

УДК 582.26:551.464

Ж.В. Маркина^{1,2}, Н.А. Айздайчер^{1*}¹ Национальный научный центр морской биологии
им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,
690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17;² Дальневосточный государственный федеральный университет,
690091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8**СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ И ПОНИЖЕННОЙ
СОЛЕННОСТИ НА ДИНАМИКУ ЧИСЛЕННОСТИ
И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ КРИПТОФИТОВОЙ
ВОДОРОСЛИ *PLAGIOSELMIS PROLONGA***

Изучено совместное влияние кадмия в концентрациях 10, 30 и 50 мкг/л и солёности 32, 24 и 16 ‰ на морскую одноклеточную водоросль *Plagioselmis prolunga* (Cryptophyta). Оцениваемыми показателями являлись: динамика численности популяции, размер клеток, относительный показатель внутренней структуры клеток — боковое светорассеяние клеток, флуоресценция фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, фикоэритрина и аллофикоцианина), отражающая функционирование фотосинтетического аппарата, и содержание активных форм кислорода (АФК), приводящих к разрушению мембран клеток. Установлено, что в полносолёной морской воде (32 ‰) присутствие кадмия в среде в концентрации 10 мкг/л не влияло на динамику роста и физиологические показатели водоросли. Добавка 30 и 50 мкг/л кадмия в среду стимулировала рост численности клеток, содержание АФК возрастало при 50 мкг/л; остальные показатели не изменялись. Размер клеток увеличивался. Понижение солёности до 24 ‰ приводило к интенсивному росту численности клеток на всем протяжении опыта, возрастанию АФК на третьи сутки и снижению этого показателя на седьмые. Боковое светорассеяние и флуоресценция хлорофилла *a* не изменялись по сравнению с контролем, флуоресценция фикоэритрина и аллофикоцианина уменьшалась. Клетки становились крупнее. Показано, что совместное действие кадмия во всех концентрациях при солёности 16 ‰ приводило к ингибированию роста популяции и уменьшению показателей бокового светорассеяния и флуоресценции фотосинтетических пигментов *P. prolunga*, кроме АФК и размера клеток, показатели которых возрастали. Выявлено, что кадмий при солёности 32 ‰ стимулирует рост водоросли и не оказывает влияние на фотосинтетический аппарат клеток, а при понижении солёности до 16 ‰ оказывает угнетающее действие как на рост, так и на фотосинтетический аппарат клетки. При всех концентрациях кадмия и всех солёностных режимах содержание активных форм кислорода возрастало, размер клеток также увеличивался.

Ключевые слова: кадмий, солёность, криптофитовые водоросли *Plagioselmis prolunga*, численность клеток, флуоресценция фотосинтетических пигментов, активные формы кислорода, проточная цитометрия.

DOI: 10.26428/1606-9919-2019-197-182-193.

* Маркина Жанна Васильевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, e-mail: zhannav@mail.ru; Айздайчер Нина Александровна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, e-mail: aizdaicher@mail.ru.

Markina Zhanna V., Ph.D., researcher, e-mail: zhannav@mail.ru; Aizdaicher Nina A., Ph.D., assistant professor, senior researcher; e-mail: aizdaicher@mail.ru.

Markina Zh.V., Aizdaicher N.A. Combined effect of cadmium and lowered salinity on dynamics of abundance and physiological processes for alga *Plagioselmis prolunga* // *Izv. TINRO*. — 2019. — Vol. 197. — P. 182–193.

Combined effect of cadmium (10, 30, and 50 µg/L) and salinity (32, 24, and 16 ‰) on marine unicellular alga *Plagioselmis prolunga* (Cryptophyta) is investigated. Such parameters as the cells number dynamics, their size, side scattering (as a characteristic of internal structure of cells), photosynthetic pigments fluorescence (chlorophyll *a*, phycoerythrin, allophycocyanin, as a measure of the photosynthetic apparatus function), and reactive oxygen species (ROS) content (as an index of the cellular membranes destruction) were registered in experiments using the flow cytometer CytoFLEX (Beckman Coulter). Addition of cadmium in concentration of 10 µg/L to the water with salinity 32 ‰ did not influence on alga growth and its physiological parameters. The higher concentrations of cadmium, as 30 and 50 µg/L, stimulated the cells growth and ROS increased under the concentration of 50 µg/L, but other parameters did not altered. The same contamination with cadmium under salinity 24 ‰ caused the cells size rising and their intensive growth, ROS increasing on 3rd day and decreasing on 7th day of exposition, and phycoerythrin and allophycocyanin fluorescence diminishing, but the side scattering and chlorophyll *a* fluorescence still did not differ from the control. Any concentration of cadmium in the water with salinity 16 ‰ caused the population growth inhibition, decreasing of side scattering and all photosynthetic pigments fluorescence, and increasing of ROS and cells size. There is concluded that cadmium contamination in conditions of normal (32 ‰) salinity has a stimulation effect on *Plagioselmis prolunga* growth and no effect on its photosynthetic apparatus, but the same contamination in conditions of lowered salinity has a negative effect on both its growth and photosynthetic functions, whereas the reactive oxygen species content increases and the cells become larger under the cadmium contamination regardless the salinity factor.

Key words: cadmium, salinity, Cryptophyta, *Plagioselmis prolunga*, cells number, fluorescence, photosynthetic pigment, reactive oxygen species, flow cytometry.

Введение

Прибрежные морские экосистемы подвергаются резким изменениям абиотических факторов среды, среди которых один из важнейших — соленость. Изменения солености могут происходить в больших диапазонах за короткий период, что приводит к нарушениям процессов как на организменном, так и на экосистемном уровнях.

В связи с активной хозяйственной деятельностью человека появилось огромное количество антропогенных факторов, среди которых особенно негативно на биоте сказывается загрязнение тяжелыми металлами [Nagajyoti et al., 2010]. В ряду тяжелых металлов наибольший интерес представляет кадмий вследствие высокой токсичности и передачи по пищевым цепям [Birungi, Chirwa, 2017], в связи с чем возможна оценка его влияния на представителей разных трофических уровней.

Криптофитовые водоросли — важный пищевой ресурс для двусторчатых моллюсков, личинок животных и некоторых динофлагеллят [Ботаника..., 2007]. В настоящее время все чаще отмечаются случаи цветения криптофитовых в разных районах Мирового океана, поэтому важно выяснить факторы, провоцирующие данное явление [Xing et al., 2008; Глущенко, 2012; Tas, Yilmaz, 2015]. Токсикологическая оценка проводится на представителях зеленых и диатомовых водорослей, в то время как представители отдела Cryptophyta остаются крайне слабо изученными. Ранее [Markina, Aizdaicher, 2016] на криптофитовой *Plagioselmis prolunga* показано, что численность клеток и содержание фотосинтетических пигментов снижались при солености от 24 ‰ и ниже.

Стрессовое воздействие не всегда приводит к гибели микроводорослей, но даже при сохранении нормального роста популяции изменяются состав и соотношение веществ в клетках, их морфология и внутреннее строение. Первым страдает фотосинтетический аппарат, а так как от его функционирования зависит обеспечение энергией всей клетки, то, соответственно, в изменившихся условиях происходит перестройка метаболизма. В качестве показателя, характеризующего состояние фотосинтетического аппарата, используется флуоресценция хлорофилла *a*, отражающая протекание фотосинтетических процессов. У криптофитовых водорослей присутствуют фикобилины, также обладающие флуоресцентными свойствами [Ботаника..., 2007]. Серьезным

последствием влияния неблагоприятных условий среды становится окислительный стресс, вызванный активными формами кислорода (АФК). Он приводит к дезинтеграции белков, перекисному окислению липидов, повреждению молекул ДНК и РНК, а в конечном итоге к разрушению клеточных мембран и гибели клетки. Таким образом, определение содержания АФК помогает оценить негативное действие факторов на организм [Cheng et al., 2016; Romano et al., 2017].

Для альгологических исследований, в том числе и токсикологической направленности, более 30 лет используется проточная цитометрия, базирующаяся на всем арсенале методов флуоресцентного анализа [Нука et al., 2013].

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы заключалась в оценке действия кадмия в условиях пониженной солености на динамику численности, размер и боковое светорассеяние клеток, флуоресценцию фотосинтетических пигментов и содержание АФК у криптофитовой микроводоросли *P. prolonga*.

Материалы и методы

Объектом исследования служила культура одноклеточной водоросли *Plagioselmis prolonga* Butch (Cryptophyta).

Клетки активно подвижные, ассиметричные в вертикальном и горизонтальном направлениях, слегка метаболирующие, 5,0–8,5 мкм в длину и 2,5–4,5 мкм в ширину, обратноконусовидные или обратнотрушевидные, с боков слегка сжатые. Оболочка, характерная для криптофитовых, — белковый перипласт. Хлоропласт один, большой, пристенный, лодочкообразный, от розового до красно-бурого или красно-кирпичного цвета. В связи с этим суспензия водорослей окрашена в матово-розовый цвет, переходящий в бурый, а затем в оливково-зеленый по мере старения культуры. Пиреноид крупный, округлый, бледный, расположен ближе к передней части клетки. Планктонный вид [Butcher, 1967].

Водоросли выращивали на среде *f/2*, приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды в 250-миллилитровых колбах Эрленмейера с объемом культуральной среды 100 мл, при температуре 18 °С, интенсивности освещения 70 мкмоль/м²·с в области видимого света и свето-темновом периоде 14 ч свет : 10 ч темнота [Орлова и др., 2011]. Начальная концентрация клеток микроводоросли во всех опытах составляла 5 · 10⁴ кл/мл.

В экспериментах исследовали действие морской воды соленостью 32, 24 и 16 ‰. Соленость измеряли на электросолемере ГМ-65М. Продолжительность опытов — 7 сут.

Кадмий добавляли в виде раствора 3CdSO₄ × 8H₂O, концентрации (10, 30 и 50 мкг/л) пересчитаны на ионы кадмия. Согласно российским нормативам ПДК кадмия в воде водоемов рыбохозяйственного назначения составляет 10 мкг/л*, загрязнение относится к категории «высокое» при его содержании 30 мкг/л, «экстремально высокое» — 50 мкг/л [Качество..., 2017]. В связи с этим в настоящей работе использовались перечисленные выше уровни содержания металла.

Измерения всех показателей проведены на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для анализа записано 10000 событий (регистрируемых в пробе частиц) в течение каждого измерения. Выбор клеток водорослей из общего числа событий, регистрируемых цитометром, проводили по флуоресценции хлорофилла *a* [Read et al., 2014]. В работе оценивались прямое светорассеяние для определения размеров клеток с помощью калибровочных бусин, боковое светорассеяние как относительный показатель внутренней структуры клеток, флуоресценция фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, фикоэритрина и аллофикоцианина), флуоресценция окисленного продукта зонда 2'7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата как показатель содержания

* Нормативы качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативы предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. Приказ Федерального агентства по рыболовству от 18 января 2010 г. № 20. 214 с.

АФК. Данный зонд получил широкое распространение благодаря тому, что в форме диацетата он способен проникать через мембрану клеток. После прохождения мембраны под действием неспецифических эстераз, локализованных в цитоплазме клеток, он превращается в нефлуоресцирующее соединение — дихлороди-гидрофлуоресцеин. В присутствии активных форм кислорода (особенно пероксидазы) он переходит в форму дихлорофлуоресцеина, обладающего выраженной флуоресценцией в зеленой части спектра. Именно эта форма красителя регистрируется в клетках при проведении анализа с помощью проточной цитометрии [Gomes et al., 2005].

Размеры водорослей, основанные на показателе прямого светорассеяния, определены с помощью калибровочных бусин (Molecular Probes, США). Длины волн возбуждения/испускания и условия, при которых проводили окрашивание для флуоресцентного анализа согласно литературным данным, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Флуоресцентные показатели, измеряемые с помощью проточного цитометра
в экспериментах с *Plagioselmis prolunga*

Table 1

Fluorescent parameters registered in experiments with *Plagioselmis prolunga* by flow cytometer

Флуоресценция	Длина волны возбуждения, нм	Длина волны испускания, нм	Условия окрашивания	Источник данных
Хлорофилл <i>a</i>	488	690	Нет, автофлуоресценция	Read et al., 2014
Фикоэритрин	488	585	Нет, автофлуоресценция	Read et al., 2014
Аллофикоцианин	638	660	Нет, автофлуоресценция	Read et al., 2014
Продукт реакции 2'7'-дихлороди-гидрофлуоресцеин диацетата	488	525	1 ч при температуре 20–22 °С в темноте	Gomes et al., 2005

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. Полученные данные выражали в процентах к контролю. За контроль принимали показатели, полученные при солености 32 ‰ без добавления кадмия.

Результаты и их обсуждение

При солености 32 ‰ внесение кадмия в концентрации 10 мкг/л не оказало влияния на рост популяции *P. prolunga*. Добавление 30 и 50 мкг/л Cd²⁺ привело к стимуляции роста микроводоросли на всем протяжении опыта (рис. 1, А).

Показатели бокового светорассеяния, флуоресценция фотосинтетических пигментов достоверно не отличались от таковых в контроле (рис. 1, Б–Д). Содержание АФК увеличивалось в присутствии 50 мкг/л Cd²⁺ во все дни эксперимента (рис. 1, Е). Анализ размерной структуры популяции показал, что присутствие металла во всех концентрациях вызывало уменьшение доли клеток размером 2–4 мкм и увеличение доли клеток с большим размером (рис. 2).

Соленость 24 ‰ в сочетании с присутствием в среде кадмия вызывала увеличение численности клеток по сравнению с контролем во всех вариантах опыта на третьи сутки, а на седьмые она почти не отличалась от контрольной (рис. 3, А). Показатели бокового светорассеяния и флуоресценция хлорофилла *a* также оставались неизменными (рис. 3, Б, В). Флуоресценция фикоэритрина и аллофикоцианина снижалась (рис. 3, Г, Д). Содержание АФК возрастало при всех концентрациях Cd²⁺ с выраженным дозозависимым характером на третьи сутки опыта, а на седьмые отмечено уменьшение содержания АФК до 50 % от контроля (рис. 3, Е). В данных условиях происходило увеличение доли клеток размером 4–6 мкм (см. рис. 2).

При солености 16 ‰ и добавлении кадмия во всех концентрациях тренды изменений были одинаковы для всех изучаемых показателей: так, количество клеток

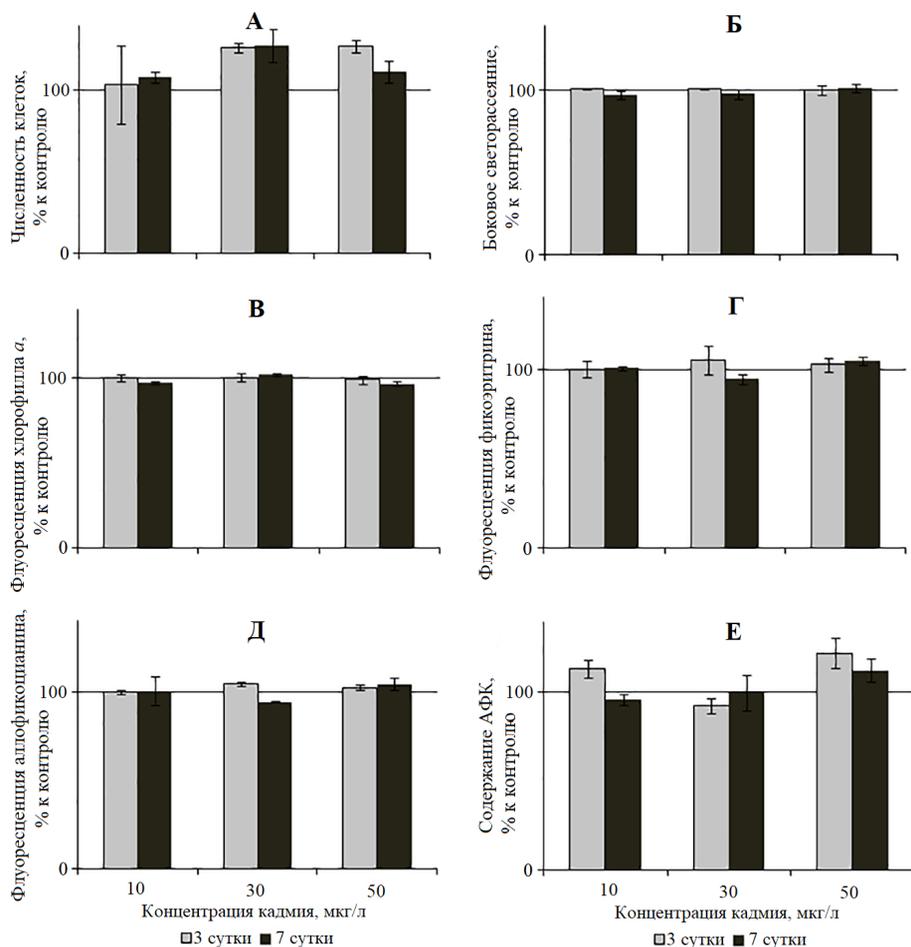


Рис. 1. Численность клеток, боковое светорассеяние, флуоресценция фотосинтетических пигментов и содержание активных форм кислорода (АФК) у микроводоросли *Plagioselmis prolonga* при воздействии кадмия и солености 32 ‰: А — численность клеток; Б — боковое светорассеяние; В — флуоресценция хлорофилла *a*; Г — флуоресценция фикоэритрина; Д — флуоресценция аллофикоцианина; Е — содержание АФК

Fig. 1. Microalga *Plagioselmis prolonga* cells number, side scattering, photosynthetic pigments fluorescence and reactive oxygen species content under cadmium influence in conditions of salinity 32 ‰, % to the control: А — cells number; Б — side scattering; В — chlorophyll *a* fluorescence; Г — phycoerythrin fluorescence; Д — allophycocyanin fluorescence; Е — reactive oxygen species content

увеличивалось на третьи сутки опыта при добавлении металла в среду, а на седьмые снижалось (рис. 4, А). Показатель бокового светорассеяния был незначительно ниже контрольного на всем протяжении опыта (рис. 4, Б). Флуоресценция фотосинтетических пигментов снижалась на третьи сутки эксперимента и оставалась неизменной до его завершения (рис. 4, В–Д). Содержание АФК увеличивалось на третьи сутки опыта, а на седьмые не отличалось от контрольного при внесении 10 и 30 мкг/л Cd^{2+} , более высокий уровень содержания вещества приводил к снижению показателя (рис. 4, Е).

Проведенные нами исследования показали, что действие кадмия в концентрациях 10–50 мкг/л на рост популяции *P. prolonga* проявляется при понижении солености до 24 и 16 ‰. Оценка действия кадмия проводилась ранее на представителях разных отделов водорослей (табл. 2). Однако необходимо отметить, что все указанные в таблице эксперименты проводились при солености 32 ‰. *P. prolonga* в ряду изученных водорослей — один из чувствительных к кадмию видов (наряду с *Phaeocystis antarctica*).

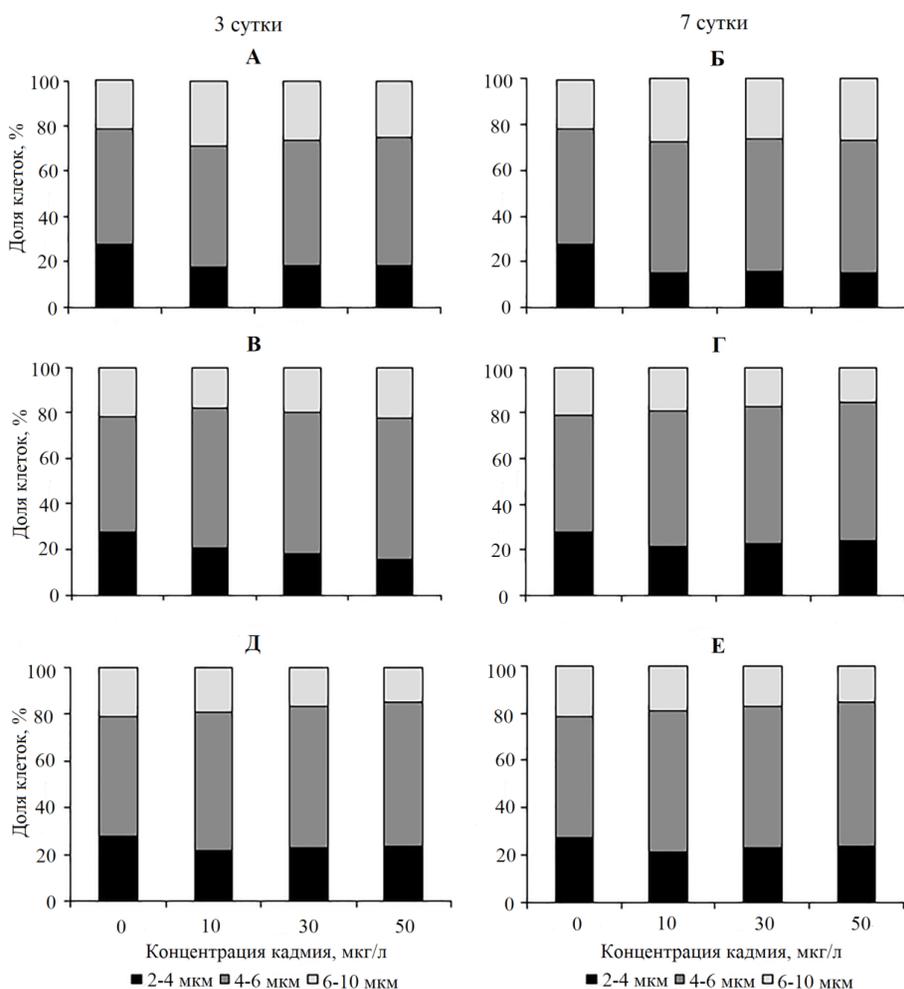


Рис. 2. Размерные характеристики клеток микроводоросли *Plagioselmis prolonga* при воздействии кадмия и разной солёности: **А** — при солёности 32 ‰ на третьи сутки опыта; **Б** — при солёности 32 ‰ на седьмые сутки опыта; **В** — при солёности 24 ‰ на третьи сутки опыта; **Г** — при солёности 24 ‰ на седьмые сутки опыта; **Д** — при солёности 16 ‰ на третьи сутки опыта; **Е** — при солёности 16 ‰ на седьмые сутки опыта

Fig. 2. Size of microalga *Plagioselmis prolonga* cells under cadmium influence in conditions of certain salinity: **A** — salinity 32 ‰ on 3rd day of experiment; **Б** — salinity 32 ‰ on 7th day of experiment; **В** — salinity 24 ‰ on 3rd day of experiment; **Г** — salinity 24 ‰ on 7th day of experiment; **Д** — salinity 16 ‰ on 3rd day of experiment; **Е** — salinity 16 ‰ on 7th day of experiment

Таблица 2
Концентрации кадмия, вызывающие ингибирующее действие на численность клеток морских микроводорослей разных отделов

Table 2
Thresholds of cadmium concentration inhibiting growth of marine microalgae belonged to certain phyla

Вид микроводоросли	Отдел	Концентрация Cd ²⁺ , мкг/л	Источник данных
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Bacillariophyta	2370	Suratno et al., 2015
<i>Isochrysis</i> sp.	Haptophyta	490	Suratno et al., 2015
<i>Phaeocystis antarctica</i>	Haptophyta	30	Gissi et al., 2015
<i>Pyrodinium bahamense</i> var. <i>compressum</i>	Dinophyta	1000	Obena et al., 2017
<i>Dunaliella salina</i>	Chlorophyta	25000	Belghith et al., 2016
<i>Koliella antarctica</i>	Chlorophyta	1000	La Rocca et al., 2009
<i>Plagioselmis prolonga</i>	Cryptophyta	30	Наши данные

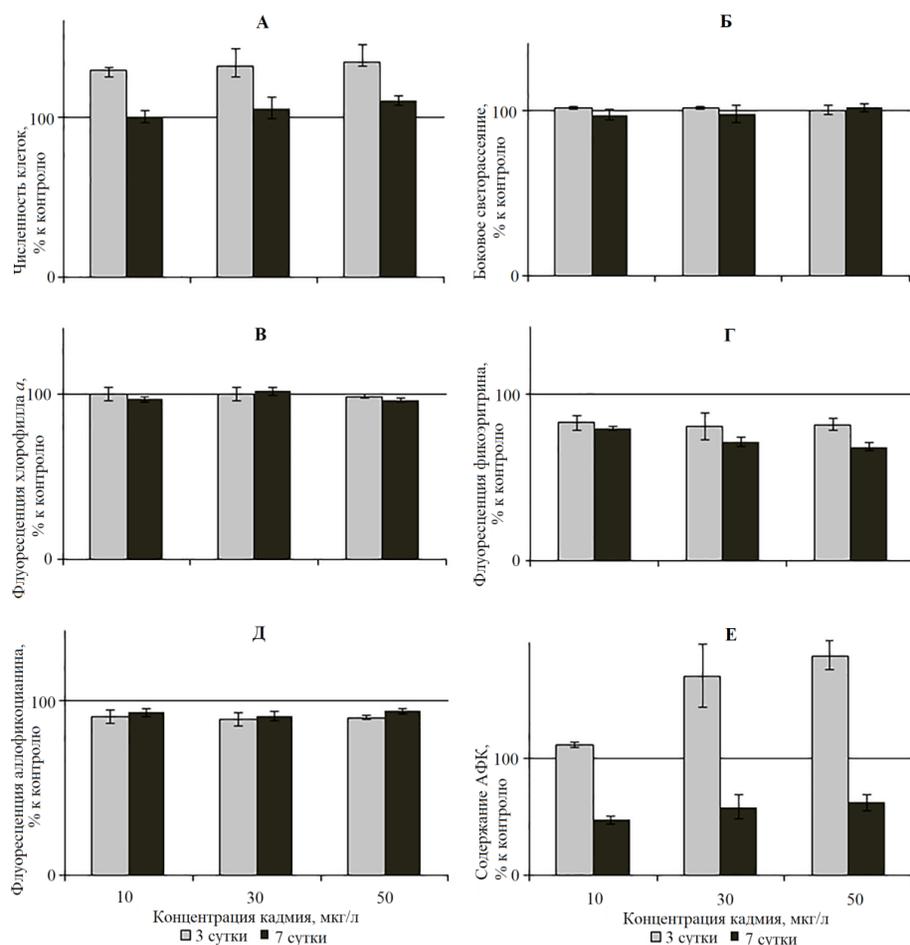


Рис. 3. Численность клеток, боковое светорассеяние, флуоресценция фотосинтетических пигментов и содержание активных форм кислорода у микроводоросли *Plagioselmis prolonga* при воздействии кадмия и солёности 24 ‰: А — численность клеток; Б — боковое светорассеяние; В — флуоресценция хлорофилла *a*; Г — флуоресценция фикоэритрина; Д — флуоресценция аллофикоцианина; Е — содержание АФК

Fig. 3. Microalga *Plagioselmis prolonga* cells number, side scattering, photosynthetic pigments fluorescence and reactive oxygen species content under cadmium influence in conditions of salinity 24 ‰, % to the control: А — cells number; Б — side scattering; В — chlorophyll *a* fluorescence; Г — phycoerythrin fluorescence; Д — allophycocyanin fluorescence; Е — reactive oxygen species content

Поскольку кадмий не является элементом, участвующим в метаболизме микроводорослей, можно предположить, что стимуляция роста *P. prolonga* является первой фазой интоксикации, особенно выраженной при 16 ‰. Кроме того, кадмий обладает высокой скоростью накопления в клетках микроводорослей [Birungi, Chirwa, 2017], что становится одной из причин уменьшения числа клеток на седьмые сутки опыта. Подавление роста при значительном понижении солёности, возможно, обусловлено не только повреждающим действием этого фактора, но и адаптивными перестройками в клетках водорослей [Pal et al., 2013].

В наших экспериментах также отмечено уменьшение интенсивности флуоресценции фотосинтетических пигментов. Действие кадмия на фотосинтез связано в первую очередь с повреждением мембран тилакоидов и реакционных центров. При сочетании токсического фактора и пониженной солёности уменьшение интенсивности флуоресценции фотосинтетических пигментов *P. prolonga* связано с их деградацией, повреждением электрон-транспортной цепи, изменением активности ферментов цикла Кальвина [Nagajyoti et al., 2010].

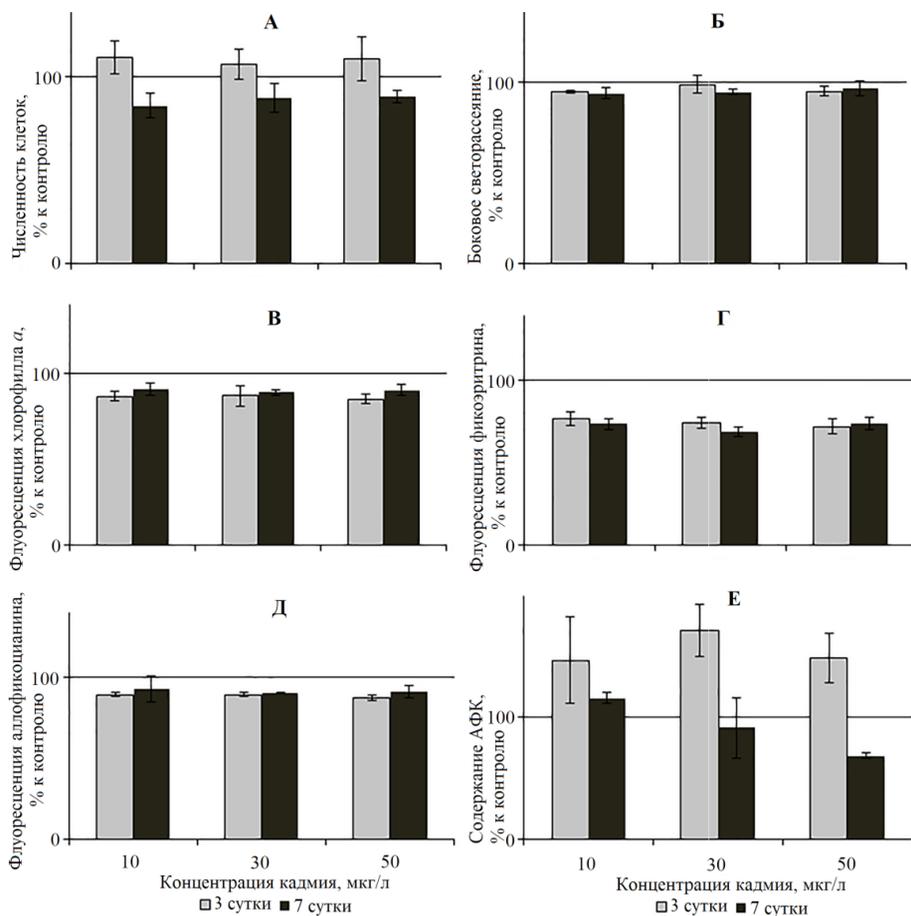


Рис. 4. Численность клеток, боковое светорассеяние, флуоресценция фотосинтетических пигментов и содержание активных форм кислорода у микроводоросли *Plagioselmis prolonga* при воздействии кадмия и солености 16 ‰: А — численность клеток; Б — боковое светорассеяние; В — флуоресценция хлорофилла *a*; Г — флуоресценция фикоэритрина; Д — флуоресценция аллофикоцианина; Е — содержание АФК

Fig. 4. Microalga *Plagioselmis prolonga* cells number, side scattering, photosynthetic pigments fluorescence and reactive oxygen species content under cadmium influence in conditions of salinity 16 ‰, % to the control: А — cells number; Б — side scattering; В — chlorophyll *a* fluorescence; Г — phycoerythrin fluorescence; Д — allophycocyanin fluorescence; Е — reactive oxygen species content

Наибольшее негативное влияние изученных факторов на флуоресценцию фикоэритрина и аллофикоцианина по сравнению с хлорофиллом *a*, по-видимому, обусловлено тем, что хлорофилл — основной пигмент и сохранение его функционирования в неблагоприятных условиях становится важной задачей для организма. Известно, что в тилакоидах криптофитовых водорослей пигменты располагаются последовательно: фикоэритрин, аллофикоцианин и ближе к мембране — хлорофилл *a* [Ботаника..., 2007]. Указанное обстоятельство приводит к тому, что вспомогательные пигменты страдают от интоксикации в первую очередь.

Содержание АФК увеличивалось на третьи сутки, что особенно было выражено при солености 24 и 16 ‰; такой же эффект отмечен у разных представителей микроводорослей [Jamers et al., 2009; Cheng et al., 2016; Romano et al., 2017]. Показано, что этот процесс идет одновременно с активацией генов, вовлеченных в пути детоксикации АФК [Zhu et al., 2019]. Вероятно, поэтому мы наблюдали снижение содержания АФК после его резкого увеличения, к седьмым суткам опыта, что свидетельствует о включении адаптационных механизмов водорослей. Понижение солености также вызывает активное выделение свободных радикалов, приводящее к перекисному окислению липидов [Tammam et al., 2011].

При добавлении кадмия в воду соленостью 32, 24 и 16 ‰ отмечено увеличение числа более крупных клеток, связанное с нарушением целостности мембран в результате гипотонического стресса, усиливающего негативное действие кадмия [Радченко, Ильяш, 2006]. Увеличение размера клеток, как и в наших опытах, при воздействии кадмия также показано у *Chlamydomonas reinhardtii* [Jamers et al., 2009] и *Chlorella vulgaris* [Cheng et al., 2016].

Как установлено ранее [Fu, Bell, 2003], снижение солености сопровождается уменьшением содержания катионов натрия и кальция в клетке, вызывая нарушение процесса потребления фосфора и азота микроводорослями и, как следствие, их недостаток для нормальной жизнедеятельности организма. Кадмий также приводит к изменению внутриклеточного ионного состава, так как замещает кальций и цинк в метаболических путях [Andosch et al., 2012]. По-видимому, сочетание пониженной солености с загрязнением кадмием приводит к синергическому эффекту.

Выводы

Установлено, что при солености 32 ‰ кадмий в концентрации 10 мкг/л не оказывал влияния на рост и физиологическое состояние *P. prolonga*. Содержание 30 и 50 мкг/л вещества приводило к стимуляции роста микроводоросли, показатель бокового светорассеяния и флуоресценция фотосинтетических пигментов не изменялись, содержание АФК возрастало только при содержании 50 мкг/л Cd^{2+} . В популяции увеличивалась доля более крупных клеток.

При солености 24 ‰ внесение 10–50 мкг/л Cd^{2+} вызывало увеличение численности клеток, показатели бокового светорассеяния и флуоресценция хлорофилла *a* оставались на уровне контроля, флуоресценция фикоэритрина и аллофикоцианина снижалась. Содержание АФК возрастало на третьи сутки и уменьшалось на седьмые. Отмечена тенденция к увеличению доли клеток размером 4–6 мкм.

Совместное действие солености 16 ‰ и внесения кадмия во всех концентрациях приводило к угнетению роста популяции, уменьшению показателей бокового светорассеяния, флуоресценции фотосинтетических пигментов и увеличению содержания АФК. Доля клеток размером 4–6 мкм возрастала.

Таким образом, понижение солености до 24 ‰ приводит к усилению негативного воздействия кадмия на физиологические процессы в клетках, а снижение до 16 ‰ вызывает также и ингибирование ростовых процессов. На основе полученных данных можно предположить, что кадмий в концентрациях до 50 мкг/л может провоцировать цветение *P. prolonga* при солености 24 и 32 ‰, а при 16 ‰ угнетать его популяции. Данные явления могут быть причиной перестроек морских фитопланктонных сообществ и экосистем в целом.

Благодарности

Авторы признательны сотрудникам ресурсного центра «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры *P. prolonga* (Cryptophyta) MBRU_PP-02. Проточно-цитометрический анализ выполнен в ННЦМБ ДВО РАН, авторы искренне благодарят сотрудников лаборатории клеточных технологий за помощь в работе.

Финансирование

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы «Исследование физиолого-биохимических механизмов адаптации морских организмов к меняющимся условиям среды обитания и экстремальным воздействиям (№ гос. регистрации 115081110046 № ФАНО 0268-2014-0008).

Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных или людей в качестве объектов.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- Ботаника: курс альгологии и микологии** : учеб. / под ред. Т.Ю. Дьякова. — М. : МГУ, 2007. — 559 с.
- Глущенко Г.Ю.** Количественные характеристики ультрафитопланктона Азовского моря в современный период // Вестн. ЮНЦ РАН. — 2012. — Т. 8, № 1. — С. 54–59.
- Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2016** / под ред. А.Н. Коршенко. — М. : Наука, 2017. — 190 с.
- Орлова Т.Ю., Айздайчер Н.А., Стоник И.В.** Лабораторное культивирование морских микроводорослей, включая продуцентов фитотоксинов : науч.-метод. пособие. — Владивосток : Дальнаука, 2011. — 89 с.
- Радченко И.Г., Ильяш Л.В.** Рост и фотосинтетическая активность диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* при снижении солености // Изв. РАН. Сер. биол. — 2006. — № 3. — С. 306–313.
- Andosch A., Affenzeller M.J., Lütz C., Lütz-Meindl U.** A freshwater green alga under cadmium stress: ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias* // J. Plant. Physiol. — 2012. — Vol. 169, Iss. 15. — P. 1489–1500. DOI: 10.1016/j.jplph.2012.06.002.
- Belghith T., Athmouni K., Bellassoued K. et al.** Physiological and biochemical response of *Dunaliella salina* to cadmium pollution // J. Appl. Phycol. — 2016. — Vol. 28, Iss. 2. — P. 991–999. DOI: 10.1007/s10811-015-0630-5.
- Birungi Z.S., Chirwa E.M.N.** Bioreduction of thallium and cadmium toxicity from industrial wastewater using microalgae // Chemical Engineering Transactions. — 2017. — Vol. 57. — P. 1183–1188. DOI: 10.3303/CET1757198.
- Butcher R.W.** An introductory account of the smaller algae of British coastal waters. Part 4: Cryptophyceae : Fish. Invest. Ser. 4. — L., 1967. — 54 p.
- Cheng J., Qiu H., Chang Z. et al.** The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris* // SpringerPlus. — 2016. — Vol. 5. — P. 1290–1297. DOI: 10.1186/s40064-016-2963-1.
- Fu F.-X., Bell P.R.F.** Effect of salinity on growth, pigmentation, N₂ fixation and alkaline phosphatase activity of cultured *Trichodesmium* sp. // Mar. Ecol. Prog. Ser. — 2003. — Vol. 257. — P. 69–76.
- 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* // Environ. Toxicol. Chem. — 2015. — Vol. 34, Iss. 7. — P. 1578–1587. DOI: 10.1002/etc.2949.
- Gomes A., Fernandes E., Lima J.L.F.C.** Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species // J. Biochem. Biophys. Methods. — 2005. — Vol. 65, Iss. 2–3. — P. 45–80. DOI: 10.1016/j.jbbm.2005.10.003.
- Hyka P., Lickova S., Přibyl P. et al.** Flow cytometry for the development of biotechnological processes with microalgae // Biotechnol. Adv. — 2013. — Vol. 31, Iss. 1. — P. 2–16. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.04.007.
- Jamers A., Lenjou M., Deraedt P. et al.** Flow cytometric analysis of the cadmium-exposed green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) // Europ. J. Phycol. — 2009. — Vol. 44, Iss. 4. — P. 541–550. DOI: 10.1080/09670260903118214.
- La Rocca N., Andreoli C., Giacometti G.M. et al.** Responses of the Antarctic microalga *Koliella antarctica* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) to cadmium contamination // Photosynthetica. — 2009. — Vol. 47, Iss. 3. — P. 471–479.
- Markina Zh.V., Aizdaicher N.A.** Photosynthetic pigments content and growth of microalga *Plagioselmis prolunga* (Cryptophyta) under low salinity // J. Stress Physiol. & Biochem. — 2016. — Vol. 12, № 3. — P. 77–83.
- Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M.** Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environ. Chem. Lett. — 2010. — Vol. 8, Iss. 3. — P. 199–216. DOI: 10.1007/s10311-010-0297-8.
- Obena R.P., Arco S., Azanza R.V.** *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* Böhm Survival in High and Low Cadmium Levels // Philippine J. Science. — 2017. — Vol. 146, № 3. — P. 287–292.
- Pal D., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S. et al.** Growth, lipid production and metabolic adjustments in the euryhaline eustigmatophyte *Nannochloropsis oceanica* CCALA 804 in response to osmotic downshift // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2013. — Vol. 97, Iss. 18. — P. 8291–8306. DOI: 10.1007/s00253-013-5092-6.
- Read D.S., Bowes M.J., Newbold L.K., Whiteley A.S.** Weekly flow cytometric analysis of riverine phytoplankton to determine seasonal bloom dynamics // Environ. Sci.: Processes Impacts. — 2014. — Vol. 16, Iss. 3. — P. 594–603. DOI: 10.1039/c3em00657c.

Romano R.L., Liria C.W., Machini M.T. et al. Cadmium decreases the levels of glutathione and enhances the phytochelatin concentration in the marine dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum* // *J. Appl. Phycol.* — 2017. — Vol. 29, Iss. 2. — P. 811–820. DOI: 10.1007/s10811-016-0927-z.

Suratno S., Puspitasari R., Purbonegoro T., Mansur D. Copper and cadmium toxicity to marine phytoplankton, *Chaetoceros gracilis* and *Isochrysis* sp. // *Indones. J. Chem.* — 2015. — Vol. 15, № 2. — P. 172–178.

Tammam A.A., Fakhry E.M., El-Sheekh M. Effect of salt stress on antioxidant system and the metabolism of the reactive oxygen species in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta* // *Afr. J. Biotechnol.* — 2011. — Vol. 10, № 19. — P. 3795–3808. DOI: 10.5897/AJB10.2392.

Tas S., Yilmaz I.N. Potentially harmful microalgae and algal blooms in a eutrophic estuary in the Sea of Marmara (Turkey) // *Medit. Mar. Sci.* — 2015. — Vol. 16, № 2. — P. 432–443. DOI: <http://dx.doi.org/10.12681/mms.1042>.

King X.-L., Lin X.-Y., Chen C.-P. et al. Observations of several cryptomonad flagellates from China Sea by scanning electron microscopy // *J. Syst. Evol.* — 2008. — Vol. 46, Iss. 2. — P. 205–212. DOI: 10.3724/SP.J.1002.2008.07073.

Zhu Q.-L., Guo S.-N., Wen F. et al. Transcriptional and physiological responses of *Dunaliella salina* to cadmium reveals time-dependent turnover of ribosome, photosystem, and ROS-scavenging pathways // *Aquat. Toxicol.* — 2019. — Vol. 207. — P. 153–162. DOI: 10.1016/j.aquatox.2018.12.007.

Referenses

Botanika: kurs al'gologii i mikologii (Botany: Course of Algology and Mycology), Dyakova, T.Yu., Ed., Moscow: Mosk. Gos. Univ., 2007.

Glushchenko, G.Yu., Kolichestvennye kharakteristiki ul'trafitoplanktona Azovskogo morya v sovremennyi period (Quantitative Parameters of Ultraphytoplankton in the Sea of Azov in the Modern Period), *Vestn. Yuzhn. Nauchn. Tsentra Ross. Akad. Nauk*, 2012, vol. 8, no 1. pp. 54–59.

Kachestvo morskikh vod po gidrokhimicheskim pokazatelyam. Ezhegodnik 2016 (Marine Water Quality Based on Hydrochemical Parameters), Korshenko, A.N., Ed., Moscow: Nauka, 2017.

Orlova, T.Yu., Aizdaicher, N.A., and Stonik, I.V., Laboratornoe kul'tivirovanie morskikh mikrovdoroslej, vklyuchaya produtsentov fitotoksinov (Laboratory Cultivation of Marine Microalgae, Including Phytotoxin Producers), Vladivostok: Dal'nauka, 2011.

PDK 2010. Normativny kachestva vody vodnykh ob'ektov rybohozyajstvennogo znacheniya, v tom chisle normativy predel'no dopustimyh koncentracij vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybohozyajstvennogo znacheniya. Utverzhden prikazom Rukovoditelya Federal'nogo agentstva po rybolovstvu A.A. Krajnego № 20 ot 18 yanvarya 2010 g., zaregistrirvano Ministerstvom yusticii 9 fevralya 2010 g., № 16326 (Maximum Allowable Concentrations 2010. Water Quality Norms for Water Bodies of Fishery Importance. Approved by the Order of the Head of the Federal Agency for Fisheries, A.A. Krainii, no. 20 of January 18, 2010).

Radchenko, I.G. and Il'yash, L.V. Growth and photosynthetic activity of diatom *Thalassiosira weissflogii* at decreasing salinity, *Biol. Bull.*, 2006, vol. 33, no. 3, pp. 242–247.

Andosch, A., Affenzeller, M.J., Lütz, C., and Lütz-Meindl, U. A freshwater green alga under cadmium stress: ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias*, *J. Plant Physiol.*, 2012, vol. 169, no. 15, pp. 1489–1500. doi 10.1016/j.jplph.2012.06.002

Belghith, T., Athmouni, K., Bellassoued, K., El Feki, A., and Ayadi, H. Physiological and biochemical response of *Dunaliella salina* to cadmium pollution, *J. Appl. Phycol.*, 2016, vol. 28, no. 2, pp. 991–999. doi 10.1007/s10811-015-0630-5

Birungi, Z.S. and Chirwa, E.M.N. Bioreduction of thallium and cadmium toxicity from industrial wastewater using microalgae, *Chem. Eng. Trans.*, 2017, vol. 57, pp. 1183–1188. doi 10.3303/CET1757198

Butcher, R.W. An introductory account of the smaller algae of British coastal waters. Part IV: Cryptophyceae, *Fish. Invest., Ser. IV*, London, 1967.

Cheng, J., Qiu, H., Chang, Z., Jiang, Z., and Yin, W. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris*, *SpringerPlus*, 2016, vol. 5, pp. 1290–1297. doi 10.1186/s40064-016-2963-1

Fu, F.-X. and Bell, P.R.F. Effect of salinity on growth, pigmentation, N₂ fixation and alkaline phosphatase activity of cultured *Trichodesmium* sp., *Mar. Ecol.: Prog. Ser.*, 2003, vol. 257, pp. 69–76.

Gissi, F., Adams, M.S., King, C.K., and Jolley, D.F. A robust bioassay to assess the toxicity of metals to the Antarctic marine microalga *Phaeocystis antarctica*, *Environ. Toxicol. Chem.*, 2015, vol. 34, no. 7, pp. 1578–1587. doi 10.1002/etc.2949

Gomes, A., Fernandes, E., and Lima, J.L.F.C., Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2005, vol. 65, no. 2–3, pp. 45–80. doi 10.1016/j.jbbm.2005.10.003

Hyka, P., Lickova, S., Přibyl, P., Melzoch, K., and Kovar, K., Flow cytometry for the development of biotechnological processes with microalgae, *Biotechnol. Adv.*, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 2–16. doi 10.1016/j.biotechadv.2012.04.007

Jamers, A., Lenjou, M., Deraedt, P., Bockstaele, D.V., Blust, R., and de Coen, W., Flow cytometric analysis of the cadmium-exposed green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae), *Europ. J. Phycol.*, 2009, vol. 44, no. 4, pp. 541–550. doi 10.1080/09670260903118214

La Rocca, N., Andreoli, C., Giacometti, G.M., Rascio, N., and Moro, I., Responses of the Antarctic microalga *Koliella antarctica* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) to cadmium contamination, *Photosynthetica*, 2009, vol. 47, no. 3, pp. 471–479.

Markina, Zh.V. and Aizdaicher, N.A., Photosynthetic pigments content and growth of microalga *Plagioselmis prolunga* (Cryptophyta) under low salinity, *J. Stress Physiol. Biochem.*, 2016, vol. 12, no. 3, pp. 77–83.

Nagajyoti, P.S., Lee, K.D., and Sreekanth, T.V.M., Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review, *Environ. Chem. Lett.*, 2010, vol. 8, no. 3, pp. 199–216. doi 10.1007/s10311-010-0297-8

Obena, R.P., Arco, S., and Azanza, R.V., *Pyrodictinium bahamense* var. *compressum* Böhm survival in high and low cadmium levels, *Philipp. J. Sci.*, 2017, vol. 146, no. 3, pp. 287–292.

Pal, D., Khozin-Goldberg, I., Didi-Cohen, S., Solovchenko, A., Batushansky, A., Kaye, Yu., Sikron, N., Samani, T., Fait, A., and Boussiba, S., Growth, lipid production and metabolic adjustments in the euryhaline eustigmatophyte *Nannochloropsis oceanica* CCALA 804 in response to osmotic downshift, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, vol. 97, iss. 18, pp. 8291–8306. doi 10.1007/s00253-013-5092-6

Read, D.S., Bowes, M.J., Newbold, L.K., and Whiteley, A.S., Weekly flow cytometric analysis of riverine phytoplankton to determine season bloom dynamics, *Environ. Sci.: Proc. Imp.*, 2014, vol. 16, no. 3, pp. 594–603. doi 10.1039/c3em00657c

Romano, R.L., Liria, C.W., Machini, M.T., Colepicolo, P., and Zambotti-Villela, L., Cadmium decreases the levels of glutathione and enhances the phytochelatin concentration in the marine dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*, *J. Appl. Phycol.*, 2017, vol. 29, no. 2, pp. 811–820. doi 10.1007/s10811-016-0927-z

Suratno, S., Puspitasari, R., Purbonegoro, T., and Mansur, D., Copper and cadmium toxicity to marine phytoplankton, *Chaetoceros gracilis* and *Isochrysis* sp., *Indones. J. Chem.*, 2015, vol. 15, no. 2, pp. 172–178.

Tammam, A.A., Fakhry, E.M., and El-Sheekh, M., Effect of salt stress on antioxidant system and the metabolism of the reactive oxygen species in *Dunaliella salina* and *Dunaliella tertiolecta*, *Afr. J. Biotechnol.*, 2011, vol. 10, no. 19, pp. 3795–3808. doi 10.5897/AJB10.2392

Tas, S. and Yilmaz, I.N., Potentially harmful microalgae and algal blooms in a eutrophic estuary in the Sea of Marmara (Turkey), *Mediterr. Mar. Sci.*, 2015, vol. 16, no. 2, pp. 432–443. doi http://dx.doi.org/10.12681/mms.1042

Xing, X.-L., Lin, X.-Y., Chen, C.-P., Gao, Y.-H., Liang, J.-R., Huang, H.-Z., Li, B.-Q., Ho, K.-C., and Qi, Y.-Z., Observations of several cryptomonad flagellates from China Sea by scanning electron microscopy, *J. Syst. Evol.*, 2008, vol. 46, no. 2, pp. 205–212. doi 10.3724/SP.J.1002.2008.07073

Zhu, Q.-L., Guo, S.-N., Wen, F., Zhang, X.-L., Wang, C.-C., Si, L.-F., Zheng, J.-L., Liu, J., Transcriptional and physiological responses of *Dunaliella salina* to cadmium reveals time-dependent turnover of ribosome, photosystem, and ROS-scavenging pathways, *Aquat. Toxicol.*, 2019, vol. 207, pp. 153–162. doi 10.1016/j.aquatox.2018.12.007

Поступила в редакцию 21.03.2019 г.

После доработки 24.04.2019 г.

Принята к публикации 15.05.2019 г.