

Algavirágzás és halpusztulás –

Neurotoxikus (?) *Cylindrospermopsis raciborskii* törzsek Magyarországon

Vehovszky Ágnes¹, Kovács W. Attila¹, Farkas Anna¹, Győri János¹, Vasas Gábor²

¹MTA Ökológiai Kutatóközpont, Balatoni Limnológiai Intézet, Kísérletes Állattani Osztály, Ökotoxikológiai Munkacsoport, H-8237 Tihany, ²Debreceni Egyetem Botanikai Intézete, H-4032 Debrecen

Kivonat: 2012 novemberében a Debrecen környéki Fancsika tavak 1. tározóján *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju (Noctocales, Cyanophyceae) algavirágzás következett be, mely során a víz elszíneződésével párhuzamosan nagymértékű halpusztulást sőt a parton elhullott állatokat is megfigyeltek. Balatoni algavirágzásból származó *C. raciborskii* izolátumok vizsgálatai korábban kimutatták az algakivonatok neurotoxikus hatását, így nem zárhattuk ki hasonló mechanizmusok (mérgezés) szerepét, mely a Fancsikában bekövetkező halpusztuláshoz vezethetett. *Helix pomatia* azonosított idegsejtjein teszteltük a Fancsika-tározóból gyűjtött vízminta (FKM) és a vízvirágzás során izolált *C. raciborskii* laboratóriumi tenyészet vizes kivonatait (FLI), és hatásukat összehasonlítottuk az 1995-ben izolált balatoni *C. raciborskii* törzs hasonlóan készített kivonatával (ACT 9505). Elektrofiziológiai és farmakológiai eredményeink szerint mindhárom (FKM, FLI, ACT 9505) minta gátolja a neuronok acetilkolin receptorait (AChR), hatóanyagaik tehát a kolinerg blokkoló (anatoxin-a, homoanatoxin-a) neurotoxinokhoz hasonlóak. Feltételezhetjük tehát, hogy a hazai *C. raciborskii* törzsek között előfordulhatnak olyan kemotípusok is, amelyek hatásukban anatoxin-a neurotoxinhoz hasonló de szerkezetileg még nem azonosított kolinerg neurotoxin v. toxinokat termelnek.

Kulcsszavak: *Cylindrospermopsis*, Fancsika, halpusztulás, neurotoxin, anatoxin-a, *Helix*, acetilkolin.

Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben tapasztalható éghajlatváltozások, valamint a természetes vizek fokozódó eutrofizációja kedvező feltételeket biztosít az eredetileg trópusi/szubtrópusi eredetű prokarióta kéalgák – cianobaktériumok elterjedésének Európa és Amerika mérsékelt égövi édesvizeiben (O’Neil és mtsai, 2012, Sinha és mtsai, 2012). Környezeti és egészségügyi szempontból is a legnagyobb figyelmet érdemlik azok a fajok, melyek anyagcsere-folyamatai során más szervezetre nemegyszer toxikus hatású másodlagos metabolitok, cianotoxinok képződnek (Tidgewell és mtsai, 2010). Vízminőségi és közegészségügyi szempontból tehát egyaránt nagy jelentőséggel bír a potenciálisan toxintermelő fajok felismerése, elterjedésük leírása ill. az általuk termelt károsító anyagok hatásvizsgálata, végül kémiai azonosítása.

A Nostocales rendbe tartozó, heterocisztás fonalas cianobaktériumokra különösen jellemző toxikus metabolitok produkciója (Singh és mtsai, 2005). Ausztrália trópusi vizeiben a hepatotoxikus hatású cylindrospermopsin (CYN) alkaloidot a névadó *Cylindrospermopsis raciborskii* fonalas kéalga termeli (Griffiths és Saker, 2003), míg a neurotoxikus PSP alkaloidok a *C. raciborskii* egyes dél-amerikai törzseiben kimutathatók (Molica és mtsai, 2002). Európában toxintermelő *C. raciborskii* törzseket mind ezideig nem azonosítottak, mivel a vízben esetenként kimutatható CYN és PSP toxinok termeléséért más fajok (*Anabaena*, *Aphanizomenon* etc.) fajok felelősek (Kokocinski és mtsai, 2013, Cires és mtsai, 2014, Rzymiski és Poniedzialek 2014). Európai vizekből gyűjtött *C. raciborskii* algaminták toxikus hatásai ugyanakkor mégis valószínűsítik, hogy egyes törzsek eddig ismeretlen (szerkezetileg nem azonosított) toxikus metabolitokat termelhetnek (Chorus és Bartram, 1999, Saker és mtsai, 2003).

2012 őszén a Debrecen környéki Fancsika horgásztóban következett be *Cylindrospermopsis raciborskii* algavirágzás (1. ábra), mellyel párhuzamosan nagymértékű halpusztulást is észleltek. Puhatestű (*Helix pomatia* és *Lymnaea stagnalis*) központi idegrendszeren kapott megelőző eredményeink szerint a Balatonból származó *C. raciborskii* minták (ACT izolátumok) neurotoxikus hatóanyagai elsődleges célpontját a neuronok acetilkolin receptorai (AChR) képviselik (Kiss és mtsai, 2002, Ve-

hovszky és mtsai, 2012). Indokoltnak tűnt a feltételezés, hogy hasonló neurotoxikus mechanizmusok szerepelhetnek a Fancsika tározóban algavirágzást okozó *C. raciborskii* esetleges bioaktív hatásai hátterében is, ezért a neuronok acetilkolin válaszait teszteltük a Fancsika tározóból származó minták jelenlétében.

Anyag és Módszer

1. Minták előkészítése

2012 november 12-én a Fancsika 1. tározóból gyűjtött mintákat 5 µm-os membránfilterrel szűrtük, az algavirágzást okozó *C. raciborskii* azonosítását (LEICA DM-IL) inverz mikroszkóppal történt vizsgálat alapján végeztük (Komárek, 2013), majd a mintából izolált *C. raciborskii* tömegtenyészetét standard körülmények között állítottuk elő (Antal és mtsai, 2011). A Fancsika-tározóból gyűjtött vízmintát ill. az izolált *C. raciborskii* tenyészet sejtjeit szűrővel koncentráltuk, majd liofilizáltuk. A liofilizátumok vizes szuszpenzióját (100 mg szárazanyagot 10 ml desztillált vízben) fagyasztás/felengedés ciklusokat követően ultrahangos kezeléssel feltártuk, a sejtörmelékcentrifugálással elkülönítettük. A keletkezett felülúszó (a liofilizátum vizes kivonata) biztosította a (10 mg/ml) törzsoldatot, melyet elektrofiziológiai kísérleteink során fiziológiás oldattal tovább hígítottuk.

2. Elektrofiziológiai vizsgálatok

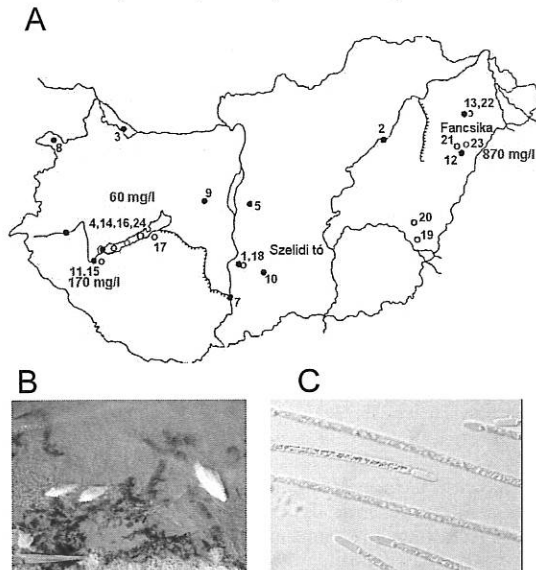
Helix pomatia központi idegrendszerének azonosított RPa sejtjein teszteltük a Fancsika-tározóból gyűjtött környezeti minta (FKM) és *C. raciborskii* izolátum (FLI) kivonatait, ezek hatását összehasonlítottuk a Balatonból korábban izolált *C. raciborskii* ACT 9505 törzs vizes kivonatával. A neuronok spontán aktivitásmintázatát és a lokálisan applikált acetilkolin (ACh) által kiváltott membrán-áramokat a korábbi kísérletekhez hasonlóan mikroelektrofiziológiai technikával regisztráltuk (Kiss és mtsai, 2002). Toxikus algakivonat referenciaként az anatoxin-a (homoanatoxin-a) cianotoxinokat termelő *Oscillatoria* sp. PCC 6506 (Araoz és mtsai, 2005) izolátumok vizes kivonatával is hasonló farmakológiai tesztekét végeztünk.

Eredmények és értékelésük

A Debrecenhez közeli Erdőpuszta horgásztavak 70 hektáros Fancsika I. tározóján 2012 novemberében víz narancssárga elszíneződéséről és a halak nagyarányú pusztulásáról (1. ábra B.) számolt be többek között a he-

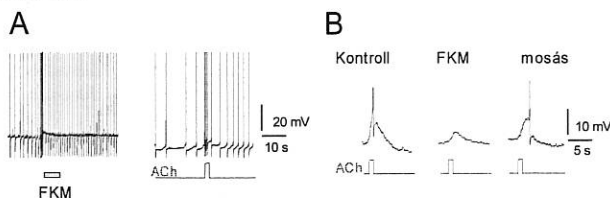
lyi horgászegyesület honlapja. A tudósítások szerint különböző méretű és fajú halak (pl. *Sander lucioperca*, *Hypophthalmichthys nobilis* R. *Ctenopharingodon idella Valenciennes*, *Cyprinus carpio* L., *Silurus glanis* L.) teteiből több mint egy tonnát gyűjtöttek össze, de beszámoltak a parton elhullott állatok (macskák) maradványairól is.

A tározóból vett vízminták a mikroszkópos morfológiája (fonalas cianobaktérium, terminális heterociszta) *Cylindrospermopsis raciborskii* tömegtermelését (3.2×10^4 filament/ml) bizonyította (1. ábra C.).



1. ábra A. *C. raciborskii* hazai előfordulási adatok (Padisák 1997, Vasas és mtsai, 2010 alapján); B. Vízvirágzást követő halpusztulás 2012 november 12-én a Fancsika I tározóban; C. A tározóból izolált *Cylindrospermopsis raciborskii* filamentumok

2. A Fancsika tóból származó minták idegrendszeri hatásai

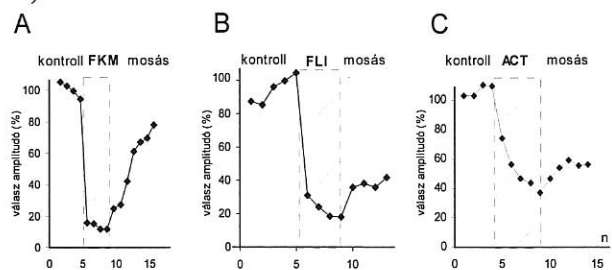


2. ábra. A. *Helix pomatia* idegsejtjein a Fancsika tározóból származó (FKM) minta és a lokálisan injektált acetilkolin (ACh) egyaránt serkenti a sejt spontán működését. B. Az acetilkolin által kiváltott választ (kontroll) az FKM kivonat (0,25 mg szárazanyag/ml) reverzibilisen csökkenti.

Az RPas sejtek felszínére mikropipettával juttatott (50–100 μ l, 0,5–1 mg szárazanyag/ml) Fancsika környezeti minta (FKM) valamint az algavirágzás során elkülönített *C. raciborskii* izolátum (FLI) vizes kivonata egyaránt az acetilkolinhoz hasonlóan depolarizálta a neuronmembránra és fokozta a neuronok spontán működését, vagyis növelte az akciós potenciálok frekvenciáját (2. ábra A.). Az acetilkolin által kiváltott serkentő membránválasz (depolarizáció amplitúdója) ugyanakkor kisebb volt az FKM kivonat jelenlétében (2. ábra B.). Az eredmények alapján feltételezhetjük, hogy a Fancsika minta neuroaktív komponensei a neuronmembrán acetilkolin receptora-

in hatnak, kapcsolódásukkal egyrészt acetilkolin válaszhoz hasonló (agonista) membránhatást fejtenek ki, másrészt gátolják újabb ACh molekulák kapcsolódását a receptorhoz (antagonista hatás).

A Fancsika tározó vízmintájából készített (FKM) kivonat az izolált idegrendszert tartalmazó kamrába 10–15 percig perfúzióval applikálva (0,05 szárazanyag mg/ml küszöbkoncentrációtól) csökkentette a sejtek acetilkolin választ, és 1 mg/ml koncentrációnál a válasz csaknem teljes gátlását okozta (3. ábra. A). Ugyanilyen hatása volt az algavirágzás során a vízből izolált és laboratóriumban tenyésztett *C. raciborskii* hasonlóan készített (FLI) vizes kivonatának is (3. ábra B). Korábbi vizsgálataink már megelőzően kimutatták a balatoni, 1995-ben történt *C. raciborskii* algavirágzás során gyűjtött és az MTA ÖK Balatoni Limnológiai Intézetében izolátumként azóta is fenntartott ACT 9505 törzs kivonatának (3. ábra C) illetve a kereskedelemben kapható *Oscillatoria* sp. PCC 6506 (anatoxin-a ill. homoanatoxin-a neurotoxint termelő) törzsének ugyancsak ACh agonista és az ACh választ gátló hatását (Vehovszky és mtsai, 2012). A gátlási tesztek eredményeinek dózis-hatás viszonyai alapján az egyes minták hatásosságát is összehasonlíthatuk. A Fancsika tározóból készített (FKM) minta gátló hatása ($EC_{50}=0,397$ mg/ml) a balatoni (ACT 9505) kivonathoz volt azonos nagyságrendű ($EC_{50} = 0,734$ mg/ml), de mindkettő kisebb mértékben gátolta az ACh választ mint a kereskedelemben kapható, bizonyítottan neurotoxint termelő PCC 6506 törzs kivonata ($EC_{50}=0,073$ mg/ml).



3. ábra. A. Fancsika kivonat (FKM, 0,5 mg/ml) nagy mértékben csökkenti az ACh válasz amplitúdóját, majd fiziológiás oldattal történő kimosás részben visszaállítja a választ. A Fancsika (FLI, 0,25 mg/ml) és balatoni (ACT, 0,5 mg/ml) *C. raciborskii* izolátumok kivonatai hasonlóan csökkentik az acetilkolin választ (B, C). Az ábrákon az ACh válasz amplitúdókat a kontroll (fiziológiás oldatban mért) válasz százalékában fejeztük ki.

Összefoglaló, következtetések

Megfigyeléseink alátámasztják azt a feltételezésünket, hogy a Balatonban 1995–96 folyamán ill. illetve Fancsika tározóban 2012-ben algavirágzást okozó *C. raciborskii* törzsek egyaránt neuroaktív hatóanyagokat termelnek, melyek nagy valószínűséggel azonos targeten, a neuronok acetilkolin receptorain (AChR) fejtik ki hatásukat.

Az acetilkolin receptorokon ható neurotoxintok: anatoxin-a, homoanatoxin-a más fonalas cianobaktériumok (*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Cylindrospermum* stb) egyes európai törzseiben bizonyítottan jelen vannak (Chorus és Bartram, 1999), de *C. raciborskii* által termelt anatoxin-a vagy homoanatoxin-a jelenlétét tudomásunk szerint még egyetlen esetben sem detektáltuk

Balatoni algavirágzásból származó *C. raciborskii* izolátumok (köztük az ACT 9505) vizsgálatok eredményei azonban már korábban valószínűsítették toxikus hatású metabolitok jelenlétét (Hiripi és mtsai, 1998, Farkas és mtsai, 2007, Török és mtsai, 2007, Vehovszky és mtsai, 2012), de analitikai vizsgálatok a trópusi törzsekre jellemző CYN vagy PSP toxinokat nem mutattak ki (Vasas és mtsai, 2010; Antal és mtsai, 2011; Ács és mtsai, 2013). Elektrofiziológiai eredményeink alapján ugyanakkor feltételeztünk egy anatoxin-a hatásához hasonlóan acetilkolin receptor (AChR) támadáspontú neurotoxin jelenlétét több korábbi, balatoni *C. raciborskii* izolátum (köztük ACT 9505 törzs) kivonatában (Kiss és mtsai, 2002, Vehovszky és mtsai, 2012).

Magyarországon az 1970-es években megjelenő *C. raciborskii* a nyolcvanas években elterjedve a Balatonon számos algavirágzást okozott (Padisák 1997, Padisák és mtsai, 1984). Bár napjainkra a tó trofikus szintjének csökkenésével a cianobaktériumok mennyisége is lecsökkent, a *C. raciborskii* megjelenése és esetenkénti tömegtermelése elsősorban eutróf halas- és horgásztavakban azóta is általánosan megfigyelhető jelenség (Vasas és mtsai, 2010; Horváth és mtsai, 2013.). Sajnos nincsenek adataink a szintén Debrecen közeli Mézeshegyi tóban felszaporodó *C. raciborskii* törzs toxikusságára vonatkozóan, bár nagymértékű halpusztulás ott is bekövetkezett (Borics és mtsai, 2000). Az 1992-ben megfigyelt algavirágzás extrém magas biomaszával eredményezett (870 mg/l), mely meghaladja az általunk neurotoxikus hatásokra megállapított EC₅₀ értékeket (balatoni ACT 9505: EC₅₀=734 mg/l ill. Fancsika: 397 mg/l). Mindezek alapján nem zárhatjuk ki, hogy a halpusztulásban a Fancsika tározó esetéhez hasonlóan a *C. raciborskii* (neuro)toxikus metabolitjainak a Mézeshegyi tóban is szerepe lehetett.

A *C. raciborskii* különböző törzseinek eloszlását az öt kontinens mérsékelt égövi területein egyre növekvő kiterjedés jellemezi, ugyanakkor a csoportok közti migráció (a kontinensnyi távolságok miatt) kevésbé valószínű (Sinha és mtsai, 2012). Az izolált populációk szerkezeti és hatásmechanizmus szerint is különböző toxinokat termelve eltérő kemotípusokat is képviselnek: az ausztrál törzsek némelyike hepatotoxikus cylindrospermopsin termel, a dél-amerikai mintákban neurotoxikus PSP toxin mutatható ki (Molica és mtsai, 2002, Moreira és mtsai, 2013). Farmakológiai eredményeink alapján nem zárhatjuk ki tehát, hogy az európai törzsek között előfordulhatnak további kemotípusok, köztük olyanok, amelyek hatásukban anatoxin-a szerű de analitikailag még nem azonosított kolinerg neurotoxint v. toxinokat termelnek.

Köszönetnyilvánítás

Munkánkat az OTKA K63451, K81370, F046493, GVOP-3.2.1., GVOP-TST 3.3.1-05/1-2005-05-0004/3.0, valamint az MTA „Megújítás 2012” Balaton monitoring program támogatta.

Irodalom

Ács A, Kovács AW, Csepregi JZs, Török N, Kiss Gy, Györi J, Vehovszky Á, Kovács N, Farkas A. 2013. The ecotoxicological evaluation of *Cylindrospermopsis raciborskii* from Lake Balaton (Hungary) employing a battery of bioassays and chemical screening. *Toxicon* 70:98-106.

- Antal O, Kariszt-Gácsi M, Farkas A, Kovács WA, Ács A, Török N, Kiss Gy, Saker ML, Györi J, Bánfalvi G, Vehovszky Á. 2011. Screening the toxic potential of *Cylindrospermopsis raciborskii* strains isolated from Lake Balaton, Hungary. *Toxicon* 57:831-840.
- Araoz R, Nghiem HO, Rippka R, Palibroda N, de Marsac NT, Herdman M. 2005. Neurotoxins in axenic oscillatorian cyanobacteria: coexistence of anatoxin-alpha and homoanatoxin-alpha determined by ligand-binding assay and GC/MS. *Microbiology-SGM* 151: 1263-1273.
- Borics G, Grigorszky I, Szabo S, Padisák J. 2000. Phytoplankton associations in a small hypertrophic fishpond in East Hungary during a change from bottom-up to top-down control. *Hydrobiologia* 424: 79-90.
- Chorus I and Bartram J. 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water, A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management*. London: WHO, Spon Press.
- Cires S, Woerner L, Ballot A, Agha R, Wiedner C, Velazquez D; Casero MC, Quesada A. 2014. Phylogeography of *Cylindrospermopsis* and Paralytic Shellfish Toxin-Producing Nostocales Cyanobacteria from Mediterranean Europe (Spain) *Appl Environ Microbiol* 80:1359-1370.
- Dittmann E, Fewer DP, Neilan BA. 2012. Cyanobacterial toxins: biosynthetic routes and evolutionary roots. *FEMS Microbiol Rev* 37:23-43.
- Farkas Anna, Kovács W. Attila, Gácsi Mariann, Györi János Martin I. Saker, Vehovszky Ágnes. 2007. Cianobaktériumok toxikusságának vizsgálata a sórák (*Artemia salina* L.) akut toxicitási teszt alkalmazásával. *Hidrológiai Közlemény* 87. 6sz. 28-30.
- Griffiths DJ. and Saker ML. 2003. The palm island mystery disease 20 years on: A review of research on the cyanotoxin cylindrospermopsin. *Env Toxicol* 18:78-93.
- Hiripi L, Nagy L, Kalmár T, Kovács A, Vörös L. 1998. Insect (*Locusta migratoria migratorioides*) test monitoring the toxicity of cyanobacteria. *Neurotoxicology* 19:605-608.
- Horváth H, Mátyás K, Suele Gy, Présing M. 2013. Contribution of nitrogen fixation to the external nitrogen load of a water quality control reservoir (Kis-Balaton Water Protection System, Hungary). *Hydrobiologia* 702:255-265.
- Kiss T, Vehovszky Á, Hiripi L, Kovács A, Vörös L. 2002. Membrane effects of toxins isolated from a cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*, on identified molluscan neurons. *Comp Biochem Physiol C*. 131:167-176.
- Kokocinski M, Mankiewicz-Boczek J, Jurczak T, Spoo L, Meriluoto J, Rejmonczyk E, Hautala H, Vehniainen M, Pawelczyk J, Soinen J. 2013. *Aphanizomenon gracile* (Nostocales), a cylindrospermopsin-producing cyanobacterium in Polish lakes *Env Sci Pollut Res*. 20:5243-5264.
- Komárek J. 2013. Cyanoprokaryota: Heterocytous Genera. In: Büdel B, Gärtner G, Krienitz L, Schagerl M. series editors. *Süßwasserflora von Mitteleuropa*. (German edition) Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Germany.
- Molica R, Onodera H, Garcia C, Rivas M, Andrinolo D, Nascimento S, Meguro H, Oshima Y, Azevedo S, Lagos N. 2002. Toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) isolated from Tabocas reservoir in Caruaru, Brazil, including demonstration of a new saxitoxin analogue. *Phycologia* 41:606-611.
- Moreira C, Azevedo J, Antunes A, Vasconcelos V. 2013. Cylindrospermopsin: occurrence, methods of detection and toxicology. *J Appl Microbiol* 114:605-620.
- O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ. 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 14:313-334.
- Padisák J. 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology *Archiv Fuer Hydrobiologie Supplementband* 107:563-593.
- Padisák J, G-Toth L, Voros L. 1984. *Anabaenopsis raciborskii* Wolosz. Bloom in Lake Balaton in the summer and autumn. *BFB-Bericht* 51:77-81.
- Rzyski, P and Poniedzialek, B. 2014. In search of environmental role of cylindrospermopsin: A review on global distribution and ecology of its producers. *Water Res*. 66: 320-337.
- Saker ML, Nogueira ICG, Vasconcelos VM, Neilan, BA, Eaglesham, GK, Pereira P. 2003. First report and toxicological assessment of

- the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* from Portuguese freshwaters *Ecotoxicol Env Safety* 55: 243-250
- Singh S, Kate BN, Banerjee UC. 2005. Bioactive compounds from Cyanobacteria and Microalgae: an Overview. *Crit Rev Biotechnol* 25:73-95.
- Sinha R, Pearson LA, Davis TW, Burford MA, Orr PT, Neilan BA. 2012. Increased incidence of *Cylindrospermopsis raciborskii* in temperate zones - Is climate change responsible? *Water Res* 46:1408-1419.
- Tidgewell K, Benjamin RC, Gerwick WH. 2010. *Comprehensive Natural Products II. Chemistry and Biology*. Mander L and Lui HW. editors. Oxford: Elsevier. p 141-188.
- Törökne AK, Vasdinnyi R, Asztalos BM. 2007. A rapid microbiodiagnostic test for the detection of cyanobacterial toxins. *Env Toxicol* 22:64-68.
- Vasas G, Surányi G, Máthé C, M-Hamvas M, Borbély G. 2010. Investigation of toxin content in *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyńska) Seenaya and Subba Raju and *Aphanizomenon ovalisporum* (Forti) strains isolated from shallow lakes of Hungary. *Acta Biol Hung* 61:218-225
- Vehovszky Ágnes, Ács András, Kovács W. Attila, Szabó Henriette, Győri János, Gácsi Mariann, Farkas Anna 2011. Balatonból izolált cianobaktériumok vizes kivonatainak bioaktív hatásai – összehasonlító vizsgálatok *Hidrológiai Közlemény* 91. 110-112.
- Vehovszky Á, Kovács AW, Szabó H, Győri J, Farkas A. 2012. Neurotoxic effects evoked by cyanobacterial extracts suggest multiple receptors involved in electrophysiological responses of molluscan (CNS, heart) models. *Acta Biol. Hung* 63:160-170.

Algavirágzás és halpusztulás – neurotoxikus (?) *Cylindrospermopsis raciborskii* törzsek Magyarországon
Ágnes Vehovszky, Attila W. Kovács, Anna Farkas, János Győri, Gábor Vasas

Abstract:

Early November, 2012, a rapid cyanobacterial bloom of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszyńska) Seenaya et Subba Raju (Noctocales, Cyanophyceae) was detected in the Fancsika pond (East Hungary near Debrecen), characterized by a strong discoloration of water and a substantial fish mortality. Our previous results demonstrated the neurotoxic effects of other *C. raciborskii* isolates (collected from the Balaton region, Hungary during natural bloom in 1995), therefore, we could not exclude the involvement of a kind intoxication responsible for the mass fish kill in the Fancsika pond. To test the potential toxic effects electrophysiological experiments were carried out on identified neurons in the CNS of *Helix pomatia*. The neuronal effects of the Fancsika bloom sample (FBS), the laboratory isolate of *C. raciborskii* from the pond (FLI) and the reference samples of *C. raciborskii* ACT 9505 (isolated from Balaton), suggested a common target, the neuronal acetylcholine receptor (AChR). Pharmacological tests demonstrated a dose-dependent blocking effects of cyanobacterial extracts, functionally similar to the already identified cholinergic cyanotoxins (anatoxin-a and homoanatoxin-a), although analytical assays excluded the presence of any of them in the samples tested. We conclude, therefore, that a new chemotype of *C. raciborskii* strain which produce some cholinergic, but structurally not yet identified neuroactive substances is likely distributed in this region of Europe including Hungary.

Keywords:

Cylindrospermopsis, Fancsika, fish kill, neurotoxin, anatoxin-a, *Helix*, acetylcholine