УДК 614.777: 574.63

МЕТОДЫ (АЛГОРИТМ) ОЦЕНКИ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ВОДОЕМОВ, СОДЕРЖАЩИХ ТОКСИНЫ СИНЕ-ЗЕЛЕНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Введение. Токсические эффекты сине-зеленых водорослей на диких животных, пьющих воду из австралийского озера впервые описаны в статье Джорджа Фрэнсиса в 1878 году [1]. Токсины могут синтезировать морские, почвенные и пресноводные цианобактерии и их часто обнаруживают в источниках водоснабжения населения, в воде для полива сельскохозяйственных культур и в растениях [2,3].

В настоящее время проблема «цветения» водоемов стала более актуальной в связи с глобальным потеплением, когда рост водорослей значительно усиливается [4]. «Цветение водоемов» обычно более выражено в августе и наблюдается во многих регионах России. Помимо источников питьевого водоснабжения, оценка качества воды актуальна и в рекреационных водоемах, которые население использует для отдыха и туризма. В летний период в открытой зоне Саратовского водохранилища отмечено преобладание представителей отдела сине-зеленых водорослей, которые составляли около 74% от общей численности [5].

По химической структуре цианобактериальные токсины в основном подразделяются на циклические пептиды, алкалоиды, липопептиды, небелковые аминокислоты и липогликаны [6]. Многие из них обладают достаточной устойчивостью к физическим факторам, а также способны аккумулироваться в организмах водной экосистемы. Все это создает значительные риски для здоровья населения. Поэтому Всемирная организация здравоохранения в 1997 году установила гигиенический норматив в питьевой воде для токсина микроцистина-LR, который синтезируют различные виды цианобактерий [7].

В последние годы в России врачи-гигиенисты все чаще обращают внимание на проблему оценки рисков для здоровья, связанную с токсинами цианобактерий различных источников водоснабжения населения [8,9,10]. Однако считать данную проблему в России полностью решенной нельзя. Особенно это относится к контролю рекреационных водоемов и источников водоснабжения в малых городах и селах.

Целью настоящей статьи является обзор современных методов оценки гигиенической безопасности водоемов, содержащих токсины сине-зеленых водорослей.

Материалы, объекты и методы исследования.

В исследовании использован библиографический метод (анализ литературы по проблеме исследования). Проведено обобщение, сравнение, анализ и систематизация эмпирических и теоретических данных. Материалы сайтов https://www.sciencedirect.com и https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/., cyberleninka.ru, e-library.

Объекты исследования: Гигиеническая безопасность рекреационных водоемов и источников водоснабжения населения, содержащих токсины цианобактерий.

Материалом исследования послужили современные научные данные о токсических действии цианотоксинов на человека, низших растений, рыб и беспозвоночных животных, а также методах их определения в водоисточниках.

Результаты исследований и их обсуждение.

1. Проблема нормирования цианотоксинов в воде

Данная проблема является весьма актуальной и в ряде стран разработаны нормативы содержания в воде опасных для здоровья токсинов. В руководстве Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по оценке качества питьевой

воды указано допустимое ежедневное употребление микроцистинов (0,04 мкг/кг массы тела) и предельное содержание в питьевой воде (1 мкг/л) [11]. В рекреационных водоемах количество микроцистинов не должно превышать 10 мкг/л. Существует риск для здоровья населения, если в воде рекреационных водоемов количество клеток цианобактерий достигает 100.000 на 1 мл, а содержание микроцистина 20 мкг/л [12,13].

В Российской Федерации нет утвержденных нормативов для токсинов сине-зеленых водорослей и санитарно-гигиенический мониторинг их содержания в воде не проводится. Однако имеются работы, посвященные данной проблеме. Так, в работе Егоровой Н.А. и соавт. (2018) проведен анализ данных и обоснование предельно допустимой концентрации (ПДК) микроцистина-LR в воде на основе методологии гармонизации гигиенических нормативов. Авторы считают, что для определения ПДК микроцистина-LR в воде может быть использован санитарно-токсикологический показатель вредности, соответствующий современным научным представлениям (1 мкг/л) [9].

Многие государства придерживаются этого показателя, но есть и страны, в которых утверждены свои национальные нормативы микроцистина-LR в воде. Так, в Канаде – 1,5 мкг/л [14,15], а в Австралии – 1,3 мкг/л [16]. В разных регионах США также имеются различия данного норматива, например, в Миннесоте – 0,04 мкг/л, а в Орегоне – 1 мкг/л [17,18,19]. Национальным агентством по охране окружающей среды США (EPA) разработаны нормативные документы, руководства по контролю и мониторингу цианотоксинов и цианобактерий в воде [20-27].

2. Биохимические методы изучения токсинов сине-зеленых водорослей

К перспективным методам мониторинга цианотоксинов и цианобактерий водоисточников относят [27,28]:

1. твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA);

2. методы высокоэффективной жидкостной хроматографии с обращенной фазой в сочетании с масс-спектрометрическими или с матричным ультрафиолетовым/фотодиодным детектором;

3. анализ ингибирования протеинфосфатаз;

4. жидкостную хроматографию/масс-спектрометрию;

5. количественную полимеразную цепную реакцию и микрочипы/ДНК-чипы;

6. подсчет количества клеток цианобактерий с помощью световой микроскопии.

Иммуноферментный анализ наиболее подходит для скрининга цианотоксинов различных водоисточников и в настоящее время это наиболее доступный и разработанный метод [29].

Степанова Н.Ю. и соавт. (2012) определяли в пробах воды методом непрямого иммуносорбентного анализа (ELISA) концентрацию внутриклеточного микроцистина с регистрацией на иммуноферментом анализаторе УНИПЛАН (АИФР-01). Максимальное содержание микроцистина в изученных пробах воды рекреационных зон и района водозабора г. Казань составляло 5,72 мкг/л. Рассчитана численность цианобактерий (21 млн. кл/л), ниже которой не наблюдается превышение нормативов содержания микроцистина [30].

Н.В. Кузь (2019) разработала методику определения содержания микроцистина-LR в воде методом иммуноферментного анализа с фотометрической детекцией, позволяющую определять микроцистин-LR в концентрации 0,1 мкг/дм^3 [10].

Некоторые роды сине-зеленых водорослей могут синтезировать сакситоксины («паралитические яды моллюсков»). M. Raposo et al. (2020) *(при ссылке на англоязычные источники принято писать «et al.». Кроме того, так же, как и при оформлении русскоязычных источников имя автора не пишется*

полностью, а только первая буква) разработали на основе фермента карбамоилазы биосенсор для их обнаружения [31].

Наиболее подробное описание методов определения цианотоксинов в воде, тканях рыб, фитопланктоне и беспозвоночных животных приведено в статье D. Sundaravadivelu et. al. (2022). Авторы отмечают, что количественная оценка цианотоксинов в поверхностных водах, тканях рыб, органах и других объектах имеет решающее значение для оценки риска здоровью людей при употреблении пищевых продуктов и воды. Для обнаружения/количественного определения токсинов в воде чаще всего используются стандартизированные методы иммуноферментного анализа (ELISA) и жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией, которые разработаны Агентством по охране окружающей среды США и Международной организацией по стандартизации (ISO) [32].

Применение разных видов иммуноферментного анализа для изучения токсина цианобактерий микроцистина-LR в пробах воды рассмотрено в статье H. Zhang et.al. (2022). Классический иммуноферментный анализ можно использовать только для анализа жидких проб, включая природную и водопроводную воду. Традиционные иммуноанализы в сочетании с современными оптическими материалами, дают оптический сигнал для обнаружения микроцистина-LR в воде. Такой метод можно определить как «современный иммуноанализ с оптическим сигналом». В имеющихся опубликованных исследованиях оптические сигналы, используемые в современном иммуноанализе, включают колориметрический, флуоресцентный и хемилюминесцентный иммуноанализ. В современных иммуноанализах с электрическим сигналом в качестве носителей часто используются иммуносенсоры. В качестве компактного аналитического устройства иммуносенсор сочетает в себе технологию высокочувствительного восприятия со специфическим иммунным ответом для мониторинга реакции антигенов и антител. Среди всех иммуносенсоров электрохимический иммуносенсор является одним из наиболее подходящих вариантов из-за его простоты

подготовки и эксплуатации, а также быстрого обнаружения. Иммуноэлектрод является основным компонентом [33].

N.A. Hammoud et. al. (2021) исследовали цианотоксины искусственного озера в Ливане, где наблюдается интенсивное цветение цианобактерий. В воде и рыбе, собранной в период с 2019 по 2020 год, определяли микроцистины, анатоксин-а, цилиндроспермопсин, нодуларин. Для анализа проб воды из озера использовали комплекс методов, включающий жидкостную хроматографию и масс-спектрометрию, иммуноферментный анализ, оценку ингибирования протеинфосфатаз, молекулярную детекцию цианобактерий и генов токсинов с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Иммуноферментный анализ микроцистинов проводили с использованием набора Microcystins-ADDA ELISA (Eurofins-Abraxis, Warminster, PA, USA) в 96-луночных микропланшетах с использованием ридера Infinite M200 (Tecan, Männedorf, Швейцария). Жидкостный хроматограф (Finnigan Surveyor) был оснащен автодозатором AS (Thermo, Массачусетс, США) в сочетании с трехступенчатым масс-спектрометром TSQ Quantum Discovery Max (Thermo, Массачусетс, США) с ионизацией электрораспылением (источник ESI). Для определения внеклеточных микроцистинов пробы воды фильтровали через фильтры из стекловолокна диаметром 47 мм (Millipore) и анализировали без дополнительной обработки. Было выявлено одиннадцать микроцистинов, а цилиндроспермопсин, анатоксин-а и нодуларин не обнаружены [34].

3. Биологические методы изучения токсинов цианобактерий

Кроме химических методов, при изучении токсических эффектов сине-зеленых водорослей применяются разнообразные методы биотестирования [35,36]. Так, в статье L. Blaha et. al. (2017) рассмотрены тест-объекты, относящиеся к различным видам. Оценка токсичности воды может производиться на разных уровнях организации с помощью клеток, тканей и целых организмов [37]. Авторы приходят к заключению, что биотестирование вполне подходит для первичного скрининга токсичности; особенно когда существует вероятность присутствия в воде малоизученных сильно токсичных

метаболитов цианотоксинов и имеются проблемы с применением адекватных методов химического анализа. Использование комбинации обоих подходов (химический анализ и оценка токсичности экстрактов) представляется наилучшим способом мониторинга.

Marsalek B., Blaha L. (2004) провели сравнение чувствительности различных методов биотестирования острой токсичности экстрактов сине-зеленых водорослей вида Microcystis. Установлено, что наибольшей чувствительностью к цианотоксинам обладает биотест с рачком Thamnocephalus platyurus. На втором месте по чувствительности оказались тесты с простейшими Spirostomum ambiguum, Tetrahymena termophyla, плодовой мушкой Drosophila melanogaster и рачком Daphnia pulex. Менее чувствительными оказались биотесты с олигохетой Tubifex tubifex и коловраткой Brachionus calyciflorus [38].

Dajana Blagojević et. al. (2021) провели исследование токсичности неочищенных экстрактов 11 штаммов цианобактерий разных родов. В качестве тест-объектов использовали клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2, печени радужной форели (Oncorhynchus mykiss) RTL-W1, ракообразных (Daphnia magna и Artemia salina) и эмбрионов рыбок Данио (Danio rerio). Токсичность оценивали также с помощью анализа ингибирования протеинфосфатазы и иммуноферментного теста (ELISA). Все протестированные штаммы проявляли токсичность в отношении клеточной линии HepG2 (IC50 от 35 до 702 мкг/мл), включая штаммы Arthrospira (Spirulina), тогда как токсичность в отношении клеток RTL-W1 была обнаружена только в положительном эталоне Microcystis PCC 7806 и Nostoc 2S9B. Тестируемые штаммы проявляли более высокую токсичность по отношению к эмбрионам D. magna и рыб по сравнению с A. salina, при этом Nostoc LC1B и Nostoc S8 относились к наиболее токсичным штаммам. Соединения, ингибирующие протеинфосфатазы, были обнаружены только у четырех штаммов (Microcystis PCC 7806, Oscillatoria K3, Nostoc LC1B и Nostoc S8). Полученные результаты свидетельствуют о том, что клеточная линия

HepG2 является особенно подходящей моделью для оценки цианобактериальной токсичности [39].

Возможности и ограничения применения культур клеток для биотестирования различных групп цианотоксинов рассмотрены в статье Sazdova I. et. al. (2022). В обзоре приведены данные о цитотоксичности эругинозинов, анатоксинов, бета-N-метиламин-L-аланина, цилиндроспермопсина, депсипептидов, липополисахаридов, лингбиатоксинов, микроцистинов, нодуляринов, цианобактериальных ретиноидов и сакситоксинов. Среди ограничений применения культур для оценки цитотокичности отмечены невозможность выявления всех эффектов цианотоксинов в организме человека, который содержит различные типы клеток. В культуре клеток не учитывается влияние нейрогуморальных регуляций, которые имеются в организме человека и их невозможно моделировать при культивировании. Такие параметры, как LC50 или LD50, различаются для клеток в культуре и организма человека [40].

Токсины сине-зеленых водорослей оказывают влияние на представителей водной биоты, которые часто используются как тест-объекты в биотестировании. Daphnia magna питается зоопланктоном и выживает в водоемах с умеренной плотностью цианобактерий. Токсины снижают скорость фильтрации пищи, ингибируют пищеварительные протеазы и в некоторых случаях вызывают гибель беспозвоночных [41].

B. Pawlik-Skowrońska et. al. (2019) провели сравнительное исследование выживаемости Brachionus calyciflorus Pallas (Rotifera) и Daphnia pulex Leyding (Cladocera), которые подвергались воздействию чистого микроцистина - LR, анатоксина-а и экстрактов, полученных из цианобактерий Microcystis, Planktothrix и Dolichospermum. Полученные результаты выявили различную реакцию организмов. Токсичность экстрактов для беспозвоночных была выше, чем у чистых цианотоксинов и зависела от состава метаболитов цианобактерий: экстракт Microcystis sp, содержащий анабенопептины A и B, эругинозамид, четыре варианта цианопептолинов и пять микроцистинов не был токсичным ни

для одного из организмов, тогда как экстракт Planktothrix agardhii, содержащий анабенопептины A, B, F, 915, осцилламид, пять различных эругинозинов и четыре варианта микроцистинов оказался более токсичным для дафний, чем для коловраток [42].

В работе Thanh Son Dao et. al. (2010) проведено детальное изучение хронического действия токсинов цианобактерий на дафний. Животные подвергались хроническому воздействию в течение двух поколений либо микроцистина-LR в дозе 5 или 50 мкг/л, либо неочищенного экстракта цианобактерий, содержащего такое же количество общего микроцистина, начиная со стадии рождения. Выживаемость, рост, созревание и плодовитость наблюдали у первого поколения в течение двух месяцев. За выживанием, созреванием и ростом потомства следили в течение первой недели. Низкая концентрация микроцистина-LR незначительно влияла на рост и размножение дафний. Выживаемость снижалась при хроническом воздействии с увеличением концентрации микроцистина. Возраст до зрелости потомства увеличивался, а их выживаемость снижалась после того, как родительское поколение подвергалось воздействию токсина, даже если потомство выращивалось в контрольной среде. Кроме того, зафиксированы пороки развития новорожденных, вызванные цианобактериальными токсинами [43].

Schwarzenberger A., Martin-Creuzburg D. (2021, 2022) провели исследование негативных эффектов цианотоксинов на адаптивные реакции дафний, которые используют в пищу некоторые виды сине-зеленых водорослей. Было изучено влияние анатоксин-α-продуцирующей водоросли Tychonema на параметры жизненного цикла D. magna и экспрессию генов никотин-ацетилхолиновых рецепторов. Воздействие водоросли снизило темпы роста клонов и увеличило экспрессию генов рецепторов. Некоторые антропогенные загрязнители, которые также влияют на рецепторы, могут снижать устойчивость дафний к анатоксину-α [44, 45].

Sierosławska A. et. al. (2014) провели биотестирование токсичности экстрактов сине-зеленых водорослей на ракообразных, коловратках

(Brachionus) и инфузориях. Чувствительность тест-объектов к токсинам цианобактерий значительно различалась. Наибольшая чувствительность обнаружена у Thamnocephalus platyurus [46].

В Российской Федерации ряд методов биоиндикации и биотестирования (на дафниях, водорослях и рыбах) рекомендованы для оценки токсического влияния фитоценозов планктона на формирование качества поверхностных вод суши [47].

Имеющиеся данные литературы свидетельствуют о том, что применение одних только химических методов анализа недостаточно для оценки качества водоисточников.

Как химические, так и биологические методы имеют свои ограничения и преимущества. Наиболее достоверным методом идентификации токсинов цианобактерий является сочетание жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Однако химический анализ достаточно дорогой и длительный, не учитывается синергическое действие веществ и возможное наличие продуктов трансформации, обладающих значительной токсичностью. Методы биотестирования оценивают интегральную токсичность воды, т.е. влияние на тест-организм всех загрязняющих веществ, которые содержатся в изучаемых пробах. Организмы, используемые для биотестирования, обладают различной чувствительностью к токсикантам и существует проблема переноса полученных с помощью простейших тест-объектов данных на человека. Это создает определенные сложности для принятия управленческих решений в сфере водопользования.

Для мониторинга токсичности водоисточников в период «цветения» можно предложить следующий алгоритм (рис.1). Согласно данному алгоритму, первоначально целесообразно определить количество и видовой состав сине-зеленых водорослей в пробе воды. Если количество клеток цианобактерий превышает 20000 в 1 мл пробы воды, то проводится биотестирование на хлорелле, дафниях и половых клетках быка [48-50]. При обнаружении токсичности проводится количественный и качественный анализ

(иммуноферментный анализ, жидкостная хроматография, масс-спектрометрия) для идентификации загрязнителей.

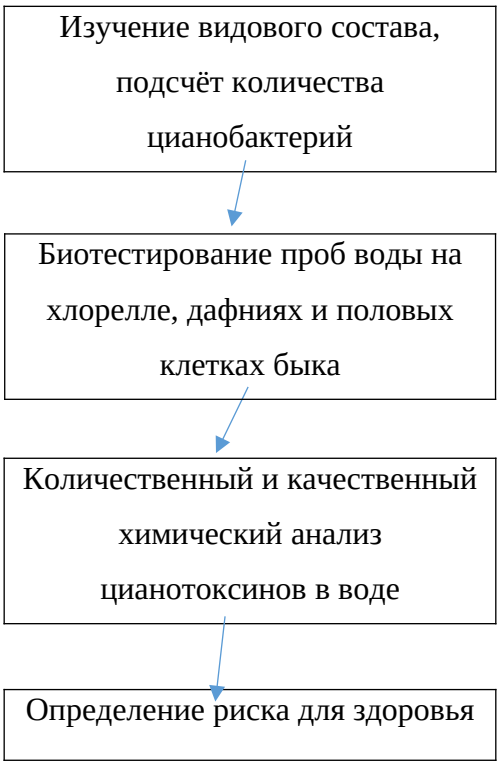

Рис 1. Алгоритм оценки гигиенической безопасности воды

Заключение.

Анализ имеющийся проблемы показывает, что оценка гигиенической безопасности питьевой воды и водоисточников, содержащих цианобактерии, в настоящее время имеет большое значение. На практике, как правило, в России не проводится в полном объеме мониторинг токсинов сине-зеленых зеленых водорослей. Это создает значительные риски для здоровья населения, так как они оказывают нейротоксическое, гепатотоксическое и генотоксическое действие на организм человека. В нашей стране остро стоит проблема нормирования цианотоксинов и внедрения в практику современных методов анализа для проведения мониторинговых исследований.

Наиболее полное представление о гигиенической безопасности воды можно получить только на основе комплексного исследования, включающего

количественный и качественный химический анализ, методы биоиндикации и биотестирования.

Список литературы:

1. Francis G. Poisonous Australian Lake. Nature v.18, p. 11–12 (1878). https://doi.org/10.1038/018011d0 ID: 46276288.

2. Mulalo Mutoti, Jabulani Gumbo, Afam Israel Obiefuna Jideani. Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review // Physics and Chemistry of the Earth. 2022. V.125. p.1-10. https://doi.org/10.1016/j.pce.2021.103101.

3. Beversdorf L.J., Rude K., Weirich C.A., Bartlett S.L., Seaman M., Kozik C., Biese P., Gosz T., Suha M., Stempa C., Shaw C., Hedman C., Piatt J.J., Miller T.R. Analysis of cyanobacterial metabolites in surface and raw drinking waters reveals more than microcystin // Water Res. 2018. v. 140. p. 280–290. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.032.

---

4. Rigosi A., Carey C.C., Ibelings B.W., Brookes J.D. (2014) The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. Limnol. Oceanogr. 59:99–114. 75. IPCC. (2014).

5. Кривина Е.С., Тарасова Н.Г. Фитопланктон Саратовского водохранилища: таксономический состав и эколого-географическая характеристика //

Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2013. Т.22. №2. С. 47-62.

6. Xingde Du, Haohao Liu, Le Yuan, Yueqin Wang, Ya Ma, Rui Wang, Xinghai Chen, Michael D. Losiewicz, Hongxiang Guo, Huizhen Zhang. The Diversity of Cyanobacterial Toxins on Structural Characterization, Distribution and Identification: A Systematic Review // Toxins 2019, 11, 530; doi:10.3390/toxins11090530.

7. World Health Organization. Guidelines for Safe Recreational Water Environments.Vol.1: Coastal and Fresh Waters. Geneva: World Health Organization. 2003. 219 p.

8. Жолдакова З.И., Л.В. Дерябина, О.О. Синицына, Е.А. Пряхин, Г.А. Тряпицына, С.С. Андреев, Е.В. Сафонова, И.А. Коломиец, В.А. Ячменев. Влияние токсинов цианобактерий рода Microcystis Шершневского водохранилища на ДНК, клеточный цикл и апоптоз клеток костного мозга у мышей линии СВА // Гигиена и санитария, 2008. № 4. С. 69—72.

9. Егорова Н.А., Кузь Н.В., Синицына О.О. Материалы к обоснованию гигиенического норматива микроцистина-LR в воде водных объектов. Гигиена и санитария. 2018; 97(11): 1046-52. DOI: http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-11-1046-52.

10. Кузь Н.В. Научное обоснование гигиенических рекомендаций по контролю и снижению загрязнения питьевой воды цианобактериями и цианотоксинами. 2019. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 14.02.01- Гигиена. 25 с.

11. World Health Organization (WHO). Guidelines for drinking water quality. 4th ed. Geneva: WHO, 2011. 541p.

12. World Health Organization (WHO). 1999. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring, and Management, I. Chorus and J. Bartram, (Eds.). E&FN Spon, London, UK.

13. World Health Organization (WHO).2003. Cyanobacterial Toxins: Microcystin-LR in Drinking Water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland.

14. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Supporting Documentation Cyanobacterial Toxins Microcystin-LR (Health Canada, 2002).

15. Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document. Cyanobacterial Toxins in Drinking Water. January 2016. 171c.

16. Australian Drinking Water Guidelines 6 (NHMRC, NRMMC, 2011). NHMRC, NRMMC (2011) Australian Drinking Water Guidelines Paper 6 National Water Quality Management Strategy. National Health and Medical Research Council, National Resource Management Ministerial Council, Commonwealth of Australia, Canberra.

17. Minnesota Department of Health Drinking Water Protection. http://www.health.state.mn.us/water. 2012.

18. Public Health Advisory Guidelines, Harmful Algae Blooms in Freshwater Bodies. (OHA, 2015). Oregon Health Authority: Algae Resources for Drinking Water website (includes monitoring guidelines) http://public.health.oregon.gov/HealthyEnvironments/DrinkingWater/Operations/ Treatment/Pages/alg ae.aspx.

19. Oregon Public Health Division: Sampling Guidelines for Cyanobacterial Harmful Algal Blooms in Recreational Waters, October 2012 http://public.health.oregon.gov/HealthyEnvironments/Recreation/HarmfulAlgaeBloo ms/Documents/HA B%20Sampling%20Guidance%2001032014.pdf

20. U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). (2015a). Health Effects Support Document for the Cyanobacterial Toxin Microcystin. EPA-820R1502, Washington, DC; 2015. Available from: http://www2.epa.gov/nutrient-policy-data/health-andecological-effects

21. U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). (2015b). Recommendations for Public Water Systems to Manage Cyanotoxins in Drinking Water. EPA-815R15010, Washington, DC; 2015. Available from: http://www2.epa.gov/nutrient-policy-data/ guidelines-and-recommendations

22. Drobac D., Tokodi N., Simenovic J., Baltic V., Stanic D., Svircev Z. Human exposure to cyanotoxins and their effects on health // Arh. Hig. Rada. Toksikol. 2013. V. 64. P. 305–316.

23. Burch M.D. Effective doses, guidelines and regulations // Adv. Exp. Med. Biol. 2008. V. 619. P. 831–853.

24. EPA. 2015a. Drinking Water Health Advisory for the Cyanobacterial Toxin Microcystin. Office of Water Mail Code 4304T. EPA 820R15100. June 2015.

25. EPA. 2015b. Drinking Water Health Advisory for the Cyanobacterial Toxin Cylindrospermopsin. EPA 820R15101.

26. EPA. 2017. Sampling Guidance for Unknown Contaminants in Drinking Water, EPA-817-R-08- 003.

27. Recommendations for Cyanobacteria and Cyanotoxin Monitoring in Recreational Waters. Office of Water EPA 823-R-19-001 September 2019. www.epa.gov.

28. U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). (2015c) Method 544. Determination of Microcystins and Nodularin in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Version 1.0, EPA/600/R14/474, Cincinnati, OH. Available from: http://www.epa.gov/nerlcwww/documents/Method544_Final.pdf

29. Hawkins P.R., Novic S., Cox P., Neilan B.A., Burns B.P., Shaw G., Wickramasinghe W., Peerapornpisal Y., Ruangyuttikarn W., Itayama T., Saitou T., Mizouchi M. and Inamori Y. A review of analytical methods for assessing the public health risk from microcystin in the aquatic environment // Journal of water supply: research and technology. 2005. V. 54. P. 509–518.

30. Степанова Н.Ю., Халиуллина Л.Ю., Никитин О.В., Латыпова В.З. Структура и токсичность цианобактерий в рекреационных зонах водоемов казанского региона // Вода: химия и экология. №11, ноябрь 2012 г. с. 67-72.

31. Mariana Raposo, Maria João Botelho, Sara T. Costa, Maria Teresa S. R. Gomes, Alisa Rudnitskaya. A Carbamoylase-Based Bioassay for the Detection of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins. Sensors. 2020, 20, 507; doi:10.3390/s20020507.

32. Sundaravadivelu, D.; Sanan, T.T.; Venkatapathy, R.; Mash, H.; Tettenhorst, D.; DAnglada, L.; Frey, S.; Tatters, A.O.; Lazorchak, J. Determination of Cyanotoxins and Prymnesins in Water, Fish Tissue, and Other Matrices: A Review. Toxins. 2022, 14, 213. https://doi.org/ 10.3390/toxins14030213.

33. Huixia Zhang, Bingyan Li, Yipeng Liu, Huiyan Chuan, Yong Liu, Ping Xie. Immunoassay technology: Research progress in microcystin-LR detection in water samples. Journal of Hazardous Materials. Volume 424, Part B, 15 February 2022, 127406. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127406.

34. Hammoud, N.A.; Zervou, S.-K.; Kaloudis, T.; Christophoridis, C.; Paraskevopoulou, A.; Triantis, T.M.; Slim, K.; Szpunar, J.; Fadel, A.; Lobinski, R. Investigation of the Occurrence of Cyanotoxins in Lake Karaoun (Lebanon) by Mass Spectrometry, Bioassays and Molecular Methods. Toxins 2021, 13, 716. https://doi.org/10.3390/ toxins13100716.

35. Agrawal M, Yadav S, Patel C, Raipuria N, Agrawal MK. Bioassay methods to identify the presence of cyanotoxins in drinking water supplies and their removal strategies // Eur. J. Exp. Biol. 2012. 2:321–336.

36. Калинникова, Т.Б., Гайнутдинов, М.Х., Шагидуллин, Р.Р. Методы биотестирования токсинов, продуцируемых цианобактериями // Российский журнал прикладной экологии. 2018 (2):35-46.

37. Ludek Blaha, Ana Maria, Valérie Fessard, Daniel Gutiérrez-Praena, Angeles Jos, Benjamin Marie, James Metcalf, Silvia Pichardo, Maria Puerto, Andrea Torokne, Andrea Torokne, Gabor Vasas, Bojana Zegura. Bioassay Use in the Field of Toxic Cyanobacteria // Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis. J. Meriluoto, L. Spoof, G.A. Codd (eds.), 2017. John Wiley & Sons Ltd. P. 394-404.

38. Marsalek B., Blaha L. Comparison of 17 biotests for detection of cyanobacterial toxicity. Environmental toxicology. 2004. 19(4). P. 310-317.

39. Dajana Blagojević, Olivera Babić, Sonja Kaišarević, Bojana Stanić, Varja Mihajlović, Petar Davidović, Petra Marić, Tvrtko Smital Jelica Simeunović. Evaluation of cyanobacterial toxicity using different biotests and protein phosphatase inhibition assay // Environmental Science and Pollution Research. 2021. v. 28, p. 49220–49231.

40. Iliyana Sazdova, Milena Keremidarska-Markova, Mariela Chichova, Blagoy Uzunov, Georgi Nikolaev, Mitko Mladenov, Rudolf Schubert, Maya

Stoyneva-Gartner, Hristo S. Gagov. Review of Cyanotoxicity Studies Based on Cell Cultures // Journal of Toxicology. Volume 2022, Article ID 5647178, p. 1-17. https://doi.org/10.1155/2022/5647178.

41. Smutná M, Babica P, Jarque S, Hilscherová K, Maršálek B, Haeba M, Bláha L Acute, chronic and reproductive toxicity of complex cyanobacterial blooms in Daphnia magna and the role of microcystins // Toxicon. 2014. 79:11–18.

---

42. Barbara Pawlik-Skowrońska, Magdalena Toporowska, Hanna Mazur-Marzec. Effects of secondary metabolites produced by different cyanobacterial populations on the freshwater zooplankters Brachionus calyciflorus and Daphnia pulex // Environmental Science and Pollution Research. 2019. 26:11793–11804 https://doi.org/10.1007/s11356-019-04543-1.

43. Thanh Son Dao , Lan-Chi Do-Hong, Claudia Wiegand. Chronic effects of cyanobacterial toxins on Daphnia magna and their offspring // J. toxicon. 2010. V. 55, Issue 7, P. 1244-1254. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.01.014.

44. Schwarzenberger A., Martin-Creuzburg D. Daphnia's Adaptive Molecular Responses to the Cyanobacterial Neurotoxin Anatoxin-α Are Maternally Transferred. Toxins 2021, 13, 326. https://doi.org/10.3390/ toxins13050326.

45. Schwarzenberger A. Negative Effects of Cyanotoxins and Adaptative Responses of Daphnia. Toxins 2022, 14, 770. https://doi.org/ 10.3390/toxins14110770.

46. SierosławskaA.,A. Rymuszka,T. Skowroński. Application of Biotests in Cyanobacterial Extract Toxicity Assessment// Archives of Environmental Protection. 2014. V. 40. № 3. p. 115 – 121. DOI: 10.2478/aep-2014-0028.

47. Р 52.24.809.2014. Рекомендации. Методы оценки токсического влия ния фитоценозов планктона на формирование качества поверхностных вод суш и" (введены в действие Приказом Росгидромета от 23.04.2014 N 204). Дата актуализации: 01.01.2021.

48. ПНД ФТ 14.1:2:3:4.10-04 (Т 16.1:2:2.3:3.7-04). Токсикологические методы контроля.Методика измерений оптической пло

тности культуры водоросли хлорелла (Chlorella vulgaris Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления. М.: Стандартинформ, 2014: 38.

49. Еськов А.П., Тимофеев М.А., Каюмов Р.И., Терехова В.А. Методика выполнения измерений индекса токсичности почв, почвогрунтов, вод и отходов по изменению подвижности половых клеток млекопитающих in vitro. М. МГУ.2009: 30. ФР.1.31.2009.06301; ПНД Ф 14.1:2:4:15-09; 16.1:2:2.3:3.13-09.

50. ФР.1.39.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. Москва. «АКВАРОС» 2007.