

УДК 574.3.556.531

Н. Г. Медведева¹, С. В. Зиновьева¹, Т. Б. Зайцева¹,
П. Д. Клоченко², Т. Ф. Шевченко²

**ТОКСИЧНОСТЬ 4-ТРЕТ-ОКТИЛФЕНОЛА И ЕГО
БИОДЕГРАДАЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ РОДА
MICROCYSTIS (CYANOPROKARYOTA)**

Исследованы токсическое действие 4-трет-октилфенола (ОФ) и его биодеградация микроводорослями рода *Microcystis* Kütz. ex Lemmerm., способными вызывать «цветение» воды. Выявлена различная чувствительность водорослей р. *Microcystis* к ОФ в зависимости от их видовой и штаммовой принадлежности. Показано, что снижение содержания ОФ в процессе культивирования исследуемых микроводорослей происходит главным образом за счет абиотических процессов (фотолиза, гидролиза) и биодеструкции и, в меньшей степени, вследствие сорбции поллютанта водорослевыми клетками. Одной из возможных причин низкой степени деструкции ОФ нетоксигенным штаммом *Microcystis aeruginosa* HPDP-6 может быть повышенный синтез экзополисахаридов.

Ключевые слова: 4-трет-октилфенол, микроводоросли, токсичность, деструкция, экзополисахариды.

В последние десятилетия становится все более актуальной проблема загрязнения окружающей среды органическими поллютантами, обладающими свойствами гормоноподобных соединений. Одно из ведущих мест среди гормоноподобных загрязнителей занимают алкилфенолы, в частности октилфенолы (ОФ).

ОФ применяются в производстве резин, фенолформальдегидных смол, красок, лаков, фармацевтической продукции. Массовое попадание ОФ в окружающую среду обусловлено и их образованием в результате разложения в окружающей среде неионогенных поверхностно-активных веществ — этоксилированных октилфенолов. ОФ попадают в окружающую среду в основном со сточными водами и обнаруживаются во всех объектах окружающей среды — воздухе, почве, воде, донных отложениях [25].

Благодаря своей схожести со структурой гормона эстрогена алкилфенолы имитируют его функции, связываясь с естественными рецепторами и изменяя синтез и распад естественных гормонов в организме [23, 26]. Среди известных алкилфенолов наибольшую эстрогенную активность проявляет 4-трет-октилфенол [14].

© Н. Г. Медведева, С. В. Зиновьева, Т. Б. Зайцева, П. Д. Клоченко,
Т. Ф. Шевченко², 2018

1. Токсичность октилфенола для водных организмов

Виды	LC ₅₀ , мкг/дм ³	Литературные источники
Рыбы		
<i>Pimephales promelas</i>	250	[17]
<i>Leuciscus idus</i>	600	[24]
Беспозвоночные		
<i>Daphnia magna</i>	270	[32]
Водоросли		
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	3750	[30]
<i>Oocystis parva</i>	3450	[30]
<i>Selenastrum capricornutum</i>	1900	[24]

Наряду с эстрогенным действием ОФ оказывает токсическое влияние на многие виды водных организмов. Острая и хроническая токсичность ОФ выявлена по отношению к рыбам, беспозвоночным и водорослям (табл. 1).

ОФ и его прекурсор — этоксилированный октилфенол включены в список приоритетных загрязняющих веществ Водной рамочной директивы ЕС [6] и Список веществ, представляющих особую опасность для Балтийского моря. В Норвегии использование ОФ и их этоксилатов ограничено с 2001 г. Тем не менее, в РФ, большинстве европейских стран, США, странах Азии ограничения на производство или использование ОФ до настоящего времени не установлены. Только в странах ЕС ежегодно производится около 23 000 т ОФ в год [16].

Несмотря на значительное число публикаций, посвященных токсическому действию алкилфенолов, и ОФ в том числе, на гидробионтов высших трофических уровней, данные по первичным продуцентам — микроводорослям — малочисленны.

Известно, что Суанорокарыота более чувствительны к ОФ по сравнению с зелеными водорослями. Рост *Anabaena variabilis*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Nodularia spumigena* и *Oscillatoria agardhii* подавляется на 50% под действием ОФ в концентрациях от 60 до 1500 мкг/дм³ в зависимости от вида [3, 30].

При низких концентрациях ОФ отмечена стимуляция роста токсигенной микроводоросли *M. aeruginosa* [30]. К серьезным негативным последствиям загрязнения ОФ относится стимуляция синтеза микроводорослями *M. aeruginosa* и *Planktothrix agardhii* альготоксинов и одорирующих веществ — геосмина и 2-метилизоборнеола, придающих воде токсичность и неприятный запах [1, 30].

Низкая растворимость ОФ в воде, так же как и наличие в молекуле бензольного кольца, обуславливают его низкую микробиологическую деградальность [11, 14].

В анаэробных донных отложениях микробная деградация ОФ не происходит [29]. В присутствии кислорода ОФ может подвергаться биодеградации некоторыми видами микроорганизмов и микроводорослей. Штамм *Sphingomonas* sp. PWE1, выделенный из активного ила очистных сооружений, использует ОФ в качестве единственного источника углерода и энергии. Отщепление алкильной цепи от молекулы ОФ происходит по пути ипсо-гидроксилирования [20].

ОФ могут подвергаться биодеградации и некоторыми видами микроводорослей, в том числе *M. aeruginosa*, *P. agardhii* и *Scenedesmus obliquus* [1, 3, 31]. Так, период полураспада ОФ в концентрации до 0,05 мг/дм³ в присутствии *M. aeruginosa* составил 9 сут по сравнению с 15 сут в контрольных условиях (без клеток). ОФ в более высокой концентрации исследуемый штамм *M. aeruginosa* не метаболизировал [3]. В отличие от *M. aeruginosa*, культура *P. agardhii* способна к биодеградации более высоких концентраций ОФ. При исходной концентрации ОФ 1,65 мг/дм³ к 14-м суткам культивирования происходит 100% удаление алкилфенола из нативного раствора *P. agardhii* [1]. Зеленая водоросль *S. obliquus* проявляла способность к биодеградации ОФ в концентрациях до 4 мг/дм³ [31]. Следует отметить, что во всех случаях удаление ОФ из растворов происходит главным образом за счет биодеструкции ОФ, а не за счет его сорбции клетками микроводорослей.

Однако в связи с малочисленностью исследований оценить вклад микроводорослей, в том числе возбудителей «цветения» воды, в процесс удаления ОФ из загрязненных водных объектов в настоящее время не представляется возможным.

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение токсичности октилфенола и его биодеградации различными, в том числе токсигенными, штаммами микроводорослей р. *Microcystis*, способных вызывать «цветение» воды.

Материал и методика исследований. В качестве объектов исследования использовали альгологически чистые культуры нетоксигенных штаммов *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. HPDP-6 и *Microcystis pulverea* (Wood) Forti emend Elenkin HPDP-30 (из коллекции Института гидробиологии НАН Украины) и токсигенный штамм *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. CALU-972 (из коллекции Биологического института СПб ГУ (Россия)).

Микроводоросли выращивали в течение 14 сут на среде BG-11 [22] в статических условиях в колбах Эрленмейера объемом 250 см³ (объем среды составлял 100 см³). Культивирование проводили при температуре 25 ± 2°С и освещенности 1000 лк, при режиме свет : темнота — 12 ч : 12 ч. В качестве посевного материала использовали культуры на логарифмической фазе роста.

4-*трет*-октилфенол (Sigma — Aldrich, США) вносили в питательные среды в виде растворов в диметилсульфоксиде (ДМСО), создавая концентрацию ОФ 0,5—4,0 мг/дм³. Содержание ДМСО в каждом варианте составляло 0,02% об. В указанной концентрации ДМСО не оказывает статистически значимого ($p \leq 0,05$) влияния на рост микроводорослей. Рост исследуемых организмов контролировали по сухой массе.

В качестве основных токсикологических параметров использовали НОЕС — наиболее высокие концентрации ОФ, при которых не наблюдается статистически значимого ($p \leq 0,05$) ингибирования роста, ЕС₅₀ и ЕС₉₀ — концентрации ОФ, вызывающие, соответственно, 50%-е и 90%-е ингибирование роста микроводорослей. Токсикологические параметры рассчитывали методом нелинейной регрессии [15].

Содержание растворимых экзополисахаридов определяли антроновым методом [9] с использованием спектрофотометра Genesys 10 UV scanning.

Определение количества ОФ, растворенного в среде и адсорбированного/абсорбированного клетками микроводорослей, проводили через 2, 5, 7, 9 и 12 сут культивирования.

Для определения концентрации ОФ в нативных растворах образец культуральной жидкости центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин, полученный супернатант использовали для определения содержания ОФ.

При определении количества адсорбированного ОФ клетки отделяли от нативного раствора центрифугированием при 6000 об/мин в течение 10 мин, ресуспендировали в 50 см³ дистиллированной воды и встряхивали в течение 30 мин для смыва с поверхности клеток адсорбированного ОФ, далее центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин. Полученный супернатант использовали для определения ОФ, адсорбированного на поверхности клеток.

Далее клетки микроводорослей ресуспендировали в 50 см³ 10%-го водного раствора метанола и замораживали. После размораживания суспензию встряхивали в течение 30 мин и центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин. Полученный супернатант использовали для определения ОФ, абсорбированного клетками.

Экстракцию ОФ из супернатантов и контрольной среды (без клеток микроводорослей) проводили гексаном по описанной ранее методике [1].

Анализ октилфенола проводили методом ВЭЖК на хроматографе Hewlett — Packard H 1090 с диодно-матричным детектором при длине волны 223 нм и разрешением 2 нм. Условия хроматографирования — колонка Discoveru HS C18 (75 мм × 2,1 мм, 3 мкм) производства Supelco (США), температура колонки — 35°C, скорость потока элюента — 0,4 см³/мин, объем пробы — 200 мм³. В качестве элюента использовали 70%-ный водный раствор ацетонитрила, содержащий 0,1% трифторуксусной кислоты. Степень извлечения ОФ из растворов составляла $98 \pm 1\%$, лимит детектирования — 5 мкг/дм³.

Степень удаления ОФ из нативного раствора R , степень абиотической убыли ОФ (в контрольных вариантах без клеток водорослей) $R_{\text{абиот}}$, долю сорбированного ОФ на и в клетках водорослей $R_{\text{сорб}}$, степень биодеструкции ОФ микроводорослями $R_{\text{биодестр}}$ рассчитывали по следующим формулам:

$$R (\%) = 100 \cdot (C_{\text{исх}} - C_{\text{оп}}) / C_{\text{исх}}$$

$$R_{\text{абиот}} (\%) = 100 \cdot (C_{\text{исх}} - C_{\text{абиот}}) / C_{\text{исх}}$$

$$R_{\text{сорб}} (\%) = 100 \cdot (C_{\text{адс}} + C_{\text{абс}}) / C_{\text{исх}}$$

$$R_{\text{биодестр}} (\%) = R - R_{\text{абиот}} - R_{\text{сорб}}$$

где $C_{\text{исх}}$ — исходная концентрация октилфенола ($\text{мг}/\text{дм}^3$) в среде; $C_{\text{оп}}$ и $C_{\text{абиот}}$ — соответственно остаточная концентрация октилфенола ($\text{мг}/\text{дм}^3$) в нативном растворе и в контроле (без клеток); $C_{\text{адс}}$ и $C_{\text{абс}}$ — соответственно концентрация ($\text{мг}/\text{дм}^3$) адсорбированного и абсорбированного клетками октилфенола.

Полученные данные представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение пяти независимых повторов каждого варианта с тремя параллельными повторностями. Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета компьютерных программ Statistica software (версия 6). Статистическая значимость была установлена при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Сравнительный анализ токсикологических параметров ОФ показал существенные различия в чувствительности водорослей р. *Microcystis* в зависимости от вида и даже штамма (табл. 2). Из числа исследованных культур нетоксигенный штамм *M. aeruginosa* HPDP-6 проявил наибольшую чувствительность к ОФ. Концентрации ОФ, соответствующие NOEC , EC_{50} и EC_{90} , для этого штамма в 1,4—1,8 раз ниже аналогичных параметров для штаммов *M. aeruginosa* CALU-972 и *M. pulvereae* HPDP-30. Следует отметить, что достоверных различий в значениях ($p \leq 0,05$) токсикологических параметров токсигенного штамма *M. aeruginosa* CALU-972 и штамма *M. pulvereae* HPDP-30 не выявлено.

Различная чувствительность к алкилфенолам, в том числе и ОФ, у микроводорослей в зависимости от видовой, родовой и штаммовой принадлежности отмечались ранее нами и другими авторами [28, 30].

Микроводоросли могут адаптироваться к стрессу, вызванному алкилфенолами, в том числе ОФ и нонилфенолом, с помощью физиологических и биохимических изменений, происходящих в клетках.

Известно, что алкилфенолы влияют на фотосинтетические процессы у микроводорослей [1, 3, 12, 13, 28, 30, 31]. Действие алкилфенолов затрагивает, прежде всего, фотосистему II, причем у зеленых водорослей этот эффект проявляется в меньшей степени, чем у Cyanoprokaryota, что, по мнению ав-

2. Токсикологические параметры октилфенола для микроводорослей р. *Microcystis*

Штаммы	Концентрация ОФ, мг/дм ³		
	NOEC	EC ₅₀	EC ₉₀
<i>Microcystis aeruginosa</i> HPDP-6	1,12 ± 0,15	1,65 ± 0,20	2,05 ± 0,22
<i>Microcystis aeruginosa</i> CALU-972	1,80 ± 0,21	2,80 ± 0,32	3,60 ± 0,44
<i>Microcystis pulverea</i> HPDP-30	1,60 ± 0,18	2,80 ± 0,33	3,40 ± 0,35

торов, объясняет их большую устойчивость к воздействию токсикантов [18]. Показано, что нонилфенол ингибирует транскрипцию генов фотосинтеза у *Chlorella vulgaris* [21], а также вызывает окислительный стресс за счет сверхпродукции активных форм кислорода у зеленых и диатомовых водорослей, а также *Suaanoprokaryota*. В ответ на окислительный стресс микроводоросли активируют энзиматические и не энзиматические адаптационные факторы защиты клеток — повышенный синтез супероксиддисмутазы, каталазы, восстановленного глутатиона и пролина [8, 12, 13, 21, 27]. Учитывая сходство структуры нонилфенола и ОФ, можно предположить, что ОФ будет оказывать аналогичное влияние на клетки микроводорослей.

Токсическое действие ОФ на гидробионтов может быть снижено в результате его деструкции в водной среде. Известно, что в условиях освещенности в воде происходит деструкция ОФ, в основном, за счет фотолиза. Наличие в воде таких примесей, как нитрат-ионы (2 мг/дм³), в 8 раз ускоряет фотолитическое разложение ОФ, в то время как гуминовые вещества тормозят этот процесс [4].

Исследования процессов удаления ОФ клетками водорослей р. *Microcystis* проводили при использовании концентрации ОФ 1,5 мг/дм³.

В условиях эксперимента в контрольном варианте (без клеток водорослей) отмечено снижение концентрации ОФ за счет абиотических процессов, главным образом фотолиза и гидролиза. Время полураспада ОФ (T₅₀) в абиотическом контроле составило 6 сут, через 12 сут в растворе оставалось 38% от исходного содержания октилфенола (табл. 3, рисунок).

В присутствии клеток исследуемых штаммов р. *Microcystis* убыль ОФ из нативных растворов происходила быстрее по сравнению с абиотическим контролем. За первые двое суток содержание ОФ в абиотическом контроле снизилось на 20,1%, в то время как в нативных растворах — на 39,3—72,7% в зависимости от штамма микроводорослей. Наименьшую эффективность в удалении ОФ проявил наиболее чувствительный к ОФ нетоксигенный штамм *M. aeruginosa* HPDP-6, в нативном растворе которого убыль 50% октилфенола происходила за 3-е суток, между тем значение T₅₀ для токсигенного штамма *M. aeruginosa* CALU-972 и штамма *M. pulverea* HPDP-30 составило одни сутки. Через 12 сут культивирования в нативном растворе нетоксигенного штамма *M. aeruginosa* HPDP-6, оставалось около 10% от исходного содержания октилфенола, а его содержание в нативных растворах двух дру-

3. Прирост биомассы, содержание октилфенола в нативных растворах и сорбция октилфенола клетками микроводорослей р. *Microcystis*

Штаммы	Время, сут	Прирост биомассы, г/дм ³	Содержание ОФ в нативных растворах		Количество ОФ, адсорбированного на клетках		Количество ОФ, адсорбированного в клетках		Адсорбция/ абсорбция
			мг/дм ³	Доля от контроля, %	мг/дм ³ ·мг/дм ³	мг/г а. с. в.	мг/дм ³	мг/г а. с. в.	
<i>Microcystis aeruginosa</i> HPDP-6	2	0,010 ± 0,002	0,910 ± 0,040	60,7	0,041 ± 0,011	4,100 ± 0,900	0,0120 ± 0,0040	1,200 ± 0,300	3,4
	5	0,034 ± 0,001	0,480 ± 0,020	32,0	0,031 ± 0,011	0,910 ± 0,200	0,0065 ± 0,0007	0,190 ± 0,004	4,8
	7	0,042 ± 0,003	0,300 ± 0,020	20,0	0,013 ± 0,004	0,310 ± 0,100	0,0043 ± 0,0005	0,100 ± 0,010	3,0
	9	0,049 ± 0,003	0,200 ± 0,010	13,3	0,009 ± 0,001	0,180 ± 0,010	0,0035 ± 0,0005	0,070 ± 0,001	2,6
<i>Microcystis pulverea</i> HPDP-30	12	0,050 ± 0,002	0,160 ± 0,030	10,7	0,007 ± 0,001	0,140 ± 0,010	0,0029 ± 0,0002	0,060 ± 0,001	2,3
	2	0,025 ± 0,003	0,410 ± 0,020	27,3	0,043 ± 0,006	1,720 ± 0,600	0,0160 ± 0,0050	0,640 ± 0,210	2,7
	5	0,082 ± 0,010	0,165 ± 0,018	11,0	0,035 ± 0,005	0,430 ± 0,800	0,0110 ± 0,0030	0,130 ± 0,001	3,2
	7	0,120 ± 0,007	0,091 ± 0,004	6,1	0,011 ± 0,001	0,092 ± 0,007	0,0040 ± 0,0005	0,033 ± 0,001	2,8
	9	0,190 ± 0,010	0,044 ± 0,005	2,9	0,009 ± 0,002	0,049 ± 0,005	0,0039 ± 0,0004	0,020 ± 0,001	2,4
	12	0,200 ± 0,020	—	—	0,007 ± 0,001	0,036 ± 0,007	0,0030 ± 0,0004	0,015 ± 0,001	2,4

Продолжение табл. 3

Штаммы	Время, сут	Прирост биомассы, г/дм ³	Содержание ОФ в нативных растворах		Количество ОФ, адсорбированного на клетках		Количество ОФ, адсорбированного в клетках		Адсорбция/ абсорбция
			мг/дм ³	Доля от контроля, %	мг/дм ³ мг/дм ³	мг/г а. с. в.	мг/дм ³	мг/г а. с. в.	
<i>Microcystis aeruginosa</i> CALU-972	2	0,027 ± 0,003	0,470 ± 0,050	31,3	0,044 ± 0,006	1,630 ± 0,500	0,0120 ± 0,0040	0,440 ± 0,230	3,7
	5	0,060 ± 0,005	0,180 ± 0,010	12,0	0,034 ± 0,005	0,570 ± 0,090	0,0097 ± 0,0020	0,160 ± 0,030	3,5
	7	0,090 ± 0,010	0,090 ± 0,006	6,0	0,010 ± 0,001	0,110 ± 0,008	0,0065 ± 0,0007	0,072 ± 0,002	1,5
	9	0,100 ± 0,010	0,043 ± 0,005	2,9	0,009 ± 0,001	0,081 ± 0,009	0,0035 ± 0,0005	0,035 ± 0,001	2,5
	12	0,100 ± 0,020	—	—	0,008 ± 0,001	0,075 ± 0,009	0,0031 ± 0,0002	0,031 ± 0,001	2,4

гих штаммов р. *Microcystis* было ниже уровня детекции (см. табл. 3, рисунок). Следует отметить, что статистически достоверных различий между штаммами *M. aeruginosa* CALU-972 и *M. pulvereae* HPDP-30 в удалении октилфенола из нативных растворов не выявлено.

Удаление октилфенола из нативных растворов всеми изученными штаммами р. *Microcystis* происходит как путем биодеструкции поллютанта, так и его сорбции клетками микроводорослей.

Клетки нетоксигенного штамма *M. aeruginosa* HPDP-6 в расчете на 1 г а. с. в. адсорбировали на клеточной поверхности и абсорбировали внутри клеток в 1,8—2,7 раза больше ОФ, чем токсигенный штамм *M. aeruginosa* CALU-972 и штамм *M. pulvereae* HPDP-30 (см. табл. 3). При этом у всех изученных штаммов р. *Microcystis* количество адсорбированного клетками ОФ превышало количество ОФ, проникающего в клетки, в 1,5—4,8 раза.

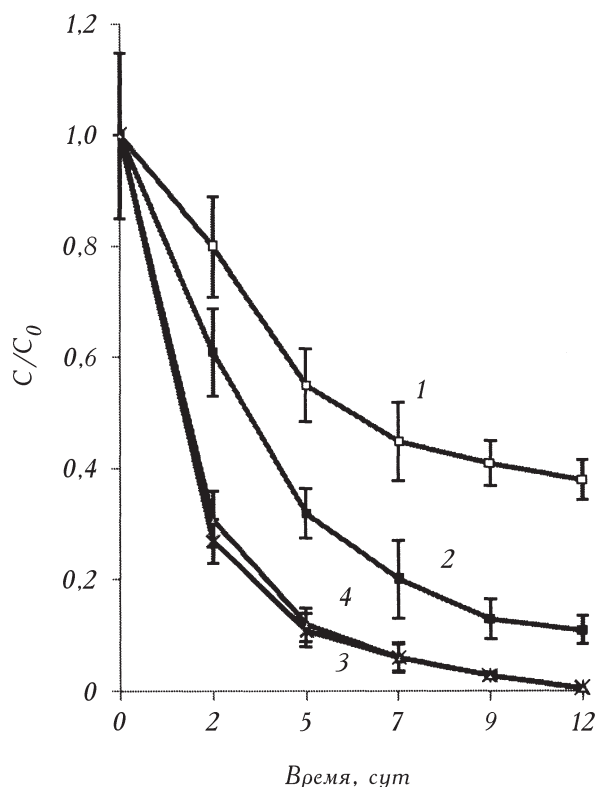
Несмотря на то, что сорбционная способность нетоксигенного штамма *M. aeruginosa* HPDP-6 достоверно ($p \leq 0,05$) превышала удельную сорбцию ОФ клетками *M. pulvereae* HPDP-30 и токсигенного штамма *M. aeruginosa* CALU-972, степень удаления октилфенола из натив-

ных растворов за счет сорбции клетками микроводорослей была сопоставима у всех изученных культур, так как нетоксигенный штамм *M. aeruginosa* HPDP-6 в присутствии ОФ характеризовался меньшей биомассой. На вторые сутки культивирования за счет сорбции клетками микроводорослей из нативных растворов удалялось 3,5—3,9% от исходного количества ОФ, затем величина показателя $R_{\text{сорб}}$ в процессе культивирования снижалась (табл. 3, 4).

Следует отметить, что на протяжении всего процесса культивирования количество ОФ, аккумулированного на и в клетках микроводорослей, было значительно ниже количества ОФ, подвергнувшегося биодegradации (см. табл. 4). Максимальная степень биодegradации октилфенола нетоксигенным штаммом *M. aeruginosa* HPDP-6 составляла 27,1%, в то время как у токсигенного штамма *M. aeruginosa* CALU-972 и штамма *M. pulvereae* HPDP-30 степень удаления ОФ из нативных растворов за счет биодеструкции была значительно выше и составила 44,9—48,7%.

Полученные результаты позволяют заключить, что снижение содержания ОФ в процессе культивирования исследуемых микроводорослей р. *Microcystis* происходит главным образом за счет абиотических процессов (фотолиза и гидролиза) и биодеструкции, в меньшей степени — за счет сорбции поллютанта водорослевыми клетками.

Ранее аналогичные результаты по удалению ОФ из нативных растворов культурой *M. aeruginosa* были получены португальскими учеными [3]. Однако следует отметить, что исследуемая ими культура отличалась значительно меньшей устойчивостью к ОФ ($EC_{50} = 0,07 \text{ мг/дм}^3$) и деградировала ОФ при



Удаление ОФ из нативных растворов: 1 — абиотический контроль; 2 — *Microcystis aeruginosa* HPDP-6; 3 — *Microcystis pulvereae* HPDP-30; 4 — *Microcystis aeruginosa* CALU-972.

4. Степень абиотической убыли, удаления из нативных растворов, биодеструкции и сорбции октилфенола микроводорослями р. *Microcystis*

Штаммы	Время, сут	R, %	R _{абиот} , %	R _{сорб} , %	R _{биодестр} , %
<i>Microcystis aeruginosa</i> HPDP-6	2	39,3	20,1	3,5	15,7
	5	68,0	45,3	2,5	20,2
	7	80,0	54,9	1,2	23,9
	9	86,7	58,8	0,8	27,1
	12	89,3	62,0	0,7	26,6
<i>Microcystis pulverea</i> HPDP-30	2	72,7	20,1	3,9	48,7
	5	89,0	45,3	3,1	40,6
	7	93,9	54,9	1,0	38,0
	9	97,1	58,8	0,9	37,4
	12	100,0	62,0	0,7	37,3
<i>Microcystis aeruginosa</i> CALU-972	2	68,7	20,1	3,7	44,9
	5	88,0	45,3	2,9	39,8
	7	94,0	54,9	1,1	38,0
	9	97,1	58,8	0,8	37,5
	12	100,0	62,0	0,7	37,3

значительно более низких концентрациях — до 0,05 мг/дм³, по сравнению с исследуемыми в данной работе штаммами р. *Microcystis*.

Низкая скорость удаления октилфенола из нативных растворов нетоксигенного штамма *M. aeruginosa* HPDP-6 может быть связана с более интенсивным синтезом этим штаммом водорастворимых экзополисахаридов по сравнению с двумя другими изученными штаммами р. *Microcystis* (табл. 5).

Количество образуемых экзополисахаридов зависело от вида микроводорослей, но для всех культур увеличивалось в присутствии ОФ. Максимальное количество экзополисахаридов, как в контрольных вариантах, так и под действием ОФ — соответственно 195,6 и 254,3 мг глюкозных единиц в расчете на 1 г а. с. в. — было образовано нетоксигенным штаммом *M. aeruginosa* HPDP-6. Токсигенный штамм *M. aeruginosa* CALU-972 и штамм *M. pulverea* HPDP-30 выделяли полисахариды в нативный раствор в значительно меньшем количестве (см. табл. 5).

Известно, что под действием неблагоприятных факторов, в том числе токсикантов, усиливается синтез внеклеточных полисахаридов микроводорослями [2, 5, 7, 10, 19]. Экзопалисахариды играют важную роль в связывании токсикантов органической и неорганической природы, тем самым снижая их токсическое действие. С другой стороны, связывание ОФ экзополи-

5. Синтез экзополисахаридов микроводорослями р. *Microcystis*

Штаммы	Октилфенол, мг/дм ³	Экзополисахариды	
		мг глю/г а. с. в.	доля от контроля, %
<i>Microcystis aeruginosa</i> HPDP-6	Контроль	195,6 ± 20,3	
	1,5	254,3 ± 30,1	130
<i>Microcystis pulverea</i> HPDP-30	Контроль	43,8 ± 4,7	
	1,5	85,4 ± 7,7	195
<i>Microcystis aeruginosa</i> CALU-972	Контроль	20,1 ± 4,1	
	1,5	30,4 ± 3,3	151

сахаридами может снижать степень его деградации, как абиотической, так и биологической. Известно, что растворимые экзометаболиты *M. aeruginosa* затрудняют деградацию ОФ [3].

Полученные нами данные позволяют предположить, что низкая степень деградации ОФ нетоксичным штаммом *M. aeruginosa* HPDP-6 может быть обусловлена более интенсивным синтезом экзополисахаридов.

Заключение

В последние годы становится все более актуальной проблема загрязнения объектов окружающей среды гормоноподобными соединениями, в том числе октилфенолами.

Опасное действие ОФ на гидробионтов связано с тем, что они являются разрушителями эндокринной системы и, из-за своего сходства с эстрогеном, нарушают нормальный баланс гормонов в живых организмах.

ОФ оказывает токсическое действие на гидробионтов, в том числе на микроводоросли р. *Microcystis*. Выявлена различная чувствительность к поллютанту в зависимости от видовой и штаммовой принадлежности водорослей.

Все изученные штаммы р. *Microcystis* обладают способностью удалять ОФ из водных растворов. Снижение содержания ОФ в процессе культивирования микроводорослей р. *Microcystis* происходит главным образом за счет абиотических процессов (фотолиза и гидролиза) и биодеструкции, в меньшей степени — за счет его сорбции водорослевыми клетками.

Одной из причин низкой скорости удаления ОФ из нативных растворов нетоксичного штамма *M. aeruginosa* HPDP-6 может являться повышенный синтез им водорастворимых экзополисахаридов, выполняющих в этом случае протекторную функцию.

Регуляторное влияние ОФ на микроводоросли может проявиться в их сукцессии в водных объектах, загрязненных данным поллютантом, а также в развитии массовых видов, в том числе возбудителей «цветения» воды.

**

Досліджено токсичний вплив 4-трет-октилфенолу (ОФ) та його біодеградацію микроводоростями роду *Microcystis* Kütz. ex Lemm. здатних викликати «цвітіння» води. Виявлено різну чутливість водоростей р. *Microcystis* до ОФ в залежності від їх видової і штамової приналежності. Показано, що зниження вмісту ОФ в процесі культивування досліджуваних микроводоростей відбувається, головним чином, за рахунок абіотичних процесів (фотолізу, гідролізу) і біодеструкції та, в меншій мірі, внаслідок сорбції поллютанту водоростевими клітинами. Однією із можливих причин низького ступеня деструкції ОФ нетоксигенним штамом *Microcystis aeruginosa* HPDP-6 може бути підвищений синтез ним екзополісахаридів.

**

The effect of 4-tert-octylphenol (OP) and its biodegradation by water bloom forming microalgae of the genus *Microcystis* Kütz. ex Lemm. were investigated. The different sensitivity depending on the species and the strain of the algae was revealed. The removal of OP from the cultural medium was primarily due to abiotic processes (photolysis, hydrolysis) and biodegradation by the microalgae rather than sorption by the cells. The obtained data suggest that a low degree of OP degradation by the non-toxic strain *Microcystis aeruginosa* HPDP-6 can be conditioned by more intensive synthesis of exopolysaccharides.

**

1. Зайцева Т.Б., Мильман Б.А., Луговкина Н.В. и др. Влияние октил- и нонилфенолов на рост, фотосинтетическую активность и токсинообразование цианобактерии *Planktothrix agardhii* (Gom.) Anagnostidis et Komarek // Гидробиол. журн. — 2015. — Т. 51, № 4. — С. 40—52.
2. Поляк Ю.М., Зайцева Т.Б., Петрова В.Н., Мегведева Н.Г. Развитие массовых видов цианобактерий в условиях загрязнения тяжелыми металлами // Там же. — 2011. — Т. 47, № 1. — С. 84—101.
3. Baptista M.S., Stoichev T., Basto M.C.P. et al. Fate and effects of octylphenol in a *Microcystis aeruginosa* culture medium // Aquat. Toxicol. — 2009. — Vol. 92, N 2. — P. 59—64.
4. Bledzka D., Gryglik D., Miller J.S. Photolytic degradation of 4-tert-octylphenol in aqueous solution // Environment Protection Engineerig. — 2009. — Vol. 35, N 3. — P. 235—247.
5. De Philippis R., Sili C., Vincenzini M. Response of an exopolysaccharide-producing heterocystous cyanobacterium to changes in metabolic carbon flux // J. Appl. Phycol. — 1996. — Vol. 8. — С. 275—281.
6. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy of 23 October 2000 // CELEX-EUR Official Journal L 327. — 2000. — P. 1—72.
7. Fiori E., Mazzotti M., Guerrini F., Pistocchi R. Combined effects of the herbicide terbutylazine and temperature on different flagellates from the Northern Adriatic Sea // Aquat. Toxicol. — 2013. — Vol. 128—129. — С. 79—90.

8. Gao Q.T., Tam N.F.Y. Growth, photosynthesis and antioxidant responses of two microalgal species, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*, to nonylphenol stress // *Chemosphere*. — 2011. — Vol. 82, N 3. — P. 346—354.
9. Herbert D., Phipps P.J., Strange R.E. Chapter III. Chemical Analysis of Microbial Cells // *Methods in Microbiology*. — 1971. — Vol. 5 (PART B). — P. 209—344.
10. Li M., Zhu W., Dai X., Li X. Effects of linear alkylbenzene sulfonate on extracellular polysaccharide content and cells per particle of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* // *Fresenius Environ. Bull.* — 2013. — Vol. 22 (4 B). — P. 1189—1194.
11. Linterwann J., Katayama A., Kuriharfa N. et al. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report), *Pure Applied Chemistry*. — 2003. — Vol. 75, N 5. — P. 631—681.
12. Liu Y., Guan Y., Gao Q. et al. Cellular responses, biodegradation and bioaccumulation of endocrine disrupting chemicals in marine diatom *Navicula incerta* // *Chemosphere*. — 2010. — Vol. 80. — P. 592—599.
13. Medvedeva N., Zaytseva T., Kuzikova I. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol by the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* 1113 // *J. Mar. Syst.* — 2017. — Vol. 171. — P. 120—128.
14. Ning B., Graham N., Zhang Y. Degradation of octylphenol and nonylphenol by ozone. Part 1. Direct reaction // *Chemosphere*. — 2007. — Vol. 68. — P. 1163—1171.
15. Nyholm N., Settergren P. S., Kusk K.O., Christensen E.R. Statistical treatment of data from microbial toxicity tests // *Environ. Toxicol. Chem.* — 1992. — Vol. 11. — P. 157—167.
16. OSPAR Commission. 2006. Octylphenol. Hazardous substances Series. ISBN 1-905-859-00-7.
17. Panter G.H., Hutchinson T.H., Hurd K.S. et al. R. Development of chronic tests for endocrine active chemicals. Part 1. An extended fish early-life stage test for oestrogenic active chemicals in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) // *Aquat. Toxicol.* — 2006. — Vol. 77. — P. 279—290.
18. Perron M., Juneau P. Effect of endocrine disrupters on photosystem II energy fluxes of green algae and cyanobacteria // *Environ. Res.* — 2011. — Vol. 111. — P. 520—529.
19. Polyak Y., Zaytseva T., Medvedeva N. Response of toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to environmental pollution // *Water, Air, & Soil Pollution*. — 2013. — Vol. 224, N 4. — P. 1494—1507.
20. Porter A.W., Hay A.G. Identification of opd A, a gene involved in biodegradation of the endocrine disrupter octylphenol // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2007 — Vol. 73. — P. 7373—7379.
21. Qian H., Pan X., Shi S. et al. Effect of nonylphenol on response of physiology and photosynthesis-related gene transcription of *Chlorella vulgaris* // *Environ. Monitoring and Assessment*. — 2011. — Vol. 182 (1—4). — P. 61—69.
22. Rippka R., Deruelles J., Waterbury J.B. et al. Genetic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria // *J. Gen. Microbiol.* — 1979. — Vol. 111. — P. 1—161.

23. Schantz S.L., Widholm J.J. Cognitive effects of endocrine-disrupting chemicals in animals // Environ. Health Perspect. — 2001. — Vol. 109, N 12. — P. 1197—1206.
24. SIDS Initial Assessment Report for SIAM 3. Phenol, 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl). Williamsburg, Virginia. — 1995. — 54 p.
25. UK Environment Agency. Environmental Risk Evaluation Report: 4-tert-Octylphenol. London: Environment Agency. — 2005. — 206 p.
26. Vazquez-Duhalt R., Marquez-Rocha F., Ponce E. et al. Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. Scientific Review // Appl. Ecol. and Environ. Res. — 2005. — Vol. 4. — P. 1—25.
27. 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.
28. 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.
29. Johnson A. C., White C., Bhardwaj L., Yurgens M. D. Environmental chemistry — potential for octylphenol to biodegrade in some English rivers // Environ. Toxicol. and Chemistry. — 2000. — Vol. 19, N10. — P. 2486—2492.
30. Zaytseva T.B., Medvedeva N.G., Mamontova V.N. Peculiarities of the effect of octyl- and nonylphenols on the growth and development of microalgae // Inland Water Biol. — 2015. — Vol. 8, N 4. — P. 406—413.
31. Zhou G-J., Peng Fu-Q., Yang B., Ying G-G. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol and octylphenol in the freshwater green microalgae *Scenedesmus obliquus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. — 2013. — Vol. 87. — P. 10—16.
32. Zou E., Fingerman M. Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna* // Ibid. — 1997. — Vol. 38, N 3. — P. 281—285.

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский
центр экологической безопасности РАН

² Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

Поступила 31.05.17