УДК 581.1:582.26 DOI: 10.15853/2072-8212.2019.55.188-191

РАФИДОФИТОВАЯ ВОДОРОСЛЬ *HETEROSIGMA AKASHIWO* В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МЕДЬЮ: ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ, СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ И СТЕПЕНЬ ИЗМЕНЕНИЯ ДНК

Ж.В. Маркина[1,2], Н.А. Айздайчер[1], В.В. Слободскова[3,4]

Н. с., доцент, к. б. н.; ст. н. с., к. б. н.; ст. н. с., доцент, к. б. н.
[1]Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук; 690041, Владивосток, ул. Пальчевского, 17. Тел./факс: 8 (423) 231-09-05
[2]Дальневосточный федеральный университет; 690091, Владивосток, ул. Суханова, 8. Тел.: 8 (800) 555-08-88
[3]Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева Дальневосточного отделения Российской академии наук; 690041, Владивосток, ул. Балтийская, 43. Тел./факс: 8 (423) 231-14-00
[4]Дальрыбвтуз; 690087, Владивосток, Луговая, 52Б. Тел./факс: 8 (4232) 44-12-65
E-mail: slobodskova@list.ru

МЕДЬ, ДНК, ХЛОРОФИЛЛ, КАРАТИНОИДЫ, HETEROSIGMA AKASHIWO, ЧИСЛЕННОСТЬ КЛЕТОК

Изучено действие меди в концентрациях 10, 25 и 50 мкг/л на рост популяции, содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) и степень повреждения ДНК микроводоросли *Heterosigma akashiwo*. Показано, что численность клеток не отклонялась от таковой в контроле при всех концентрациях вещества, содержание фотосинтетических пигментов снижалось, а процент повреждения ДНК возрастал с увеличением концентрации металла.

THE RAPHIDOPHYTE MICROALGAE *HETEROSIGMA AKASHIWO* IN TERMS OF COPPER POLLUTION: THE DYNAMICS OF THE NUMBER OF CELLS, THE CONTENT OF THE PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND THE LEVEL OF THE DNA DAMAGE

Zhanna V. Markina[1,2], Nina A. Aizdaicher[1], Valentina V. Slobodskova[3,4]

Researcher, Associate Professor, Ph. D. (Biology); Senior Scientist, Ph. D. (Biology); Senior Scientist, Associate Professor, Ph. D. (Biology)
[1]A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences; 690041, Vladivostok, st. Palchevskogo, 17. Tel./fax: +7 (423) 231-09-05
[2]Far Eastern Federal University; 690091, Vladivostok, ul. Sukhanova, 8. Tel.:+7 (800) 555-08-88
[3]V.I. Ilichev Pacific Oceanological Institute, Far Eastern Branch Russian Academy of Sciences; 600041, Vladivostok, Baltiyskaya, 43. Tel./fax: +7 (423) 231-14-00
[4]Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Vladivostok, Lugovaya, 52Б. Tel.: +7 (4232) 44-12-65

COPPER, DNA, CHLOROPHYLL, CAROTENOIDS, HETEROSIGMA AKASHIWO, NUMBER OF CELLS

Effects of copper in concentrations 10, 25 and 50 mkg/L on the population growth, content of photosynthetic pigments (chlorophyll-*a* and carotenoids) and level of the DNA damage of the microalgae *Heterosigma akashiwo* were analyzed. The number of cells was similar to control in all concentrations of copper, the content of the photosynthetic pigments decreased and the persent of the DNA damages increased along increasing concentration of the pollutant.

Медь — один из наиболее часто обнаруживаемых металлов в сточных водах предприятий, сельскохозяйственных полей и коммунальных хозяйств. Она играет важную роль в физиологических процессах микроводорослей (Nagajoti et al., 2010). В то же время при высоких концентрациях меди отмечено их нарушение, прежде всего — фотосинтеза (Miazek et al., 2015).

Рафидофитовая водоросль *Heterosigma akashiwo* вызывает вредоносное «цветение», приводящее к гибели рыб, ракообразных, устриц, что наносит ущерб природным экосистемам и хозяйствам марикультуры. Данная проблема усугубляется широким ареалом исследуемого вида: его регулярно регистрируют в морских водах субарктических и умеренных широт (Kempton et al., 2008; Powers et al., 2012). В связи с этим проводятся исследования действия экологических факторов на микроводоросль, однако влиянию тяжелых металлов не уделяется должного внимания (Li et al., 2002; Martínez et al., 2010).

Цель настоящей работы заключалась в оценке динамики численности, содержания хлорофилла *a*, каротиноидов и степени повреждения ДНК микроводоросли *Heterosigma akashiwo* при воздействии меди.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служила культура микроводоросли *H. akashiwo* из коллекции микроводорослей ресурсного центра ННЦМБ «Морской биобанк» ДВО РАН. Культуру выращивали в 2018 г. на среде *f*, приготовленной на основе стерилизованной морской воды в 250-миллилитровых колбах Эрленмейера с объемом культуральной среды 100 мл, при стандартных условиях (Guillard, Ryther, 1962). Медь добавляли в виде раствора $CuSO_4 \times 5H_2O$, концентрации (10, 25 и 50 мкг/л) пересчитаны на ионы меди. ПДК меди для морских вод России — 5 мкг/л (Качество.., 2015).

Подсчет клеток вели в счетной камере типа Нажотта объемом 0,044 мл, предварительно зафиксировав материал раствором Утермеля.

Содержание хлорофилла *a* и суммарного содержания каротиноидов определяли стандартным методом экстракции ацетоном, с последующим определением оптической плотности на спектрофотометре UV-2600 (Shimatzu, Japan). Расчет концентраций пигментов проводили по стандартным формулам (Jeffrey, Humphrey, 1975).

Для оценки влияния меди на структуру ДНК использовали щелочной вариант кометного анализа (Singh et al., 1988), адаптированного к морским микроводорослям (Aoyama et al., 2003).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что численность клеток при концентрациях 10, 25 и 50 мкг/л меди не отличалась от таковой в контроле на всем протяжении опыта (рисунок 1А).

Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов при 10 мкг/л меди не отличалось от контрольного на протяжении первых четырех суток опыта, через семь суток отставало от него (рисунок 1Б, В). При внесении 25 и 50 мкг/л меди происходило значительное уменьшение содержания фотосинтетических пигментов по отношению к контрольной

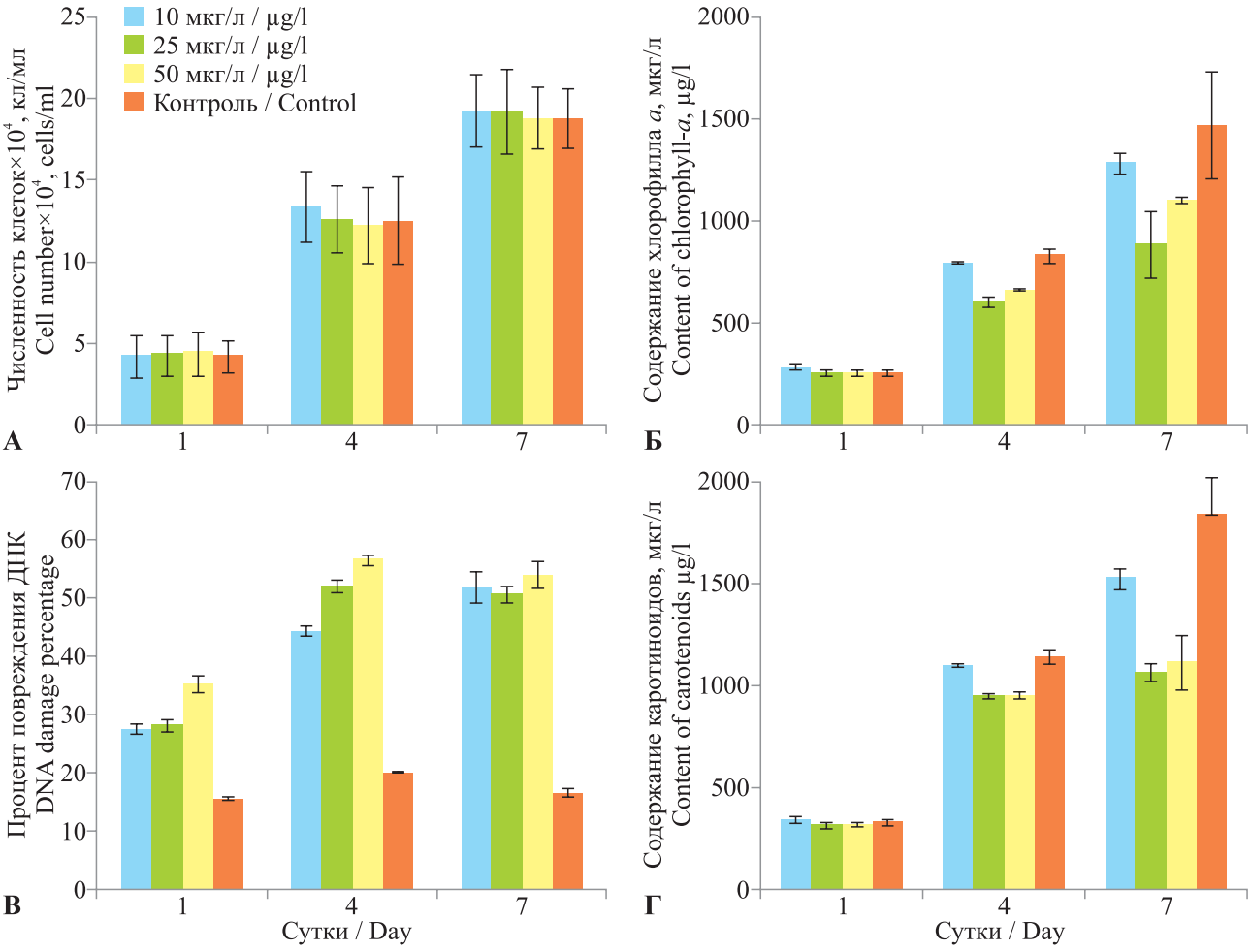

Рис. 1. Действие меди на микроводоросль *Heterosigma akashiwo*: (А) — динамика численности клеток, (Б) — содержание хлорофилла *a*, (В) — содержание каротиноидов, (Г) — процент повреждения ДНК
Fig. 1. Effects of copper on the microalgae *Heterosigma akashiwo*: (A) – dymanics of cell number, (Б) – content of chlorophyll-*a*, (B) – content of carotenoids, (Г) – DNA damage percentage

группе микроводорослей через 4 и 7 суток экспозиции.

Процент повреждения ДНК по сравнению с контролем возрастал при всех концентрациях меди, эффект носил дозозависимый характер (рисунок 1Г) в течение четырех суток экспозиции. На седьмые сутки процент повреждения ДНК был одинаков при всех концентрациях токсиканта. Похожие результаты были получены Дезаи с коллегами (Desai et al., 2006) при исследовании генотоксичности кадмия на морскую микроводоросль *Chaetoceros tenuissimus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, уровень содержания меди 10–50 мкг/л не оказывал влияния на численность клеток *H. akashiwo*, однако вызывал снижение содержания хлорофилла *a* и каротиноидов, приводил к появлению повреждений молекулы ДНК. На основе сравнительного анализа данных показателей токсичности (численность клеток, фотосинтетические пигменты, % повреждения молекулы ДНК) можно видеть, что % повреждения ДНК является наиболее чувствительным биомаркером при исследовании воздействия тяжелых металлов на микроводоросль *H. akashiwo*. Следует отметить, что достоверные отличия в уровне повреждения ДНК *H. akashiwo* по отношению к контрольной группе отмечались после однодневной экспозиции даже в самой минимальной концентрации меди (10 мкг/л), при этом другие исследованные нами параметры практически не отличались от контрольных значений. Следовательно, в изученных концентрациях медь не способствует «цветению» водоросли, однако в природных условиях, включающих конкурентную борьбу, данный вид может элиминироваться и замещаться более устойчивыми представителями микроводорослей.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке госбюджетных тем № 0268-2018-0004, АААА-А17-117030110038-5.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2015. 2016. Под ред. А.Н. Коршенко. М.: Наука. 190 с.

Aoyama K., Iwahori K, Miyata N. 2003. Application of *Euglena gracilis*cells to comet assay: evaluation og DNA damage and repair // Mutation research. Vol. 538. P. 155–162. doi:10.1016/S1383-5718(03)00113-X

Desai S.R. Verlecar X.N., Goswami U. 2006. Genotoxicity of cadmium in marine diatom *Chaetocerostenuissimus* using the alkaline Comet assay // Ecotoxicology. Vol. 538. P. 155–162. doi:10.1007/s10646-006-0076-2

Guillard R.R.L., Ryther J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella* nana Hustedt, and *Detonulaconfervacea* (Cleve) Gran. Canadian Journal Microbiology. Vol. 8. P. 229–239.

Jeffrey S.W., Humphrey G.F. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a, b* c_1 and c_2 in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochemistry Physiology Planz. Vol. 167. P. 191–194.

Kempton J., Keppler C. J., Lewitus A., Shuler A., Wilde S. 2008. A novel Heterosigmaakashiwo (Raphidophyceae) bloom extending from a South Carolina bay to offshore waters // Harmful Algae, 2008, vol. 7, pp. 235–240.

Li D., Cong W., Cai1 Zh., Shi D., Ouyang F. 2002. Response of growth and photosynthesis of marine red tide alga*Heterosigmaakashiwo*to iron and iron stress condition // Biothechnology letters. Vol. 24. P. 743–747.

Martínez R., Orive E., Laza-Martínez A., Seoane S. 2010. Growth response of six strains of *Heterosigmaakashiwo* to varying temperature, salinity and irradiance conditions // Journal of Plankton Research. Vol. 32. P. 529–538. https://doi.org/10.1093/plankt/fbp135

Miazek K., Iwanek W., Remacle C., Richel A., Dorothec G. 2015. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial products biosynthesis: a rewiew // International Journal of Mollecular Sciences. Vol. 16. P. 23929–23969. doi:10.3990/ijms161023929.

Nagajoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environmental Chemistry Letters. Vol. 8. P. 199–216. doi: 10.1007/s10311-010-0297-8

Powers L., Creed Irena F., Trick C.G. 2012. Sinking of *Heterosigma akashiwo* results in increased toxicity of this harmful algal bloom species // Harmful Algae. Vol. 13. P. 95–104.

Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R., Scheider E.L. 1988. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells // Experimental Cell Research. Vol. 237. P. 123–130.

REFERENSES

Korshenko A.N. (Ed.) *Kachestvo morskih vod po gidrohimicheskim pokazatelyam. Ezhegodnik* [Marine Water Pollution. Annual Report]. Moskva: Nauka, 2016, 190 p.

Aoyama K., Iwahori K, Miyata N. Application of *Euglena gracilis*cells to comet assay: evaluation og DNA damage and repair. *Mutation research,* 2003, vol. 538, pp. 155–162. doi:10.1016/S1383-5718(03)00113-X

Desai S.R. Verlecar X.N., Goswami U. Genotoxicity of cadmium in marine diatom *Chaetocerostenuissimus* using the alkaline Comet assay. *Ecotoxicology*, 2006, vol. 538, pp. 155–162. doi:10.1007/s10646-006-0076-2

Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella* nana Hustedt, and *Detonulaconfervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal Microbiology*, 1962, vol. 8, pp. 229–239.

Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a, b* c_1 and c_2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemistry Physiology Planz*., 1975, vol. 167, pp. 191–194.

Kempton J., Keppler C. J., Lewitus A., Shuler A., Wilde S. A novel Heterosigmaakashiwo (Raphidophyceae) bloom extending from a South Carolina bay to offshore waters. *Harmful Algae*, 2008, vol. 7, pp. 235–240.

Li D., Cong W., Cai1 Zh., Shi D., Ouyang F. Response of growth and photosynthesis of marine red tide alga-*Heterosigmaakashiwo*to iron and iron stress condition. *Biothechnology letters*, 2002, vol. 24, pp. 743–747.

Martínez R., Orive E., Laza-Martínez A., Seoane S. Growth response of six strains of *Heterosigmaakashiwo* to varying temperature, salinity and irradiance conditions. *Journal of Plankton Research*, 2010, vol. 32, pp. 529–538. https://doi.org/10.1093/plankt/fbp135

Miazek K., Iwanek W., Remacle C., Richel A., Dorothec G. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial products biosynthesis: a rewiew. *International Journal of Mollecular Sciences*, 2015, vol. 16, pp. 23929–23969. doi:10.3990/ijms161023929.

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, pp. 199–216. doi: 10.1007/s10311-010-0297-8

Powers L., Creed Irena F., Trick C.G. Sinking of *Heterosigma akashiwo* results in increased toxicity of this harmful algal bloom species. *Harmful Algae*, 2012, vol. 13, pp. 95–104.

Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R., Scheider E.L. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 1988., vol. 237, pp. 123–130.

Статья поступила в редакцию: 10.07.2019
Статья принята после рецензии: 01.10.2019