

ЗАМЕТКИ

УДК 582.26/.27-114.328:549

**ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА СКОРОСТЬ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
HETEROSIGMA AKASHIWO, *ALEXANDRIUM AFFINE*
И *PROROCENTRUM FORAMINOSUM***

© 2025 г. **Ж. В. Маркина¹, А. В. Огнистая^{1,2}**

¹Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского, Владивосток,
Российская Федерация

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация
E-mail: alya_lokshina@mail.ru

Поступила в редакцию 18.11.2022; после доработки 14.04.2023;
принята к публикации 12.08.2025.

Увеличение частоты вредоносных цветений водорослей связывают с растущим загрязнением окружающей среды, в частности с повышением содержания тяжёлых металлов в водах. Цель работы — оценить влияние тяжёлых металлов на скорость роста микроводорослей, вызывающих такие цветения. Изучено действие ионов кадмия Cd^{2+} , свинца Pb^{2+} и никеля Ni^{2+} в концентрациях 10 и 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$, а также цинка Zn^{2+} и железа Fe^{3+} в концентрациях 50 и 100 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ на скорость роста микроводорослей *Heterosigma akashiwo*, *Alexandrium affine* и *Prorocentrum foraminosum*. Оценка выполнена на третьи и седьмые сутки опыта. Выявлено, что эти тяжёлые металлы оказывали влияние на все изученные виды водорослей. На третьи сутки скорость роста *H. akashiwo* увеличивалась при добавлении Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} и Fe^{3+} ; подавление роста обнаружено при внесении Zn^{2+} . На седьмые сутки ингибирование микроводоросли выявлено при содержании 10 и 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Cd^{2+} , 10 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Pb^{2+} и Ni^{2+} , а также 100 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Zn^{2+} . Стимуляция *H. akashiwo* происходила при 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Pb^{2+} и Ni^{2+} , 50 и 100 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Fe^{3+} . Скорость роста *A. affine* на третьи сутки увеличивалась при 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Cd^{2+} , 10 и 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Pb^{2+} и Ni^{2+} , а также 100 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Fe^{2+} и Zn^{2+} . На седьмые сутки рост уменьшался в результате негативного влияния 10 и 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Cd^{2+} и Pb^{2+} и 20 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Ni^{2+} . Стимуляция роста водоросли зафиксирована при 10 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ Ni^{2+} , а также при обеих концентрациях Fe^{3+} и Zn^{2+} . Наименее устойчивым к тяжёлым металлам оказался вид *P. foraminosum*. Его скорость роста снижалась при воздействии всех токсикантов, за исключением Fe^{3+} : в данном случае происходила стимуляция роста микроводоросли на седьмой день эксперимента.

Ключевые слова: *Heterosigma akashiwo*, *Alexandrium affine*, *Prorocentrum foraminosum*, кадмий, никель, свинец, цинк, железо, тяжёлые металлы

В последние десятилетия в разных акваториях Мирового океана отмечено увеличение количества вредоносных цветений, вызываемых рафидофитовой водорослью *Heterosigma akashiwo* (Y. Nada) Y. Nada ex Y. Nara, M. Chihara [Dursun et al., 2016; Heisler et al., 2008] и представителями динофитовых водорослей родов *Alexandrium* Halim, 1960 [Anderson et al., 2012] и *Prorocentrum* Ehrenberg, 1834 [Li et al., 2021; Shin et al., 2019]. Ряд исследователей связывает учащение этих явлений с возрастающим загрязнением окружающей среды [Heisler et al., 2008]. Тяжёлые металлы регулярно обнаруживают в водах российских морей [Качество морских вод, 2020]. Всё чаще

их выявляют и в других акваториях Мирового океана. Влияние этих токсикантов на растительные организмы изучают в течение длительного времени, однако в большинстве работ анализируют сублетальные и летальные концентрации, а содержание металлов, соответствующее природному, исследуют всё реже [Nagajoti et al., 2010].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы было оценить действие кадмия, никеля, свинца, цинка и железа на скорость роста микроводорослей *Heterosigma akashiwo*, *Alexandrium affine* H. Inoue & Y. Fukuyo Balech и *Prorocentrum foraminosum* Faust.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектом исследования служили культуры одноклеточных водорослей *H. akashiwo* (штамм MBRU_HAK-SR11) (Raphidophyceae), *A. affine* (штамм AFRU-12) (Dinophyta) и *P. foraminosum* (штамм MBRU_PrRUS_16) (Dinophyta), предоставленные ЦКП «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (<https://marbank.dvo.ru/>).

Условия проведения экспериментов. Водоросли выращивали на среде *f* [Guillard, Ryther, 1962] в 250-мл колбах Эрленмейера с объёмом культуральной среды 100 мл, при температуре +18 °C, интенсивности освещения 70 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ и свето-темновом периоде 14 ч:10 ч (свет:темнота), без барботирования. В качестве инокулята использовали культуру на экспоненциальной стадии роста. Начальная концентрация клеток составила 20 000 кл·мл⁻¹ для *H. akashiwo*, 300 кл·мл⁻¹ для *P. foraminosum* и 1000 кл·мл⁻¹ для *A. affine*. Продолжительность экспериментов — семь суток.

Отбор проб объёмом 1 мл осуществляли пипеточным дозатором (НПП «Томъаналит», Россия). Подсчёт клеток проводили на третьи и седьмые сутки в камере Нахотта объёмом 50 мл под микроскопом EVOS M5000 (Thermo Fisher Scientific, США) при увеличении 10х. Всего подсчитано шесть повторностей для каждого варианта опыта. Эксперименты проводили в трёх биологических повторностях [Руководство, 2002].

Токсиканты и их концентрации. Cd²⁺ добавляли в виде 3CdSO₄ × 8H₂O, Ni²⁺ — NiSO₄ × 7H₂O, Pb²⁺ — PbCl₂, Zn²⁺ — ZnSO₄ × 7H₂O, Fe³⁺ — FeCl₃ × 6H₂O с пересчётом на ионы металла в день постановки эксперимента. Выбор концентраций основан на данных о содержании этих тяжёлых металлов в прибрежных водах России и об их предельно допустимых концентрациях (ПДК); проанализированные значения соответствуют ПДК и 2ПДК [Качество морских вод, 2020].

Скорость роста рассчитана по стандартной формуле [Guillard, Ryther, 1962]. Достоверность различий между выборками оценена по критерию Манна — Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Скорость роста *H. akashiwo* на третьи сутки была выше контрольной при воздействии Pb²⁺ и Ni²⁺ в концентрации 10 мкг·л⁻¹ и Fe²⁺ в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹ (табл. 1). В остальных случаях показатель достоверно не отличался от контроля. На седьмые сутки скорость роста при 10 мкг·л⁻¹ Cd²⁺ была значимо ниже таковой в контроле.

Скорость роста *A. affine* на третьи сутки существенно возростала при воздействии Cd²⁺ в концентрации 20 мкг·л⁻¹, а также Pb²⁺ и Ni²⁺ (табл. 2). Внесение 50 мкг·л⁻¹ Fe²⁺ и Zn²⁺ приводило к снижению показателя. На седьмые сутки при содержании в среде 10 и 20 мкг·л⁻¹ Cd²⁺ и Pb²⁺ происходило ингибирование роста водоросли. В то же время 10 мкг·л⁻¹ Ni²⁺, 50 мкг·л⁻¹ Fe²⁺ и 100 мкг·л⁻¹ Zn²⁺ вызвали стимуляцию её роста.

Скорость роста *P. foraminosum* при всех исследованных концентрациях металлов была ниже контроля как на третьи, так и на седьмые сутки эксперимента. Между тем на седьмой день при добавлении Fe²⁺ зафиксирована стимуляция роста микроводоросли (табл. 3).

Таблица 1. Средние значения скорости роста (дел.·сут⁻¹) *Heterosigma akashiwo* при воздействии тяжёлых металлов в разных концентрациях (мкг·л⁻¹)

Table 1. Mean values of the growth rate (div.·day⁻¹) rate of *Heterosigma akashiwo* when exposed to heavy metals at different concentrations (µg·L⁻¹)

Сутки	0	Cd ²⁺		Pb ²⁺		Ni ²⁺		Fe ²⁺		Zn ²⁺	
		10	20	10	20	10	20	50	100	50	100
Третьи	0,31	0,34	0,31	0,39	0,35	0,39	0,35	0,42	0,40	0,27	0,28
Седьмые	0,23	<i>0,17</i>	0,20	0,21	0,26	0,21	0,26	0,24	0,25	0,23	0,22

Примечание: жирным выделены значения достоверно выше контрольного уровня ($p < 0,05$), курсивом — достоверно ниже контрольного уровня.

Note: values significantly higher than the control level ($p < 0.05$) are highlighted in bold; a value significantly lower than the control level is highlighted in italics.

Таблица 2. Средние значения скорости роста (дел.·сут⁻¹) *Alexandrium affine* при воздействии тяжёлых металлов в разных концентрациях (мкг·л⁻¹)

Table 2. Mean values of the growth rate (div.·day⁻¹) of *Alexandrium affine* when exposed to heavy metals at different concentrations (µg·L⁻¹)

Сутки	0	Cd ²⁺		Pb ²⁺		Ni ²⁺		Fe ²⁺		Zn ²⁺	
		10	20	10	20	10	20	50	100	50	100
Третьи	0,21	0,18	0,33	0,36	0,36	0,45	0,37	<i>0,03</i>	0,24	<i>0,11</i>	0,41
Седьмые	0,13	<i>-0,16</i>	<i>-0,29</i>	<i>-0,01</i>	<i>0,05</i>	0,21	0,12	0,27	0,14	0,13	0,23

Примечание: жирным выделены значения достоверно выше контрольного уровня ($p < 0,05$); курсивом — достоверно ниже контрольного уровня.

Note: values significantly higher than the control level ($p < 0.05$) are highlighted in bold; values significantly lower than the control level are highlighted in italics.

Таблица 3. Средние значения скорости роста (дел.·сут⁻¹) *Prorocentrum foraminosum* при воздействии тяжёлых металлов в разных концентрациях (мкг·л⁻¹)

Table 3. Mean values of the growth rate (div.·day⁻¹) of *Prorocentrum foraminosum* when exposed to heavy metals at different concentrations (µg·L⁻¹)

Сутки	0	Cd ²⁺		Pb ²⁺		Ni ²⁺		Fe ²⁺		Zn ²⁺	
		10	20	10	20	10	20	50	100	50	100
Третьи	0,24	<i>0,05</i>	0,21	<i>0,12</i>	<i>0,10</i>	<i>0,08</i>	0,20	<i>-0,20</i>	<i>-0,33</i>	<i>-0,11</i>	<i>0,10</i>
Седьмые	0,13	<i>0,05</i>	<i>0,01</i>	0,12	0,10	<i>0,01</i>	<i>-0,03</i>	0,16	0,24	0,13	0,06

Примечание: курсивом выделены значения достоверно ниже контрольного уровня ($p < 0,05$).

Note: values significantly lower than the control level ($p < 0.05$) are highlighted in italics.

Токсичность тяжёлых металлов для микроводорослей разных отделов была показана неоднократно. Она связана прежде всего с тем, что они вызывают окислительный стресс в результате увеличения количества свободных радикалов. Из-за повреждения молекул свободными радикалами происходит нарушение физиологических процессов, что в конечном итоге влияет на жизнеспособность клеток [Nagajoti et al., 2010].

Тяжёлые металлы не разлагаются; соответственно, их взаимодействие с организмами остаётся постоянным на протяжении опыта. При этом может проявляться токсический эффект, что в нашем эксперименте было зарегистрировано у *P. foraminosum*. Однако у *H. akashiwo* при наличии в среде свинца, никеля и железа, а у *A. affine* при наличии кадмия, свинца, никеля и цинка отмечена стимуляция роста с дальнейшим снижением её интенсивности, то есть

эффект гормезиса. Гормезис представляет собой двухфазную, а иногда и многофазную дозозависимую реакцию организма на воздействие химического вещества, характеризующуюся периодами стимуляции и подавления различных биологических функций (изменяется в том числе интенсивность роста популяции организмов). Проявление гормезиса обусловлено физиологическими особенностями организма. Обычно этот эффект проявляется при воздействии концентраций ниже летальных [Calabrese, Mattson, 2011; Cedergreen et al., 2007].

В целом изученные виды оказались более чувствительными к воздействию всех металлов, чем другие представители микроводорослей. Например, ингибирование скорости роста популяции *Phaeocystis antarctica* на 10 % происходило при концентрации Cd^{2+} 135 мкг·л⁻¹ и Pb^{2+} 260 мкг·л⁻¹ [Gissi et al., 2015]. Скорость роста *Isochrysis galbana* увеличивалась при 50–100 мкг·л⁻¹ Pb^{2+} [Ahmadi et al., 2021]. В то же время *Ankistrodesmus falcatus* оказался видом, близким по устойчивости к воздействию Ni^{2+} : численность его клеток снижалась при концентрациях металла 15–30 мкг·л⁻¹ уже через 24 ч опыта [Martínez-Ruiz, Martínez-Jeronimo, 2015].

Заключение. Протестированные соединения тяжёлых металлов оказывали влияние на все изученные виды микроводорослей. Наиболее чувствительным видом был *Prorocentrum foraminosum*, наименее — *Heterosigma akashiwo*. В связи с тем, что скорость роста *H. akashiwo* увеличивалась при добавлении Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} и Fe^{2+} , а *Alexandrium affine* — при наличии в среде Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} и Zn^{2+} , можно предположить, что указанные металлы способны оказывать влияние на формирование цветения этих видов.

Данная работа финансировалась за счёт средств бюджета Национального научного центра морской биологии ДВО РАН, тема FWFE-2024-0004 «Динамика морских экосистем, адаптации морских организмов и сообществ к факторам внешней среды»

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2020 / под ред. А. Н. Коршенко. Москва : Наука, 2020. 200 с. [Marine Water Pollution. Annual Report 2020 / A. Korshenko (Ed.). Moscow : Nauka, 2020, 200 p. (in Russ.)]
2. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов / Министерство природных ресурсов Российской Федерации. Москва : РЭФИА : НИА-Природа, 2002. [60] с. [Rukovodstvo po opredeleniyu metodom biotestirovaniya toksichnosti vod, donnykh otlozhenii, zagryaznyayushchikh veshchestv i burovykh rastvorov / Ministerstvo prirodnikh resursov Rossiiskoi Federatsii. Moscow : REFIA : NIA-Priroda, 2002, [60] p. (in Russ.)]
3. Ahmadi Z. B., Taherizadeh M. R., Zadi M. Y. Effects of different concentrations of lead on growth, photosynthetic pigmentation and protein in micro alga *Isochrysis galbana*. *Journal of Oceanography*, 2021, vol. 12, iss. 46, pp. 109–116.
4. Anderson D. M., Alpermann T. J., Cembella A. D., Collos Y., Masseret E., Montresor M. The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae*, 2012, vol. 14, pp. 10–35. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.012>
5. Calabrese E. J., Mattson M. P. Hormesis provides a generalized quantitative estimate of biological plasticity. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 2011, vol. 5, iss. 1, pp. 25–38. <https://doi.org/10.1007/s12079-011-0119-1>
6. Cedergreen N., Streibig J. C., Kudsk P., Mathiasen S. K., Duke S. O. The occurrence of hormesis in plants and algae. *Dose-Response*, 2007, vol. 5, iss. 2, pp. 150–162. <https://doi.org/10.2203/dose-response.06-008.Cedergreen>
7. Dursun F., Taş S., Koray T. Spring bloom of the raphidophycean *Heterosigma akashiwo* in the Golden Horn Estuary at the northeast of Sea of Marmara. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2016, vol. 33, iss. 3, pp. 201–207. <https://doi.org/10.12714/egejfas.2016.33.3.03>
8. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian*

- Journal of Microbiology*, 1962, vol. 8, no. 2, pp. 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
9. Gissi F., Adams M. S., King C. K., Jolley D. F. A robust bioassay to assess the toxicity of metals to the Antarctic marine microalga *Phaeocystis antarctica*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2015, vol. 34, iss. 7, pp. 1578–1587. <https://doi.org/10.1002/etc.2949>
 10. Heisler J., Glibert P. M., Burkholder J. M., Anderson D. M., Cochlan W., Dennison W. C., Dortch Q., Gobler C. J., Heil C. A., Humphries E., Lewitus A., Magnien R., Marshall H. G., Sellner K., Stockwell D. A., Stoecker D. K., Suddleson M. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus. *Harmful Algae*, 2008, vol. 8, iss. 1, pp. 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.006>
 11. Li M., Zhang F., Glibert P. M. Seasonal life strategy of *Prorocentrum minimum* in Chesapeake Bay, USA: Validation of the role of physical transport using a coupled physical–biogeochemical–harmful algal bloom model. *Limnology and Oceanography*, 2021, vol. 66, iss. 11, pp. 3873–3886. <https://doi.org/10.1002/lno.11925>
 12. Martínez-Ruiz E. B., Martínez-Jeronimo F. Nickel has biochemical, physiological, and structural effects on the green microalga *Ankistrodesmus falcatus*: An integrative study. *Aquatic Toxicology*, 2015, vol. 169, pp. 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.10.007>
 13. Nagajoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, vol. 8, iss. 3, pp. 199–216. <https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
 14. Shin H. H., Li Z., Mertens K. N., Seo M. H., Gu H., Lim W. A., Yoon Y. H., Soh H. Y., Matsuoka K. *Prorocentrum shikokuense* Hada and *P. donghaiense* Lu are junior synonyms of *P. obtusidens* Schiller, but not of *P. dentatum* Stein (Prorocentrales, Dinophyceae). *Harmful Algae*, 2019, vol. 89, art. no. 101686 (14 p.). <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101686>

THE EFFECT OF HEAVY METALS ON THE GROWTH RATE OF MICROALGAE *HETEROSIGMA AKASHIWO*, *ALEXANDRIUM AFFINE*, AND *PROROCENTRUM FORAMINOSUM*

Zh. Markina¹ and A. Ognistaya^{1,2}

¹A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

²Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: alya_lokshina@mail.ru

A rise in the frequency of harmful algal blooms is associated with increasing environmental pollution, in particular with a gain in heavy metal content in waters. The aim of the study was to assess the effect of heavy metals on the growth rate of microalgae causing such blooms. The effect of heavy metals on the growth rate of microalgae *Heterosigma akashiwo*, *Alexandrium affine*, and *Prorocentrum foraminosum* was investigated: cadmium Cd^{2+} , nickel Ni^{2+} , and lead Pb^{2+} at concentrations of 10 and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, as well as zinc Zn^{2+} and iron Fe^{3+} at 50 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The evaluation was carried out on the third and seventh days of the experiment. These heavy metals were found to affect all investigated algae species. On the third day, the growth rate of *H. akashiwo* increased with the addition of Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , and Fe^{3+} ; the growth was suppressed with the addition of Zn^{2+} . On the seventh day, the microalga inhibition was recorded at 10 and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Cd^{2+} , 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Pb^{2+} and Ni^{2+} , and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Zn^{2+} . *H. akashiwo* stimulation occurred at 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Pb^{2+} and Ni^{2+} , as well as at 50 and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Fe^{3+} . The growth rate of *A. affine* on the third day rose at 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Cd^{2+} , 10 and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Pb^{2+} and Ni^{2+} , and 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Fe^{2+} and Zn^{2+} . On the seventh day, the growth rate dropped because of the negative effect of 10 and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Cd^{2+} and Pb^{2+} , as well as 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Ni^{2+} . Stimulation of *A. affine* growth was registered at 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ of Ni^{2+} and at both concentrations of Fe^{3+} and Zn^{2+} . *P. foraminosum* was the least resistant to heavy metals. Its growth rate decreased when exposed to all toxicants, except for Fe^{3+} : in this case, stimulation of the microalga growth occurred on the seventh day of the experiment.

Keywords: *Heterosigma akashiwo*, *Alexandrium affine*, *Prorocentrum foraminosum*, cadmium, nickel, lead, zinc, iron, heavy metals