

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОСТОВЫХ И ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНОВ МЕДИ НА МОРСКИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ

О.С. Алатарцева, Л.В. Стельмах, Р.Р. Сагадатова

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»,
РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2
E-mail: lustelm@mail.ru

Исследовано токсическое воздействие Cu^{2+} на два вида диатомовых водорослей *Cerataulina pelagica* и *Phaeodactylum tricornerutum*, а также динофитовую *Prorocentrum nanum*. Показано, что минимальное содержание токсиканта в воде, вызывающее замедление роста культур с низкими начальными значениями биомассы, для *P. tricornerutum* составило $1 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, а для *P. nanum* – $50 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$. Повышение начальной биомассы водорослей в культуре *C. pelagica* в 5–13 раз вызвало снижение чувствительности водорослей к действию меди. Токсическое влияние меди на водоросли проявляется и в снижении значений гЕТР, а также F_v/F_m .

Ключевые слова: диатомовые и динофитовые микроводоросли, ионная форма меди, токсическое воздействие, Черное море.

Поступила в редакцию: 30.08.2022. После доработки: 04.10.2022.

Введение. Оценка качества морской среды является неотъемлемой частью комплексного мониторинга, регулярно выполняемого в различных районах прибрежных вод. Одно из направлений в этой работе связано с использованием организмов, представляющих разные трофические уровни, в том числе и микроводоросли. Для выявления реакции этих организмов на комплексное загрязнение морских прибрежных вод используют представителей разных таксономических групп и, прежде всего, диатомовые и динофитовые водоросли [1], которые являются главными компонентами фитопланктона многих морских экосистем.

Среди многочисленных загрязнителей морских вод, оказывающих ингибирующее влияние на гидробионты, важное место занимают тяжелые металлы. По своему токсическому воздействию они уступают только хлорорганическим соединениям и намного опережают нефтепродукты и фенолы. К числу наиболее токсичных металлов в первую очередь относятся ртуть, медь, цинк, кадмий, свинец, хром [2]. Наиболее высокие концентрации в водной толще Черного моря характерны для меди.

Установлено, что ее содержание в северо-восточной части этого бассейна в настоящее время находится в диапазоне $1\text{--}125 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, что существенно превышает предельно допустимые концентрации (ПДК) для морских вод [3]. В этой связи возникает необходимость количественной оценки влияния данного токсиканта на водные организмы, включая микроводоросли. Влияние меди на микроводоросли, как правило, оценивают по приросту численности клеток или хлорофилла *a* как показателя биомассы в накопительной культуре в контроле и в опыте [4–6]. Однако определение этих параметров достаточно трудоемко. Вместе с тем, флуоресцентные параметры для этих целей используются довольно редко, хотя они могут быть определены в течение нескольких минут и достаточно информативны в плане оценки состояния фотосинтетического аппарата водорослей. Поэтому при исследованиях степени влияния токсикантов на водорослевые культуры необходимо оценивать их действие не только на биомассу водорослей, но и на показатели, определяемые с помощью метода ПАМ флуориметрии.

Цель настоящей работы состояла в исследовании токсического воздействия ионов меди на прирост биомассы и изменчивость некоторых флуоресцентных параметров в накопительных культурах диатомовых водорослей *Phaeodactylum tricornutum* и *Cerataulina pelagica*, а также динофитовой водоросли *Prorocentrum nanum*.

Материалы и методы. Объектом исследования были альгологически чистые культуры диатомовых водорослей *Cerataulina pelagica* (Cleve) Hendley, *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, а также динофитовой *Prorocentrum nanum* (Schiller) Dodge & Bibby, выделенные из планктона Черного моря и содержащиеся в коллекции отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ. Исходный объем клеток *C. pelagica* составил в среднем 2700 мкм^3 , *P. tricornutum* – 60 мкм^3 и *P. nanum* – 65 мкм^3 .

Рост культур в экспериментах осуществлялся в колбах объемом 200 мл на среде Гольдберга, содержащей нитраты, фосфаты и микроэлементы без органических компонентов [7]. При выращивании диатомовых водорослей в среду вносили 100 мМ кремния. Культуры экспонировали при интенсивности света $100 \text{ мЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ в диапазоне фотосинтетически активной радиации (ФАР), а также температуре $17\text{--}18^\circ\text{C}$ для диатомовых водорослей и $21\text{--}22^\circ\text{C}$ для динофитовой. С целью оценки влияния ионов меди (Cu^{2+}) на *P. tricornutum* и *C. pelagica* в опытные колбы добавляли водный раствор сульфата меди 6-ти концентраций от 1 до $200 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ в пересчете на медь, а в колбы с *P. nanum* – от 1 до $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$. В экспериментах использовали сернокислую медь ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) марки ЧДА производства России. Контролем служили культуры, росшие без добавления меди. Длительность каждого эксперимента составляла 3-е суток. Начальная биомасса культур по углероду в опытах на культуре *P. tricornutum* была равна $0,2 \text{ мг} \cdot \text{С} \cdot \text{л}^{-1}$, на *C. pelagica* – $2,6 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, на *P. nanum* – $0,5 \text{ мг} \cdot \text{С} \cdot \text{л}^{-1}$. Все культуры находились в фазе экспоненциального роста.

В ходе экспериментов из колб с культурами ежедневно отбирали алик-

ваты в трех-четыре повторностях для оценки биомассы водорослей, $F_{\sqrt{F_m}}$ (максимальной эффективности работы фотосистемы II) и $F'_{\sqrt{F'_m}}$ (эффективности работы фотосистемы II при семи различных интенсивностях света в диапазоне ФАР $10\text{--}1000 \text{ мЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$).

Содержание углерода в клетках водорослей рассчитывали на основе измерений оптической плотности OD_{750} с помощью фотометра КФК-3 (Россия) с последующим пересчетом ее значений в единицы органического углерода ($\text{мг} \cdot \text{С} / \text{л}$). В основе расчетов лежат калибровочные графики, связывающие OD_{750} с концентрацией органического углерода, измеренного прямым методом [8]. Для построения калибровочных графиков концентрацию органического углерода в клетках водорослей определяли методом мокрого сжигания проб в хромовой смеси [9]. Относительная ошибка определений составляла $5\text{--}10\%$. Значения коэффициента линейных уравнений, отражающих связь между OD_{750} и концентрацией органического углерода в клетках водорослей, составляли для *P. tricornutum* – $14,228 \text{ мг} \cdot \text{С} \cdot \text{л}^{-1}$, для *C. pelagica* – $64,842 \text{ мг} \cdot \text{С} \cdot \text{л}^{-1}$ и для *P. nanum* – $17,595 \text{ мг} \cdot \text{С} \cdot \text{л}^{-1}$, коэффициент детерминации уравнений (R^2) был равен $0,990\text{--}0,997$.

Измерения $F_{\sqrt{F_m}}$, а также $F'_{\sqrt{F'_m}}$ осуществляли на ПАМ флуориметре Aqua Rep-C AP 110 (Чешская Республика). Относительная погрешность определений показателей не превышала 5% . Значения относительной скорости электронного транспорта (rETR) в относительных единицах рассчитывали на основе произведения $F'_{\sqrt{F'_m}}$ и соответствующей интенсивности света [10].

Статистический анализ и построение графиков. Обработка данных выполнена в программе Excel 2007 для Windows. Были рассчитаны среднеарифметические значения исследуемых параметров и стандартное отклонение. Статистическая значимость различий между вариантами определялась по t-критерию Стьюдента. Построение графиков осу-

шествовалось с помощью программы Grafer 3.

Результаты. Влияние меди на *Phaeodactylum tricornutum*. Этот мелкоклеточный вид диатомовых водорослей со средним объемом клеток 60 мкм^3 подвергался воздействию меди в следующих концентрациях: 1, 5, 10, 50, 100 и 200 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$. При начальном количестве органического углерода $0,2 \text{ мг С}\cdot\text{л}^{-1}$ его прирост наблюдался в опытных колбах и в контроле в течение трех суток (рис. 1а).

Однако значения биомассы в опыте были достоверно ниже, чем в контроле при всех концентрациях токсиканта ($p < 0,001$). По мере увеличения количества Cu^{2+} в среде эти различия возрастали. Показатель F_v/F_m в контроле, составивший 0,60, в течение 3-х суток не изменялся и достоверно был выше ($p < 0,05$), чем в культурах, подвергнутых токсическому воздействию меди в концентрациях 5–200 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ (рис. 1б). Минимальное количество токсиканта (1 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$) практически не вызывало ингибирование этого параметра на протяжении всего эксперимента. Самое низкое значение F_v/F_m (0,37) получено на 3-и сутки при максимальной концентрации меди. Значения $rETR$ в конце эксперимента во всем исследованном световом диапазоне ($10\text{--}1000 \text{ мЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) в контроле и в присутствии Cu^{2+} в концентрации 1 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ достоверно не различались ($p > 0,05$). Тогда как повышение содержания меди в среде в 5 раз вызывало снижение этого параметра в 1,4–1,8 раза при интенсивностях света $\geq 100 \text{ мЭ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (рис. 1с).

В это же время F_v/F_m снизилось лишь на 10%.

Влияние меди на *Cerataulina pelagica*. В эксперименте с культурой *C. pelagica*, имеющей средний объем клеток 2700 мкм^3 и начальную биомассу $2,6 \text{ мг С}\cdot\text{л}^{-1}$, концентрация меди в среде составляла 10, 100 и 200 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$, так как более низкое содержание токсиканта влияло крайне слабо. Через сутки роста культуры количество органического углерода было достоверно ниже, чем в контроле ($p < 0,05$) при концентрации меди 200 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$, тогда как при более

низких ее значениях (10 и 100 $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$) различия между опытными пробами и контролем не выявлены (рис. 2а).

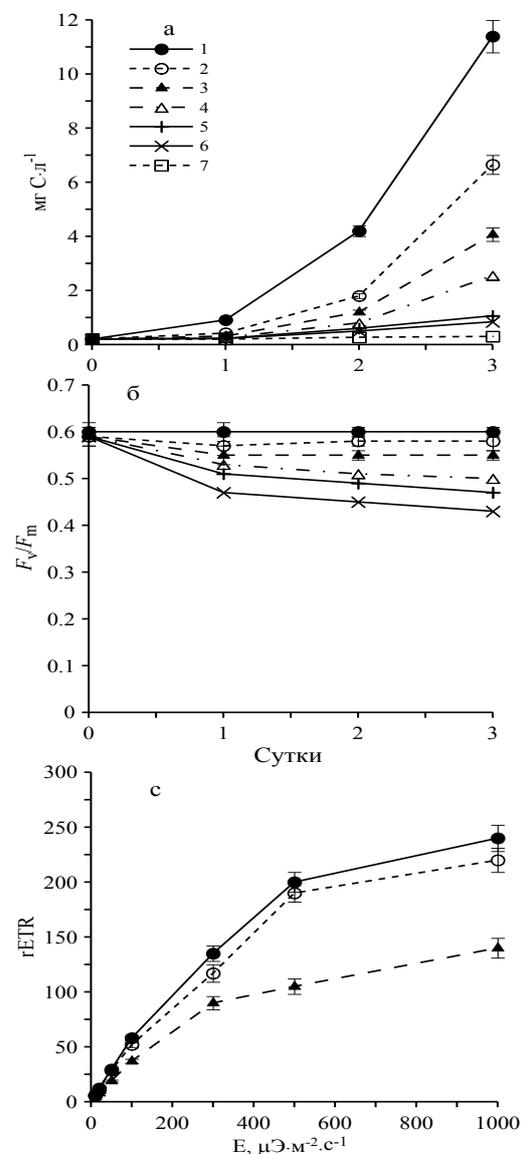


Рис. 1. Динамика содержания органического углерода (а), величины F_v/F_m (б) и относительной скорости электронного транспорта, $rETR$ на 3-и сутки (с) в культуре *P. tricornutum* при различных концентрациях ионов меди: 1 – контроль, 2 – 1 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$, 3 – 5 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$, 4 – 10 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$, 5 – 50 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$, 6 – 100 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$, 7 – 200 $\mu\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$

Fig. 1. Dynamics of organic carbon content (а), F_v/F_m value (б) and relative electron transport rate, $rETR$ on the 3rd day (с) in *P. tricornutum* culture at different concentrations of copper ions: 1 – control, 2 – 1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 3 – 5 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 4 – 10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 5 – 50 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 6 – 100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 7 – 200 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$

На вторые и третьи сутки наибольший прирост биомассы наблюдался в контроле, а при концентрации токсиканта $10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ он существенно ослабевал. В остальных вариантах опыта рост водорослей не наблюдался.

Показатель F_v/F_m в контроле, составивший 0,60, в течение 3-х суток не изменялся и достоверно был выше ($p < 0,05$), чем в культурах, подвергнутых токсическому воздействию меди при всех ее концентрациях (рис. 2б).

В результате воздействия на водоросли Cu^{2+} в концентрациях $10\text{--}200 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ наблюдалось постепенное снижение максимальной эффективности работы фотосистемы II к концу экспериментов и скорость этого снижения возрастала по мере увеличения количества токсиканта. На 3-и сутки величина F_v/F_m была минимальна, составив 0,1, при максимальном содержании меди в воде – $200 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$.

Значения rETR на третьи сутки во всем исследованном световом диапазоне в присутствии Cu^{2+} в концентрации $10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ были достоверно ниже относительно контроля ($p < 0,05$). Этот показатель снижался в 1,3–2 раза и более (рис. 2 с). Тогда как отношение F_v/F_m в этих условиях уменьшалось лишь на 17%.

Влияние меди на *P. panit*. При низком начальном количестве органического углерода ($0,5 \text{ мг С} \cdot \text{л}^{-1}$) в культуре *P. panit* с объемом клетки 65 мкм^3 количество меди в опытных пробах составляло 1, 3, 5, 10, 50 и $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$. При низких ее концентрациях ($1\text{--}10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) прирост биомассы водорослей в течение трех суток слабо отличался от контроля.

Её конечные значения были в 6 раз выше исходных (рис. 3а). Тогда как под действием токсиканта в концентрации 50 и $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ содержание органического углерода на третьи сутки было лишь в 2 и в 1,4 раза выше исходного значения соответственно.

Показатель F_v/F_m в контроле, составивший 0,53, в течение 3-х суток постепенно снижался до 0,42 (рис. 3б).

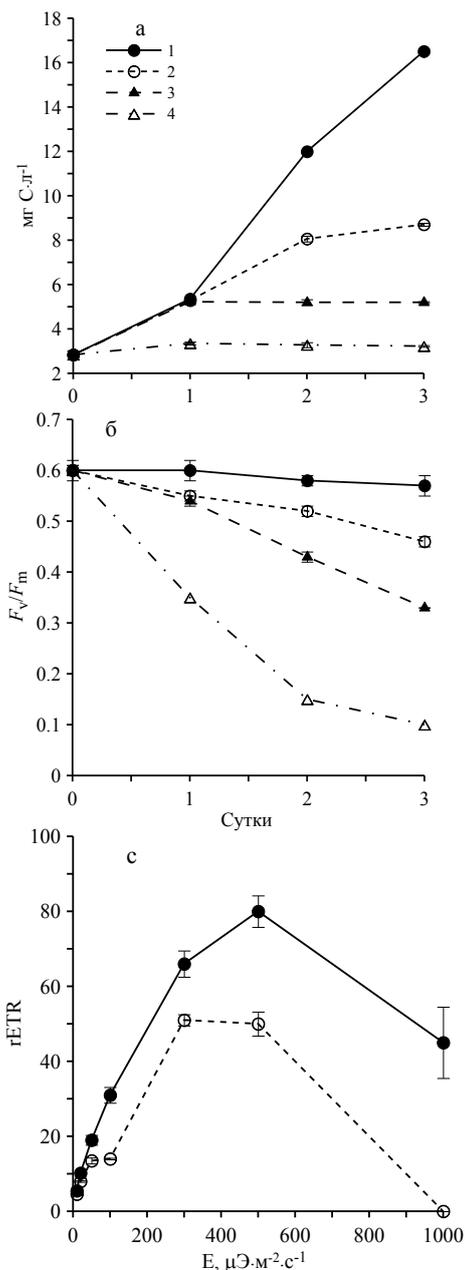


Рис. 2. Динамика содержания органического углерода (а), величины F_v/F_m (б) и относительной скорости электронного транспорта, rETR на 3-и сутки (с) в культуре *C. pelagica* при различных концентрациях ионов меди: 1 – контроль, 2 – $10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, 3 – $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, 4 – $200 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$

Fig. 2. Dynamics of organic carbon content (a), F_v/F_m value (b) and relative electron transport rate, rETR on day 3rd (c) in *C. pelagica* culture at different concentrations of copper ions: 1 – control, 2 – $10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, 3 – $100 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$, 4 – $200 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$

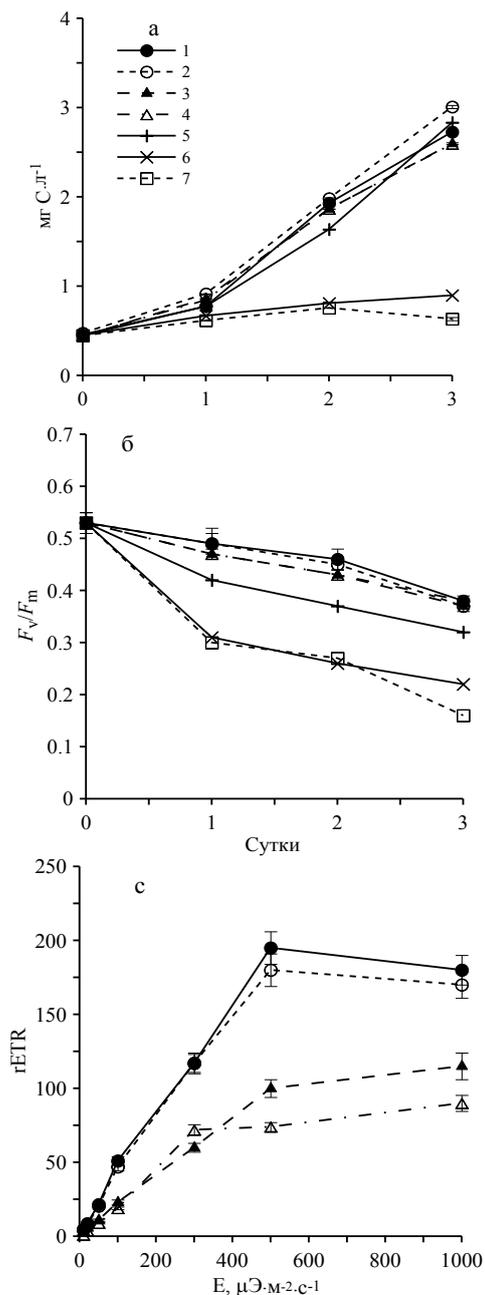


Рис. 3. Динамика содержания органического углерода (а), величины F_v/F_m (б) и относительной скорости электронного транспорта, rETR на 3-и сутки (с) в культуре *P. nanum* при концентрациях ионов меди:

1 – контроль, 2 – 1 мкг·л⁻¹, 3 – 3 мкг·л⁻¹,
4 – 5 мкг·л⁻¹, 5 – 10 мкг·л⁻¹, 6 – 50 мкг·л⁻¹,
7 – 100 мкг·л⁻¹

Fig. 3. Dynamics of organic carbon content (а), F_v/F_m value (б) and relative electron transport rate, rETR on day 3rd (с) in *P. nanum* culture at concentrations of copper ions: 1 – control, 2 – 1 μg·l⁻¹, 3 – 3 μg·l⁻¹, 4 – 5 μg·l⁻¹, 5 – 10 μg·l⁻¹, 6 – 50 μg·l⁻¹, 7 – 100 μg·l⁻¹

Подобные его изменения получены при низких концентрациях меди в среде, а при ее содержании ≥ 10 мкг·л⁻¹ это снижение было достоверно больше, чем в контроле ($p < 0,05$).

Значения rETR на третьи сутки во всем исследованном световом диапазоне в контроле и в присутствии Cu^{2+} в концентрации 1 мкг·л⁻¹, достоверно не различались ($p > 0,05$). Тогда как повышенные содержания меди в среде до 3 и 5 мкг·л⁻¹ вызвало снижение этого параметра в 2–3 раза относительно контроля (рис. 3с).

Обсуждение. Медь в крайне низких концентрациях оказывает стимулирующее влияние на водоросли, участвуя в ряде метаболических процессов и усиливая работу многих ферментов [2, 11]. Однако ее довольно высокое содержание в ионной форме в водах прибрежных районов Черного моря может вызывать угнетение роста фитопланктона. Поэтому важно понять, при каких минимальных концентрациях этот металл оказывает подавляющее действие на черноморские виды диатомовых и динофитовых водорослей и каков характер этого воздействия на их функциональные параметры.

Как правило, в таких исследованиях используют водоросли в экспоненциальной фазе роста, которая характеризуется периодом времени, когда отдельные клетки делятся с постоянной скоростью. В культурах, находящихся в стационарной фазе, где прирост клеток почти не наблюдался, чувствительность морских микроводорослей к тяжелым металлам увеличивалась на 10–60% по сравнению с экспоненциально растущей культурой [6]. По этой причине наши эксперименты выполнены на экспоненциально растущих культурах.

Степень устойчивости различных видов микроводорослей к действию токсикантов чаще всего оценивают по приросту численности клеток [4, 5]. Однако из-за разного объема клеток их биомасса при одной и той же численности может сильно различаться, что не позволяет

корректно сопоставлять такие результаты.

В нашей работе оценка прироста водорослей осуществлялась по органическому углероду, то есть по биомассе. Оказалось, что самым чувствительным видом водорослей к действию меди оказалась диатомовая водоросль *P. tricornutum* с самой низкой начальной биомассой ($0,2 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$). Даже небольшая концентрация меди, составившая $1 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, уже в первые сутки эксперимента вызвала замедление роста водорослей. Тогда как параметры флуоресценции, такие как F_v/F_m и $rETR$, снижались относительно контроля при концентрации Cu^{2+} , равной $5 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ и выше. В отличие от биомассы водорослей, определение которой достаточно трудоемко, флуоресцентные параметры могут быть измерены в течение нескольких минут в пробе объемом всего лишь 2–3 мл. Причем относительная скорость электронного транспорта ($rETR$), измеренная на третьи сутки, оказалась более чувствительна к действию токсиканта по сравнению с параметром F_v/F_m , характеризующим максимальную эффективность работы фотосистемы II. Подобные результаты были получены ранее в исследованиях на пресноводных водорослях [12].

Повышение исходной биомассы в культуре диатомовой водоросли *S. pelagica* в 13 раз относительно биомассы *P. tricornutum*, стало одной из основных причин снижения чувствительности водорослей к действию Cu^{2+} . Через сутки от начала эксперимента прирост биомассы *S. pelagica* замедлялся относительно контроля только при концентрации меди $200 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, тогда как ее содержание в воде 10 и $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$ не оказывало заметного влияния на культуру. Однако более длительное воздействие этих концентраций вызвало угнетение роста данного вида. Что касается параметра F_v/F_m , то его значения уже в первые сутки при всех концентрациях токсиканта были достоверно ниже, чем в контроле. А параметр $rETR$, измеренный на третьи сутки эксперимента, показал большую чувствительность к воздействию меди, чем F_v/F_m .

Наиболее устойчивым видом водорослей к воздействию Cu^{2+} оказалась мелкоклеточная динофлагеллята *P. nanum*. Даже при низкой ее исходной биомассе ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) только достаточно высокие концентрации меди (50 и $100 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) вызвали угнетение роста данной культуры в течение всех трех суток. Однако максимальная эффективность работы фотосистемы II понизилась уже при содержании Cu^{2+} в воде $10 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$, а относительная скорость электронного транспорта, измеренная на третьи сутки эксперимента, была существенно меньше, чем в контроле под действием токсиканта в концентрации лишь $3 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$.

Таким образом, параметр $rETR$ позволяет обнаружить угнетающее влияние меди при самых низких исходных концентрациях этого токсиканта в воде уже через сутки от начала воздействия. На втором месте по степени чувствительности к токсиканту находится показатель F_v/F_m . Наименее чувствительным параметром является скорость прироста биомассы водорослей.

Выполненные нами исследования показали наличие межвидовой изменчивости устойчивости микроводорослей к загрязняющим веществам. Так, при низкой начальной биомассе водорослей устойчивость мелкоклеточной динофлагелляты *P. nanum* к токсическому воздействию меди была выше, чем у диатомовой водоросли *P. tricornutum*, имеющей такой же объем клетки, как и у первого вида. Вероятно, не только биомасса, но и другие характеристики и свойства водорослей влияют на их устойчивость к тяжелым металлам. Накопление металлов водорослями происходит, прежде всего, путем их адсорбции на клеточной стенке [13], структура которой у разных водорослей различается. Тяжелые металлы, проникшие в клетку, подвергаются в определенной мере детоксикации, что может быть достигнуто за счет связывания со специфическими внутриклеточными соединениями и/или транспорта металлов в определенные клеточные компартменты [14, 15].

Заключение. Исследованные два вида диатомовых водорослей *P. tricornutum*, *S. pelagica* и один вид динофитовых *P. nanum* показали разную степень чувствительности к токсическому воздействию меди в ионной форме. Наиболее чувствительным оказался *P. tricornutum*, а наименее – *P. nanum*.

Угнетающий эффект меди на водоросли выявляется, прежде всего, по снижению значений относительной скорости электронного транспорта (rETR), особенно при интенсивностях света $\geq 100 \mu\text{Э м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Вторым по чувствительности к токсическим веществам параметром является максимальная эффективность фотосистемы II (F_v/F_m). Самым устойчивым показателем к действию Cu^{2+} является скорость прироста биомассы водорослей.

Значения концентрации меди, вызывающие угнетение функциональных параметров водорослей, сопоставимы с ее содержанием в прибрежных водах Черного моря.

Работа выполнена по теме государственного задания ФИЦ ИнБЮМ “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом” (№ гос. регистрации 121041400077-1).

Авторы выражают искреннюю благодарность м.н.с. отдела экологической физиологии водорослей ФИЦ ИнБЮМ Мансуровой И.И. за помощь при выполнении данной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stelmakh L., Kovrigina N.* Phytoplankton Growth Rate and Microzooplankton Grazing under Conditions of Climatic Changes and Anthropogenic Pollution in the Coastal Waters of the Black Sea (Sevastopol Region) // *Water*. 2021. V. 13. Iss. 22. Article no. 3230 (13 p.).
2. *Мурадов С.В.* Воздействие тяжёлых металлов на водоросли-макрофиты Авачинской губы // *Фундаментальные исследования*. 2014. № 9-9. С. 1998–2002.
3. *Кораблина И.В., Барабашин Т.О., Геворкян Ж.В., Евсеева А.И.* Динамика распределения тяжёлых металлов в водной толще северо-восточной части Чёрного моря после 2000 г. // *Труды ВНИРО*. 2021. Том 183. С. 96–112.
4. *Satoh A., Vudikaria L. Q., Kurano N., Miyachi S.* Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd // *Environment International*. 2005. 31. P. 713–722.
5. *Levy, J. L., Stauber, J. L., and Jolley, D.F.* Sensitivity of marine microalgae to copper: the effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity // *Science of the Total Environment*. 2007. 387. P. 141–154.
6. *Andersson B., Godhe A., Filipsson H.L., Rengefors K., Berglund O.* Differences in metal tolerance among strains, populations, and species of marine diatoms – Importance of exponential growth for quantification // *Aquatic Toxicology*. 2020. 226. 105551
7. *Финенко З.З., Стельмах Л.В., Галатонова О.А., Бабич И.И.* Культивирование водорослей в лабораторных условиях // *Микроводоросли Черного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования*. Севастополь: ЭкоСи-Гидрофизика. 2008. С. 186–200.
8. *Kvıderová, J., Lukavský, J.* (2003) The cultivation of *Phaeodactylum tricornutum* in crossed gradients of temperature and light // *Algological Studies*. 2003. 110 (1). P. 67–80.
9. *Бергер В.Я., Мутяев М.В., Сухотин А.А.* Опыт использования метода мокрого сжигания для определения концентрации взвешенных органических веществ в морской воде // *Океанология*. 2016. Т. 56. № 2. С. 328–332.
10. *Cruz S., Seródio, J.* Relationship of rapid light curves of variable fluorescence to photoacclimation and non-photochemical quenching in a benthic diatom // *Aquatic Botany*. 2008. 88. P. 256–264.

11. Sunda, W.G. Trace metal interactions with marine phytoplankton // *Biological Oceanography*. 1989. 6. P. 411–442.

12. Тодоренко Д.А., Маторин Д.Н., Алексеев А.А., Тунгатарова Д.И., Орлова В.С. Изучение токсичности сульфата меди и наночастиц серебра с использованием флуоресценции микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия "Экология и безопасность жизнедеятельности". 2014. № 1. С. 25–32

13. Rebhum, S., Ben-Amotz, A. The dis-

tribution of cadmium between the marine alga *Chlorella* and water medium. Effect on algal growth // *Water Research*. 1984. 18 (2). P. 173–178.

14. Perales-Vela, H.V., Peña-Castro, J.M. and Cañizares-Villanueva R.O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae // *Chemosphere*. 2006. 64. P. 1–10.

15. Arunakumara, K.K.I.U. & Zhang, X. (2008) Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Journal of Ocean University of China*. 2008. 7. P. 60–64.

THE USE OF GROWTH AND FLUORESCENT INDICATORS TO ASSESS THE TOXIC EFFECT OF COPPER IONS ON MARINE MICROALGAE

O.S. Alatartseva, L.V. Stelmakh, R.R. Sagadotova

The A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas of RAS, Sevastopol, Nachimov Av., 2

The toxic effect of copper in ionic form (Cu^{2+}) on two species of diatoms *Cerataulina pelagica* and *Phaeodactylum tricornerutum*, as well as on the dinoflagellate alga *Prorocentrum nanum*, is studied. It is shown that the minimum content of the toxicant in water, causing the slowing down of the growth of enrichment cultures with low initial values of biomass, was $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *P. tricornerutum*, and $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for *P. nanum*. An increase in the initial biomass of algae in the culture of *C. pelagica* by 5–13 times resulted in a decrease in the algae sensitivity to the impact of copper. The toxic effect of copper on algae is also manifested in a decrease in the values of rETR, as well as in F_v/F_m .

Keywords: diatoms and dinoflagellate microalgae, ionic form of copper, toxic effect, Black Sea.

REFERENCES

1. Stelmakh L. and Kovrigina N. Phytoplankton Growth Rate and Microzooplankton Grazing under Conditions of Climatic Changes and Anthropogenic Pollution in the Coastal Waters of the Black Sea (Sevastopol Region). *Water*, 2021, Vol. 13, Iss. 22, Article no. 3230 (13 p.).

2. Muradov S.V. Vozdejstvie tjazholyh metallov na vodorosli-makrofity Avachinskoj guby (Impact of heavy metals on macrophyte algae of Avacha Bay). *Fundamental'nye issledovaniya*, 2014, No 9-9, pp. 1998–2002.

3. Korablina I.V., Barabashin T.O., Gevorkjan Zh.V., and Evseeva A.I. Dinamika raspredelenija tjazholyh metallov v vodnoj tolshhe severo-vostochnoj chasti Chjornogo morja posle 2000 g. (Dynamics of distribution of heavy metals in the water column of the northeastern part of the Black Sea after 2000). *Trudy VNIRO*, 2021, Vol. 183, pp. 96–112.

4. Satoh A., Vudikaria L. Q., Kurano N., and Miyachi S. Evaluation of the sensitivity of marine microalgal strains to the heavy metals, Cu, As, Sb, Pb and Cd. *Environment International*, 2005, Vol. 31, pp. 713–722.

5. Levy J. L., Stauber J. L., and Jolley D. F. Sensitivity of marine microalgae to copper: the effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of the Total Environment*, 2007, Vol. 387, pp. 141–154.

6. Andersson B., Godhe A., Filipsson H.L., Rengefors K., and Berglund O. Differences in metal tolerance among strains, populations, and species of marine diatoms – Importance of exponential growth for quantification. *Aquatic Toxicology*, 2020, Vol. 226, 105551.

7. Finenko Z.Z., Stel'mah L.V., Galatonova O.A., and Babich I.I. Kul'tivirovanie vodoroslej v laboratornyh uslovijah // Mikrovdorosli Chernogo morja: problemy sohraneniya bioraznoobraziya i biotehnolog-

icheskiego ispol'zovanija (Cultivation of algae in laboratory conditions. Microalgae of the Black Sea: problems of biodiversity conservation and biotechnological use). Sevastopol': Jekosi-Gidrofizika, 2008, pp. 186–200.

8. Kvidrová, J. and Lukavský, J. The cultivation of *Phaeodactylum tricorutum* in crossed gradients of temperature and light. *Algological Studies*, 2003, Vol. 110 (1), pp. 67–80.

9. Berger V.Ja., Mitjaev M.V., and Suhotin A.A. Opyt ispol'zovanija metoda mokrogo szhiganija dlja opredelenija koncentracii vzveshennyh organicheskikh veshhestv v morskoy vode (Experience in using the wet burning method to determine the concentration of suspended organic matter in sea water). *Okeanologija*, 2016, Vol. 56, No. 2, pp. 328–332.

10. Cruz S. and Serôdio, J. Relationship of rapid light curves of variable fluorescence to photoacclimation and non-photochemical quenching in a benthic diatom. *Aquatic Botany*, 2008, Vol. 88, pp. 256–264.

11. Sunda W.G. (1989) Trace metal interactions with marine phytoplankton. *Biological Oceanography*, 1989, Vol. 6, pp. 411–442.

12. Todorenko D.A., Matorin D.N, Alekseev A.A, Tungatarova D.I., and Orlova V.S. Izuchenie toksichnosti sul'fata medi i nanochastic serebra s ispol'zovaniem fluorescencii mikrovodoroslej *Scenedesmus quadricauda* (Study of the toxicity of copper sulfate and silver nanoparticles using the fluorescence of microalgae *Scenedesmus quadricauda*). *Vestnik Rossijskogo universiteta druzhby narodov. Serija "Jekologija i bezopasnost' zhiznedejatel'nosti"*, 2014, No. 1, pp. 25–32.

13. Rebbum S. and Ben-Amotz A. The distribution of cadmium between the marine alga *Chlorella* and water medium. Effect on algal growth. *Water Research*, 1984, Vol. 18 (2), pp. 173–178.

14. Perales-Vela H.V., Peña-Castro J.M., and Cañizares-Villanueva R.O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere*, 2006, Vol. 64, pp. 1–10.

15. Arunakumara K.K.I.U. and Zhang X. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. *Journal of Ocean University of China*, 2008, Vol. 7, pp. 60–64.