

10. Ng C., Goh S.G., Saeidi N. et al. Occurrence of *Vibrio* species, beta-lactam resistant *Vibrio* species, and indicator bacteria in ballast and port waters of a tropical harbor. *Science of the Total Environment*. 2018, 610-611: 651-656.
11. Nováková D., Sedláček I., Pantucek R. *Staphylococcus equorum* and *Staphylococcus succinus* isolated from human clinical specimens. *J. Medical Microbiology*. 2006, 55: 523-528.
12. Rajilić-Stojanović M., de Vos W.M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiol. Rev.* 2014, 38 (5): 996-1047.
13. Ramnrez-Castillo F.Y., Loera-Muro A., Jacques M. et al. Waterborne Pathogens: Detection Methods and Challenges. *Pathogens*. 2015, 4: 307-334.
14. Robins P.E., Skov M.W., Lewis Matt J. et al. Impact of climate change on UK estuaries: A review of past trends and potential projections. *Estuarine Coastal Shelf Science*. 2016, 169: 119-135.
15. Rose J.B., Epstein P.R., Lipp E.K. et al. Climate Variability and Change in the United States: Potential Impacts on Water and Foodborne Diseases Caused by Microbiologic Agents. *Environmental Health Perspectives*. 2001, 109 (suppl. 2): 211-221.

© Т.Н.ЯЦЕНКО-СТЕПАНОВА, М.Е.ИГНАТЕНКО, 2018

Т.Н.Яценко-Степанова, М.Е.Игнатенко

ПОТЕНЦИАЛЬНО ОПАСНЫЕ ЦАНОБАКТЕРИЯ ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург

Цель. Определение видового состава *Cyanobacteria* грязе-рапного участка реки Тузлукколь и выявление потенциально опасных представителей данной группы микроорганизмов. *Материалы и методы.* Исследовано 270 образцов (из них 135 количественные), отобранных в весенне-осенний период 2012-2017 гг. в соответствии с общепринятыми методиками. Идентификацию цианобактерий проводили согласно определителям отечественных и зарубежных авторов, для подсчета численности использовали камеру Нажотта объемом 0,01 см³, биомассу определяли расчетно-объемным методом. *Результаты.* Выявлено 25 видов, разновидностей и форм *Cyanobacteria*. Четыре рода (*Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nodularia* и *Lyngbya*) — потенциально способны продуцировать гепато-, нейро- и дерматотоксины. Общее количество цианобактерий в отдельные периоды превышало показатели, рекомендованные ВОЗ в водах для купания почти в 5 раз. *Заключение.* Результаты исследования доказывают необходимость систематического контроля *Cyanobacteria* (видовой состав и количественное развитие), без которого используемый населением в бальнеологических целях грязе-рапный участок не может считаться безопасным для здоровья людей.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 95—100

Ключевые слова: *Cyanobacteria*, токсины, автотрофные микроорганизмы, минерализация

T.N.Yatsenko-Stepanova, M.E.Ignatenko

POTENTIALLY DANGEROUS *CYANOBACTERIA* OF THERAPEUTIC MUD

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Aim. Determination of *Cyanobacteria* species composition in the Tuzlukkol River part with mud and brine and identification of potentially dangerous representatives of this group of microorganisms. *Materials and methods.* 270 samples were analyzed (135 of them — quantitatively), selected in the spring-autumn periods 2012-2017 in accordance with generally accepted methods. Identification of cyanobacteria was carried out according to the algae identification guides of domestic and foreign authors, the chamber of Najotta with a volume of 0.01 cm³ was used to calculate the algae quantity. The algae biomass was calculated taking into account the

volume of the cells. *Results.* 25 species, varieties and forms of *Cyanobacteria* have been identified. Four genera (*Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nodularia* and *Lyngbya*) were potentially capable to produce hepato-, neuro- and dermatotoxins. In some periods the total number of cyanobacteria exceeded almost 5 times the standard recommended by WHO in bathing waters. *Conclusion.* The results of the study demonstrate the necessity of *Cyanobacteria* monitoring (species composition and quantity) to prove the mud safety for people health during balneotherapy.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 95–100

Key words: *Cyanobacteria*, toxins, autotrophic microorganisms, salinity

ВВЕДЕНИЕ

Сегодня одним из объектов пристального внимания токсикологов являются *Cyanobacteria* (=Суанопрокарйота, =Суанопхита). Это обусловлено способностью данной группы микроорганизмов продуцировать разнообразные токсины, представляющие реальную опасность как для обитателей водоемов, так и для человека [1, 2, 8, 10, 14]. К настоящему моменту среди цианобактерий выявлено свыше 50 потенциально токсигенных видов [2]. Они обнаружены по всему миру в большинстве озёр и водохранилищ [6 — 8, 10, 11].

Широкое распространение токсичных цианобактерий и их опасность для человека превратились в серьезную проблему, решение которой не ограничивается только изучением цианотоксинов, а требует практических действий, в том числе государственного и международного уровня. Для защиты здоровья населения от последствий, вызванных действием цианотоксинов, уже разработаны рекомендации ВОЗ и введён рекомендуемый ориентировочный уровень как к концентрациям отдельных токсинов (например, МС-LR: в питьевой воде не должна превышать 1 мкг/л, а в водах для купания — 2-4 мкг/л), так и количеству клеток — 20 млн цианопрокарйотных клеток/л в условиях доминирования *Cyanoprokaryota* [15]. Рассматривается эта проблема и в международных документах OECD [13]. Особо указано, что под контролем должны находиться не только источники питьевого водоснабжения, но и водоемы, имеющие рекреационное значение.

Одним из таких мест является грязе-рапный участок реки Тузлукколь (Оренбургская область), используемый населением для принятия минеральных и грязевых ванн в бальнеологических целях. Отсутствие информации о токсинопродуцирующих цианобактериях и бесконтрольное применение данного участка реки создают потенциальную угрозу здоровью людей.

Исходя из этого, целью настоящей работы явилось определение видового состава *Cyanobacteria* грязе-рапного участка реки Тузлукколь и выявление потенциально опасных представители данной группы микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы (270, из них 135 — количественные), отобранные как на грязе-рапном участке реки (51°33' с.ш., 56°60' в.д.), так и в озерах-воронках, выкопанных населением в прирусловой зоне с целью принятия грязевых ванн. Грязе-рапный участок реки Тузлукколь имеет геологическое происхождение. Его образование связано с выходом на поверхность солей и гипсов кунгурского яруса нижней перми, по которым протекает река. Здесь же находятся минеральные источники (минерализация до 13,6 г/л) и две самоизливающиеся скважины (минерализация

26,2-168,6 г/л). Рекреационная нагрузка на исследуемый участок составляла в среднем около 30 человек в день.

Отбор проб проводили в весенне-осенний период с 2012 по 2017 гг. в соответствии с общепринятыми методическими подходами [9].

Идентификацию цианобактерий проводили согласно определителям отечественных и зарубежных авторов [1, 3, 5, 8, 12], для подсчета численности использовали камеру Нажотта объемом 0,01 см³, биомассу определяли расчетно-объемным методом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Высокая физиологическая пластичность цианобактерий способствует их широкому распространению и возможности существования в самых различных местообитаниях [6]. Тем не менее, повышенное содержание солей в воде является фактором, создающим особые условия для жизни и ограничивающим видовое богатство. Вероятно, этим можно объяснить сравнительно низкое разнообразие Cyanobacteria (25 видов, разновидностей и форм) грязе-рапного участка реки Тузлукколь: *Anabaena Bergii* f. *minor* (Kissel.) Kossinsk. (= *Chrysochloris minor* (Kiselev) Komárek); *Anabaena oscillarioides* Bory (= *Anabaena oscillarioides* Bory ex Borent et Flahault); *Anabaena variabilis* Kütz. ex Bornet et Flahault (= *Trichormus variabilis* (Kütz. ex Bornet et Flahault) Komárek et Anagn.); *Anabaena* spp.; *Gomphosphaeria lacustris* Chodat (= *Snowella lacustris* (Chodat) Komárek et Hindák); *Lyngbya aestuarii* (Mert.) Liebm. (= *Lyngbya aestuarii* Liebm. ex Gomont); *Lyngbya confervoides* Ag. (= *Lyngbya confervoides* Agardh ex Gomont); *Lyngbya cryptovaginata* Schkorb. (= *Planktothrix cryptovaginata* (Schkorbatov) Anagn. et Komárek); *Lyngbya limnetica* Lemm. (= *Planktolyngbya limnetica* (Lemm.) Kom.-Legn. et Cronb.); *Lyngbya* spp.; *Merismopedia punctata* Meyen; *Merismopedia tenuissima* Lemmerm.; *Nodularia harveyana* Thur. ex Bornet et Flahault; *Nodularia spumigena* Mert. ex Bornet et Flahault; *Oscillatoria amphibia* Agardh ex Gomont (= *Geitlerinema amphibia* (Agardh ex Gomont) Anagn.); *Oscillatoria angustissima* West et G.S. West (= *Jaaginema angustissimum* (West et G.S. West) Anagn. et Komárek); *Oscillatoria brevis* Kütz. ex Gomont (= *Phormidium breve* (Kütz. ex Gomont) Anagn. et Komárek); *Oscillatoria chalybea* f. *conoidea* V. Poljansk.; *Oscillatoria limosa* f. *constricta* Biswas (= *Oscillatoria limosa* Agardh ex Gomont); *Oscillatoria* spp.; *Snowella rosea* (Snow) Elenkin; *Spirulina major* Kütz. ex Gomont; *Spirulina subtilissima* Kütz. ex Gomont; *Synechocystis sallensis* Skuja; *Synechocystis parvula* Perfiliev.

Проведенный анализ литературных данных позволил выявить среди установленных цианобактерий четыре рода автотрофных микроорганизмов, потенциально способных продуцировать гепато-, нейро- и дерматотоксины. Это *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Nodularia* и *Lyngbya*. Кроме того, все 25 видов обнаруженных цианобактерий обладают раздражающим эффектом за счет липополисахаридов (LPS) [2, 14]. В связи с этим, необходимо было проследить динамику количественных показателей, поскольку токсический эффект напрямую зависит от степени развития цианобактерий [7].

Установлено, что на изучаемом участке реки Тузлукколь характерной особенностью цианобактериального сообщества являлась большая пестрота состава и значительный разброс величин численности и биомассы автотрофных прокарриот в разные сезоны и разные годы. На мелководных, хорошо прогреваемых участках весенняя вегетация Cyanobacteria начинается рано. Так, в начале мая 2014 г. при температуре воды в точке отбора проб 19°C количество синезеленых прокарриот составляло уже 7,6 млн кл/л. за счет разви-

тия *O. angustissima*, *O. amphibia*, *L. limnetica*. В 2017 году значительного развития к концу мая достигли *A. variabilis* и *O. limosa* (0,7 млн кл/л). Напротив, максимальные показатели количественного развития *Cyanobacteria* в 2012 г. (92,1 млн кл/л, в основном за счет вегетации *L. limnetica*) и 2013 г. (15,8 млн кл/л — *O. angustissima*, *O. amphibia*, *L. limnetica*) были отмечены в середине октября. В отдельные периоды доля цианобактерий в составе сообщества автотрофных микроорганизмов исследуемого участка реки составляла 69,3 %, иногда они отсутствовали вовсе. В ряде случаев отмечалось формирование монодоминантных сообществ. Подобное явление наблюдалось в июле 2016 г., когда было зафиксировано массовое развитие *S. parvula* — 2,7 млрд кл/л при отсутствии других представителей автотрофных микроорганизмов.

Полученные данные соответствуют общебиологическим закономерностям: влияние уровня солености проявляется в экологическом подборе видов, адаптированных к экстремальным условиям, а количественное развитие является результатом сочетанного отклика сообщества на природно-климатические и антропогенные изменения условий среды.

На сегодняшний день изучению токсических свойств автотрофных прокариот посвящено значительное количество исследований [2, 4, 8, 10, 11, 14]. Установлено, что *Cyanobacteria* синтезируют широкий спектр веществ, обладающих гепатотоксичностью, иммунотоксичностью, нейротоксичностью, генотоксичностью и мутагенностью, эмбриотоксичностью, канцерогенностью, дерматотоксичностью [2, 10, 11, 14]. Контакт человека с цианотоксинами может происходить разными способами, и, в первую очередь, это попадание в организм с водой и наружно на кожу при использовании водных (и грязевых) процедур.

Проведенные нами исследования грязе-рапного участка реки Тузлукколь позволили выявить наличие 4 родов цианопрокариот, потенциально способных продуцировать токсины (таб.).

Токсины и токсинопродуцирующие рода *Cyanobacteria* грязе-рапного участка реки Тузлукколь (данные по цианобактериальным токсинам и их биологической активности приводятся по [2, 7, 10, 11, 14])

Цианобактериальные токсины	Биологическая активность	Токсинопродуцирующие рода
Гепатотоксины		
Микроцистины	Гепатотоксичность, ингибиторы протеинфосфатаз, нарушают целостность цитоплазматической мембраны, обладают канцерогенным эффектом	<i>Anabaena Oscillatoria</i>
Нодулярины		<i>Nodularia</i>
Цилиндро-спермопсин	Гепатотоксичность, цитотоксичность. Некротические повреждения печени, почек, селезенки, легких, кишечника; ингибитор синтеза белка	<i>Anabaena</i>
Нейротоксины		
Анатоксин-а, Гомоанатоксин-а	Ингибитор ацетилхолинэстеразы	<i>Anabaena Oscillatoria</i>
Анатоксин-а(с)	Ингибитор ацетилхолинэстеразы	<i>Anabaena</i>
Сакситоксины	Блокируют нервные волокна, ингибируя натриевые каналы и выделение ацетилхолина	<i>Anabaena_Lyngbya Oscillatoria</i>
Дерматотоксины		
Дерматотоксины (аплисиатоксин, лингбиатоксин)	Активаторы протеинкиназы С. Способствуют возникновению острых дерматитов, а также воспалению кишечного тракта	<i>Lyngbya Oscillatoria</i>
Эндотоксины		
Ирритантные токсины (липополисахариды)	Ирритантный эффект. LPS пирогенны и токсичны, могут вызывать кожные раздражающие и аллергические реакции у людей и животных	Все <i>Cyanobacteria</i>

Поскольку исследуемый участок реки используется населением в качестве минеральных и грязевых ванн, следует обратить особое внимание на потенциально опасные *Cyanobacteria*, продуцирующие дерматотоксины — это *Lyngbya* и *Oscillatoria*, количество которых в отдельные периоды превышало показатели, рекомендованные ВОЗ [15] в водах для купания почти в 5 раз. Синтезируемые ими аплисиатоксин и лингбиатоксин являются активаторами протеинкиназы С и вызывают острые дерматиты.

Безусловно, не все популяции вышеназванных цианопрокариот способны синтезировать токсины: токсигенность — свойство отдельных штаммов, а не вида в целом [2, 14]. Но следует учесть, что все виды обнаруженных цианобактерий за счет LPS обладают еще и раздражающим эффектом. LPS являются эндотоксинами и входят в состав оболочки грамотрицательных бактерий (в том числе *Cyanobacteria*), где формируют комплексы с белками и фосфолипидами. Они пирогенны и токсичны; могут вызывать кожные раздражающие и аллергические реакции у людей [2, 14]. В итоге, само явление массового развития *Cyanoprokaryota* этого участка реки несет потенциальную угрозу здоровью населения. На данный момент положение спасает то, что значительное развитие цианобактерий на исследуемом участке чаще всего происходит в мае и октябре, вне сроков купального сезона, благодаря чему возможность подвергнуться токсическому воздействию минимальна; удаленность — от ближайшего населенного пункта участок располагается в 9,5 км. Но ситуация в скором времени может измениться из-за популяризации средствами массовой информации минеральных грязей бальнеологического качества реки Тузлукколь.

Таким образом, очевидна необходимость систематического контроля видового состава и количественного развития цианотпрокариот грязе-рапного участка реки Тузлукколь. Без мониторинга потенциально опасных токсинопродуцирующих цианобактерий используемый населением в бальнеологических целях данный водный объект не может считаться безвредным для здоровья людей.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИКВС УрО РАН «Разнообразие и функционирование симбионтных микробных сообществ водоемов с различной минерализацией».

ЛИТЕРАТУРА

1. Водоросли, вызывающие «цветение» водоемов Северо-Запада России. М., Тов-во науч. изд. КМК. 2006.
2. Волошко Л.Н., Пиневиц А.В. Разнообразие токсинов цианобактерий. Астраханский вестник экологического образования. 2014, 1 (27): 68-80.
3. Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. Определитель пресноводных водорослей СССР. Синезеленые водоросли. М., Госиздат, 1953.
4. Калинникова Т.Б., Гайнутдинов М.Х., Шагидуллин Р.Р. Цианотоксины — потенциальная опасность для пресноводных экосистем и здоровья человека. Российский журнал прикладной экологии. 2017, 2: 3-19.
5. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П. и др. 1997.
6. Охупкин А.Г., Воденеева Е.Л., Бондарев О.О. Видовой состав *Cyanoprokaryota* планктона Чебоксарского водохранилища (Нижегородская обл., Россия). Альгология. 2015, 25(3): 265-277.
7. Патова Е.Н. Цианопрокариотическое «цветение» водоёмов восточноевропейских тундр (флористические и функциональные аспекты). Теоретическая и прикладная экология. 2007, 3: 4-10.

8. Рябушко Л.И. Атлас токсичных микроводорослей Черного и Азовского морей. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 2003.
9. Садчиков А.П. Методы изучения пресноводного фитопланктона. М., 2003.
10. Apeldoorn M.E., Egmond H.P., Speijers G.J.A. et al. Toxins of cyanobacteria. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007, 51: 7-60.
11. Jungblut A.D., Neilan B.A. Molecular identification and evolution of the cyclic peptide hepatotoxins, microcystin and nodularin, synthetase genes in three orders of cyanobacteria. *Arch. Microbiol.* 2006, 185(2): 107-114.
12. Komárek J., Anagnostidis K., Cyanoprokaryota I. Chroococcales. Cyanoprokaryota. II. Oscillatoriales. Süßwasserflora von Mitteleuropa. 19(1)-19(2). Jena, Heidelberg, 1998.
13. OECD. Emerging Risks to Water Supplies: Best Practice for Improved Management and Preparedness to protect Public Health. 2005. Available at www.oecd.org/sti/biotechnology.
14. Sivonen K. Cyanobacterial toxins. *Encyclopedia of microbiology.* (Ed. M. Schaechter). Oxford: Elsevier, 2009.
15. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality Vol. 1 Third edition. WHO. Geneva, Switzerland, 2004.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

В.И.Капков, С.Г.Васильева, Е.С.Лобакова

СУКЦЕССИИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ВОДОЕМАХ БОРЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

В экспериментах *in situ* исследовались сезонные сукцессии цианобактерий, вызывающих «цветение» воды в водоемах бореальной зоны в зависимости от экологических факторов. Установлено, в планктонную стадию развития основными факторами, обуславливающими рост и смену доминирующих форм цианобактерий, являются температура воды, уровень солнечной радиации и выделяемые метаболиты. Наиболее выраженные «цветения» воды с высоким накоплением биомассы и вторичных токсичных метаболитов цианобактерий наблюдаются в годы с антициклональным типом погоды. В такие годы цианобактерии проявляют максимальный рост благодаря выработанному в процессе эволюции сочетанию адаптивных признаков, комбинации которых отсутствуют у партнеров по планктонному сообществу или встречаются лишь по отдельности. Вероятно, что способность цианобактерий занимать различные биотопы в результате высокой устойчивости к климатическим факторам и ожидаемое глобальное потепление будут стимулировать более продолжительные и токсичные «цветения» воды в водоемах бореальной зоны.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 100—107

Ключевые слова: цианобактерии, «цветение» воды, сукцессии, экологические факторы, метаболиты, глобальное потепление

V.I.Kapkov, S.G.Vasilieva, E.S.Lobakova

SUCCESSION OF CYANOBACTERIA IN BOREAL WATERS

Lomonosov Moscow State University, Russia

The *in situ* investigation of cyanobacterial seasonal succession, causing algal «blooms» in boreal waters, and its dependence on ecological factors was fulfilled. It was revealed that the most important abiotic factors promoting the growth and changes of dominant species in populations are the water temperature, the level of solar radiation and content of cyanobacterial metabolites. The most profound «blooming» with highest biomass and toxic metabolites accumulation occurs during anticyclone type of weather. During such periods cyanobacteria are the most prevalent