



Importancia biológica de la microcistina en aguas de riego y alternativas en su detección y degradación

Biological importance of microcistin in irrigation and alternative waters in its detection and degradation

Luis Ángel Churata Chavez^{1*}, <https://orcid.org/0000-0002-9505-6984>

María Teresa Alvarez Aliaga², <https://orcid.org/0000-0002-0317-970X>

¹Carrera de Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés.

²Área de Biotecnología Microbiana. Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia

*Autor de correspondencia: 7ulg69@gmail.com

Fecha de recepción: 5 agosto 2022

Fecha de aceptación: 26 junio 2023

Resumen

Introduction: Las cianobacterias son microorganismos fotosintéticos, con capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios de interés para la industria, pero también han llamado la atención en las últimas décadas las toxinas denominadas cianotoxinas, metabolitos que causan distintas alteraciones fisiológicas hasta llegar a ocasionar la muerte de diferentes especies.

Metodología: La determinación del estado de arte para el tema de cianobacterias se basó en una búsqueda bibliográfica

Abstract

Background: Cyanobacteria are photosynthetic microorganisms, with the capacity to synthesize a great diversity of secondary metabolites of interest to the industry, but toxins called cyanotoxins have also attracted attention in recent decades, metabolites that cause different physiological alterations until they cause the death of different species.

Methodology: The determination of the state of the art for the subject of cyanobacteria was based on a bibliographic search in



en la base de datos especializada como Elsevier, Springer, Google académico y MDPI basadas en palabras clave en español e inglés "microcistinas", "degradación de MC" y "cuantificación y detección de MC".

Resultados: En la presente revisión considera dos áreas de caracterización de la microcistinas (MCs) las propiedades fisicoquímicas y propiedades biológicas, para entender su comportamiento e importancia tóxica en los sembradíos agrícolas y en la salud humana. Además de comprender alternativas para su degradación, por métodos fisicoquímicos como fotocatalisis y la gradación biológica por bacterias. Finalmente se mencionará algunos métodos actuales y en desarrollo, para la detección y cuantificación de estas MCs en ambientes acuáticos.

Conclusiones: Las MCs tienen el potencial contaminar fuentes de agua como ríos y lagunas, causando daños a la salud humana y a las plantas agrícolas, tienen la capacidad de tolerar distintos cambios drásticos en factores fisicoquímicos y biológicos. Entre las alternativas reportadas la degradación bacteriana promete ser la más confiable. Finalmente, entre los distintos métodos para la detección de MCs, entre los métodos más aplicados son los inmunoensayos, debido a su versatilidad y estabilidad del método.

Palabras claves

Cianotoxina, MC-LR, agrícola, degradación, fotocatalisis, bacteriana, inmunoensayo, MS, PCR.

specialized databases such as Elsevier, Springer, Google Scholar and MDPI based on keywords in Spanish and English "microcystins", "MC degradation " and "quantification and detection of MC".

Results: In the present review, two areas of characterization of microcystins (MCs) are considered: the physicochemical properties and biological properties, to understand their behavior and toxic importance in agricultural crops and in human health. In addition to understanding alternatives for their degradation, by physicochemical methods such as photocatalysis and biological grading by bacteria. Finally, some current and developing methods will be mentioned for the detection and quantification of these MCs in aquatic environments.

Conclusions: MCs have the potential to contaminate water sources such as rivers and gaps, causing damage to human health and agricultural plants, they have the ability to tolerate different drastic changes in physicochemical and biological factors. Among the reported alternatives, bacterial degradation promises to be the most reliable. Finally, among the different methods for the detection of MCs, among the most applied methods are immunoassays, due to their versatility and stability of the method.

Key words

Cyanotoxin, MC-LR, agricultural, degradation, photocatalysis, bacterial, immunoassay,



INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son microorganismos procariotas con capacidad fotosintética, que ocupan diversos nichos ecológicos, adaptándose a diversos ambientes extremos, como altas o bajas temperaturas, pH muy ácido o básico, altas concentraciones de sal y desecación (Wada et al., 2013). Estos organismos son recursos biológicos importantes por su capacidad de producir una gran gama de compuestos bioactivos como ser: antivirales, fitohormonas, antifúngicos, sideróforos, inmunosupresores, alguicidas, fotoprotectores, y antimicrobianos. Pero además han llamado la atención por su capacidad de formar floraciones densas y producir toxinas comúnmente llamadas cianotoxinas, las cuales son dañinas para la salud humana y otros organismos (Wada et al., 2013; Whitton & Potts, 2012).

En la presente recopilación, se describirá la importancia de la cianotoxina microcistina en salud humana y la implicación del riego en sembradíos agrícolas. Además de desarrollar su degradación por procesos de fotocatalíticos y procesos bacterianos. Finalmente mencionar algunos métodos para la detección de las microcistinas.

METODOLOGÍA

La determinación del estado de arte para el tema de cianobacterias se basó en una búsqueda bibliográfica en la base de datos especializada como Elsevier, Springer, Google académico y MDPI basadas en palabras clave en español e inglés "microcistinas", "degradación de MC" y "cuantificación y detección de MC".

1. GENERALIDADES

a. Definición de cianobacterias

Las cianobacterias también conocidas como algas verde azuladas, son los primeros organismos fotosintéticos en la tierra, que han contribuido en la producción de oxígeno durante los últimos 3 millones de años (Zahra et al., 2020). Se encuentran presentes en distintos recursos hídricos como agua dulce, agua salobre y aguas residuales, por lo general en cantidades bajas o moderadas, pero a razón de la actividad humana hay un incremento de las poblaciones cianobacterianas formando floraciones, debido a que estos microorganismos tienen una gran tasa de crecimiento, llegando a aprovechar los nutrientes generados por la eutrofización. Los géneros más comunes son: *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Phormidium* and *Planktothrix* (WHO, 2015; Zahra et al., 2020).

Además de ser una fuente esencial de oxígeno, las cianobacterias se han considerado una fuente de nutrientes y biocombustible, también se destacan por su potencial de producir distintos metabolitos secundarios. Entre las primeras investigaciones de estos metabolitos se observa su capacidad de sintetizar cianotoxinas (Figura 1) que continúan llamando la atención por su gran impacto en la salud y economía (Mazard et al., 2016).

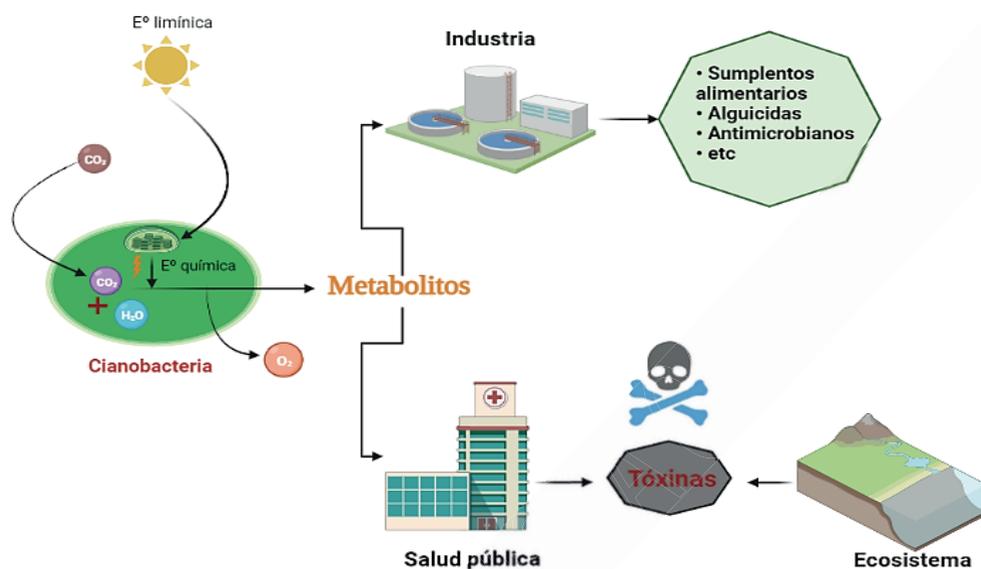


Figura 1. Importancia biológica de los metabolitos cianobacterianos en la industria, salud pública y los ecosistemas.

b. Cianobacterias productoras de cianotoxinas

A pesar de la importancia que pueden tener las cianobacterias en el campo biotecnológico, no se puede ignorar el aspecto nocivo de ciertas especies, por su capacidad de sintetizar cianotoxinas, las cuales pueden causar intoxicación aguda grave en mamíferos afectando distintos sistemas/aparatos como el hepatopancreático, digestivo, endocrino, dérmico y nervioso. Además la formación de floraciones también puede alterar la claridad del agua, afectando negativamente el hábitat de su entorno, generando un agotamiento de oxígeno generando un ambiente anóxico, provocando la muerte de los peces (Paerl & Otten, 2013). La diversidad de cianobacterias es muy extensa, de las cuales solo un determinado grupo de cianobacterias tiene la capacidad de producir estas toxinas, además algunos géneros sintetizan más de una cianotoxina (tabla 1) (Chorus, 2001; Paerl & Otten, 2013).



Tabla 1. Agrupaciones de géneros cianobacterianos productores de cianotoxinas

Toxina	Genero de cianobacterias productoras	Bibliografía
Anatoxin-a/ homoanatoxin-a	<i>Arthrospira, Phormidium, Oscillatoria, Anabaena, Aphanizomenon issatschenkoi, Raphidiopsis mediterranea</i> Skuja, Lyngbya, <i>Woronichinia, Planktothrix rubescens</i>	(Rellán et al., 2009), (Gugger et al., 2005), (Wood et al., 2007), (Méjean et al., 2009), (Namikoshi et al., 2003), (Skulberg, 2005), (Viaggiu et al., 2004)
Anatoxin-a(S)	<i>Anabaena flos -agua y Anabaena lemmermannii</i>	(Onodera et al., 1997)
Beta-metilamino-L-alanina (BMAA)	<i>Aphanizomenon, Cylandrospermopsis raciborskii, Microcystis, Nostoc, Nodularia, Oscillatoria, Planktothrix, Phormidium, Synechococcus, Trichodesmium</i>	(Błaszczuk et al., 2021), (Lage et al., 2015), (Main et al., 2018),
cilindrospermopsina	<i>Cylandrospermopsis raciborskii, Aphanizomenon, Anabaena lapponica, Raphidiopsis curvata, Umezakia natans, Oscillatoria sp.</i>	(Skulberg, 2005), (Rzymiski et al., 2017), (Spoof et al., 2006), (Li et al., 2001), (Mazmouz et al., 2010)
Lingbyatoxina A	<i>Lyngbya majuscula</i>	(Osborne et al., 2001)
Microcistina	<i>Anabaena spp., Anabaenopsis, Aphanizomenon, Hapalosiphon, Microcystis aeruginosa, Nostoc, Oscillatoria, Phormidium, Planktothrix, Plectonema, Synechococcus, Tolypothrix</i>	(Skulberg, 2005), (Vaitomaa et al., 2003), (Sangolkar et al., 2006), (de Figueiredo et al., 2004), (Pearson & Neilan, 2008), (Vareli et al., 2012), (Belykh et al., 2017)
Nodularina	<i>Nodularia spumigena</i>	(Skulberg, 2005)
Saxitoxina	<i>Anabaena flos-aquae, Aphanizomenon flos-aquae, Cylandrospermopsis, Lyngbya, Planktothrix</i>	(Skulberg, 2005), (Rzymiski et al., 2017), (Kaebernick & Neilan, 2001)



c. Importancia de las cianotoxinas

La exposición de estas toxinas afecta a distintos organismos vivos, alterando su entorno y su fisiología. En el ser humano y otros mamíferos han observado que la exposición a de estos metabolitos provoca diversas enfermedades con síntomas como: Dolor abdominal, vómitos, diarrea, irritación en la piel, debilidad, dolores musculares y en otros (Drobac et al., 2013).

Estos metabolitos que pueden encontrarse intracelularmente, como es el caso de la anatoxina-a y las variantes de microcistina sintetizados en la etapa de desarrollo de la floración, pero también pueden ser extracelulares y presentando más complicaciones para su eliminación, ya que son absorbidos por la arcilla y la materia orgánica presente en la columna de agua, siendo el caso de *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* y *Umezakia* (Bhattacharyya et al., 2015).

2. Microcistina y su impacto en sembradíos agrícolas

Entre las diversas cianotoxinas las microcistinas (CM) son extremadamente tóxicas, alterando los cuerpos de agua, los ecosistemas marinos, y poniendo en riesgo la salud pública, registrándose envenenamientos y muertes, afectando destinos órganos como el intestino, cerebro, riñones, pulmones, corazón, sistema reproductivo y teniendo como principal diana al hígado (Massey et al., 2018).

La contaminación por MC puede llegar afectar toda la red de los distintos cuerpos de aguas continentales, afectando las desembocaduras de los ríos, lagunas costeras y también encontrarse afectado el transporte de la red de agua dulce (El Herry et al., 2007). Los efectos de riego sobre sembradíos agrícolas con aguas contaminadas, presentan una reducción significativa en las raíces, alteraciones fisiológicas y morfológicas, una reducción del tamaño con concentraciones bajas de clorofila y una repercusión en el ciclo de vida de las plantas agrícolas. Además han observado una absorción en el tejido vegetal y consecuentemente una bioacumulación, aunque estas alteraciones pueden variar de planta en planta, debido a que algunas especies tienen mecanismos de desintoxicación (Crush et al., 2008). Por lo tanto su acumulación en sembradíos agrícolas e incluso en organismos acuáticos, no pasa desapercibido ya que ingresan a la cadena alimentaria, tanto para animales como para los seres humanos, generando una ingesta con concentraciones que pueden exceder los límites tolerables para la salud (Saqrane & Oudra, 2009).

a. Propiedades químicas

Las MCs poseen una estructura cíclica, en común se presentan de 7 aminoácidos unidos a péptidos formando un heptapéptidos monocíclicos, con una



estructura general de ciclo-(D-Ala-LXD-MeAsp-LZ-Adda-D-Glu-Mdha), donde X y Z representan aminoácidos altamente variables, D-MeAsp representa ácido D-eritro-b-metilaspártico, Adda representa (2S, 3S, 8S, 9S) 3-amino-9 metoxi-2,6,8-trimetil-10- ácido fenildeca-4,6-dienoico y Mdha representa N-metildehidroalanina (Fig 2). Debido a su estructura tiene la capacidad de resistir factores químicos y físicos, teniendo estabilidad en distintos ambientes de temperatura, sequedad, pH, e incluso a la hidrólisis bioquímica por la pepsina, tripsina y quimiotripsina. Estas moléculas tiene un peso molecular entre 800-1100Da con carácter hidrofílico, dificultando el ingreso a través de la membrana celular y entre las más representativas por su frecuencia y toxicidad son las MC-LR, MC-RR y MC-YR (Chen & Xie, 2016; Massey & Yang, 2020). Finalmente destacando de su estructura la región X y Z que le brindan gran versatilidad a las MC, debido a ello se han identificado 246 variantes con distintos grados de toxicidad (Spoon & Catherine, 2016).

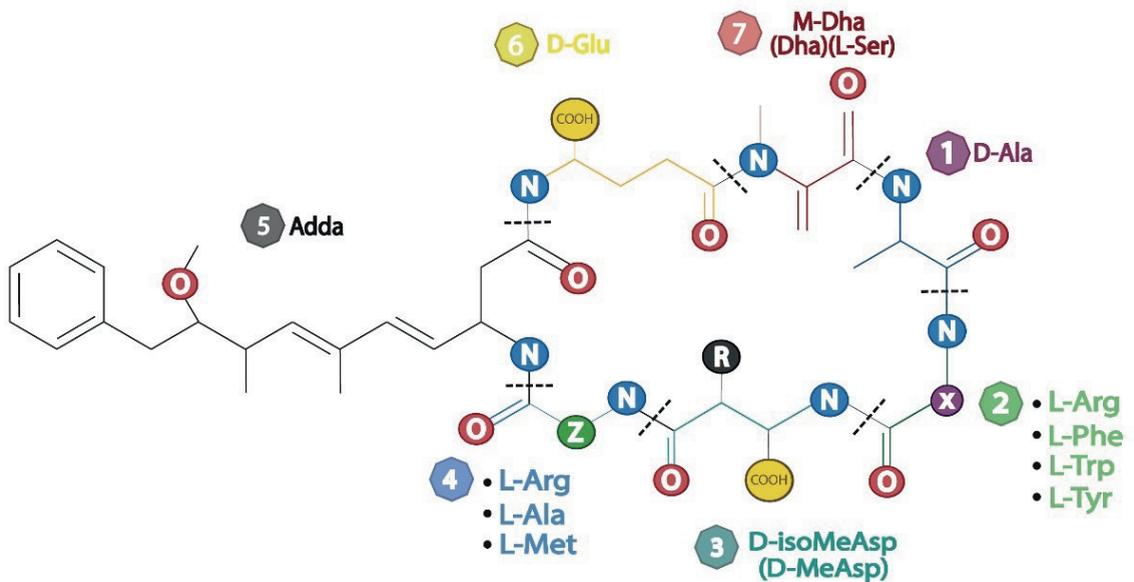


Figura 2. Estructura química de la MC-LR representando las 7 regiones de aminoácidos.

b. Toxicidad

Los efectos de MC sobre el metabolismo y fisiología varían según: La especie, antecedentes genéticos, tipo de célula, niveles y duración en la exposición. Por sus características químicas el ingreso la MC dentro de las células se da



principalmente a través de unos transportadores específicos, conocidos como la familia de polipéptidos transportadores de aniones orgánicos (Oatps) (Chen & Xie, 2016). La MC-LR son inhibidores altamente específicos de las fosfatasa (PP), particularmente la PP1 y PP2A, las cuales están involucradas en la desfosforilación de proteínas reguladoras, destacando su importancia en la regulación celular tanto en mamíferos como en plantas (MacKintosh et al., 1990). Por otro lado es un desencadenante de daño oxidativo por las especies reactivas de oxígeno (ROS), debido a una disminución del glutatión (GSH), el cual cumple múltiples funciones tales como: Eliminación de radicales libres, conjugación con xenobióticos para su desintoxicación y está vinculado con la organización del citoesqueleto, entonces no es de sorprenderse que su disminución genere estas especies reactivas, provocando fuga de LDH y un aumento malondialdehído (MDA) por peroxidación lipídica provocando citotoxicidad (Ding & Nam Ong, 2003). Entre tanto la genotoxicidad inducida por MC puede estar asociado con la transformación hacia la malignidad celular, debido al da daño cromosómico permanente, provocando fragmentación cromosómica o aneuploidia (Dias et al., 2014). Finalmente, la exposición prolongada de esta cianotoxina puede desencadenar la apoptosis dentro de la célula, debido a la alteración en distintos organelos vinculados con este proceso e incluso provoca el des-ensamblaje del citoesqueleto, generando alteraciones morfológicas severas. En las mitocondrias se observa formación de ROS, pérdida de potencial mitocondrial (MMP) y liberación de factores apoptóticos debido a la transición de permeabilidad mitocondrial (MPTC). Otras alteraciones observadas son hinchazón y vacuolización del retículo endoplasmático (RE), que juntamente con el aparato de Golgi detectan y señalizan las vías de reparación o muerte celular (Alverca et al., 2009; Ding et al., 2001).

c. Biosíntesis

La biosíntesis de MC está regulado por un policétido híbrido (PKS/NRPS) compuesto por un complejo de proteínas multifuncionales, que están agrupados y coordinadas en sitios enzimáticos formando módulos (Tillett et al., 2000). Su regulación está condicionada por factores ambientales y nutricionales, como altas concentraciones de nitrógeno y un déficit de hierro generan síntesis de MC. La región reguladora *mcy* también posee motivos de secuencia para proteínas de unión a ADN Fur (regulador de captación férrica) y NTC A (regulador de nitrógeno total), donde un incremento o deceso de concentración estimulan a la vez a la región *myc* (Neilan et al., 2013).

Para la síntesis de proteínas se tiene un grupo de genes de aproximadamente 55KDa e incluyen 10 genes (*mcy* A-J). Donde *mcy* A y *myc* D presenta una bidireccionalidad, y además el *mcy* presenta dos operones (*myc* A-C y *myc* D-J).



Los péptidos no ribosómicos sintasa (NRPS), están involucrados con *myc* A-C, policétido sintasa (PKS) con los genes *myc* D, los híbridos PKS/NRPS *myc* E y G, epimerización *myc* F, deshidratación *myc* I, O-metiltransferasa *myc* J y un transportador ABC *myc* H (Tillett et al., 2000; Zhou et al., 2021).

La síntesis comienza con la formación de los aminoácidos Adda, mediante la captura de distintos precursores, como el ácido ciánico, fenilalanina y cumarato, mediante los módulos *Myc* G, D y F se adiciona malonil-CoA, posteriormente la cadena lateral de aminoácidos Adda es modificada por metilación gracias a *Mcy* J (O-metiltransferasa). La cadena metilada es transformada en β -aminoácidos por el módulo *Myc* E (aminotransferasa). Después de la síntesis del grupo Adda se activan y se adicionan aminoácidos a la cadena lateral por 6 módulos de adenilación, proteína transportadora, metiltransferasa, aminotransferasa, condensación y epimerización. También se presenta una modificación de la D-Glu por D-MeAps mediante la *Mcy* F (Racemasa) y la *Mcy* I (2-hidroxiácido deshidrogenasa), finalmente la cadena lineal alargada de aminoácidos es ciclada, transferida y regulada por el transportador ABC de la *Myc* H (Zhou et al., 2021)

3. Tratamientos de degradación de microcistina

a. Fotocatálisis

Las MCs pueden sufrir distintas vías de degradación, pero entre las que se destacan es la vía fotocatalítica, la cual puede ser directa o sensibilizada. En la fotocatalisis directa el compuesto orgánico absorbe la luz para su degradación, pero se ha observado que no es muy significativo en relación con la fotocatalisis sensibilizada, en donde a través de reacciones con intermediarios reactivos (IR), se genera distintas especies reactivas como ser: ROS, radical hidroxilo (*OH), halógenos reactivos (RHS) y radicales de carbonato, que contribuyen a una degradación más eficiente. El radical más significativo generado en el espectro UV-A, UV-B y PAR es *OH el cual actúa en cuatro regiones de las MCs, en el anillo de benceno (formando mono-dihidroxilados), grupo dieno-conjugado (formando 1,2 y 1,4 dioles isoméricos tetrahidroxilos), grupo metoxi en los aminoácidos Adda (genera radicales peroxilo) y el doble enlace carbono-carbono de los aminoácidos MdhA (formando productos bihidroxilados). Además de los radicales *OH otros compuestos como la ficocianina, genera una transferencia de energía la región dieno de la porción Adda, formando isómeros 6(z)-Adda MC-LR y puede transferir electrones al oxígeno formando un radical superóxido singlete, que ataca el grupo Adda de la MC formando hidroxiperóxidos que ya no son tóxicos (Kurtz et al., 2021). La fotocatalisis mediada por óxido de titanio (TiO₂) (Fig 3A) promete ser un catalizador de importancia para generar ROS, con las nuevas alternativas de dopaje



en la matriz sustituyendo el oxígeno (O) por carbono (C) se amplía el espectro de trabajo en la región VIS, lo que conduce a una mineralización de MC-LR hasta CO_2 , H_2O e iones inorgánicos como ser NO_3^- y SO_4^{2-} (Fotiou et al., 2016). Entre los problemas asociados en el proceso de fotocátalisis se presentan condiciones experimentales estrictas, supervisión experta, toxicidad de sub-productos y requiere energía adicional para el proceso por la materia orgánica presente que igual es tratada (Kumar et al., 2018).

b. Degradación biológica bacteriana

Los tratamientos fisicoquímicos por oxidación avanzada y convencional para MC, son generalmente costosos, ineficaces en su tratamiento, lo que ha dado paso al tratamiento biológico siendo entre sus características, respetuosos con el medio ambiente, por su eficiencia en la eliminación de metabolitos. Las bacterias que han llamado por su capacidad de metabolizar cianotoxinas como MCs, entre los géneros que se destacan son: *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Novosphingobium*, *Paucibacter*, *Pseudomonas*, *Sphingopyxis* y *Stenotrophomona*. Estos grupos de bacterias se caracterizan por poseer el grupo de genes *mlr* con cuatro genes *mlr ABCD*. El gen más destacado es el gen *mlr A* el cual se encarga de sintetizar una metaloproteasa, que realiza la escisión del enlace Adda-Arg, convirtiendo a la MC-LR en una MC-LR lineal, su importancia de la enzima radica en que se encarga de debilitar la estructura cíclica de la MC-LR, la cual le dotaba de resistencia a distintos factores fisicoquímicos. El gen *mlr BEI* sintetiza una serina peptidasa, hidrolizando el enlace Ala-Leu formando tetrapéptidos (H-Adda-Glu-Mdha-Ala-OH). El gen *mlr C* sintetiza una metalopéptidasa con capacidad de hidrolizar el tetrapéptido en péptidos y aminoácidos pequeños. Además, se sabe que el gen *mlr D* sintetiza un transportador de la familia PTR2, que facilita el transporte de MC y los productos de su degradación (Fig 3B). Los productos formados pueden ser muy variables entre las distintas especies pero en ellas se destaca a la cepa *Sphingopyxis* sp. por su capacidad de degradar al grupo Adda hasta Acetil Coa y finalmente CO_2 , demostrando una eliminación total de la MC-LR (Kormas & Lympelopoulou, 2013; Massey & Yang, 2020).

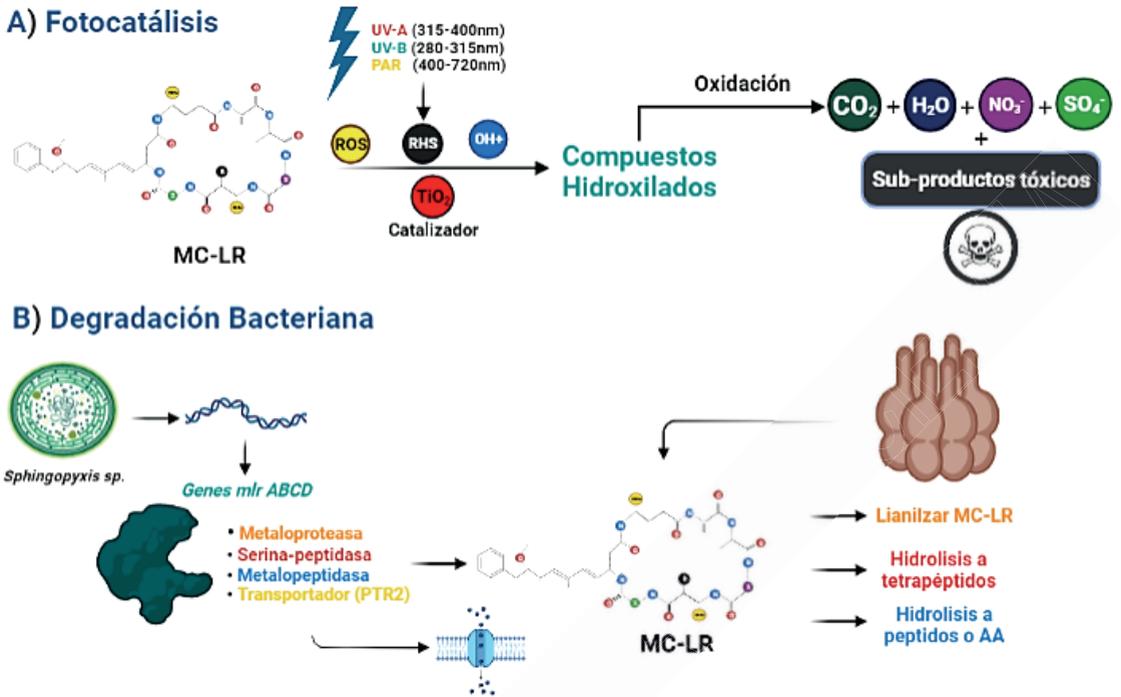


Figura 3. A) Degradación fotocatalítica utilizando como catalizador oxido de titanio; B) Y degradación bacteriana mediante una hidrolisis enzimática por *Sphingopyxis sp.*

4. Métodos de detección de microcistina

El monitoreo para la evaluación de MCs en la calidad de agua a menudo es complicada debido a que se pueden presentar múltiples variantes y a bajas concentraciones. En la actualidad se presentan numerosos estudios para su evaluación, siendo métodos sensibles, rápidos y confiables, de los cuales los más destacados serán descritos en esta sección (Massey et al., 2020).

a. Ensayo de inhibición de la proteína fosfatasa (PPI)

Este ensayo aprovecha la capacidad de las MCs de inhibir las enzimas de la defosforilización de las fosfoproteínas intracelulares principalmente la PP1 y la PP2A. Permitiendo cuantificar el grado de inhibición mediante un ensayo colorimétrico, utilizando como sustrato al fosfato de p-nitrofenol. La técnica presenta una buena sensibilidad (Tabla 2), siendo viable para análisis de aguas permitiendo un análisis por debajo del valor aceptable de 1 µg/L según la Organización Mundial de la



Salud (OMS) (Heresztyn & Nicholson, 2001). Las limitaciones de esta técnica están enfocadas en la poca información que brinda, sobre la toxicidad de las variantes de MC, además requerir un método adicional de confirmación para un análisis de especificidad. Aun así continua siendo una técnica sencilla, rápida, de bajo costo y altamente sensible (Massey et al., 2020).

b. Inmunoensayo

Los métodos inmunológicos son una gran herramienta por su alta sensibilidad, detectando una amplia gama de analitos, siendo selectivo por la interacción antígeno-anticuerpo. Entre los primeros métodos para la detección de MCs, se tiene al ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), en el cual requiere dos antígenos (Adda) compitan por un sitio de unión del anticuerpo, en este ensayo se presentan dos métodos; ELISA competitivo directo e indirecto, generando una alta sensibilidad (Tabla 2) y pero presentando debilidades como ser preparación laboriosa, alto costo, baja precisión y fácil perturbación (Heussner et al., 2014).

Las técnicas de inmunoensayo continúan desarrollándose y es así que se presentan otros métodos como biosensores colorimétricos, en donde se utilizan otras tecnologías como la aplicación de vesículas de poliacetileno (VPA). Las VPA son polímeros conjugados que muestran un cambio de color bajo un estímulo de estrés, en donde los cambios de forma de la molécula pueden ser aprovechados durante un reconocimiento que desencadenaría la respuesta. Para la detección de MCs, estas vesículas retendrían la actividad del anticuerpo y al encontrarse con su antígeno (MC-LR), se observaría el cambio de color a una longitud de onda de 540nm. Por lo tanto los procedimientos de reconocimientos son muy simples y ahorran trabajo, la variación crómica de VPA muestra resultados con una buena sensibilidad (Tabla 2) de forma directa y rápida (Xia et al., 2010).

Las tecnologías de fluorescencia se presentan nuevos métodos para la detección de MCs, donde es posible marcar a los anticuerpos o antígenos con pigmentos fluorescentes como la hidrazida de ácido 4-(1-pireno) butanoico (PBH), sin afectar su actividad de los anticuerpos. La fluorescencia se emite a través de la excitación pulsada aprovechando el tiempo de vida de la fluorescencia longitudes entre 440-540nm. Estos nuevos métodos mejoran el tiempo de respuesta del análisis, además se integran con nuevas tecnologías o con los métodos tradicionales (Tabla 2) mejorando la sensibilidad, precisión, capacidad de respuesta visual en tiempo real (Liu et al., 2022).



c. Cromatografía acoplada a masas

Los métodos cromatográficos aprovechan las características fisicoquímicas de las MCs, donde el de mayor aplicabilidad es la técnica de cromatografía acoplada a masas (MS), ya que proporciona una solución al problema para la identificación de las distintas variantes de MC, presentando huellas digitales químicas características en los espectros. Además exactitud entre variantes se debe destacar su alta sensibilidad de los diferentes métodos tales como, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la cromatografía líquida con ionización electro-spray y espectrometría de masas tándem (LC-ESI-MS) por su capacidad de detección en nanogramos (ng) (Tabla 2) (Kaushik & Balasubramanian, 2013). Las técnicas como cromatografía de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-MS) y la cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), permiten la detección de MCs bajo distintas matrices. A pesar de su capacidad de análisis estos métodos son muy costosos, debido a que requieren estándares de referencia, instrumentación especializada y además su caracterización estructural requiere mucho tiempo, por lo tanto estos métodos solo se hacen aplicables para laboratorios de investigación y no así para análisis de rutina (Kleinteich et al., 2018).

d. Detección genética

La técnica molecular de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en las últimas décadas ha demostrado ser rápida, rentable y facilita la identificación sin la dependencia de un cultivo. Para la detección de cianobacterias tóxicas se amplifican regiones del ADN genómico, el rRNA 16S y los genes *myc* (A, B, C, E y G) que están involucrados en la síntesis de MCs. La amplificación de cebadores universales son las secuencias conservadas más apropiadas como objetivos para la identificación por PCR, en este caso se hablamos del gen *myc* A, después se tiene a los genes específicos (Kesari et al., 2022). Los enfoques basados en PCR permiten su observación (electroforesis), manipulación (clonación) y su secuenciación, además con el avance de la tecnología se desarrollan nuevas técnicas como la PCR digital de gotas (ddPCR) la cual es una presentación avanzada de la qPCR donde una muestra de DNA ambiental (DNAe) se divide en miles de nanogotas antes de someterse a amplificación, con resultados más eficientes. Así mismo se tiene la secuenciación de alto rendimiento (HTS) presentando una alta resolución taxonómica en la evaluación de muestras DNAe, permitiendo detectar simultáneamente todas las especies en una muestra ambiental generando datos de la biodiversidad de una comunidad, aunque el HTS está vinculado con el análisis bioinformático siendo una herramienta poderosa para investigación y monitoreo (Feist & Lance, 2021).

**Tabla 2. Métodos de detección MCs, aplicadas en fuentes aguas contaminadas.**

Método	Sensibilidad	Especificidad entre variantes	Bibliografía
PPI	0,2-1,0 µg/L	Baja	(Heresztyn & Nicholson, 2001)
Adda-ELISA (directo)	0,1-1,0 µg/L	Baja	(Heussner et al., 2014)
Adda-ELISA (indirecto)	0,15-5 µg/L	Baja	(Heussner et al., 2014)
VPA-Anti MC-LR	1,0-100 µg/L	Baja	(Xia et al., 2010)
IFC*	0,42-25 µg/L	Baja	(Yu et al., 2011)
FELISA**	0,001-3,20 µg/L	Baja	(Xu et al., 2020)
HPLC-MS	0,02 µg/L	Alta	(Svrcek & Smith, 2004)
LC-MS/MS	0,03-0,61 µg/L	Alta	(Pan et al., 2015)
GC-MS	0,1 ng	Alta	(Kleinteich et al., 2018)
LC-ESI-MS	2,6 ng/L	Alta	(Pérez & Aga, 2005)

*IFC: Fluoroimmunoensayo de resolución temporal. **FELISA: Inmunoensayo ligado a enzimas de fluorescencia sin marcado de nanopartículas fluorescentes.

CONCLUSIÓN

Las MCs tienen el potencial contaminar fuentes de agua como ríos y lagunas, causando daños a la salud humana y a las plantas agrícolas afectando la cadena alimentaria, estas MCs debido a su estructura química cíclica, tienen la capacidad de tolerar distintos factores fisicoquímicos y biológicos, es por ellos que ver alternativas para su degradación es gran importancia. Entre las alternativas estudiadas la degradación bacteriana promete ser la más confiable, por una degradación total de estas cianotoxinas, llegando a péptidos y aminoácidos por un complejo multiproteico modulado por los genes mlr ABCD observadas en bacterias, destacando el género *Sphingopyxis* por su capacidad de metabolizar MC-LR hasta CO₂. La degradación biológica es amigable con el ecosistema a diferencia de la fotocatalisis, que aun presenta problemas con rentabilidad y generar sub-productos con probabilidad de toxicidad, aunque los avances en este campo continua viendo alternativas, como utilizar catalizadores como el óxido de titanio, que en distintas matrices podría optimizar la producción de ROS



y generar una oxidación completa, siendo así que podría llegar ser un método degradación de importancia en las plantas de tratamiento. Finalmente entre los distintos métodos para la detección de MCs, el de mayor compromiso son los inmunoensayos, debido a su versatilidad de acoplarse a diferentes métodos sean tradiciones o novedosos, mejorando distintos parámetros analíticos, aun así los métodos cromatográficos continúan siendo los más confiables pero debido a sus grandes costos los hacen inviables.

Es innegable la importancia de las MCs en la actualidad y es por ellos que se debe continuar con su investigación, dilucidando rutas de biosíntesis y degradación para comprender su comportamiento bajo distintos panoramas fisicoquímicos y biológicos, además de detectar oportunamente estos metabolitos y evitar su descontrol en distintos cuerpos agua debido a que pueden repercutir en él, medio ambiente, en la economía y la salud general.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alverca, E., Andrade, M., Dias, E., Sam Bento, F., Batoréu, M. C. C., Jordan, P., Silva, M. J., & Pereira, P. (2009). Morphological and ultrastructural effects of microcystin-LR from *Microcystis aeruginosa* extract on a kidney cell line. *Toxicon*, *54*(3), 283-294. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.04.014>
- Belykh, O. I., Fedorova, G. A., Kuzmin, A. V., Tikhonova, I. V., Timoshkin, O. A., & Sorokovikova, E. G. (2017). Microcystins in Cyanobacterial Biofilms from the Littoral Zone of Lake Baikal. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, *72*(4), 225-231. <https://doi.org/10.3103/S0096392517040022>
- Bhattacharyya, D. S., Julie Estelle, N.-E., Deep, P., & Nayak, B. (2015). Cyanobacteria and cyanotoxins in the World: Review. *International Journal of Applied Research*, *1*, 563-569.
- Błaszczczyk, A., Siedlecka-Kroplewska, K., Woźniak, M., & Mazur-Marzec, H. (2021). Presence of β-N-methylamino-L-alanine in cyanobacteria and aquatic organisms from waters of Northern Poland; BMAA toxicity studies. *Toxicon*, *194*, 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.02.007>
- Chen, L., & Xie, P. (2016). Mechanisms of Microcystin-induced Cytotoxicity and Apoptosis. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, *16*(13), 1018-1031. <https://doi.org/10.2174/1389557516666160219130407>
- Chorus, I. (2001). Toxic Effects and Substances in Cyanobacteria other than Microcystins, Anatoxin-a and Saxitoxins. En I. Chorus (Ed.), *Cyanotoxins: Occurrence, Causes, Consequences* (pp. 281-315). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-59514-1_7
- Crush, J. R., Briggs, L. R., Sprosen, J. M., & Nichols, S. N. (2008). Effect of irrigation with lake water containing microcystins on microcystin content and growth of ryegrass, clover, rape, and lettuce. *Environmental Toxicology*, *23*(2), 246-252. <https://doi.org/10.1002/tox.20331>
- de Figueiredo, D. R., Azeiteiro, U. M., Esteves, S. M., Gonçalves, F. J. M., & Pereira, M. J. (2004). Microcystin-producing blooms—A serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *59*(2), 151-163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.04.006>
- Dias, E., Louro, H., Pinto, M., Santos, T., Antunes, S., Pereira, P., & Silva, M. J. (2014). Genotoxicity of Microcystin-LR in In Vitro and In Vivo Experimental Models. *BioMed Research International*, *2014*, e949521. <https://doi.org/10.1155/2014/949521>
- Ding, W.-X., & Nam Ong, C. (2003). Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiology Letters*, *220*(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00100-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00100-9)
- Ding, W.-X., Shen, H.-M., & Ong, C.-N. (2001). Pivotal Role of Mitochondrial Ca²⁺ in Microcystin-Induced Mitochondrial Permeability Transition in Rat Hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *285*(5), 1155-1161. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5309>
- Drobac, D., Tokodi, N., Simeunović, J., Baltić, V., Stanić, D., & Svirčev, Z. (2013). Human Exposure to Cyanotoxins and Their Effects on Health. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, *64*(2), 305-315. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-64-2013-2320>
- El Herry, S., Bouaïcha, N., Jenhani-Ben Rejeb, A., & Romdhane, M. S. (2007). First Observation of Microcystins in Tunisian inland waters: A threat to river mouths and lagoon ecosystems. *Transitional Waters Bulletin*, *1*(2), 73-82. <https://doi.org/10.1285/i1825229Xv1n2p73>
- Feist, S. M., & Lance, R. F. (2021). Genetic detection of freshwater harmful algal blooms: A review focused on the use of environmental DNA (eDNA) in *Microcystis aeruginosa* and *Prymnesium parvum*. *Harmful Algae*, *110*, 102124. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2021.102124>



- Fotiou, T., Triantis, T. M., Kaloudis, T., O'Shea, K. E., Dionysiou, D. D., & Hiskia, A. (2016). Assessment of the roles of reactive oxygen species in the UV and visible light photocatalytic degradation of cyanotoxins and water taste and odor compounds using C-TiO₂. *Water Research*, *90*, 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.006>
- Gugger, M., Lenoir, S., Berger, C., Ledreux, A., Druart, J.-C., Humbert, J.-F., Guette, C., & Bernard, C. (2005). First report in a river in France of the benthic cyanobacterium *Phormidium favosum* producing anatoxin-a associated with dog neurotoxicosis. *Toxicon*, *45*(7), 919-928. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.02.031>
- Heresztyn, T., & Nicholson, B. C. (2001). Determination of cyanobacterial hepatotoxins directly in water using a protein phosphatase inhibition assay. *Water Research*, *35*(13), 3049-3056. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00018-5)
- Heussner, A. H., Winter, I., Altaner, S., Kamp, L., Rubio, F., & Dietrich, D. R. (2014). Comparison of two ELISA-based methods for the detection of microcystins in blood serum. *Chemico-Biological Interactions*, *223*, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.08.014>
- Jung, D. G., Han, M., Kim, S. D., Kwon, S. Y., Kwon, J.-B., Lee, J., Kong, S. H., & Jung, D. (2021). Miniaturized Portable Total Phosphorus Analysis Device Based on Photocatalytic Reaction for the Prevention of Eutrophication. *Micromachines*, *12*(9), 1062. <https://doi.org/10.3390/mi12091062>
- Kaebnick, M., & Neilan, B. A. (2001). Ecological and molecular investigations of cyanotoxin production. *FEMS Microbiology Ecology*, *35*(1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00782.x>
- Kaushik, R., & Balasubramanian, R. (2013). Methods and Approaches Used for Detection of Cyanotoxins in Environmental Samples: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *43*(13), 1349-1383. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.644224>
- Kesari, V., Kumar, S., Yadav, I., Chatterjee, A., Rai, S., & Pandey, S. (2022). Ganga river water quality assessment using combined approaches: Physico-chemical parameters and cyanobacterial toxicity detection with special reference to microcystins and molecular characterization of microcystin synthetase (mcy) genes carrying cyanobacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(9), 13122-13140. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16589-1>
- Kleinteich, J., Puddick, J., Wood, S. A., Hildebrand, F., Laughinghouse IV, H. D., Pearce, D. A., Dietrich, D. R., & Wilmotte, A. (2018). Toxic Cyanobacteria in Svalbard: Chemical Diversity of Microcystins Detected Using a Liquid Chromatography Mass Spectrometry Precursor Ion Screening Method. *Toxins*, *10*(4), 147. <https://doi.org/10.3390/toxins10040147>
- Kormas, K. A., & Lympelopoulou, D. S. (2013). Cyanobacterial Toxin Degrading Bacteria: Who Are They? *BioMed Research International*, *2013*, e463894. <https://doi.org/10.1155/2013/463894>
- Kumar, P., Hegde, K., Brar, S. K., Cledon, M., & Kermanshahi pour, A. (2018). Physico-chemical treatment for the degradation of cyanotoxins with emphasis on drinking water treatment—How far have we come? *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *6*(4), 5369-5388. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.08.032>
- Kurtz, T., Zeng, T., & Rosario-Ortiz, F. L. (2021). Photodegradation of cyanotoxins in surface waters. *Water Research*, *192*, 116804. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.116804>
- Lage, S., Annadotter, H., Rasmussen, U., & Rydberg, S. (2015). Biotransfer of β -N-Methylamino-l-alanine (BMAA) in a Eutrophicated Freshwater Lake. *Marine Drugs*, *13*(3), 1185-1201. <https://doi.org/10.3390/md13031185>
- Li, R., Carmichael, W. W., Brittain, S., Eaglesham, G. K., Shaw, G. R., Liu, Y., & Watanabe, M.



- M. (2001). First Report of the Cyanotoxins Cylindrospermopsin and Deoxycylindrospermopsin from *Raphidiopsis Curvata* (cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 37(6), 1121-1126. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01075.x>
- Liu, Y., Li, B., Zhang, H., Liu, Y., & Xie, P. (2022). Participation of fluorescence technology in the cross-disciplinary detection of microcystins. *Coordination Chemistry Reviews*, 457, 214416. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214416>
- MacKintosh, C., Beattie, K. A., Klumpp, S., Cohen, P., & Codd, G. A. (1990). Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Letters*, 264(2), 187-192. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(90\)80245-E](https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80245-E)
- Main, B. J., Bowling, L. C., Padula, M. P., Bishop, D. P., Mitrovic, S. M., Guillemin, G. J., & Rodgers, K. J. (2018). Detection of the suspected neurotoxin β -methylamino-l-alanine (BMAA) in cyanobacterial blooms from multiple water bodies in Eastern Australia. *Harmful Algae*, 74, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2018.03.004>
- Massey, I. Y., Wu, P., Wei, J., Luo, J., Ding, P., Wei, H., & Yang, F. (2020). A Mini-Review on Detection Methods of Microcystins. *Toxins*, 12(10), 641. <https://doi.org/10.3390/toxins12100641>
- Massey, I. Y., & Yang, F. (2020). A Mini Review on Microcystins and Bacterial Degradation. *Toxins*, 12(4), 268. <https://doi.org/10.3390/toxins12040268>
- Massey, I. Y., Yang, F., Ding, Z., Yang, S., Guo, J., Tezi, C., Al-Osman, M., Kamegni, R. B., & Zeng, W. (2018). Exposure routes and health effects of microcystins on animals and humans: A mini-review. *Toxicol*, 151, 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2018.07.010>
- Mazard, S., Penesyan, A., Ostrowski, M., Paulsen, I. T., & Egan, S. (2016). Tiny Microbes with a Big Impact: The Role of Cyanobacteria and Their Metabolites in Shaping Our Future. *Marine Drugs*, 14(5), 97. <https://doi.org/10.3390/md14050097>
- Mazmouz, R., Chapuis-Hugon, F., Mann, S., Pichon, V., Méjean, A., & Ploux, O. (2010). Biosynthesis of Cylindrospermopsin and 7-Epicylindrospermopsin in *Oscillatoria* sp. Strain PCC 6506: Identification of the *cyr* Gene Cluster and Toxin Analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(15), 4943-4949. <https://doi.org/10.1128/AEM.00717-10>
- Méjean, A., Mann, S., Maldiney, T., Vassiliadis, G., Lequin, O., & Ploux, O. (2009). Evidence that Biosynthesis of the Neurotoxic Alkaloids Anatoxin-a and Homoanatoxin-a in the Cyanobacterium *Oscillatoria* PCC 6506 Occurs on a Modular Polyketide Synthase Initiated by l-Proline. *Journal of the American Chemical Society*, 131(22), 7512-7513. <https://doi.org/10.1021/ja9024353>
- Min, L., Zhongsheng, Z., Zhe, L., & Haitao, W. (2020). Removal of nitrogen and phosphorus pollutants from water by FeCl₃- impregnated biochar. *Ecological Engineering*, 149, 105792. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105792>
- Namikoshi, M., Murakami, T., Watanabe, M. F., Oda, T., Yamada, J., Tsujimura, S., Nagai, H., & Oishi, S. (2003). Simultaneous production of homoanatoxin-a, anatoxin-a, and a new non-toxic 4-hydroxyhomoanatoxin-a by the cyanobacterium *Raphidiopsis mediterranea* Skuja. *Toxicol*, 42(5), 533-538. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(03\)00233-2](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(03)00233-2)
- Neilan, B. A., Pearson, L. A., Muenchhoff, J., Moffitt, M. C., & Dittmann, E. (2013). Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria. *Environmental Microbiology*, 15(5), 1239-1253. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02729.x>
- Onodera, H., Oshima, Y., Henriksen, P., & Yasumoto, T. (1997). Confirmation of anatoxin-a(s), in the cyanobacterium *Anabaena lemmermannii*, as the cause of bird kills in Danish Lakes. *Toxicol*,



- 35(11), 1645-1648. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(97\)00038-X](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(97)00038-X)
- Osborne, N. J. T., Webb, P. M., & Shaw, G. R. (2001). The toxins of *Lyngbya majuscula* and their human and ecological health effects. *Environment International*, 27(5), 381-392. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00098-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00098-8)
- Paerl, H. W., & Otten, T. G. (2013). Harmful Cyanobacterial Blooms: Causes, Consequences, and Controls. *Microbial Ecology*, 65(4), 995-1010. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0159-y>
- Pan, S.-D., Chen, X.-H., Li, X.-P., Cai, M.-Q., Shen, H.-Y., Zhao, Y.-G., & Jin, M.-C. (2015). Double-sided magnetic molecularly imprinted polymer modified graphene oxide for highly efficient enrichment and fast detection of trace-level microcystins from large-volume water samples combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1422, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.007>
- Pearson, L. A., & Neilan, B. A. (2008). The molecular genetics of cyanobacterial toxicity as a basis for monitoring water quality and public health risk. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(3), 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.03.002>
- Pérez, S., & Aga, D. S. (2005). Recent advances in the sample preparation, liquid chromatography tandem mass spectrometric analysis and environmental fate of microcystins in water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(7), 658-670. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.04.005>
- Rellán, S., Osswald, J., Saker, M., Gago-Martinez, A., & Vasconcelos, V. (2009). First detection of anatoxin-a in human and animal dietary supplements containing cyanobacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9), 2189-2195. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.004>
- Rzymiski, P., Poniedziałek, B., Mankiewicz-Boczek, J., Faassen, E. J., Jurczak, T., Gaęła-Borowska, I., Ballot, A., Lürling, M., & Kokociński, M. (2017). Polyphasic toxicological screening of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon gracile* isolated in Poland. *Algal Research*, 24, 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.02.011>
- Sangolkar, L. N., Maske, S. S., & Chakrabarti, T. (2006). Methods for determining microcystins (peptide hepatotoxins) and microcystin-producing cyanobacteria. *Water Research*, 40(19), 3485-3496. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.08.010>
- Saqrane, S., & Oudra, B. (2009). CyanoHAB Occurrence and Water Irrigation Cyanotoxin Contamination: Ecological Impacts and Potential Health Risks. *Toxins*, 1(2), 113-122. <https://doi.org/10.3390/toxins1020113>
- Skulberg, O. M. (2005). Cyanobacteria/cyanotoxin research—Looking back for the future: The opening lecture of the 6th ICTC, Bergen, Norway. *Environmental Toxicology*, 20(3), 220-228. <https://doi.org/10.1002/tox.20101>
- Spoof, L., Berg, K. A., Rapala, J., Lahti, K., Lepistö, L., Metcalf, J. S., Codd, G. A., & Meriluoto, J. (2006). First observation of cylindrospermopsin in *Anabaena lapponica* isolated from the boreal environment (Finland). *Environmental Toxicology*, 21(6), 552-560. <https://doi.org/10.1002/tox.20216>
- Spoof, L., & Catherine, A. (2016). Appendix 3: Tables of Microcystins and Nodularins. En *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* (pp. 526-537). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119068761.app3>
- Svrcek, C., & Smith, D. W. (2004). Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options: A review. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 3(3), 155-185. <https://doi.org/10.1139/s04-010>



- Tillett, D., Dittmann, E., Erhard, M., von Döhren, H., Börner, T., & Neilan, B. A. (2000). Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: An integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chemistry & Biology*, 7(10), 753-764. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(00\)00021-1](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(00)00021-1)
- Vaitoomaa, J., Rantala, A., Halinen, K., Rouhiainen, L., Tallberg, P., Mokelke, L., & Sivonen, K. (2003). Quantitative Real-Time PCR for Determination of Microcystin Synthetase E Copy Numbers for *Microcystis* and *Anabaena* in Lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7289-7297. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7289-7297.2003>
- Vareli, K., Zarali, E., Zacharioudakis, G. S. A., Vagenas, G., Varelis, V., Pilidis, G., Briasoulis, E., & Sainis, I. (2012). Microcystin producing cyanobacterial communities in Amvrakikos Gulf (Mediterranean Sea, NW Greece) and toxin accumulation in mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Harmful Algae*, 15, 109-118. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.12.005>
- Viaggiu, E., Melchiorre, S., Volpi, F., Di Corcia, A., Mancini, R., Garibaldi, L., Crichigno, G., & Bruno, M. (2004). Anatoxin-a toxin in the cyanobacterium *Planktothrix rubescens* from a fishing pond in northern Italy. *Environmental Toxicology*, 19(3), 191-197. <https://doi.org/10.1002/tox.20011>
- Wada, N., Sakamoto, T., & Matsugo, S. (2013). Multiple Roles of Photosynthetic and Sunscreen Pigments in Cyanobacteria Focusing on the Oxidative Stress. *Metabolites*, 3(2), 463-483. <https://doi.org/10.3390/metabo3020463>
- Whitton, B. A., & Potts, M. (2012). Introduction to the Cyanobacteria. En B. A. Whitton (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 1-13). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3855-3_1
- WHO. (2015). *Management of cyanobacteria in drinking-water supplies: Information for regulators and water suppliers*. 11.
- Wood, S. A., Rasmussen, J. P., Holland, P. T., Campbell, R., & Crowe, A. L. M. (2007). First Report of the Cyanotoxin Anatoxin-a from *Aphanizomenon issatschenkoi* (cyanobacteria)1. *Journal of Phycology*, 43(2), 356-365. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00318.x>
- Xia, Y., Deng, J., & Jiang, L. (2010). Simple and highly sensitive detection of hepatotoxin microcystin-LR via colorimetric variation based on polydiacetylene vesicles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(2), 713-719. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.01.029>
- Xu, Z.-L., Ye, S.-L., Luo, L., Hua, X., Lai, J.-X., Cai, X.-P., Liang, Q.-W., Lei, H.-T., Sun, Y.-M., Chen, Y., & Shen, X. (2020). Fluorescent enzyme-linked immunoassay based on silane-doped carbon dots for sensitive detection of microcystin-LR in water and crucian samples. *Science of The Total Environment*, 708, 134614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134614>
- Yang, X., Wu, X., Hao, H., & He, Z. (2008). Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(3), 197-209. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0710626>
- Yu, H.-W., Jang, A., Kim, L. H., Kim, S.-J., & Kim, I. S. (2011). Bead-based competitive fluorescence immunoassay for sensitive and rapid diagnosis of cyanotoxin risk in drinking water. *Environmental Science & Technology*, 45(18), 7804-7811. <https://doi.org/10.1021/es201333f>
- Zahra, Z., Choo, D. H., Lee, H., & Parveen, A. (2020). Cyanobacteria: Review of Current Potentials and Applications. *Environments*, 7(2), 13. <https://doi.org/10.3390/environments7020013>
- Zhou, C., Chen, H., Zhao, H., & Wang, Q. (2021). Microcystin biosynthesis and toxic effects. *Algal Research*, 55, 102277. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102277>