

УДК 574.3.556.531

Т. Б. Зайцева¹, Б. Л. Мильман², Н. В. Луговкина²,
Е. Н. Чернова¹, Я. В. Русских¹, С. М. Сатаева³,
Н. Г. Медведева¹

**ВЛИЯНИЕ ОКТИЛ- И НОНИЛФЕНОЛОВ НА РОСТ,
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И
ТОКСИНООБРАЗОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ
PLANKTOTHRIX AGARDHII**

Исследовано влияние октил- и нонилфенолов на рост, фотосинтетическую активность и токсинообразование цианобактерии *Planktothrix agardhii*, интенсивно вегетирующей в водоемах северо-запада РФ и других стран в период «цветения» воды.

Показано, что алкилфенолы подавляют рост цианобактерии, при этом степень ингибирования роста снижается в процессе культивирования. Одной из возможных причин снижения ингибирующего воздействия поллютантов является уменьшение их концентрации в среде за счет абиотических и биологических процессов. Ингибирование роста *P. agardhii* алкилфенолами сопровождается увеличением синтеза фотосинтетических пигментов — хлорофилла *a*, каротиноидов, фикобилипротеинов. Показано, что исследуемая культура *P. agardhii* продуцирует ряд микроцистинов, основным из которых является деметилированный микроцистин RR. В условиях стресса, вызванного алкилфенолами, наблюдается стимуляция токсинообразования и увеличение концентрации внеклеточных токсинов.

Ключевые слова: алкилфенолы, октилфенол, нонилфенолы, цианобактерии, фотосинтетические пигменты, микроцистины.

Алкилфенолы (АФ), в частности октил- и нонилфенолы (ОФ, НФ), широко используются в производстве детергентов, пестицидов, каучука, пластмасс, смазочных масел, фармацевтических препаратов, красящих средств, лаков и т.д. [14, 18]. В окружающую среду АФ попадают со сточными водами этих производств, а также как продукты разложения широко распространенных неионных поверхностно-активных веществ — алкилфенолэтоксилатов [30].

В результате сброса бытовых и промышленных стоков в наибольшей степени загрязнены алкилфенолами водные экосистемы. Концентрация АФ в поверхностных водах варьирует от величин ниже порогового уровня определения до значительных [6, 10, 30]. Так, в Испании в поверхностных водах

© Т. Б. Зайцева, Б. Л. Мильман, Н. В. Луговкина, Е. Н. Чернова,
Я. В. Русских, С. М. Сатаева, Н. Г. Медведева, 2015

зафиксирован нонилфенол в концентрации 644 мкг/л [27]. При попадании алкилфенолов в воду происходит их перенос в придонные горизонты и накопление в донных отложениях и гидробионтах [11, 13, 17].

Алкилфенолы оказывают негативное воздействие на организм человека и животных вследствие нарушения функционирования различных регуляторных звеньев иммунонейроэндокринного гомеостаза, следствием чего являются нарушения в развитии мужских и женских половых органов, увеличение числа случаев рака молочной железы, яичников и простаты и др. [1]. Возникновение эстрогеноподобных эффектов можно объяснить схожестью структур АФ и гормона эстрадиола [4]. В силу этих причин в США и странах Евросоюза введены ограничения на производство и использование алкилфенолов, а их содержание в окружающей среде строго регламентируется.

Алкилфенолы оказывают токсическое действие на гидробионтов, прежде всего на зоопланктон [6, 14, 25, 27]. Исследования, касающиеся влияния алкилфенолов на синезеленые водоросли, в том числе возбудителей «цветения» воды, весьма ограничены, и, в основном, рассматривается их воздействие на *Microcystis aeruginosa*. Октил- и нонилфенолы оказывают ингибирующее действие на рост и фотосинтез цианобактерии *M. aeruginosa*, влияют на процесс токсинообразования токсигенными штаммами [28, 29]. Отмечена способность различных штаммов *M. aeruginosa* деструктировать алкилфенолы [5, 28, 29].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния октил- и нонилфенолов на рост, фотосинтетическую активность и токсинообразование цианобактерии *Planktothrix agardhii*, интенсивно вегетирующей в водоемах северо-запада РФ в период «цветения» воды.

Материал и методика исследований. В качестве объекта исследования использовали альгологически чистую культуру *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagnostidis et Komarek (= *Oscillatoria agardhii* Gom. CALU 1113) из коллекции Биологического института СПбГУ (Россия), выделенную из Финского залива (Невская губа).

Культивирование цианобактерии проводили на среде BG11 [24] в статических условиях в колбах Эрленмейера объемом 250 мл, объем среды составлял 100 мл. Культивирование проводили при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ и освещенности 4500—5000 лк, при режиме свет: темнота — 12 ч : 12 ч. В качестве посевного материала использовали культуру на логарифмической фазе роста, выращенную в указанных выше условиях. Посевной материал вносили в питательные среды из расчета 12 мг абс. сухой массы/дм³.

Нонилфенолы и октилфенол (Sigma-Aldrich, (США), вносили в питательные среды в виде растворов в диметилсульфоксиде (ДМСО), создавая концентрации алкилфенолов $1 \cdot 10^{-5}$ —2,5 мг/дм³. При этом содержание ДМСО в каждом варианте оставалось неизменным и составляло 0,02 мл в 100 мл среды.

Рост цианобактерии контролировали по сухому весу. Содержание хлорофилла *a*, каротиноидов и фикобилипротеинов определяли на спектрофо-

тометре Genesys 10UV scanning (Thermo Spectronic, США) по описанным ранее методикам [3].

Микроцистины из клеток экстрагировали 50%-ным водным раствором метанола, их содержание в экстрактах и в нативных растворах анализировали методом ВЭЖХ на хроматографе Hewlett-Packard HP1090 по описанной ранее методике [3].

Идентификацию микроцистинов проводили двумя аналитическими методами: масс-спектрометрией МАЛДИ и жидкостной хроматографией — масс-спектрометрией высокого разрешения с электрораспылением. В первом случае использовали прибор Ultraflextreme MALDI TOF (Bruker Daltonics), УФ-лазер с частотой 1000 Гц и мощностью 27% при 500—5000 лазерных импульсах, в рефлекторном режиме, в диапазоне масс от 200 до 2000 Да. Фрагментные спектры для определенных ионов-предшественников регистрировали в режиме LIFT-ToF/ToF при большей мощности лазера. Для точного измерения масс ионов методом внутренней градуировки использовали градуировочный раствор смеси пептидов (Peptide Calibration Standard, № 206195, Bruker Daltonics).

Анализ микроцистинов методом жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии проводили с использованием хромато-масс-спектрометра LTQ Orbitrap XL (ThermoFisherScientific, USA).

Компоненты экстракта пробы разделяли на обращенно-фазовой хроматографической колонке Thermo Hypersil Gold 100×3 мм, 3 мкм (Thermo Fisher Scientific, San Jose, USA) в градиентном режиме. В качестве подвижных фаз использовали ионизированную воду и ацетонитрил, обе фазы содержали 0,01% трифторуксусной кислоты (ТФУ). Скорость потока составляла 0,2 мл/мин.

Масс-спектрометрический анализ проводили в условиях электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов. Сканируемый диапазон масс (m/z) составлял 500—1100 Да, разрешение 30 000. Микроцистины идентифицировали по точным значениям масс (точность их определения не превышала 5 ppm) протонированных и дважды протонированных молекул [7].

Для определения концентрации АФ в нативных растворах образец культуральной жидкости центрифугировали при 10 000 об/мин. Алкифенолы экстрагировали из нативных растворов или питательной среды гексаном из расчета 5 мл гексана на 30 мл анализируемого р-ра, с добавлением 0,15 мл р-ра тетрабутиламмоний сульфата (0,095 М), содержащего 50 мМ NaH_2PO_4 . Экстракцию проводили в течение 30 мин. при непрерывном перемешивании. Затем смесь нативного раствора (или питательной среды) с гексаном замораживали при +4°C, после чего гексан отделяли и выпаривали. Полученный осадок растворяли в 400 мкл 100%-ного ацетонитрила, центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 1 мин. Для получения пробы для хроматографирования к 200 мкл надосадочной жидкости добавляли 300 мкл дистиллированной воды. Анализ октил- и нонилфенолов проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Hewlett-Packard HP1090 с диодно-матричным де-

тектором. Условия хроматографирования — колонка Waters DELTA-PAK C 18 300 3,9×150 мм, температура 35°, скорость потока — 1 мл/мин, детекция при 275 нм, объем пробы — 200 мкл, элюент — 70%-ный ацетонитрил с 0,1%-ной трифторуксусной кислотой. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica 6.0 (Stat Soft).

Результаты исследований и их обсуждение

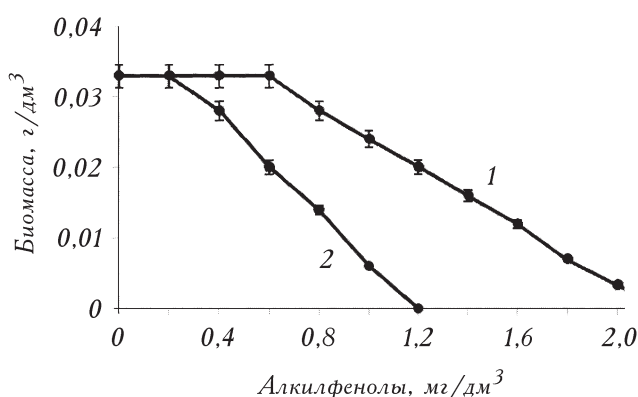
Октил- и нонилфенолы в низких концентрациях — до 0,7 мг/л и 0,25 мг/л, соответственно, не влияют на рост цианобактерии *P. agardhii*. С повышением концентраций АФ наблюдается ингибирование роста цианобактерии. Через 4 сут культивирования концентрации ОФ и НФ, вызывающие 50%-ное подавление роста культуры (EC_{50}), достоверно различались ($p = 0,05$) и составляли соответственно 1,35 и 0,7 мг/дм³. При содержании в среде 2,0 мг ОФ/дм³ или 1,1 мг НФ/дм³ рост цианобактерии ингибировался на 90% (рис. 1).

Под действием алкилфенолов, наряду с уменьшением биомассы цианобактерии, происходит увеличение продолжительности лаг-фазы, снижается удельная скорость роста (табл. 1). При исходном содержании в среде ОФ — 1,65 мг/л и НФ — 0,75 мг/л длительность лаг-фазы увеличивается соответственно в 10 и 7 раз, удельная скорость роста снижается на 33%.

Следует отметить, что в этом случае максимальное ингибирование роста *P. agardhii* наблюдается на 4-е сутки культивирования, как для октилфенола, так и для нонилфенолов, и составляет соответственно 64 и 52%. В процессе культивирования ингибирующий эффект алкилфенолов снижается и к началу стационарной фазы роста (14—15-е сутки культивирования) составляет соответственно 30 и 25% (рис. 2).

Одной из возможных причин снижения ингибирующего действия алкилфенолов на *P. agardhii* в процессе культивирования является уменьшение их концентрации в среде (рис. 3). Следует отметить, что содержание алкилфенолов в среде уменьшается как за счет абиотических процессов (контрольные варианты без клеток цианобактерии), так и за счет биотических процессов с участием цианобактерии *P. agardhii*. Однако в присутствии клеток *P. agardhii* снижение концентрации поллютантов происходит в большей степени. В конце лаг-фазы (для ОФ — 5 сут, для НФ — 3,5 сут) содержание алкилфенолов в нативных растворах достигает концентраций, близких к НОЕС, составляющих 0,7 мг ОФ/дм³ и 0,25 мг НФ/дм³, после чего культура *P. agardhii* переходит в экспоненциальную фазу роста. Ранее был выявлен схожий характер действия нонилфенолов на рост *Microcystis aeruginosa* и *Chlorella vulgaris*, и, по мнению авторов, уменьшение ингибирующего действия НФ на исследованные микроводоросли в процессе культивирования происходит за счет снижения содержания НФ в среде вследствие процессов фотолиза, биодеградации или биоаккумуляции [26, 29].

Ингибирование роста *P. agardhii* октил- и нонилфенолами сопровождается увеличением синтеза основных фотосинтетических пигментов — хлорофилла *a*, каротиноидов и фикобилипротеинов (табл. 2). Максимальная



1. Влияние алкилфенолов на рост *P. agardhii*: 1 — октилфенол; 2 — нонилфенолы.

стимуляция синтеза пигментов соответствует наибольшей степени подавления роста культуры *P. agardhii*. На 4-е сутки культивирования продуктивность цианобактерии по хлорофиллу *a*, каротиноидам и фикобилипротеинам превышает контрольные значения соответственно в 5,1—6,9, 2,2—2,9 и 3,4—4,4 раза. С увеличением продолжительности культивирования стимулирующий эффект

от действия АФ на содержание фотосинтетических пигментов снижается, однако и в конце экспоненциальной фазы (на 14-е сутки) остается на более высоком уровне по сравнению с контрольными значениями.

Повышенный синтез фотосинтетических пигментов культурой *P. agardhii* в условиях стресса, вызванного алкилфенолами, может быть обусловлен ее защитной реакцией на действие токсикантов и свидетельствует о наличии у цианобактерии механизма адаптации к данным поллютантам [15].

Известно, что многие штаммы *P. agardhii* являются токсигенными, продуцируют гепатотоксины, главным образом деметилированные микроцистины [8, 12, 19, 20, 22].

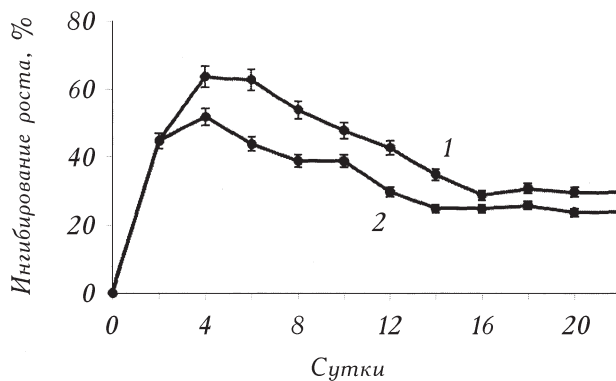
Наличие в экстракте биомассы *P. agardhii* одного из группы этих соединений, деметилированного микроцистина-RR (dm-RR, $C_{49}H_{73}N_{11}O_{13}$), установлено при использовании обоих масс-спектрометрических методов. В масс-спектре МАЛДИ (рис. 4, а) основной пик соответствуют ионам с m/z 1025 (округленное значение). Соответствующая точная масса — 1024,5474

1. Влияние АФ на параметры роста *Planktothrix agardhii*

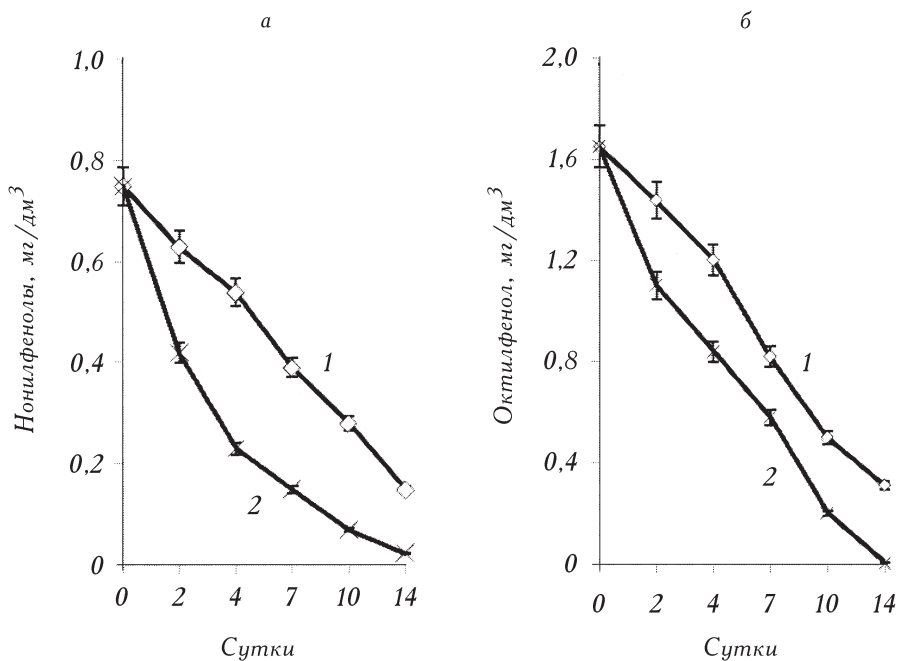
Параметры	АФ, мг/дм³		
	контроль	0,75 НФ	1,65 ОФ
Длительность лаг-фазы, сут	0,5	3,5	5,0
μ , сут ⁻¹	0,33 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,21 ± 0,02
Наступление стационарной фазы, сут	14	14	15
Максимальный прирост биомассы, г/дм³	0,19 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,01

Да, ей отвечает брутто-формула иона $C_{49}H_{74}N_{11}O_{13}$ (теоретическая масса иона $[M+H]^+$ 1024,5462, точность определения массы 1,2 ppm).

Известно несколько изомеров этого соединения: [D-Asp3]микроцистин-RR (I) и [Dhb7]микроцистин-RR (II) [9], а также [Asp3, Dhb7]микроцистин-RR (III) [20]. Фрагментный масс-спектр иона с m/z 1025 (рис. 4, б, в) позволяет частично уточнить структуру рассматриваемого соединения, если принять во внимание работу [31], в которой приведены MS^2 спектры микроцистина-RR и его двух деметилпроизводных: (I) и (II).



2. Зависимость ингибирования роста *P. agardhii* алкилфенолами от продолжительности культивирования: 1 — ингибирование роста октилфенолом в концентрации 1,65 мг/л; 2 — ингибирование роста нонилфенолами в концентрации 0,75 мг/л.



3. Зависимость содержания АФ в среде от продолжительности культивирования цианобактерии *P. agardhii*: а — нонилфенолы; б — октилфенол; 1 — контроль (без клеток цианобактерии); 2 — нативный раствор.

2. Влияние АФ на содержание фотосинтетических пигментов (мг/г абс. сухой массы) у цианобактерии *P. agardhii*

Сутки	Хлорофилл <i>a</i> , варианты			Каротиноиды, варианты			Фикобилипротеины, варианты		
	Конт-роль	НФ	ОФ	Конт-роль	НФ	ОФ	Конт-роль	НФ	ОФ
4	0,61 ± 0,06	3,10 ± 0,35	4,21 ± 0,44	0,61 ± 0,06	1,25 ± 0,14	1,67 ± 0,17	5,10 ± 0,60	17,11 ± 1,85	22,50 ± 2,31
7	1,51 ± 0,17	2,43 ± 0,26	2,97 ± 0,31	0,74 ± 0,07	1,41 ± 0,15	1,72 ± 0,18	1,71 ± 0,18	3,30 ± 0,38	3,98 ± 0,41
14	1,80 ± 0,19	2,07 ± 0,22	2,28 ± 0,24	1,51 ± 0,16	1,74 ± 0,17	1,85 ± 0,19	0,79 ± 0,08	0,97 ± 0,11	1,03 ± 0,11

П р и м е ч а н и е. Концентрация НФ — 0,75 мг/дм³; ОФ — 1,65 мг/дм³.

Необходимо отметить, что в работе [31] спектры получены при фрагментации предшественников $[M + 2H]^{2+}$, полученных электрораспылением, в условиях активации соударениями, а не при распаде ионов $[M + H]^+$ в режиме МАЛДИ-LIFT, как в нашем случае. Тем не менее, эти два вида фрагментных спектров в значительной мере сходны. Это следует из сравнения такого рода масс-спектров микроцистина-RR, полученных ранее [31] и на нашем приборе [21]: сопоставляемые спектры содержат не менее 13 общих пиков (одинаковые целочисленные значения масс).

Указанное выше наблюдение позволяет обосновать корректность сопоставления фрагментного спектра МАЛДИ, полученного в этой работе для предшественника с m/z 1025 (деметилмикроцистин-RR), с литературными [31] тандемными спектрами изомеров (I) и (II) этого соединения. Последние включают 10 пиков ионов аналогичного состава, чьи массы неодинаковы (различаются на 14 Да) и поэтому позволяют различить эти изомеры. Из них в нашем спектре (см. рис. 4, в) обнаружены четыре достаточно интенсивных пика ионов, характеризующих изомер (I), но ни одного столь же значимого пика, характерного для (II). Это позволяет считать структуру [D-Asp3]микроцистина-RR (I) предпочтительной.

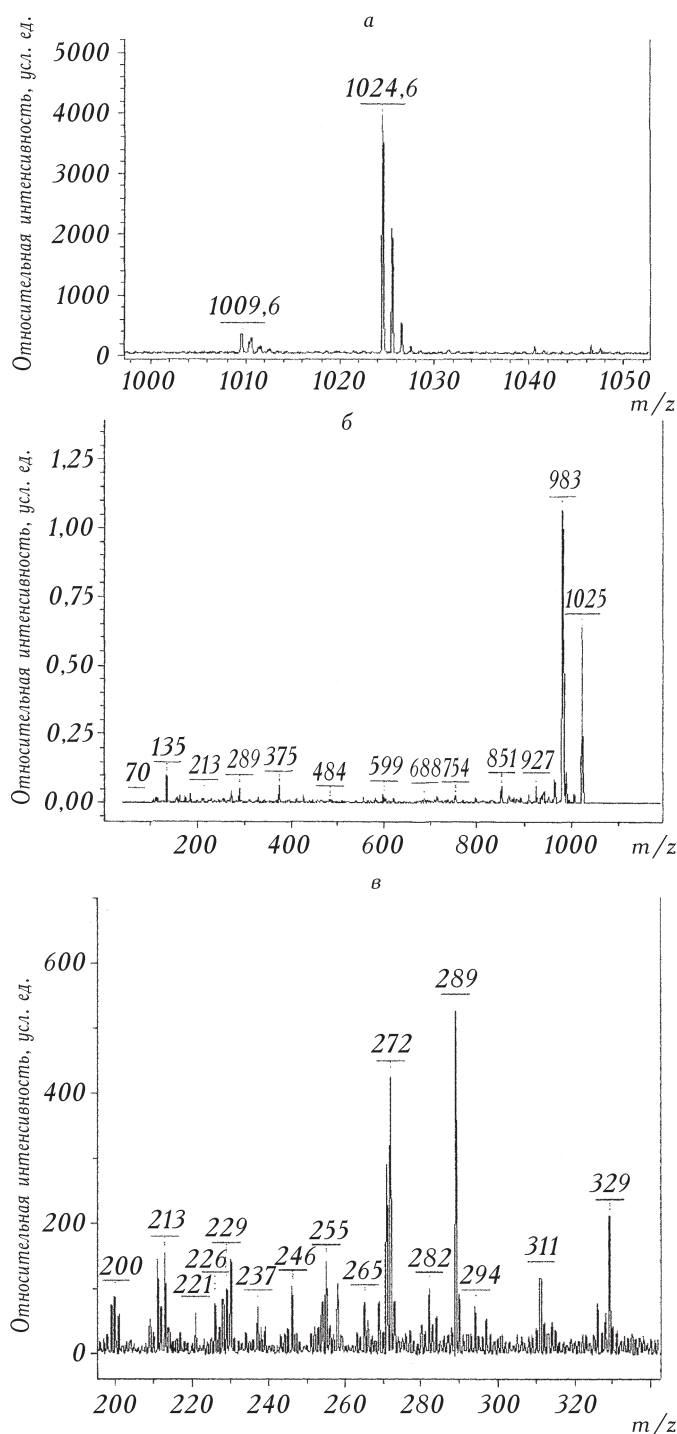
Необходимо, тем не менее, добавить, что масс-спектр еще одного изомера (III) практически неотличим от его аналога (I) [2, 20]. Поэтому присутствие в анализируемых растворах [Asp3, Dhb7]микроцистина-RR (III) также нельзя исключать.

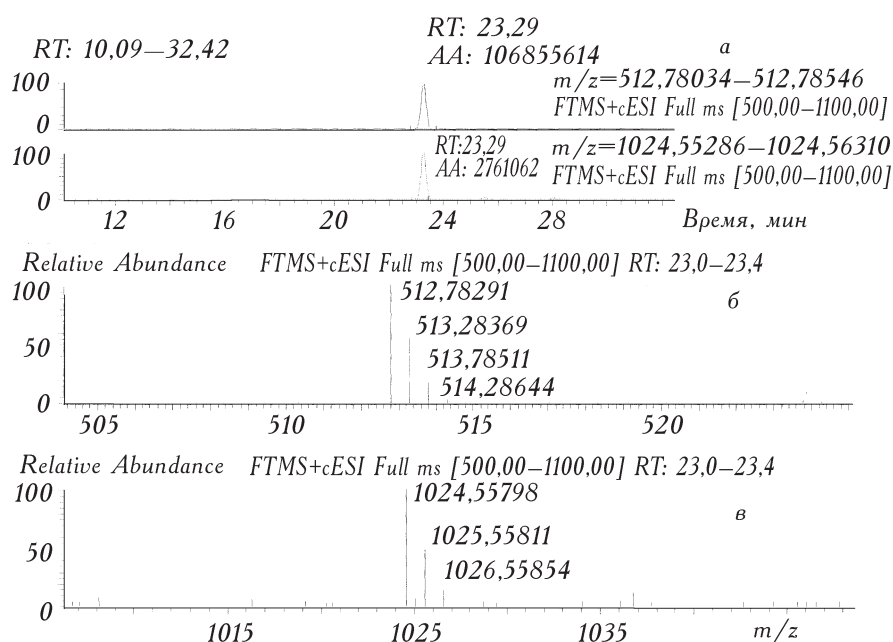
Анализ экстрактов биомассы исследуемого штамма *P. agardhii* методом жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии с электрораспылением подтвердил присутствие в растворе деметилированного микроцистина-RR. Ему соответствуют двухзарядный ион $[M + 2H]^{2+}$ с точным значением m/z 512,7821 и однократно протонированная молекула $[M + H]^+$, m/z 1024,55792 (рис. 5).

4. Масс-спектр МАЛДИ (область основных пиков, *a*), содержащий сигналы протонированных молекул микроцистинов, и фрагментный спектр для иона-предшественника с m/z 1025 (полный спектр, *б*; часть спектра в интервале m/z от 200 до 340, *в*). Фрагментный масс-спектр содержит пики ионов, характерных для изомера (I): m/z 213, 272, 289 и 329. Соответствующие пики ионов (m/z 199, 286, 303, 315), характеризующих микроцистин (II), имеют меньшую интенсивность.

Наряду с сигналом иона с m/z 1025 в спектрах МАЛДИ экстракта биомассы *P. agardhii* присутствует пик иона с m/z 1009 (точное значение 1009,5399, брутто-формула иона $C_{49}H_{73}N_{10}O_{13}$ (см. рис. 4, *a*). Этой заряженной частице соответствуют известные микроцистины [D-Asp3,ADMAdda5,Dhb7]microcystin-LR и [D-Asp3,ADMAdda5]microcystin-LR [23]. Однако полученные экспериментальные данные не позволяют в настоящее время осуществить выбор между ними.

Следует отметить, что основным токсином, продуцируемым исследуемым штаммом *P. agardhii*, является деметилированный микроцистин-RR (dm-RR), все остальные микроцистины синтезируются в значительно меньших количествах.





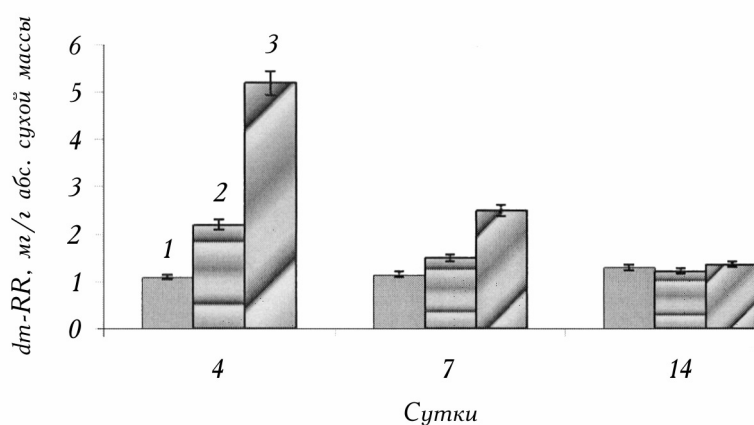
5. Масс-хроматограммы, зарегистрированные для массовых чисел 512,78 и 1024,56 (а). Участки масс-спектров с указанными массами (соответственно б и в) для хроматографического пика, время удерживания 23,29 мин.

В условиях стресса, вызванного воздействием октил- и нонилфенолов, происходит стимуляция токсинообразования культурой *P. agardhii*. Как и в случае с фотосинтетическими пигментами, уровень стимуляции синтеза токсина dm-RR коррелирует со степенью ингибирования роста как октил-, так и нонилфенолами и на 4-е сутки культивирования возрастает по сравнению с контролем соответственно в 4,7 и 2 раза (рис. 6).

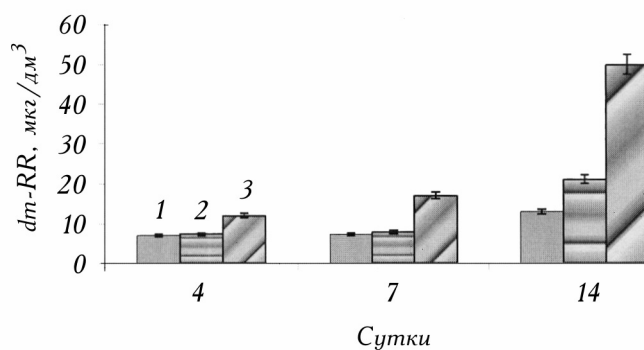
По мере роста культуры стимулирующий эффект АФ на токсинообразование снижается, и к концу экспоненциальной фазы роста культуры продуктивность биомассы *P. agardhii* по микроцистину dm-RR практически не отличается от контрольной.

Полученные результаты согласуются с данными наших более ранних исследований [3] и данными других авторов [16], показавшими, что цианобактерии продуцируют наибольшее количество токсинов в условиях стресса.

Наряду с увеличением продуктивности биомассы *P. agardhii* по микроцистину dm-RR в присутствии алкилфенолов, возрастает концентрация экзотоксинов (рис. 7). Следует отметить, что в процессе роста *P. agardhii* происходит увеличение концентрации внеклеточного токсина как в вариантах с АФ, так и в контрольном варианте. Однако содержание экзо-dm-RR при концентрациях НФ 0,75 мг/дм³ и ОФ 1,65 мг/дм³ возрастает в большей степени, чем в контроле, и на 14-е сутки культивирования составляет соответственно 21 и 50 мкг/дм³, в то время как в контрольном варианте количество токсина равняется 13 мкг/л.



6. Влияние АФ на синтез микроцистина dm-RR культурой *P. agardhii*. Здесь и на рис. 7: 1 — контроль; 2 — 0,75 мг НФ/дм³; 3 — 1,65 мг ОФ/дм³.



7. Влияние АФ на концентрацию экзо-dm-RR, образуемого культурой *P. agardhii*.

Повышенный выход цианотоксинов в окружающую среду из клеток цианобактерий относится к серьезным негативным последствиям загрязнения октил- и нонилфенолами.

Заключение

Алкилфенолы, в частности октил- и нонилфенолы, широко используемые в различных производствах, при попадании в водные экосистемы оказывают негативное влияние на организм человека и животных вследствие нарушения иммунонейроэндокринного гомеостаза, а также проявляют токсическое действие в отношении гидробионтов, в том числе цианобактерий.

Октил- и нонилфенолы ингибируют рост цианобактерии *P. agardhii*, интенсивно вегетирующей в период «цветения» воды. В процессе культивирования наблюдается снижение ингибирующего действия алкилфенолов, одной из возможных причин чего является уменьшение их концентрации в среде как за счет абиотических, так и биологических процессов. Одним из механизмов адаптации цианобак-

тери к алкилфенолам является повышенный синтез фотосинтетических пигментов — хлорофилла *a*, каротиноидов и фикобилипротеинов. Штамм *P. agardhii*, выделенный из Финского залива (Невская губа) продуцирует ряд микроцистинов, преобладающим из которых является деметилированный микроцистин-RR-[D-Asp3]микроцистин-RR. В условиях стресса, вызванного воздействием октил- и нонилфенолов, происходит стимуляция токсинообразования культурой *P. agardhii* соответственно в 4,7 и 2 раза. Наряду с увеличением продуктивности биомассы по микроцистину dm-RR в присутствии алкилфенолов возрастает концентрация экзотоксинов, что, несомненно, является серьезным негативным последствием загрязнения водоемов алкилфенолами.

**

Досліджено вплив октил- і нонілфенолів на ріст, фотосинтетичну активність і токсиноутворення ціанобактерії Planktothrix agardhii, яка інтенсивно вегетує у водоймах північного заходу РФ та інших країн у період «цвітіння» води.

Показано, що алкілфеноли пригнічують ріст водоростей, причому причинення росту знижується в процесі культивування. Однією із причин цього явища є зменшення концентрації політанів в середовищі внаслідок абіотичних і біологічних процесів. Інгібіція росту P. agardhii алкілфенолами супроводжується збільшенням синтезу фотосинтетичних пігментів. Показано, що досліджувана культура P. agardhii продукує ряд мікроцистинів, основним з яких є деметильований мікроцистин-RR. В умовах стресу, спричиненого алкілфенолами, спостерігається стимуляція токсиноутворення і збільшення концентрації позаклітинних токсинів.

**

The effect of octyl- and nonylphenols on growth, photosynthesis and toxin production by bloom-forming cyanobacteria Planktothrix agardhii was investigated. It was shown that alkylphenols inhibit the growth of algae. The inhibition rate decreases during cultivation. One of the reasons is decrease of alkylphenols concentration because of abiotic and biological processes. Growth inhibition of P.agardhii by alkylphenols accompanies by an increase of synthesis of photosynthetic pigments. Cyanobacteria P. agardhii produces microcystins, the main of which is demethylated microcystin-RR (dm-RR). Under conditions of stress caused by alkylphenols toxin production is stimulated and concentration of extra-dm-RR increases.

**

1. Бураковский А.И., Пивень Н.В., Лухверчик Л.Н. Нонилфенол как повреждающий фактор регуляторных систем организма // Тр. Белорус. ун-та. — 2010. — Т. 5, ч. 1. — С. 243—253.
2. Мильман Б.Л., Русских Я.В., Некрасова Л.В., Жаковская З.А. Подход к масс-спектрометрической идентификации цианобактериальных пептидов. Пример деметилмикроцистина-LR // Масс спектрометрия. — 2011. — Т. 8, № 1. — С. 51—60.
3. Поляк Ю.М., Зайцева Т.Б., Петрова В.Н., Медведева Н.Г. Развитие массовых видов цианобактерий в условиях загрязнения тяжелыми металлами // Гидробиол. журн. — 2011. — Т. 47, № 1. — С. 84—101.
4. Ahel M., Molnar E., Ibric M., Giger W. Estrogenic metabolites of alkylphenol polyethoxylates in secondary sewage effluents and rivers // Water Sci. Technol. — 2000. — Vol. 42. — P. 15—22.

5. *Baptista M.S., Stoichev T., Basto M.C.P. et al.* Fate and effects of octylphenol in a *Microcystis aeruginosa* culture medium // *Aquatic Toxicol.* — 2009. — Vol. 92, N 2. — P. 59—64.
6. *Brooke D., Johnson I., Mitchell R., Watts C.* Environmental risk evaluation report: 4-tert-octylphenol. — Bristol: Environment Agency, 2005. — 218 p.
7. *Camean A., Moreno I. M., Ruiz M.J., Pico Y.* Determination of microcistins in natural blooms and cyanobacterial strain cultures by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* — 2004. — Vol. 380. — P. 537—544.
8. *Christiansen G., Joshida W.Y., Blom J.F. et al.* Isolation and structure determination of two microcystins and sequence comparison of the McyABC Adenylation domains in *Planktothrix* species // *J. Nat. Prod.* — 2008. — Vol. 71. — P. 1881—1886.
9. *Chorus I., Bartram J.* Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. — London: F & FN Spon, 1999. — 400 p.
10. *David A., Fenet H., Gomez E.* Alkylphenols in marine environments: Distribution monitoring strategies and detection considerations // *Mar. Pol. Bull.* — 2009. — Vol. 58. — P. 953—960.
11. *Ferrara F., Fabietti F., Delise M. et al.* Alkylphenolic compounds in edible mollusks of the Adriatic Sea (Italy) // *Environ. Sci. Technol.* — 2001. — Vol. 35, N 15. — P. 3109—3112.
12. *Grabowska M., Mazur-Marzec H.* Vertical distribution of cyanobacteria biomass and cyanotoxin production in the polymictic Siemianywska Dam Reservoir (eastern Poland) // *Arch. Pol. Fish.* — 2014. — Vol. 22. — P. 41—51.
13. *Jin F., Hu J.J., Yang M.* Vertical distribution of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in sedimentary core from the Beipaiming Channel, North China // *J. Environ. Sci.* — 2007. — Vol. 19. — P. 353—357.
14. *Jonsson B.* Risk assessment on butylphenol, octylphenol and nonylphenol, and estimated human exposure of alkylphenols from Swedish fish *Ekotoxikologiska avdelningen* // Uppsala: Uppsala Univ., 2006. — Vol. 109. — 56 p.
15. *Kobbia I.A., Shabana E.F., Khalil Z., Zaki F.T.* Growth criteria of two common cyanobacteria isolated from Egyptian flooded soil, as influenced by some pesticides // *Water, Air and Soil. Pollut.* — 1991. — Vol. 60. — P. 1573—2932.
16. *Kurmayer R.* The toxic cyanobacterium *Nostoc* sp. Strain 152 produced highest amount of microcystin and nostophycin under stress conditions // *J. Phycol.* — 2011. — Vol. 47. — P. 200—207.
17. *Liber K., Rnuth M.L., Stay F.S.* An integrated evaluation of the persistence and effects of 4-nonylphenol in an experimental littoral ecosystem // *Environ. Toxicol. Chem.* — 1999. — Vol. 18, N 3. — P. 357—362.
18. *Lilja K., Norström K., Remberger M. et al.* Screening of selected hazardous substances in the eastern Baltic marine environment. Report B1874. IVL. // Stockholm: Swed. Environ. Res. Inst., 2009. — 57 p.
19. *Luukkainen R., Sivinen K., Namikoshi M. et al.* Isolation and identification of eight microcystins from thirteen *Oscillatoria agardhii* strains and structure of

- a new microcystin // Appl. Environ. Microbiol. — 1993. — Vol. 59, N 7. — P. 2204—2209.
20. Miles C.O., Sandvik M., Haande S. et al. LC-MS analysis with thiol derivatization to differentiate [Dhb7]-from [Mdha7] microcystins: analysis of cyanobacterial blooms, *Planktothrix* cultures and European crayfish from Lake Steinsfjorden, Norway // Environ. Sci. Technol. — 2013. — Vol. 47, N 9. — P. 4080—4087.
 21. Milman B.L., Zhurkovich I.K. Identification of toxic cyclopeptides based on mass spectrallibrarymatching // Anal. Chem. Res. — 2014. — <http://dx.doi.org/10.1016/j.ancr.2014.06.002>.
 22. Mutawie H.H. Assesment of hepatotoxins and neurotoxins from *Oscillatoria* species isolated from Makkah area, KSA using HPLC // Intern. Res. J. of Agr. Sci. and Soil Sci. — 2012. — Vol. 2, N 10. — P. 440—444.
 23. The Norine database; <http://bioinfo.lifl.fr/norine/index.jsp>.
 24. Rippka R., Deruelles J., Waterbury J.B. et al. Genetic assignments, strain histories and properties of pure culteres of cyanobacteria // J. Gen. Microbiol. — 1979. — Vol. 111. — P. 1—161.
 25. Servos M.R. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenols polyethoxylates // Water Qual. Res. J. Canad. — 1999. — N 34. — P. 123—177.
 26. Qian H., Pan X., Shi S. et al. Effect of nonylphenol on response of physiology and photosynthesis-related gene transcription of *Chlorella vulgaris* // Environ. Monit. Assess. — 2011. — N 182. — P. 61—69.
 27. Vazquez-Duhalt R., Marquez-Rocha F., Ponce E. et al. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. Scientific Review // J. Appl. Ecol. and Environ. Res. — 2005. — Vol. 4. — P. 1—25.
 28. Wang J., Xie P. Antioxidant enzyme activities of *Microcystis aeruginosa* in response to nonylphenols and degradation of nonylphenols by *M. aeruginosa* // Environ. Geochem. Health. — 2007. — Vol. 29. — P. 375—383.
 29. Wang J., Xie P., Guo N. Effects of nonylphenol on the growth and microcystin production of *Microcystis* strains // Environ. Res. — 2007. — Vol. 103, N 1. — P. 70—78.
 30. Yuan M., Namikoshi M., Otsuki A. et al. Low-energy collisionally activated decomposition and structural characterization of cyclic heptapeptide microcystins by electrospray ionization mass spectrometry // Journal of mass spectrometry. — 1999. — Vol. 34, N 1. — C. 33—43.
 31. Ying G.G., Williams B., Kookana R. Environmental fate of alkylphenol ethoxylates — A review // Environ. Intern. — 2002. — Vol. 28. — P. 215—226.

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН

² Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины Северо-Западного отделения РАМН

³ Санкт-Петербургский государственный технологический институт

Поступила 11.03.15