УДК 582.232

Л.Н. ВОЛОШКО, А.В. ПЛЮЩ, Н.Н. ТИТОВА

Биологический НИИ Санкт-Петербургского госуниверситета,
198504 Санкт-Петербург, Ораниенбаумское шоссе, 2, Россия
e-mail: L.Voloshko@mail.ru

ТОКСИНЫ ЦИАНОБАКТЕРИЙ (*CYANOBACTERIA, CYANOPHYTA*)

Обсуждаются проблемы разнообразия токсинов цианобактерий (*Cyanobacteria*, *Cyanophyta*), а также вопросы, связанные с генетической регуляцией их биосинтеза, влиянием факторов среды на токсинообразование, биодеградацией и ролью токсинов в природе. Особое внимание уделяется биологически активным соединениям, опасным для человека и животных, а также интересным для медицины как источник различных фармацевтических препаратов.

Ключевые слова: цианобактерии, разнообразие токсинов, токсинообразование, генетическая регуляция биосинтеза, биодеградация.

Введение

Цианобактериальные токсины представляют значительный интерес как для фундаментальных исследований, так и для решения проблем здоровья человека и сохранения водных ресурсов. В современных условиях многое зависит от эффективного внедрения базовых знаний по экофизиологии и токсикологии цианобактерий (*Cyanobacteria*, *Cyanophyta*) в практику охраны водных ресурсов и защиты здоровья. В условиях растущего антропогенного загрязнения водоемов массовое развитие цианобактерий приобретает глобальный характер (Carmichael, 1994). Цианобактериальные «цветения» стали обычным явлением в водоемах Северной Европы (Skulberg et al., 1984; Sivonen et al., 1990b; Carmichael, 1994; Gromov et al., 1996). Цианобактерии являются источником разнообразных вторичных метаболитов, в т. ч. токсинов и ингибиторов ферментов. Токсичные «цветения» могут вызывать тяжелые отравления у животных и представлять опасность для здоровья людей (Codd et al., 2005). Известны случаи острых отравлений токсинами цианобактерий (микроцистинами) сотен пациентов хемодиализного центра в Бразилии, из которых 52 погибли (Jochimsen et al., 1998). Требуются значительные материальные средства для очистки воды от токсинов.

В то же время некоторые вторичные метаболиты цианобактерий могут быть использованы в качестве медицинских препаратов (Sivonen, Jones, 1999). Уже сейчас биологически активные вещества некоторых микроорганизмов используются в косметической, пищевой и фармацевтической промышленности. Для этих целей из 30 тыс. видов микроводорослей и цианобактерий используются не более 50. Поиск новых перспективных объектов является актуальной задачей современной биологии.

Цель данной работы – представить сведения о биологически активных веществах цианобактерий.

Классификация токсинов

Цианобактерии синтезируют широкий спектр токсинов, которые можно разделить с учетом скрининга их активности на две группы: биотоксины и цитотоксины. При тестировании биотоксинов обычно используют водные беспозвоночные или небольшие позвоночные животные, такие, например, как мыши. По химической структуре и направленности действия биотоксины токсина подразделяются на две группы – гепатотоксичные циклические пептиды и нейротоксичные алкалоиды. Первые из них еще называют «факторами быстрой смерти», вызывающими гибель лабораторных животных (мышей) в течение 1-4 ч; вторые – «факторами очень быстрой смерти» (гибель в течение 2-30 мин).

Цитотоксины влияют на отдельные функции клеток, в частности ингибируют ферменты, но не убивают многоклеточный организм. Активность цитотоксинов исследуют на культивируемых линиях клеток млекопитающих, часто на опухолевых клетках. Некоторые цитотоксины убивают водоросли и бактерии. Те из них, которые атакуют опухолевые клетки и вирус иммунодифицита, могут использоваться фармакологически.

По химической структуре токсины цианобактерий делятся на три основные группы: пептиды (циклические и линейные), алкалоиды и липополисахариды (см. таблицу). Первые и вторые являются вторичными метаболитами, т.е. не участвуют в генеральном метаболизме. Третьи представляют собой структурные компоненты наружной клеточной мембраны.

Токсины обладают нейротоксичностью, иммунотоксичностью, генотоксичностью и мутагенностью, канцерогенностью, эмбриотоксичностью и дерматотоксичностью (Sivonen, Jones, 1999).

Гепатотоксичные циклические пептиды – микроцистины и нодулярины

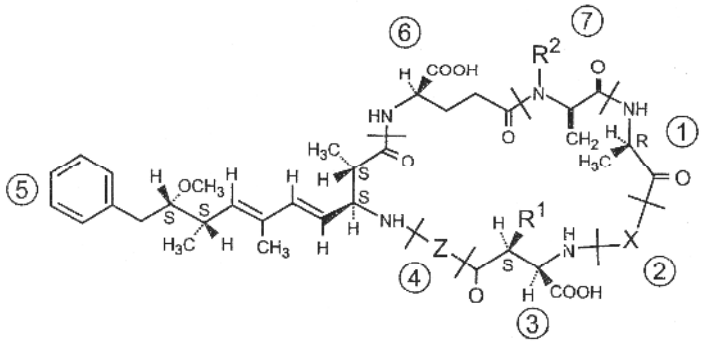
К циклическим пептидам относятся гепто- и пентапептиды – микроцистин и нодуларин. Циклические пептиды – это сравнительно стабильные продукты с молекулярной массой 800-1100 Да, что значительно меньше по сравнению с большинством олиго- и полипептидов (>10 кДа). Они содержат 5 (нодулярины) или 7 (микроцистины) аминокислот. После присоединения двух С-терминальных аминокислот линейный пептид формирует циклическое соединение. Циклические пептиды водорастворимы и в то же время способны проникать через липидные мембраны животных, растений и бактерий. Они содержатся внутри клеток и освобождаются при их лизисе.

Микроцистины (рис. 1) являются наиболее распространенными токсинами (Mez et al., 1997). Они были изолированы впервые из цианобактерии *Microcystis aeruginosa* (Carmichael, 1997). Первая химическая структура микроцистина была описана в 1980 г., и в настоящее время количество известных вариантов этого токсина значительно возросло. Микроцистины идентифицированы у планктонных пресноводных видов, принадлежащим родам *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Nostoc* и *Anabaenopsis*, а также у наземного *Hapalosiphon* (Carmichael, 1994). Это циклические гептапептиды с основной структурой:

cyclo–(D-Ala[1],–X[2]–D-MeAsp[3]–Z[4]–Adda[5]–D-Glu[6]–Mdha[7]),

где X и Z – вариабильные L-аминокислоты (X – L-Leu и Z – L-Arg); D-MeAsp[3] – D-эритро-β-метиласпарагиновая кислота; Mdha – *N*-метилдегидроаланин; Adda – 3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенилдека-4,6-диеноевая кислота (наиболее необычная структура в группе цианобактериальных циклических пептидов); Ala – аланин, Leu – лейцин, Arg – аргинин, Glu – глутамат.

А



Б

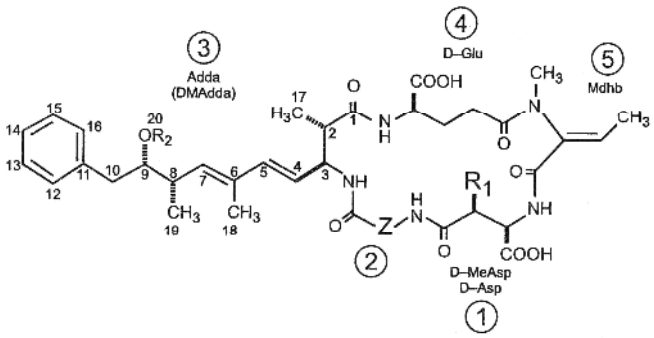


Рис. 1. Циклические пептиды: микроцистины и нодулярины. *А* – структура микроцистинов. X и Z – вариабильные L – аминокислоты [у микроцистина-LR: X = L-лейцин (L) и Z = L-аргинин (R)]; R^1 и R^2 – H (деметилмикроцистин) или CH_3; D-MeAsp – D-*эритро*-β-метиласпарогиновая кислота; Adda – (2S, 3S, 8S, 9S)-3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенил-дека-4,6-диеновая кислота; Mdha – N-метилдегидроаланин (Dha-дегидроаланин); *Б* – струк-тура нодуляринов (Z = L-аргинин) и мотупорина (Z = L-валин). Mdhb – N-метил-дегидробутирин, $R_1 = CH_3$ (Sivonen, Jones, 1999).

Структурные варианты были описаны для всех семи аминокислот, но наиболее часты замещения в L-аминокислотах (2 и 4), а также деметилирование (3 и 7). В настоящее время описан 71 структурный вариант микроцистинов для «цветений» и изолированных лабораторных штаммов. Из микроцистинов наиболее распространены -LR, -RR и -YR, которые могут присутствовать все одновременно

или по отдельности. Наиболее токсичен микроцистин-LR, для поисков которого разработаны специальные методы. Он распространен в Японии (вместе с -RR и -YR), Португалии, Франции, Канаде и других странах (Sivonen, Jones, 1999).

Т а б л и ц а . Основные группы цианобактериальных токсинов и их свойства

Токсин	Число структурных вариантов	Химическая структура и биологическая активность	Токсигенный род
Гепатотоксины			
Микроцистины	71	Циклические гептапептиды; гепатотоксичность, ингибиторы протеинфосфатаз, нарушают целостность цитоплазматической мембраны, канцерогены	*Anabaena* *Anabaenopsis* *Hapalosiphon* *Nostoc* *Microcystis* *Oscillatoria* *Planktothrix*
Нодулярины	9	Циклические пентапептиды; гепатотоксины, ингибиторы протеинфосфатаз, нарушают целостность цитоплазматической мембраны, канцерогены	*Nodularia*
Цилиндро-спермозин	3	Гуанидиновый алкалоид; некротические повреждения печени (а также почек, селезенки, легких, кишечника), ингибитор синтеза белка, генотоксичный	*Anabaena* *Aphanizomenon* *Cylindrospermopsis* *Umerzakia*
Нейротоксины			
Анатоксин-*a* и Гомоанатоксин-*a*	5	Алкалоиды; ингибируют ацетилхолинэстеразу	*Anabaena* *Aphanizomenon* *Oscillatoria* *Phormidium*
Анатоксин-*a(c)*	1	Алкалоид, ингибитор ацетилхолинэстеразы	*Anabaena*
Сакситоксины	20	Карбаматные алкалоиды; блокируют натриевые каналы	*Anabaena* *Aphanizomenon* *Cylindrospermopsis* *Lyngbya* *Planktothrix*
Дерматотоксины и цитотоксины			
Лингбиатоксин-*a*	1	Алкалоид, воспалительный агент, активирует протеинкиназу С	*Lyngbya* *Oscillatoria* *Schizothrix*
Аплисиатоксины	2	Алкалоиды; воспалительные агенты, активируют протеинкиназу С	*Lyngbya* *Oscillatoria* *Schizothrix*
Эндотоксины			
Липополи-сахариды	Большое разнообразие	Липополисахариды, воспалительные агенты, раздражают желудочно-кишечный тракт	Все цианобактерии?

Нодулярины (см. рис. 1). Пентапептид нодулярин найден только у *Nodularia*. Нодуларин, как и микроцистин, проявляет гепатотоксичность через ингибирование активности протеинфосфатаз 1 и 2А и обладает канцерогенными

свойствами (Namikoshi, Rinehart, 1996). Молекулярная масса известных нодуляринов составляет 810-838 Да (Sivonen et al., 1990a, b).

Химическая структура нодулярина:

$$\text{cyclo-(D-MeAsp}^{1}\text{,-L-Arg}^{2}\text{- Adda}^{3}\text{ -D-Glu}^{4}\text{-Mdhb}^{5}\text{)},$$

где Mdhb – 2-(метиламино)-2-дегидромасляная кислота.

Выявлены несколько вариантов нодуляринов: два деметилированных, где $DMAdda^{3}$ замещает $Adda^{3}$, и нетоксичный нодулярин, который является 6-стереоизомером $Adda^{3}$ (Namikoshi et al., 1994). У морской губки *Theonella swinhoei* найден аналог нодулярина, названный мутопорином. Он отличается от нодулярина только одной аминокислотой – гидрофобный L-валин замещает полярный L-аргинин (de Silva et al., 1992). Токсин явно цианобактериального происхождения, поскольку губка содержит цианобактерии в качестве симбионтов.

Нодулярины распространены в солоноватых водах: в Балтийском море, водоемах Австралии и Новой Зеландии, где цветения воды вызывают *Nodularia spumigena*.

Основной причиною токсичности микроцистинов и нодуларинов является их циклическая структура, поскольку линейные пептиды с тем же составом не проявляют биологической активности в отношении тест-объектов – мышей (Namikoshi, Rinehart, 1996). Токсичность нодуляринов и микроцистинов для млекопитающих вызвана способностью сильно связываться с ключевыми ферментами – протеинфосфатазами. В результате ингибирования последних происходит гиперфосфорилирование белков цитоскелета клеток печени, что приводит к гибели гепатоцитов, скоплению крови в печени и смерти мышей от геморрагического шока. Именно регион Adda-глутамат является ключевым для взаимодействия с фосфатазами и, следовательно, важнейшим для токсичности этих соединений. По патологическому эффекту и химическим свойствам микроцистин близок к термостабильному токсину бледной поганки. $ЛД_{50}$ микроцистинов и нодуляринов для мышей колеблется в пределах 50-300 мкг·кг$^{-1}$. Самыми токсичными считаются микроцистины -LR и -LA с $ЛД_{50}$ 50 мкг·кг$^{-1}$, а наименее токсичен микроцистин-RR с $ЛД_{50}$ 1000 мкг·кг$^{-1}$. Линейные микроцистины и нодулярины в 100 раз менее токсичны по сравнению с их циклическими эквивалентами. Возможно, они являются продуктами бактериального разрушения токсинов. Всемирная организация здоровья временно установила допустимую концентрацию микроцистинов в воде – 1 мкг·л$^{-1}$ (Rantala et al., 2004).

Поскольку гепатотоксины воздействуют на цитоскелет, они могут быть использованы в фундаментальных цитологических исследованиях. Эти токсины ингибируют фосфатазы 1 и 2а, и поэтому с их помощью можно изучать механизм действия этих ферментов, например использовать их в качестве зондов. Определив аминокислотную последовательность фосфатаз, можно выявить нуклеотидную последовательность соответствующих генов и изолировать последние для изучения их регуляции (Carmichael, 1994).

Нейротоксичные алкалоиды – анатоксины и сакситоксины

Массовое развитие нейротоксичных цианобактерий отмечено в Северной Америке, Европе и Австралии. Нейротоксины нарушают функцию нервной системы и вызывают смерть мышей в течение нескольких минут из-за паралича дыхательных мышц.

Известны три семейства нейротоксинов:

– анатоксин-*a* и гомоанатоксин-*a*, действие которых подобно эффекту ацетилхолина;

– анатоксин-*a(c)*, который является ингибитором холинэстеразы;

– сакситоксины, паралитические токсины моллюсков (PSP), которые блокируют натриевые каналы.

Алкалоидные токсины – широкая группа гетероциклических азотистых соединений, имеющих кольцевые структуры, по крайней мере, с одной C–N-связью, молекулярной массой < 1 кДа.

Анатоксин-a (рис. 2) – низкомолекулярный алкалоид (165 Да), вторичный амин, 2-ацетил-9-азабицикло(4-2-1)-нон-2-ен (Devlin et al., 1977). Синтезируется разными видами из родов *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon* и *Cylindrospermopsis*. $ЛД_{50}$ анатоксина-*a* – 200-250 мкг·кг$^{-1}$ (Skulberg et al., 1992). Анатоксин-*a* не разрушается ацетилхолинэстеразой. Он имитирует действие ацетилхолина и способен сверхстимулировать мышечные клетки, что вызывает мышечное истощение, судороги, конвульсии и удушье из-за аноксии в клетках мозга. К сожалению, противоядия анатоксину-*a* не существует. Единственный практический путь – это найти альтернативный нетоксичный источник воды.

Гомоанатоксин-a (см. рис. 2) – кетонный аналог анатоксина-*a*, выделен из штамма *Oscillatoria formosa* (Skulberg et al., 1992). $ЛД_{50}$ гомоанатоксина-*a* – 200-250 мкг·кг$^{-1}$, молекулярная масса – 179 Да (Carmichael et al., 1990). Пути его биосинтеза изучены и сам токсин синтезирован. Синтетический гомоанатоксин-*a* используют в производстве радиоактивно меченых никотиновых лигандов (Carmichael, 1997).

Анатоксин-a(c) (см. рис. 2) – сильный органофосфатный ингибитор ацетилхолинэстеразы, синтезируемый штаммами *Anabaena flos-aque* и *A. lemmermannii* (252 Да) (Carmichael et al., 1997). Данный вариант анатоксина вызывает избыточное слюноотделение и кровавое слезотечение у позвоночных, $ЛД_{50}$ 20 мкг·кг$^{-1}$ (Carmichael et al., 1997). Это пока единственный природный органофосфат с инсектицидным действием, на основе которого могут быть созданы пестициды нового поколения. Синтетические органофосфаты, используемые уже давно, растворяются в липидах и имеют тенденцию накапливаться в клеточных мембранах различных органов человека и животных. В отличие от них анатоксин-*a(c)* растворяется в воде и, следовательно, более подвержен биодеградации. С другой стороны, он хуже проникает через богатые липидами кутикулы и экзоскелет насекомых. Взяв за основу структуру анатоксина-*a(c)*, можно синтезировать вещество, обладающее минимальной способностью накапливаться в тканях позвоночных, но с сильным эффектом в отношении вредителей сельского хозяйства.

Сакситоксины (рис. 2, *г*) – это группа алкалоидных нейротоксинов, которые или несульфатированы (сакситоксины – STX), или содержат одну

(гониатоксины – GTX), или две (C-токсины) сульфатные группы. Сакситоксины – разнообразная группа гетероциклических азотных соединений, содержащих кольцевые структуры, по крайней мере, с одной C–N связью и молекулярной массой <1 кДа. Это одни из самых сильнодействующих цианобактериальных токсинов, имеющих $ЛД_{50}$ 10 мкг·$кг^{-1}$ (Carmichael et al., 1997). Хотя сакситоксины найдены у пресноводных цианобактерий *Anabaena circinalis*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Lyngbya wollei* и *Planktothrix agardhii*, они более широко распространены у динофлагеллят, морских водорослей, вызывающих «красные приливы» (red tides). Сакситоксины блокируют нервные волокна, ингибируя натриевые каналы и выделение ацетилхолина, но не влияют на проницаемость для катионов K^+ и мембранный потенциал. Сакситоксины разрушают нейро-мышечный контакт. Они аккумулируются в пищевой цепи моллюсков и являются причиной паралитического отравления при их потреблении человеком (PSP). Сакситоксины широко распространены в водоемах, однако недостаток аналитических методов ограничивает их обнаружение.

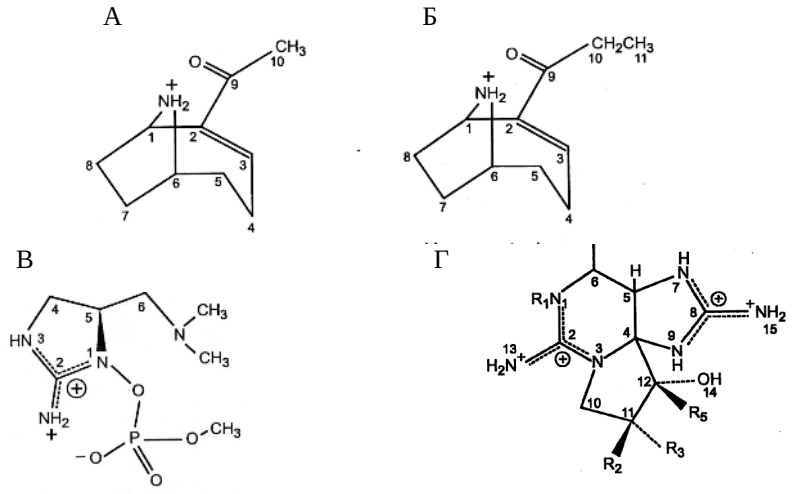


Рис. 2. Цианобактериальные нейротоксины: *А* – анатоксин-*a*; *Б* – гомоанатоксин-*a*; *В* – анатоксин-*a(c)*; *Г* – сакситоксин (Sivonen, Jones, 1999).

Цитотоксичные алкалоиды

Цилиндроспермозин (рис. 3) – гепатотоксичный гуанидиновый алкалоидный цитотоксин (415 Да), который синтезируется тропическими видами из рода *Anabaena*, *Cylindrospermopsis raciborskii* и *Umerzakia natans*, а также *Aphanizomenon ovalisporum* (Sivonen, Jones, 1999). Он действует преимущественно на печень, хотя может вызывать патологические изменения в почках, селезенке и сердце.

Дерматоксичные алкалоиды (аплисиатоксин и лингбиатоксин)

Цианобактерии из родов *Cylindrospermopsis*, *Lyngbya*, *Oscillatoria* и *Schizothrix* могут продуцировать токсины – аплисиатоксин и лингбиатоксин (см. рис. 3), являющиеся активаторами протеинкиназы С. Они вызывают острые дерматиты у купающихся и способствуют возникновению опухолей (Fujuki et al., 1990). Лингбиатоксин, полученный из *Lyngbya majuscula*, вызывает также тяжелые воспаления кишечного тракта.

Ирритантные токсины-липополисахариды (LPS)

LPS являются эндотоксинами и входят в состав оболочки грамотрицательных бактерий, в т. ч. цианобактерий, где они формируют комплексы с белками и фосфолипидами. Они пирогенны и токсичны, могут вызывать кожные раздражающие и аллергические реакции у людей и животных (Weckesser, Drews, 1979). Ирритантный эффект дает жирная кислота, входящая в состав их главного компонента – липидов.

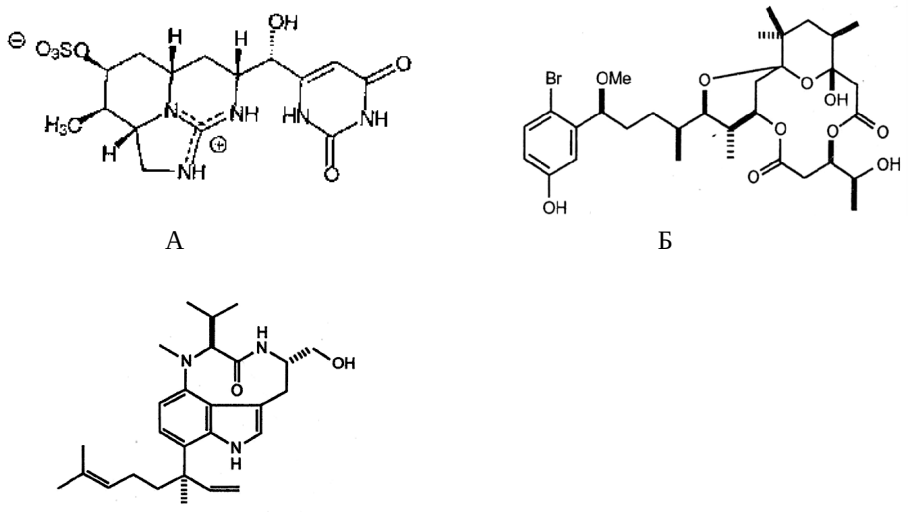


Рис. 3. Цитотоксичные и дерматотоксичные алкалоиды: *А* – цилиндроспермозин (Namikoshi, Rinehart, 1996); *Б* – деброаплисиатоксин; *В* – лингибиатоксин (Sivonen, Jones, 1999).

Прочие низкомолекулярные биологически активные пептиды

Цианобактерии синтезируют биологически активные вещества, токсичные для других бактерий, водорослей и зоопланктона, которые в то же время могут быть основой медицинских препаратов с антиопухолевым, антивирусным, антибиотическим и антифунгальным эффектом (Sivonen, Jones, 1999). Среди них

можно отметить депсипептиды (пептиды со сложной эфирной связью), циклические и линейные пептиды. Хотя некоторые из них являются ингибиторами протеаз, их биологическая активность еще неизвестна.

Циклические депсипептиды (криптофицины) (рис. 4), содержащие 3-амино-6-гидрокси-2-пиперидон (Ahp), выделены из токсичных и нетоксичных штаммов *Microcystis, Oscillatoria, Anabaena* и *Nostoc.* Ряд соединений этого класса не являются биологически активными, но некоторые из них оказывают ингибирующие воздействие на сериновые протеазы и тирозиназы (Namikoshi, Rinehart, 1996). Криптофицины, изолированные из *Nostoc* sp., – предполагаемые антираковые препараты (Trimurtulu et al., 1995). К числу циклических депсипептидов относятся анабенопептилид, микропептины, микроцистилиды, осциллопептины, цианопептолины, эругинопептины и др. (Namikoshi, Rinehart, 1996).

Микровиридины (см. рис. 4) – трициклические депсипептиды, впервые были выделены из токсичного штамма *Microcystis viridis* (1665-1838 Да). Они являются ингибиторами тирозиназы и эластазы (Namikoshi, Rinehart, 1996).

А Б

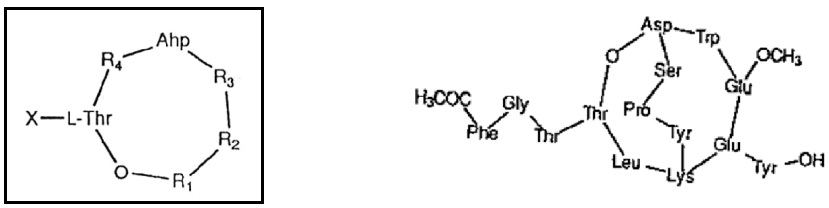


Рис. 4. Низкомолекулярные биологически активные пептиды: *А* – циклический депсипептид (криптофицин) с Ahp-участком; *Б* – трициклический депсипептид (микровиридин) (Namikoshi, Rinehart, 1996).

Эругинозины (рис. 5) – класс линейных депсипептидов с уникальным аминокислотным участком (2-карбокси-6-гидрокси-октагидроиндол), которые ингибируют сериновые протеазы. Известны семь вариантов эругинозинов (1022-1149 Да) (Namikoshi, Rinehart, 1996). Эругинозины продуцируют токсичные и нетоксичные штаммы *Microcystis.*

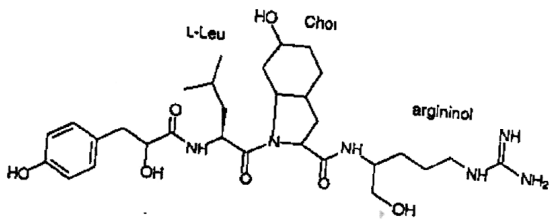
Анабенопептины (см. рис. 5) – девятнадцатичленные циклические пептиды (10 вариантов), синтезируемые токсичными штаммами *Anabaena, Oscillatoria, Nodularia spumigena* и *Microcystis* (Namikoshi, Rinehart, 1996). Так, например, *Anabaena flos-aquae* NRC 525-17 синтезирует анабенопептины А и В (843 и 836 Да) наряду с микроцистинами и анатоксином-*a(c).* Уникальной структурной чертой данных соединений является наличие уреидогруппы и β-амидной связи между D-лейцином и С-терминальным L-фенилаланином (Namikoshi, Rinehart, 1996).

Микрогинины (см. рис. 5) – линейные пептиды, впервые выделенные из нетоксичного штамма *M. aeruginosa* (574-930 Да). Они ингибируют различные ферменты – протеазы и ангиотензиназу ($ЛК_{50}$ 7 мкг·мл$^{-1}$). Помимо обычных α-аминокислот в их состав входит β-аминокислота (Namikoshi, Rinehart, 1996).

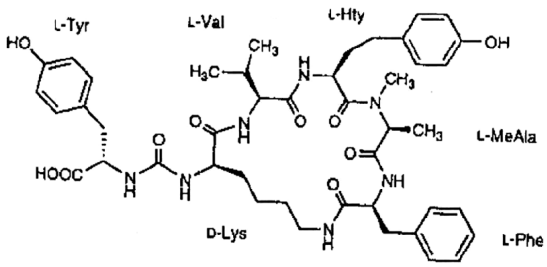
Распространение токсинов

Цианобактериальные «цветения» воды наблюдаются во всем мире, особенно часто отмечаются гепатотоксичные «цветения»; нейротоксичные «цветения» встречаются реже. Имеются сообщения о нейротоксичных «цветениях» в водоемах Австралии, Европы и Северной Америки (Sivonen, Jones, 1999). В настоящее время известно около 40 видов потенциально токсигенных цианобактерий (Skulberg, 1993). В лабораторных условиях установлено, что они включают как токсигенные, так и нетоксигенные штаммы. В цианобактериальных популяциях могут доминировать отдельные виды или много разных видов, некоторые из них могут быть нетоксичными.

А



Б



В

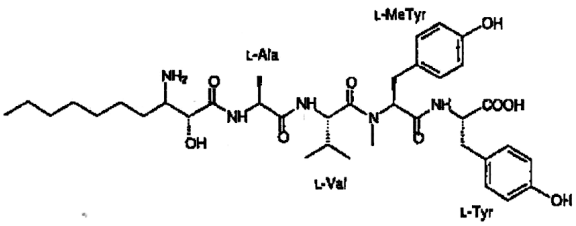


Рис. 5. Низкомолекулярные биологически активные пептиды: *А* – линейный депсипептид (эругинозин 298-А); *Б* – девятнадцатичленный циклический пептид (анабенопептин А); *В* – линейный пептид (микрогинин) (Namikoshi, Rinehart, 1996).

Информация о концентрации цианотоксинов в поверхностных водах появилась в литературе недавно. До 1980 г. токсичность «цветений» определялась с использованием тестов на мышах, но этот метод неудобен для вычисления низких концентраций цианотоксинов. Использование новых, более точных хроматографических методов, в первую очередь хроматографии высокого давления (HPLC) и иммуносорбентного анализа (ELISA), а также тестов на протеинфосфатазы для микроцистинов и нодуляринов позволило оценить как общее количество токсинов, так и содержание их отдельных представителей.

Самые высокие концентрации цианотоксинов (мг·кг$^{-1}$ биомассы) обнаружены с помощью метода HPLC в пресных водах (Sivonen, Jones, 1999):

– микроцистин, 7300 (Китай, Португалия);
– нодулярин, 18000 (Балтийское море);
– цилиндроспермозин, 5500 (Австралия);
– анатоксин-*a*, 4400 (Финляндия);
– анатоксин-*a(c)*, 3300 (США);
– сакситоксины, 400 (Австралия).

Регуляция токсинообразования факторами среды

Лабораторные опыты показывают, что при оптимальных условиях роста микроцистины и нодулярины остаются внутри клетки. Количество микроцистина в культуре увеличивается в течение логарифмической фазы, особенно на ее поздней стадии. Максимальная концентрация анатоксина-*a* была выявлена в логарифмической фазе роста (Sivonen, 1996; Watanabe, 1996). Состав микроцистинов отдельного штамма обычно постоянен, но соотношение их может меняться со временем или при изменении условий культивирования (свет, температура).

Экологические факторы среды изменяют содержание токсинов у цианобактерий, но не более чем на порядок. Большинство исследователей указывают, что цианобактерии производят наибольшее количество токсинов при условиях, наиболее благоприятных для роста (Sivonen, Jones, 1999). Например, отдельные виды цианобактерий имеют разные потребности в свете: *Plankthotrix* предпочитает для роста его низкую интенсивность, *Anabaena* – среднюю, а *Aphanizomenon* – высокую. Все эти штаммы производят наибольшее количество токсина при оптимальных световых условиях роста. При неблагоприятных условиях синтез токсина может снижаться в 2-3 раза (Sivonen, Jones, 1999).

Содержание токсина зависит от температуры роста. Наиболее высоким оно было при 18 и 25 ^{o}C, в то время как при низких (10 ^{o}C) и высоких (30 ^{o}C) температурах концентрация токсина снижалась в 2-3 раза (Sivonen, Jones, 1999).

В экспериментах с мышами цианобактерии проявляли наибольшую токсичность при высоких и низких значениях pH (Van der Westhurizen, Elloff, 1983).

При высоких концентрациях фосфора в среде гепатотоксичные штаммы производили в 3-4 раза больше микроцистинов, но на синтез анатоксина-*a* фосфор не оказывал подобного действия. В полевых исследованиях была найдена положительная корреляция между содержанием микроцистина-LR в клетках *Microcystis aeruginosa* и концентрацией фосфора (Kotak et al., 1995). Сходная

зависимость между содержанием микроцистина-LR и концентрацией фосфора в среде обнаружена в цветениях, вызванных *Microcystis* spp. (Lahti et al., 1997).

У неазотфиксирующих видов, принадлежащих родам *Microcystis* и *Oscillatoria*, токсинообразование выше в среде с более высоким содержанием азота. У азотфиксирующих цианобактерий синтез токсина не зависел от содержания азота (Rapala et al., 1993).

Данные о влиянии железа на токсинообразование противоречивы (Utkelen, Gjølme, 1995; Lyck et al., 1996). При изучении влияния микроэлементов на рост и содержание токсинов *Microcystis aeruginosa* установлено, что только цинк способствовует росту и токсинообразованию (Lukac, Aegerter, 1993).

Деградация токсинов

Четыре группы цианотоксинов: микроцистины, анатоксины, сакситоксины и цилиндроспермозины обладают разной химической стабильностью и разной биологической активностью в водном растворе.

Микроцистины, будучи циклическими пептидами, наиболее устойчивы к химическому гидролизу или окислению при нейтральных значениях pH. Микроцистины и нодулярин не разрушаются даже после кипячения. В водоемах в темноте микроцистины могут сохраняться месяцами и годами (Sivonen, Jones, 1999). При повышенной температуре (40 ^{o}C) или низких значениях pH происходит медленный гидролиз, и со временем содержание токсинов снижается на 90 % в течение 10 недель при pH 1 и в течение 12 недель при pH 9 (Harada et al., 1996). Микроцистины могут окисляться озоном и другими сильными окислителями, а также при облучении ультрафиолетом (Sivonen, Jones, 1999). На солнечном свету они подвергаются медленному фотохимическому разрушению и изомеризации (Tsuii et al., 1993). Реакция усиливается в присутствии водорастворимых клеточных пигментов, преимущественно фикобилипротеинов. Гуминовые вещества на свету также усиливают деградацию микроцистинов (Sivonen, Jones, 1999).

Анатоксины. Анатоксин-*a* относительно стабилен в темноте, однако в растворе и на свету в отсутствие пигментов легко подвергается фотохимической деградации. Разрушение ускоряется в щелочной среде. Период полураспада при фотохимическом разрушении анатоксина-*a* – 1-2 часа (Stevens, Krieger, 1991). Анатоксин-*a(c)* легко разрушался в растворах при нейтральных и кислых значениях pH (Matsumada et al., 1989).

Сакситоксины. В темноте при комнатной температуре они подвергаются медленному химическому гидролизу. Период полураспада составляет 1-10 недель. С-токсины теряют N-сульфокарбомильную группу и формируют декарбомильную группу гониатоксинов (dc-GTX). Хотя dc-GTX, GTX и STX деградирует до нетоксичных продуктов, период их полураспада составляет 1-10 недель, и для 90 % разрушения требуется более трех месяцев. Промежуточный продукт dc-GTX более токсичен, чем сами С-токсины (в 10-100 раз). Например, супернатант *Anabaena circinalis*, содержащий С-токсины и dc-GTX, увеличивал токсичность в течение 2-3 месяцев (Jones, Negri, 1997). Кипячение экстракта сконцентрированной биомассы или культур всегда увеличивало токсичность.

Цилиндроспермозины относительно стабильны в темноте, хотя их медленное разрушение происходит при высоких температурах (50 ^{o}C) (Chiswell et

al., 1999). На солнечном свету и в присутствии клеточных пигментов распад происходит быстрее (на 90 % за 2-3 сут).

Биодеградация. Несмотря на свою стабильность и устойчивость к пептидазам бактерий и эукариотов, микроцистины эффективно разрушаются водными бактериями в реках и других водоемах (Jones et al., 1995). Штамм *Pseudomonas* sp. разрушал анатоксин-*a* со скоростью 6-10 мг·кг$^{-1}$ за 3 сут (Kiviranta et al., 1991). Штамм *Sphingomonas* sp. разрушал кольцевую структуру микроцистина-LR и образовывал в качестве промежуточного соединения линейный (ацило-)микроцистин-LR. Это соединение обладало почти в 200 раз меньшей токсичностью, чем исходный токсин (Bourne et al., 1996). Некоторые штаммы, выделенные из озерной воды и ила в Финляндии, оказались способными к деградации микроцистинов и нодулярина (Lahti et al., 1997)

Генетическая регуляция биосинтеза и роль токсинов в природе

О генах и ферментах, участвующих в биосинтезе цианобактериальных токсинов, известно немного. В частности, установлено, что микроцистины – это небольшие циклические гептапептиды, содержащие необычные аминокислоты (Rinehart et al., 1988). Мур с соавт. (Moore et al., 1991) установили, что *Microcystis aeruginosa* PCC 7820 синтезирует микроцистин-LR из L-метионина, L-фенилаланина, L-глутаминовой кислоты, ацетата и пирувата. Эти предварительные сведения, результаты тестов на матричную активность (Arment, Carmichael, 1996), а также данные о структуре микроцистина свидетельствуют о возможности существования нерибосомального пути биосинтеза пептидного каркаса в сочетании с поликетидным путем биосинтеза аминокислоты Adda (3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенилдека-4,6-диеноевой кислоты). Ранее эти пути биосинтеза были известны только на примере биосинтеза грамицидина С и эритромицина.

Нерибосомальные пептидсинтазы (NRPS) – это семейство мультифункциональных мультимодульных ферментов, в которых отдельные модули ответственны за активацию, модификацию и конденсацию аминокислот (рис. 6). Эти ферменты формируют крупные комплексы, служащие каркасами при биосинтезе пептидов в качестве альтернативы рибосомного механизма (Marahiel et al., 1997). В свою очередь, бактериальные поликетиды синтезируются с помощью модульных поликетидсинтаз (PKS).

Гены (NRPS) были впервые секвенированы у *Microcystis aeruginosa* при исследовании синтезирующих микроцистин и не синтезирующих микроцистин штаммов (Dittmann et al., 1996). Гены, ответственные за биосинтез анабенопептилида, были исследованы у *Anabaena* sp. (Rouhiainen et al., 2000). Недавно описаны гены микроцистинсинтазы (mcy) у *Planktothrix* sp. (Christiansen et al., 2003) и *Anabaena* (Rouhiainen et al., 2004). Изучение биосинтеза гепатотоксина цилиндроспермозина генетическими методами показало, что гены, кодирующие NRPS, имеются у токсичных штаммов *Cylindrospermopsis raciborskii* и *Anabaena bergii*, но отсутствуют у нетоксичных штаммов (Börner, Dittmann, 2005).

Микроцистины и нодулярины – конечные продукты очень древнего вторичного метаболического пути, в котором принимают участие поликетидсинтазы и нерибосомальные пептидсинтазы. Оба пептида – сильнодействующие природные токсины, синтезируемые представителями эволюционно отдаленных

родов цианобактерий. В прошлом гены микроцистинсинтаз были, вероятно, представлены у общего предка многих цианобактерий. Филогенетический анализ указывает на коэволюцию генов основного метаболизма и генов микроцистинсинтаз. «Горизонтальный» перенос генов, очевидно, играет роль в спорадическом распространении продуцентов микроцистина среди цианобактерий, хотя возможность переноса *мсу*-кластеров между отдельными родами не подтверждается (Rantala et al., 2004). Незакономерное распространение генов микроцистинсинтаз у современных цианобактерий предполагает, что способность образовывать токсин вторично утрачивалась во многих филогенетических линиях цианобактерий. Гены, кодирующие нодуляринсинтазу, видимо, возникли недавно на основе более древних генов, кодирующих микроцистинсинтазу. Однако возможна и передача генов более раннего происхождения между штаммами внутри рода. Предполагается, что нодулярины – «экстремальные» варианты микроцистинов. Это подтверждается тем, что их производит только один род цианобактерий, и известы всего лишь три структурных варианта нодуляринов по сравнению с многочисленными (71 вариант) микроцистинами (Rantala et al., 2004).

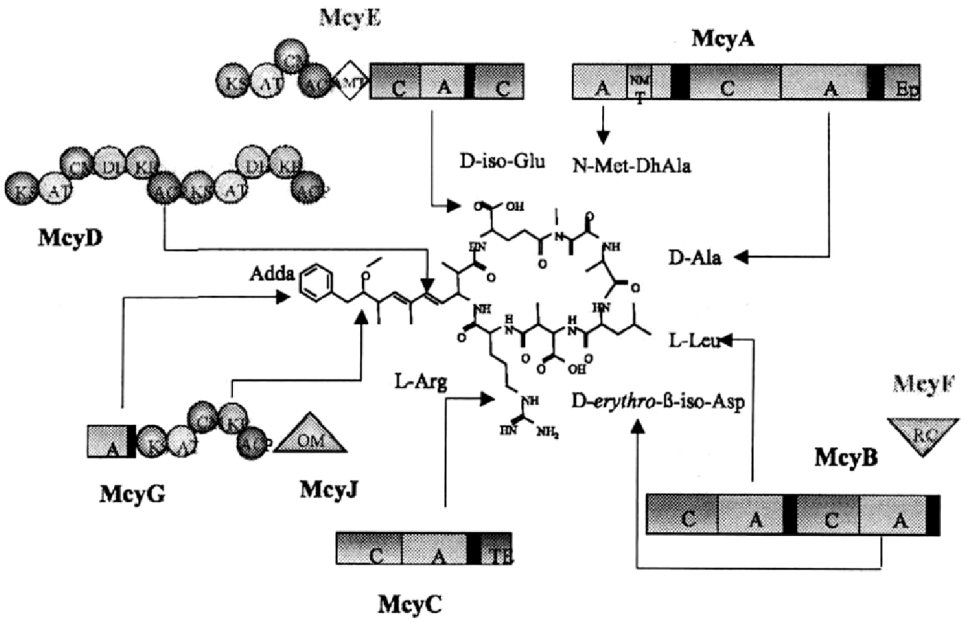


Рис. 6. Роль компонентов микроцистинсинтазы (*мсу*) согласно нуклеотидной последовательности их генов. Обозначения: ***PKS* область***: AT:* ацилтрансфераза*; ACP:* ацилпротеины; *KS: β*-кетоацилсинтаза; *KR:* кетоацилредукта; *DH:* дегидратаза; *CM: C*-метилтрансфераза; *AMT:* аминотрансфераза; ***NRPS:* область**: *A:* аминоациладенилаза; *C:* конденсация; *NMT: N*-метилтрансфераза; *Ep:* епимераза, *TE:* тиостераза; *McyF:* рацемаза, *OM (McyJ): O*-метилтрансфераза. Стрелки указывают на компоненты микроцистинсинтазы, участвующие в биосинтезе микроцистина (Börner, Dittmann, 2005).

Функции микроцистинов и нодуляринов неясны. Возможно, что это химическая защита от поедания цианобактерий зоопланктоном. Однако цианобактерии имеют значительно более раннее происхождение (2 млрд лет), чем

ракообразные (0,5 млрд лет). Поэтому биосинтез микроцистина цианобактериями мог предшествовать появлению ракообразных. Сейчас гепатотоксины не участвуют в клеточном делении и физиологических процессах, но они могли играть такую роль на ранней стадии эволюции этих организмов и других бактерий. Первоначальные функции микроцистина, возможно, сводились к сидерофорной утилизации микроэлементов, передаче сигналов и регуляции генов (Rantala et al., 2004).

Вероятно, подобно сосудистым растениям, производящим таннины, фенолы, стеролы и алкалоиды для защиты от поедания, цианобактерии синтезируют токсины, защищаясь от планктонных животных. В подтверждение этого показано, что планктонные виды беспозвоночных не питаются цианобактериями, синтезирующими токсины, и регулируют свою численность в местах скопления цианобактерий, чтобы избежать получения летальной дозы. Предполагается, что микроцистины и нодулярины с помощью протеинфосфатаз могут регулировать плодовитость эукариотных клеток (Carmichael, 1994).

Заключение

Цианобактерии (*Cyanophyta*) синтезируют разнообразные биологически активные вещества, обладающие различным эффектом. По химической структуре они делятся на три основные группы: пептиды (циклические и линейные), алкалоиды и липополисахариды. Они обладают антифунгальной, антибактериальной, антивирусной активностью и ингибирующей активностью в отношении различных ферментов. Уже сейчас вторичные метаболиты некоторых микроорганизмов используются в косметической, пищевой и фармацевтической промышленности. Поиск новых перспективных объектов – продуцентов биологически активных веществ представляется актуальной задачей современной биологии.

Однако многие проблемы, связанные с исследованием токсинов цианобактерий, таких как генетическая регуляция их биосинтеза, влияние на него различных факторов среды, биодеградация и роль токсинов в природе, требуют дальнейших исследований.

Токсины цианобактерий могут вызывать у человека гастроэнтериты, пневмонию, разнообразные аллергические реакции, дерматиты, раздражение глаз и хронические повреждения печени (Bell, Codd, 1994). Особенно опасен их канцерогенный эффект (Nishiwaki-Matsusshima et al., 1992). Среди известных факторов первичного рака печени особо выделяются микроцистины, сильнейшим из которых является микроцистин-LR (Bell, Codd, 1994).

Обстоятельства, при которых здоровье человека может подвергнуться опасному воздействию токсигенных цианобактерий, можно сгруппировать в следующие категории:

– использование питьевой воды, содержащей токсины;

– использование рекреационных вод с токсигенными цианобактериями;

– использование продуктов питания, полученных на основе пищевых цепей, в состав которых входят токсигенные цианобактерии.

Массовое развитие цианобактерий (даже вне связи проблем с их токсичностью), снижает качество воды, придавая ей неприятный вкус и запах. Это

усложняет проблему выбора источников питьевой воды, рекреационных озер и других водоемов.

Для того чтобы минимизировать последствия «цветения» воды, необходим эффективный экологический мониторинг водоемов, в т.ч. контроль факторов среды, вызывающих эвтрофикацию. Основой для него может быть использование новых хроматографических методов, в первую очередь хроматографии высокого давления, а также иммуносорбентного анализа и тестов на протеинфосфатазы (для микроцистинов и нодуляринов).

Благодарности

Выражаем искреннюю признательность проф., д.б.н. А.В. Пиневичу (Санкт-Петербургский госуниверситет) за ценные замечания при подготовке рукописи к публикации.

Ранее опубликованные иллюстрации воспроизведены с разрешения издательств.

L.N. Voloshko, A.V. Pljusch, N.N. Titova

Biological Institute of St. Petersburg State University,
2 Oranienbaumskoye ch., 198504, St. Petersburg, Russia

TOXINS OF CYANOBACTERIA (*CYANOPHYTA*)

The review focuses on the compounds that impact upon humans and livestock, either as toxins or as pharmaceutically useful substances. The classifiation of cyanotoxins, their role in nature, the genetic regulation of cyanotoxin production, the effects of environmental factors on toxin biosynthesis by cyanobacteria, and the problems of toxin biodegradation are discussed.

K e y w o r d s : cyanobacteria, toxin diversity, toxin production, genetic regulation of biosynthesis, biodegradation

Arment A.R., Carmichael W.W. Evidence that microcystin is a thio-template product // J. Phycol. – 1996. – **32**. – P. 591-597.

Bell S.G., Codd G.A. Cyanobacterial toxins and human health // Rev. Med. Microbiol. – 1994. – **5**, N 4. – P. 256-264.

Börner T., Dittmann E. Molecular biology of cyanobacterial toxins // Harmful Cyanobacteria. – Netherlands: Springer, 2005. – P. 25-40.

Bourne D., Jones G.J., Blakeley R.L. et al. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR // Appl. Environ. Microbiol. – 1996. – **62**. – P. 4086-4094.

Carmichael W.W. The toxins of cyanobacteria // Sci. Amer. – 1994. – **270**, N 1. – P. 78-86.

Carmichael W.W. The cyanotoxins // Adv. Bot. Res. – 1997. – **27**. – P. 211-256.

Carmichael W.W., Evans W.R., Yin Q.Q. et al. Evidence for paralytic shellfish poisons in the freshwater cyanobacterium *Lyngbya wollei* (Farlow ex Gomont) comb. nov. // Appl. Environ. Microbiol. – 1997. – **63**. – P. 3104-3110.

Carmichael W.W., Mahmood N.A., Hyde E.G. Natural toxins from cyanobacteria (blue–green algae) // Marine toxins, Origin, Structure and Molecular Pharmacology. – Washington: Amer. Chem. Soc., 1990. – P. 21-30.

Christiansen G., Fastner J., Erhard M. Microcystin biosyntesis in *Planktothrix*: genes, evolution, and manipulation // J. Bacteriol. – 2003. – **185**. – P. 564-572.

Codd G.A., Lindsay J., Young F.M. et al. From mass mortalities to management measures // Harmful Cyanobacteria. – Netherlands: Springer, 2005. – P. 1-25.

Devlin J.P., Edwards O.E., Gorham P.R. et al. Anatoxin-*a*, a toxic alkaloid from *Anabaena flos-aquae* NCR–44h // Canad. J. Chem. – 1977. – **55**. – P. 1367-1371.

Dittmann E., Neilan B.A., Erhard M. et al. Insertional mutagenesis of a peptide synthetase gene which is responsible for hepatotoxin production in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 // Mol. Microbiol. – 1996. – **26**. – P. 779-787.

Fujuki H., Suganuma M., Suguri H. et al. New tumor promoters from marine natural products // J. Amer. Chem. Soc. – 1990. – **418**. – P. 232-240.

Gromov B.V., Vepritsky A.A., Mamkaeva K.A., Voloshko L.N. A survey of toxicity of cyanobacterial blooms in Lake Ladoga and adjacent water bodies // Hydrobiologia. – 1996. – **322**. – P. 129-136.

Harada K-I., Tsuji K., Watanabe M.F. Stability of microcystins from cyanobacteria. – III. Effect of pH and temperature // Phycologia. – 1996. – **35**, N 6. – P. 83-88.

Jochimsen E.M., Carmichael W.W., An J.S. et al. Liver failure and death after exposure to microcystins at a haemodialysis center in Brazil // New Engl. J. Med. – 1998. – **338**. – P. 873-878.

Jones G.J., Falcomer I.F., Wilkins R.M. Persistense of cyclic peptide toxins in dried cyanobacterial crusts from Lake Mokoan, Australia // Environ. Toxicol. Water Qual. – 1995. – **10**. – P. 19-24.

Jones G.J., Negri A.P. Persistence and degradation of cyanobacterial paralytic shellfish poisons (PSPs) in freshwaters // Water Res. – 1997. – **31**. – P. 524-533.

Kiviranta J., Sivonen K., Luukhainen R. et al. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins; a laboratory study // Arch. Hydrobiol. – 1991. – **121**. – P. 281-294.

Kotak B.G., Lam A.K.Y., Prepas E.E. et al. Variability of the hepatotoxin microcystin-LR in hypereutrophic drinking water lakes // J. Phycol. – 1995. – **27**. – P. 248-263.

Lahti K., Rapala J., Färdig M. Persistance of cyanobacterial hepatotoxin, microcystin-LR in particulate material and dissolved in lake water // Water Res. – 1997. – **31**, N 5. – P. 1005-1012.

Lukac M., Aegerter R. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa* // Toxicon. – 1993. – **31**. – P. 293-305.

Lyck S., Gjolme N., Utkilen H. Iron-starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 22/1 (*Chroococcales, Cyanophyceae*) // Phycologia. – 1996. – **35**, N 6. – P. 120-124.

Marahiel M.A., Stachelhaus T., Mootz H.D. Molecular peptide synthetases involved in nonribosomal peptide synthesis // Chem. Rev. – 1997. – **97**. – P. 2651-2673.

Matsumada S., Moore R.E., Niemezura W.P., Carmichael W.W. Anatoxin–*a(s)*, a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae* // J. Amer. Chem. Soc. – 1989. – **111**. – P. 8021-8023.

Mez K., Beattie K.A., Codd G.A. et al. Identification of a microcystin in benthic cyanobacteria linked to cattle deaths on alpine pastures an Switzerland // Eur. J. Phycol. – 1997. – **32**. – P. 111-117.

Moore R.E., Chen J.L., Moore B.S. et al. Biosynthesis of microcystin-LR: origin of the carbons in the Adda and Masp units // J. Amer. Chem. Soc. – 1991. – **113**. – P. 5083-5084.

Namikoshi M., Rinehart K.L. Bioactive compounds produced by cyanobacteria // J. Industr. Microbiol. Biotechn. 1996. – **17**. – P. 373-384.

Nishiwaki-Matsusshima R., Ihta T., Nishiwaki S. et al. Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR // J. Canc. Res. Clin. Oncol. – 1992. – **118**. – P. 420-424.

Rantala A., Fever D.P., Hisbergues M. et al. Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin syntesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2004. – **101**, N 2. – P. 568-573.

Rapala J., Sivonen K., Luukhainen R., Niemelä S.I. Anatoxin-*a* concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* at different enviromental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena* strains, a laboratory study // J. Appl. Phycol. – 1993. – **5**. – P. 581-591.

Rinehart K.L., Harada K., Namikoshi M. et al. Nodularin, microcystin and the configuration of Adda // J. Amer. Chem. Soc. – 1988. – **110**. – P. 8557-8558.

Rouhiainen L., Paulin L., Suomalainen S. et al. Genes encoding synthetases of cyclic depsipeptides, anabaenopeptilides in *Anabaena* strain 90 // Mol. Microbiol. – 2000. – **37**. – P. 156-167.

Rouhiainen L., Vakkilainen T., Siemer B.L. et al. Genes coding for hepatotoxic heptapeptides (microcystins) in the cyanobacterium *Anabaena* strain 90 // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – **70**. – P. 686-692.

de Silva E.D., Williams D.E., Andersen R.J. et al. Motuporin, a potent protein phosphatase inhibitor isolated from the Papua New Guinea sponge *Theonella swinhoei* Gray // Tetrahedron Lett. – 1992. – **33**. – P. 1367-1371.

Sivonen K. Cyanobacterial toxins and toxin production // Phycologia. – 1996. – **35**, N 6. – P. 12-24.

Sivonen K., Carmichael W.W., Namikoshi M. Isolation and characterization of hepatotoxic microcystin homologs from the filamentous freshwater cyanobacterium *Nostoc* sp. strain 152 // Appl. Environ. Microbiol. – 1990a. – **56**. – P. 2650-2657.

Sivonen K., Jones G. Cyanobacterial toxins // Toxic cyanobacteria in water – a guide to their public health consequences, monitoring and management. – London: E. & F.N. Spon, 1999. – P. 41-111.

Sivonen K., Niemelä S.I., Niemi R.M. et al. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters // Hydrobiologia. – 1990b. – **190**. – P. 267-275.

Skulberg O.M. Taxonomy of toxic *Cyanophyceae* (Cyanobacteria) // Algal toxins in seafood and drinking water. – London: Acad. Press, 1993. – P. 145-164.

Skulberg O.M. Toxins produced by cyanophytes in Norwegian inland waters – health and environment // Chemical data as a basis of geomedical investigations. – Oslo: Norw. Inst. Water Res., 1996. – P. 179-216.

Skulberg O.M., Carmichael W.W., Andersen R.A. et al. Investigations of a neurotoxic Oscillatorialean strain (*Cyanophyceae*) and its toxin. Isolation and characterization of homoanatoxin-*a* // Environ. Toxicol. Chem. – 1992. – **11**. – P. 321-329.

Skulberg O.M., Codd G.A., Carmichael W.W. Toxic blue–green algal bloom in Europe: a growing problem // Ambio. – 1984. – **13**. – P. 224-247.

Stevens D.K., Krieger R.I. Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid anatoxin-*a* // Toxicon. – 1991. – **29**. – P. 167-179.

Tsuii K., Naito S., Kondo F. et al. Stability of microcystins from cyanobacteria: effect of light on decomposition and isomerization // Environ. Sci. Technol. – 1993. – **28**. – P. 173-177.

Van der Westhurizen A.J., Elloff J.N. Effect of culture age and pH of culture medium on the growth and toxicity of the blue-green alga *Microcystis aeruginisa* // Zeit. Planzenphysiol. – 1983 – **110**. – P. 157-163.

Utkelen H., Gjølme H. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. – 1985. – **58**. – P. 189-194.

Watanabe M.F. Production of microcystins // Toxic Microcystis. – London: CRC Press, 1996. – 262 p.

Weckesser J., Drews G. Lipopolysaccharides of photosynthetic prokaryotes // Ann. Rev. Microbiol. – 1979. – **33**. – P. 215-239.

Получена 11.09.06

Подписала в печать Е.И. Шнюкова