* Lucksiana Hauer on filamentous cyanobacteria and a prochlorophyte". *Hydrobiologia*, 255/256, 269–274.
81. **Harada K-I., Murata Z., Qiang M., Suzuki M. & Kondo F.** (1996). Mass spectrometric screening method for microcystins in cyanobacteria. *Toxicon*, 34, 701–710.
82. **Hawkins P.R., Runnegard M.T.C., Jackson A.R.B., et Falconer I.R.** (1985). Severe hepatotoxicity caused by the tropical cyanobacterium (blue-green algae) *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju isolated from a domestic water supply reservoir. *Journal of Applied Environmental Microbiology* 50: 1292–1295.
83. **Hayman J.**, 1992. Beyond the Barcooprovable human tropical cyanobacterial poisoning in outback Australia. *Med. J. Aust.*, 157, 794–796.

84. **Henning K., Cremer, J. & Meyer H., 1992b.** Cytotoxicity of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, Journal Vet. Med. B, 39: 307–310.
85. **Hennion M.C. & Barcelo D., 1998.** Strength and limitation of immunoassays for effective and efficient use of pesticide analysis in water samples: a review. Anal. Chim. Acta.362, 3– 34.
86. **Hermansky S.J., Casey P.J. & Stohs S.J., 1990.** Cyclosporin A –a chemoprotectant against microcystin–LR toxicity, Toxicology letters, 54: 279–285.
87. **Hernandez, M., Macia, M., Padilla, C. et Del Campo, F. F. (2000).** Modulation of human polymorphonuclear leukocyte adherence by cyanopeptide toxins. Environ Res, 84, 64–8.
88. **Himberg K., Keijola A.M., Hiisvirta L., Pyysalo H. & Sivonen K., 1989.** The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis*
89. **Hitzfeld et al., (2000)** Hitzfeld, B.C., Lampert, C.S., Spaeth, N., Mountfort, D., Kaspar, H., Dietrich, D.R., (2000). Toxin production in cyanobacterial mats from ponds on the McMurdo Ice Shelf, Antarctica. Toxicon, 38, 1731 –1748.
90. **Humbert J.E, Paolini G., Le Berre B., Bosse J.P., Menthon E., 2000.** Toxic cyanobacteria bloom in lake Bourget (France). Int. Conf. on Harmful algal bloom, February 7–11, Hobart, Tasmania, abstracts Book, 138.
91. **Humpage A.R, Fontaine F, Froscio S et al (2005),** «Cylindrospermopsin genotoxicity and cytotoxicity : role of cytochrome P–450 and oxidative stress », Journal of Toxicology and Environmental Health, vol. 68, n° 9, p. 739–753.
92. **Humpage A.R., Rositano J., Bretag A. H., Brown R., Baler P.D., Nicholson, B.C. & Steffensen, D.A., 1994.** Paralytic shellfish poisons from Australian cyanobacterial blooms. Aust J Mar Freshwater Res, 45(5), 761–771.
93. **Jackson A.R.B., Runnegar M.T.C. & McInnes A., 1986.** Cyanobacterial (blue–green algae) toxicity of livestock. In: Proc. 2nd Australian–US Symposium on poisonous plants.
94. **Jacquet S., Dufour P., Latour D., Bernared C., Briand J–F., Humbert JF., Robin J., Willame R., Sarzin G., Brient L. 2003.** Changements globaux et efflorescences à cyanobactéries en France. GRISCYA 26/11/2003. UMR CARRTEL, INRA Thonon les Bains. 28 p.
95. **Jarvis A.C., Hart C. & Combrink S., 1987.** Zooplankton feeding on size fractionated *Microcystis* colonies and *Chlorella* in a hypertrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa); Implications to resource utilization and zooplankton succession. J. Plankton Res., 9, 1231–1249.
96. **Jarvis A.C., Hart C., Combrink S., (1987).** "Zooplankton feeding on size fractionated *Microcystis* colonies and *Chlorella* in a hypertrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa) implications to resource utilization and zooplankton succession". J. Plankton Res., 9, 1231–1249.
97. **Jellet J.F., Doucette L.I. & Belland E.R., 1998.** The MIST (MT) Shipable cell bioassay kits for PSP : An alternative to the mouse bioassay, J. Shellfish Res. 17, 1653–1655.
98. **Jochimsen E.M., Carmichael W.W., An J., Cardo D.M., Cookson S.T., Holmes C.E.M., Antunes M.B.C., Melo Filho D.A., Jyra T.M., Barreto V., 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.
99. **Jochimsen, E. M., Carmichael, W. W., An, J. S., Cardo, D. M., Cookson, S. T., Holmes, C. E., Antunes, M. B., de Melo Filho, D. A., Lyra, T. M., Barreto, V. S., Azevedo, S. M. et Jarvis, W. R.** (1998). Liver failure and death after exposure to microcystins at a hemodialysis center in Brazil. *N Engl J Med*, 338, 873–8.
 100. **Kaebernick, M. et Neilan, B. A.** (2001). Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiol Ecol*, 35, 1 –9.
 101. **Kerr L.A., McCoy C.P. & Eaves D.,** 1987. Blues-green algae toxicosis in five dairy cows. *Javma*, 191, 829–830.
 102. **Kirivanta J., Sivonen K., Lahti K., Luukkainen R., Niemela S.I.,** 1991. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins – a laboratory study. *Arch. Hydrobiol.*, 121(3):281–294.
 103. **Kirk J.T.O.,** 1983. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*, Cambridge University Press, Cambridge.
 104. **Kirk K.L., Gilbert J.J.,** 1992. Variation in herbivore response to chemical defences, zooplankton foraging on toxic cyanobacteria. *Ecology*, 73, 2208–2217.
 105. **Kirpenko N.I.,** (1986). "Phytopathic properties of blue-green algae toxins". *Hydrobiol. J.*, 22, 44–47.
 106. **Kirpenko N.I.,** 1986. Phytopathic properties of blue-green algae toxins. *Hydrobiol. J.*, 22, 44–47.
 107. **Klapes N.A.,** 1990. Acute toxicity of the natural algicide, cyanobacterin, to *Daphnia magna*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 20: 167–174.
 108. **Klemer A.R., Konopka A.E.,** 1989. Causes and consequences of blue-green algal (cyanobacterial) blooms. *Lake Reservoir Manage.*, 5, 9–19.
 109. **Komárek J., Anagnostides K.,** (1999). *Cyanoprokaryota, Part 1: Chroococcales*, *Süßwasserflora von Mitteleuropa*, Bd 19/1, Spektrum Akademischer Verlag. 19/1, pp. 548.
 110. **Kondo F., Ikai Y., Oka H., Ishikawa N., Watanabe M.F., Watanabe M., Harada K.L. & Suzuki M.,** 1992. Separation and identification of microcystins in cyanobacteria by fast atom bombardment liquid chromatography-mass spectrometry. *Toxicon*, 30 (3), 227–237.
 111. **Kondo F., Ikai Y., Oka H., Matsumoto H., Yamada S., Ishikawa N., Tsuji K., Harada K.L., Shimada T., Oshikata M. & Suzuki M.,** 1995. Reliable and sensitive method for determination of microcystins in complicated matrices by fast atom bombardment liquid chromatography-mass spectrometry. *Nat. Toxins*, 3, 41–49.
 112. **Kotak B.G., Semalulu S., Fritz D.L., Prepas E.E., Hrudey S.E. & Coppock R.W.,** 1996 a. Hepatic and renal pathology of intraperitoneally administered microcystin-LR in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*. 34, 517–525.

113. **Kotak B.G., Zurawell R.W., Prepas E.E., Holmes C.F.B.**, (1996b). "Microcystin-LR concentration in aquatic food web compartments from lakes of varying trophic status". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53, 1974–1985.
114. **Krienitz L., Ballot A., Kotut K. et al.**, 2003. «Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Flamingos at Lake Bogoria, Kenya », *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 43, n° 2, p. 141–148.
115. **Krienitz L., Ballot A., Kotut K., Wiegand C., Pütz S., Metcalf J.S., Codd G.A. & Pflugmacher S.**, (2003). Contribution of hot spring cyanobacteria to the mysterious deaths of Lesser Flamingos at Lake Bogoria, Kenya, *FEMS Microbiology*
116. **Kuiper–Goodman, T.** (1997). Risk assessment of microcystins in Canasa. *WaboluHfte*, 4/97, 9–12.
117. **Kumar H.D., Ueda K.**, 1984. Conjugation in the cyanobacterium *Amacystis nidulans*. *Mol. Gen. Genet.*, 195, 356–357.
118. **Kumayer R., Jüttner E.**, (1999). "Strategies for the coexistence of zo0 plankton with the toxic cyanobacterium *Planktotbrix rubescens* in Lake Zurich". *J. Plankton Res.*, 31, 639–683.
119. **Kurmayer R. & Jüttner F.**, 1999. Strategies for the coexistence of zooplankton with the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in Lake Zurich. *J. Plankton Res.*, 31, 659–683.
120. **Lacaze J.–C.**, 1996. *l'eutrophisation des eaux marines et continentales*. Ellipses Publ., 191 p.
121. **Lahti K., Ahtiainen J., Rapala J., Sivonen K. & Niemela S. I.**, 1996. Assessment of rapid bioassaye for detecting cyanobacterial toxicity. *Lett. Appl. Microbiol.* 21, 109–114.
122. **Lambert G, Lambert CC, Waaland JR** (1996) Algal symbionts in the tunics of six New Zealand ascidians (Chordata, Ascidiacea). *Invertebr. Biol.* 115:67–78
123. **Lambert T.W., Boland M.P., Holmes C.EB & Hrudey S.E.**, 1994. Quantification of the microcystin hepa– tototoxin in water at environmentally relevant concen–tration with the protein phosphatase bioassay, *Environ. Sc. Technol.* 28 : 753–755.
124. **Lapage SP, Sneath PHA, Lessel EF, Skerman VBD, Seeliger HPR, Clark WA** (1992) *International Code of Nomenclature of Bacteria*, 1990 revision. American Society for Microbiology, Washington D.C, USA, 199 pp.
125. **Lauren–Mättä C., Hietala J., Reinikainen M., Walls M.**, (1995). "Do Mieruaystis aeruginosa toxins accumulate in the food web: a labora– tory study". *Hydrobiologia*, 304, 23–27.
126. **Lawton L.A., Edwards C. & Codd G.A.**, 1994. Extraction highperformance liquid chromatographic method for the determination of microcystin in aw and treated waters. *Analyst* ;119:1525–30.
127. **Lawton LA, Campbell, D.L., Beattie, K.A. & Codd, G.A.**, 1990. Use of a rapid bioluminescence assay for detecting cyanobacterial microcystin toxicity, *Letters in applied microbiology*, 11 : 205–207.
128. **Lee YK, Lee JH, Lee HK** (2001) Microbial symbiosis in marine sponges. *J. Microbiol.* 39:254–264

129. **Lian M, Liu Y, Yus.Z. et al** (2006) , « Hepatitis B virus x gene and cyanobacterial toxins promote aflatoxin Br-induced hepatotumorigenesis in mice» *World Journal of Gastroenterology*, vol. 12, n° 19, p. 3065–3072.
130. **Lindholm T., Reisson J.E., Meriluoto J.A.O** (1998)., « Toxic cyanobacteria and water, « quality problems examples from a cutrophic lake on Aland, South West Finland, *Water Research*, vol. 23, n° 4, p. 481–486.
131. **Lindhom T., Reisson J.E., Meriuoto J.A.O.** 1989, « Toxic cyanobacteria and water quality problems examples from a cutrophic lake on Aland, South West Finland, *Water Research*, vol. 23, n° 4, p. 481 –486.
132. **Lira V., Lindberg M., Nystrom P., Annadotter H., Lawton L.A. & Graf B., 1998.** Can ingested cyanobacteria be harmful to the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) ? *Freshw.Biol.*, 39, 233–242.
133. **Llewellyn L.E** (2006), « Saxitoxin a toxic marine natural product that targets a multitude of receptors», *Natural, Product Reports*, vol. 23, n° 2, p. 200–222.
134. **Locke S.J. & Thibault P., 1994.** Improvement in detection limits for the determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish tissues using capillary electrophoresis–electrospray mass spectrometry and discontinuous buffer systems. *Anal. Chem.*, 66, 3436–3446.
135. **Lone Y., Koiri R.K. et Bhide M.** (2015). An overview of the toxic effect of potential human carcinogen Microcystin–LR on testis. *Toxicology Reports* 2 : 289–296.
136. **Lovell R.A., Schaeffer D.J., Hooser S.B., Haschek W.M., Dahlem A.M., Carmichael W.W. & Beasley V.R., 1989.** Toxicity in intraperitoneal doses of microcystin–LR in two strains of male mice, *JEPTO*, 9 (3) : 221–238.
137. **Lundstedt L. & Brett M.T., 1991.** Differential growth rates of three cladoceran species in response to mono–and mixed–algal cultures. *Limnol. Oceanogr.*, 36, 159–165.
138. **Lundstedt L., Brett M.T., (1991).** "Differential growth rates of three cladoceran species in response to mono– and mixed–algal cultures. *Limnol. Oceanog.*, 36, 159–165.
139. **MacKintosh C., Beattie K.A., Klumpp C., Cohen C. & Codd G.A., 1990.** Cyanobacterial microcystin–LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS* 264, 187–192.
140. **Mahmood N.A. & Carmichael W.W., 1987.** Anatoxin–a(S), an anticholinesterase from the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae* NCR–525–17. *Toxicon* 25: 1221–1227.
141. **Manger R.L., Leja L.S., Lee S.Y., Hungerford J.M., Wekell M.M., 1994.** Cell bioassay for the detection of ciguatoxins, brevetoxins, and saxitoxins. *Mem. Queensl. Mus.*, 34(3), 571–575.

142. **Martin W, Kowallik KV** (1999) Annotated English translation of Mereschowsky's 1905 paper 'Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. Eur. J. Phycol. 34:287–295
143. **Mayer C.M. & Wahl D.H., 1997.** The relationship between prey selectivity and growth survival in a larval fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 54, 1504–1512.
144. **Mayer C.M., Wahl D.H., (1997).** "The relationship between prey selectivity and growth survival in a larval fish". Can. J. Fish. Aquat. Sci., 54, 1504–1512.
145. **Mazur-Marzec H, Torun'ska M.J et al .** (2009), « Biodegradation of nodularin and effects of the toxin on bacterial isolates from the Gulf of Gdan'sk » Water Research, vol. 43, n° 11 , p. 2801–2810.
146. **MC Barron E.J. & May V., 1966.** Poisoning of sheep in New South Wales by the blue-green alga *Anacytic cyanea* (Kuetz) Dr. and Dail. Aust. Vet. J., 42, 449–453.
147. **MC Barron Walker R.I., Gardner I. & Walker K.H., 1975.** Toxicity to livestock of the blue-green alga *Anabaena circinalis*. Aust. Vet. J., 51, 587–588.
148. **Mc Dermott C.M., Feola R. & Plude J., 1995.** Detection of cyanobacterial toxins (microcystins) in waters of northeason Wisconsin by a new immunoassay technique. Toxicon, 33, 1433–1442.
149. **Mcfadden G.I.** (2001), « Primary and secondary endosymbiosis and the origin of plastids », Journal of Phycology, vol. 37, n° 6, p. 951–959.
150. **McNeill J, Barrie FR, Burdet HM, Demoulin V, Hawksworth DL, Marhold K, Nicolson DH, Prado J, Silva PC, Skog JE, Wiersma JH, Turland NJ** (2006) International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code). Regnum Vegetabile 146. A.R.G. Gantner Verlag KG.
151. **Meriluoto J., 1997.** Chromatography of microcystins. Anal. Chem. Acta, 352, 27– 298.
152. **Meriluoto J., Eriksson J.E., Harada K.I., Dalhem A.M., Sivonen K. & Carmichael W.W., 1990.** Internal surface reversed-phase HPLC separation of the cyanobacterial peptide toxins microcystin-LA, -LR, -YR, -RR and nodularin. J. Chromatogr., 509, 390–395.
153. **Meriluoto J., Kincaid B., Smyth M.R. & Wasberg M., 1998.** Electrochemical detection of microcystins, cyanobacterial peptide hypatotoxins, following HPLC. J. Chromatogr. A., 810, 226–230.
154. **Mez K., Beattie K. A., Codd G.A., Hanselmann K., Hauser B., Naegeli H. & Preisig H. R., 1997.** Identification of a microcystin in benthic cyanobacteria linked to cattle deaths on alpine pastures in Switzerland. Eur. J. Phycol. 32: 111–117.
155. **Miura G.A., Robinson N.A., Geisbert T.W., Bostian K.A., White J.D. & Pace J.G., 1989.** Comparison of in vivo and in vitro toxic effects of microcystin-LR in fasted rats, Toxicon, 27(11) : 1229–1240.
156. **Miura S, Yokota A** (2006) Isolation and characterization of cyanobacteria from lichen. J. Gen. Appl. Microbiol. 52:365–374
157. **Mulhearn C.J., 1959.** Beware algae ! They can poison livestock. J. Agricult. 62 : 406–408.

158. **Mynderse J.S, Moore R.E., Kashiwagi M. et al** (1977), « Antileukemia Activity in the Osciliatoriaceae: Isolation of Debromoaplysiatoxin from *Lyngbya* », *Science*, vol. 196, n° 4289, p. 538–540.
159. **Nagata S., Soutome H., Tsutsumi T., Hasegawa A., Sekijima M., Sugamata M., Harada K.L., Suganuma M. & Ueno Y., 1995.** Novel monoclonal antibodies against microcystin and their protective activity for hepatotoxicity. *Nat. Toxins*, 3, 78–86.
160. **Nasri H., El Herry S. et Bouaïcha N.** (2008). First reported case of turtle deaths during a toxic *Microcystis* spp. bloom in Lake Oubeïra, Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71 : 535–544.
161. **Negri A.P., Jones G.J. & Hindmarsh M., 1995.** Sheep mortality associated with paralytic shellfish poisons from the Cyanobacterium *Anabaena circinalis*, *Toxicon* 33. p. 1321–1329.
162. **Novaczek I., Madhyastha M.S., Ablett R.F., Johnson G., Nijjar M.S. & Sims D.E., 1991.** Uptake, disposition and depuration of domoic acid by the blue mussels (*Mytilus edulis*). *Aquat. Toxicol.*, 21, 103–118.
163. **Ohta, T., Sueoka, E., Iida, N., Komori, A., Suganuma, M., Nishiwaki, R., Tatematsu, M., Kim, S. J., Carmichael, W. W. et 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, 6402–6.
164. **Ohtani I, Moore R.E, Runnegar M.T.C.** (1992), « Cylindrospermopsin : a potent hepatotoxin from the blue-green algae *Cylindrospermopsis raciborskii* », *Journal of the American Chemical Society*, vol. 114, n° 20, p. 7941–7942.
165. **Onyewunyi N. & Hawkins P., 1996.** Separation of toxic peptides (microcystins) in capillary electrophoresis with the aid of organic mobile phase modifiers. *J. Chromatogr. A.*, 749, 271–277.
166. *Oscillatoria cyanobacteria: a laboratory study.* *Water Res.*, 23, 979–984.
167. **Paerl & Huisman** (2008) Climate – Blooms like it hot. *Science* 320(5872).
168. **Paerl H.W. (1988).** Growth and reproductive strategies of freshwater blue-green algae (Cyanobacteria). In: *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton.* Sandgren C.D. Ed. Cambridge University Press, pp : 261–315.
169. **Paerl H.W., 1988.** Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnol. Oceanogr.*, 33, 823–847.
170. **Paerl H.W., Ustach J.E, 1982.** Blue-green algal scums: an explanation for their occurrence during freshwater blooms. *Limnol. Oceanogr.*, 27, 212–217.
171. **Patterson G.M.L. Baldwin C.L., Bolie C.M., Caplan F.R., Karusuo, H., Larsen, L.K., Levine, I.A., Moore, R.E., Nelson, C.S., Tschappat, K.D., Tuang, G.D., Furusawa, E., Furusawa, S., Norton, T.R. & Raybourne, R.E., 1991.** Antineoplastic activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta). *J. Phycol.*, 27, 530–36.
172. **Paul** (2008) Global warming and cyanobacterial harmful algal blooms. In *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs.* H.K. Hudnell, ed. Pp. 239–257. *Advances in Experimental Medicine and Biology: Springer New York.*

173. **Penaloza R., Rojas M., Vila I. & Zambrano F., 1990.** Toxicity of a soluble peptide from *Microcystis* sp. To zooplankton and fish, *Freshwater biology*, 24: 233–240.
174. **Peters GA, Meeks JC (1989)** The Azolla–Anabaena symbiosis – Basic Biology. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:193–210
175. **Peters GA, Meeks JC (1989)** The Azolla–Anabaena symbiosis – Basic Biology. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 40:193–210
176. **Pflugmacher et al. (2001)** Pflugmacher, S., Wiegand, C., Beattie, K. A., Krause, E., Steinberg, C. E. et Codd, G. A. (2001). Uptake, effects, and metabolism of cyanobacterial toxins in the emergent reed plant *Phragmites australis* (cav.) trin. ex steud. *Environ Toxicol Chem*, 20, 846–52.
177. **Pilotto LS, Burch MD, Douglas RM, Cameron S, Roach GJ, Cowie CT, Beers M, Robinson P, Kirk M, Hardiman S, Moore C. et Attewell RG. (1997).** Health effect of recreational exposure to cyanobacteria (blue–green algae) during recreational water activities. *Australian and New Zealand Journal of Public Health* 21: 562–566.
178. **Pleasance S., Thibault P. & Kelly J., 1992.** Comparison of liquid– junction and coaxial interfaces for capillary electrophoresis– mass spectrometry with application to compounds of concern to the aquaculture industry. *J. Chromatogr.*, 591, 325– 339.
179. **Poon G.K., Griggs L.J., Edwards C., Beattie K.A. & Codd G.A., 1993.** Liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry of cyanobacterial toxins. *J. Chromatogr.*, 628, 215–233.
180. **Pouria, S., de Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R. L., Barreto, V. T., Ward, C. J., Preiser, W., Poon, G. K., Neild, G. H. et Codd, G. A. (1998).** Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, 352, 21 –6.
181. **Prepas E.E., Kotak B.G., Campbell L.M., Evans J.C., Hrudey S.E. & Holmes C.F.B., 1997.** Accumulation and elimination of cyanobacterial hepatotoxins by the freshwater clam *Anodonta grandis simpsoniana*. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 54, 41–46.
182. **Rai AN, Soderback E, Bergman B (2000)** Cyanobacterium–plant symbioses. *New Phytol.* 147(3): 449–481
183. **Rao S.D., Banack S.A., Cox P.A. et al (2006),** « BMAA selectively injures motor neurons via AMPA/kainate receptor activation », *Experimental Neurology*, vol. 201 , n° 1 , p. 244–252.
184. **Reynolds C.S., 1998.** What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status. *Hydrobiologia*, 369/370, 11–26.
185. **Reynolds G.S., Walsby A.E., 1975.** Water–blooms. *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, 50, 437–481.
186. **Rivasseau C. & Hennion M.C., 1999.** Potential of immunoextraction coupled to analytical and bioanalytical methods (liquid chromatography, ELISA kit and phosphatase inhibition test) for improved environmental monitoring of cyanobacterial toxins. *Anal. Chim. Acta*, 399, 75–87.
- Rivasseau C., 1998.** Toxines des cyanobactéries d’eau douce : méthodes de détection analytique et bioanalytique, détermination et identification dans l’environnement, élimination lors du

187. **Rivasseau C., Hennion M.C. & Sandra P., 1996.** Determination of microcystins in cyanobacterial samples using micro liquid chromatography. *J. Microcolumn. Sep.*, 8, 541–551.
188. **Rivasseau C., Hennion M.C., Racaud P. & Deguin A., 1999b.** Development of a bioanalytical phosphatase inhibition test for the monitoring of microcystins in environmental water samples. *Anal. Chem. Acta*, 394, 243– 257.
189. **Rivasseau C., Racaud P., Deguin A. & Hennion M.C., 1999.** Evaluation of an ELISA kit for the monitoring of microcystins (cyanobacterial toxins) in water and algae environmental samples, *Environ. Sc. And Technol.* 33: 1520–1527.
190. **Robillot C., Vinh J., Puiseux–Dao S. & Hennion M.C., 2000.** Hepatotoxin production kinetics of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7820, as determined by HPLC6 mass spectrometry and protein phosphatase bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3372– 3378.
191. **Rodger H.D., Turbull T., Edwards C. & Codd G.A., 1994.** Cyanobacterial (blue–green algal) bloom associated pathology in brown trout *Salmo trutta* L. in loch Leven, Scotland. *J. Fish Diseases* 17, 177–181.
192. **RomanowskaDuda & Tarczyńska, (2002),** Diminution de la teneur en chlorophylle a et b.
193. **Ross M.M., Kidwell D.A. & Callahan J.H., 1989.** Mass–spectrometric analysis of anatoxina. *J. Anal. Toxicol.*, 13, 317–312.
194. **Runnegar, M.T.C., Gerdes, R.G. & Falconer, I.R. (1991).** The uptake of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by isolated rat hepatocytes, *Toxicon*, 29 (1) : 43–51.
195. **Sahin A., Tencalla F.G., Dietrich D.R. & Naegeli H., 1996.** Biliary excretion of biochemically active cyanobacteria (blue–green algae) hepatotoxins in fish. *Toxicology*, 106, 123.130.
196. **Saker M.L. & Eaglesham G.K., 1999.** The accumulation of cylindrospermopsis from the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in tissues of the Redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Toxicon*, 37, 1065–1077.
197. **Sano T., Nohara K., Shirai F. & Kaya K., 1992.** A method for microdetection of total microcystin content in waterbloom of cyanobacteria (blue–green algae). *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 49, 163–170.
198. **Sarazin G., 2000.** Recherche sur les risques induits par les cyanobactéries d'eau douce. Rapport final Eftloicya. Service de la recherche et des affaires économiques, Secrétariat d'Etat à la santé, 37 p.
199. **Short S.B. & Edwards W.C., 1990.** Blue–green algae toxicosis in Oklahoma vet. *Human Toxicol.* 32, 558–560.
200. **Simon J.F. & Vernoux J.P., 1994.** Highly sensitive assay of akadaic acid using protein phosphatase and paranitrophenyl phosphate. *Nat. Toxins.* 2, 293– 301.

201. **Siren H., Jussila M., Liu H., Peltoniemi S., Sivonen K. & Riekkola M.L., 1999.** Separation, purity testing and identification of cyanobacterial hepatotoxins with capillary electrophoresis and electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 839, 203–215.
202. **Sivonen K., Jones G.** (1999), « Cyanobacterial toxins », dans I. CORUS et J. BARTRAM (dir.), *Toxic cyanobacteria in water*, E. & F. N. Spon, London.
203. **Skulberg M., Codd G.A., Carmichael W. W., 1984.** Algal blooms in Europe: a growing problem. *Ambio*, 13(4), 244–247.
204. **Solheim B, Wiggen H, Roberg S, Spaink HP** (2004) Associations between arctic cyanobacteria and mosses. *Symbiosis* 37:169–187
205. **Stanier R.Y., Sistrom W.R., Hansen T.A., Whitton B.A., Castenholz R.W., Pfennig N., Gorlenko V.N., Kondratieva E.N., Eimhjellen K.E., Whittenbury R., Gherna R.L., Trüper H.G.** (1978). Proposal to place the nomenclature of the Cyanobacteria (blue-green algae) under the rules of the International Code of nomenclature of bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28, 335–336.
206. **Stanier, G.** (1988) Fine structure of cyanobacteria. In: *Methods in Enzymology*, Packer, L., Glazer, A.N. (Ed), San Diego, 167:157–172.
207. **Stauffer R.E., Lee G.F., 1973.** The role of thermocline migration regulating algal blooms. In: *Modelling the eutrophication process*. Middlebrooks E.J., Falkenberg D.H. and Maloney T. (eds). Ann Arbor, Mich., Ann Arbor Science Publ., 228 p.
208. **Stevenson B.S, Waterbury J.B** (2006), « Isolation and identification of an epibiotic bacterium associated with heterocystous *Anabaena* cells », *The Biological Bulletin*, vol.210, n° 2, p.73–77.
209. **Steyn D.G., 1945.** poisoning of animals and human beings by algae. *South Afr. J. Sci.*, 41, 243–244.
210. **Takai A., Sasaki K., Nagai H., Mieskes G., Isobe M., Isono K. & Yasumoto T., 1995.** Inhibition of specific binding of okadaic acid to protein phosphatases 2A by microcystin-LR, calyculin-A and tautomycin: method of analysis of interaction of tight-binding ligands with target proteins. *Biochem. J.* 306, 657–682.
211. **Tandeau de Marsac N., Houmard J., 1987.** Advances in cyanobacterial molecular genetics. In: *The cyanobacteria*. Fay P. and Van Baulen C. (eds). Elsevier, Amsterdam, 251–302.
212. **Taylor TN, Hass H, Kerp H** (1997) A cyanolichen from the Lower Devonian Rhynie chert. *Am. J. Bot.* 84:992–1004
213. **Teixera, M. G. L. C., Cotsa, M. C. N., Carvalho, V. L. P., Pereira, M. S. et Hage. E.** (1993). *Bulletin of the Pan American Health organization*, 27, 244–253.
214. **Tencalla F.G. & Dietrich D.R., 1997.** Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicon*, 35, 583–595.
215. **Tencalla F.G., Dietrich D.R. & Schlatter C, 1994.** Toxicity of *Microcystis aeruginosa* peptide toxin to yearling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.*, 30, 215–224.
216. **Thiel T., 1994.** Genetic analysis of cyanobacteria. In: *The molecular biology of cyanobacteria*. Bryant D.A. (ed.). Kluwer Acad. Publ., Boston, 581–611.

217. **Thomas A.D., Saker M.L., Norton J.H. & Olsen R.D., 1998.** Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* as a probable cause of death in cattle in northern Queensland. *Aust. Vet. J.*, 76, 592–594.
218. **Thostrup L. & Christoffersen K., 1999.** Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*. *Arch. Hydrobiol.*, 145, 447–467.
219. **Tisdale, E. S (1931),** Epidemic of Intestinal Disorders in Charleston, W. Va., Occurring Simultaneously with Unprecedented Water Supply Conditions, *American Journal of Public Health* 21: 198–200.
220. **Tomatini A., Knoll A.H., Cavanaugh C.M. et al., 2006.** « The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular-phylogenetic and paleontological perspectives », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, n° 14, p. 5442–5447.
221. **Trimbee A.M., Prepas E.E., 1988.** The effect of oxygen depletion on timing and magnitude of blue-green algal blooms. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol.*, 22, 220–226.
222. **Tubaro A., Sosa S., Della Loggia R. & Yasumoto T., 1996.** A protein phosphatase 2A inhibition assay for fast and sensitive assessment of okadaic acid contamination in mussels. *Toxicon*, 35, 1033–1041.
223. **Turner P.C., Gammie A.J., Hollinrake K., Codd G.A. (1990).** Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *Br. Med. J.*, 300:1440–1441.
224. **Tustin R.C., Van Rensburg S.J. & Eloff J.N., 1973.** Hepatic damage in the primate
225. **Ueno Y., Nagata S, Tsutsumi T., Hasegawa A., Watanabe M.E, Park H.-D., Chen G.C. & Yu S.-Z., 1996.** Detection of microcystins, a blue-green algal hepa-toxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay, *Carcinogenesis* 17: 1317–1321.
226. **Ueno Y., Nagata S, Tsutsumi T., Hasegawa A., Yoshida F., Suttajit M., Pütsch M. & Vasconcelos V., 1996a.** Survey of microcystins in environmental water by a highly sensitive immunoassay based on monoclonal antibody. *Nat. Toxins*, 4, 271–276.
227. **Van Apeldoorn M.E, Van Egmond H.P, Speijers G.J.A et al (2007),** «Toxines of cyanobacteria» , *Molecular Nutrition & Food research*, vol. 51, n° 1, p. 7–60.
228. **Van Den Hoek C , Mann D G , Jahns H.M 1995.,** *Algae : An introduction to phycology* , Cambridge University press , Cambridge.
229. **Van Halderen A., Harding W.R., Wessels J.C., Schneider D.J., Heine E.W., Van der Merwe J. & Fourie J.M., 1995.** Cyanobacterial (blue-green algae) poisoning of livestock in the Western Cape Province of South Africa. *J. South Afr. Vet. Assoc.*, 66, 260–264.
230. **Vézie C., Bertru G., Brient L., Lefeuvre J.-C., 1997.** Blooms de cyanobactéries hépatotoxiques dans l'ouest de la France. *TSM*, 10, 3946.
231. **Villatte F, Schulze H, Schmid R. et al (2002),** « A disposable acetylcholinesterasebased electrode biosensor to detect anatoxin-a(s) in water », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 372, n° 2, p. 322.
232. **Walsby A.E., 1994.** " Gas vesicles" *Microbiological Reviews*, vol.58, n°1,p,94–144.

233. **Watanabe M. F., Park H.D., Kondo F., Harada K., Hayashi H. & Okino T., 1997.**
Identification and estimation of microcystins in freshwater mussels. *Nat. Toxins*, 5, 31–35.
234. **Weiss et al., (2000) ; Weiss, D. J. et Lunte, C. E. (2000).** Detection of a urinary biomaker for oxidative DNA damage 8-hydroxydeoxyguanosine by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Electrophoresis*, 21, 2080–5.
235. **Welker M, Von dörhen H (2006),** «Cyanobacterial peptides Nature's own,combinatorial biosynthesis », *FEMS Microbiology Reviews*, vol. 30, n° 4, p. 530–563.
236. **WHO, 1998.** Guidelines for drinking-water quality. Second edition. Addendum to vol. 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva.
237. **Wiese M., D'agostino P.M., Mihali T.K. et al 2010,** « Neurotoxic alkaloids : saxitoxin and its analogs » *Marine Drugs*, vol. 20, n° 8, p. 21 85–2211.
238. **Wildman R.B., Loescher J.H., Winger C.L., 1975,** " Development and germination of akinetes of *Aphanizomenon flos-aquae* ". *J. Phycol.*, 11(1), 96–104.
239. **Williams D.E., Dawe S.C., Kent M.L., Andersen R.J., Craig M. & Holmes C.F., 1997.**
Bioaccumulation and clearance of microcystins from salt water mussels, *Mytilus edulis*, and in vivo evidence for covalently bound microcystins in mussel tissues. *Toxicon*, 35, 1617–1625.
240. **Woese, C. R. (1987)** Bacterial evolution. *Microbiol Rev.* 51: 221–271.
241. **Wu X, Jiang J, Wan Y et al (2012),** «Cyanobacteria blooms produce teratogenic retinoic acids» *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, n° 24, p. 9477–9482.
242. **Zehr JP, Waterbury JB, Turner PJ, Montoya JP, Omoregie E, Steward GF, Hansen A, Karl DM (2001)** "Unicellular cyanobacteria fix N₂ in the subtropical North Pacific Ocean". *Nature* 412:635–638.
243. **Zohary T., Breen C.M., 1989.** Environmental factors favouring the formation of *Micracystis aeruginosa* hyperscums in a hypertrophic lake. *Hydrobiologia*, 178, 179–192.
244. **Zurawell R.W., Kotak B.G. & Prepas E.E., 1999.** Influence of lake trophic status on the occurrence of microcystin- LR in the tissue of pulmonat snails. *Freshw. Biol.*, 42, 707– 718.