

¹Ж.В.Маркина, ^{1,2}А.В.Огнистая, ¹А.А.Зинов¹Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, zhannav@mail.ru²Дальневосточный федеральный университет

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ДИНАМИКУ ЧИСЛЕННОСТИ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *PROROCENTRUM FORAMINOSUM* (DINOPHYTA)

Проведена оценка динамики численности, внешнего вида клеток, флуоресценции хлоропласта и зеленой автофлуоресценции клеток (ЗАФ) динофлагелляты *Prorocentrum foraminosum* при воздействии тяжелых металлов: кадмия Cd^{2+} , никеля Ni^{2+} и свинца Pb^{2+} в концентрациях 10 и 20 мкг/л. Показано, что все металлы в изученных концентрациях оказали ингибирующее влияние на численность клеток: наименьшее воздействие оказал Cd^{2+} . Морфологически клетки не изменялись при воздействии Cd^{2+} , Pb^{2+} , а при добавлении Ni^{2+} отмечена деформация клеток. Флуоресценция хлоропласта изменялась при воздействии металлов, за исключением Cd^{2+} . В целом, ЗАФ не изменялась при наличии в среде Cd^{2+} , увеличивалась при добавлении Ni^{2+} , снижалась – Pb^{2+} . Предложено использовать ЗАФ для экспресс оценки токсичности веществ и качества вод.

Ключевые слова: *Prorocentrum foraminosum*; тяжелые металлы; численность клеток; флуоресценция хлоропласта; зеленая флуоресценция динофлагеллят.

DOI: <https://doi.org/10.24852/2411-7374.2023.1.61.68>

Введение

В связи возрастанием численности населения, увеличением площади сельскохозяйственных угодий и промышленного производства усиливается загрязнение биосферы тяжелыми металлами (Nagajyoti et al., 2010). Одноклеточные водоросли, как основа трофических цепей и основной источник кислорода в водных экосистемах, вызывают закономерный интерес у исследователей в экотоксикологическом плане (Masmoudi et al., 2013; Cheng et al., 2016). На основании длительного мониторинга в загрязненных тяжелыми металлами акваториях показано снижение численности динофитовых водорослей (Liu et al., 2012). При этом большинство металлов необходимы для нормальной жизнедеятельности растений (Nagajyoti et al., 2010).

Кадмий (Cd^{2+}) не включен в биохимические реакции у растений, за исключением морской диатомеи *Thalassiosira weissflogii*, у которой обнаружена содержащая кадмий ангидраза (Andorch et al., 2012). Никель (Ni^{2+}) играет важную роль в функционировании уреазы и Ni-супероксиддисмутазы. Основные функции никеля – участие в окислительно-восстановительных реакциях (Nagajyoti et al., 2010). Свинец (Pb^{2+}) – неэссенциальный элемент, вызывающий повреждения у растений, прежде всего за счет индуцирования выделения активных форм кислорода и отрицательного вли-

яния на активность ферментов (Nagajyoti et al., 2010).

Большинство исследований по действию тяжелых металлов на микроводоросли ограничивается представителями отдела Chlorophyta (Mallick, Mohn, 2003; Chia et al., 2013; Jamers et al., 2013; Martínez-Ruiz, Martínez-Jeromo, 2015; Cheng et al., 2016). В тоже время, представители динофлагеллят в данном отношении остаются слабоизученными (Soyer, Prevot, 1981; Weng et al., 2008; Huang et al., 2018).

Виды рода *Prorocentrum* регистрируются в разных районах Мирового океана (Faust, 1993; Taş, Okus, 2011; Ясакова, 2013; Shin et al., 2019; Li et al., 2021; Wang et al., 2020). Ряд видов этого рода способны вызывать «цветение» воды (Taş, Okus, 2011; Ясакова, 2013; Shin et al., 2019; Li et al., 2021). *Prorocentrum foraminosum* встречается в заливе Петра Великого (Японского моря) с апреля по июнь и с сентября по октябрь на талломах макрофитов, при температурах 8–22°C (Селина, 2017). Он также обнаружен у побережья Белиза (Faust et al., 1993). Данный вид способен продуцировать динофизистоксин-1, вызывающий диарею у теплокровных животных (Kameneva et al., 2015).

Цель настоящей работы заключалась в оценке действия кадмия, никеля, свинца на микроводоросль *Prorocentrum foraminosum* (Faust, 1993).

Численность клеток – показатель, традиционно используемый для оценки действия веществ на микроводоросли (Gissi et al., 2015; Tato, Beiras, 2019). В связи с тем, что хлоропласты – основная мишень действия токсических веществ, в том числе тяжелых металлов, у водорослей и высших растений (Carfagna et al., 2013), в качестве оценочного показателя нами использовалась флуоресценция хлоропласта. Динофлагелляты обладают зеленой автофлуоресценцией – ЗАФ, которую ранее было предложено использовать в качестве таксономического маркера и оценки жизнеспособности водорослей (Tang, Dobbs, 2007; Tang et al., 2022). В данной работе изменение данного показателя рассматривалось в качестве маркера токсического действия тяжелых металлов.

Материал и методы исследования

Культура *Prorocentrum foraminosum* MBRU_PrRUS_16 предоставлена ресурсным центром «Морской биобанк» Национального научного центра им. А.В. Жирмунского. Водоросль выращивали на среде *f* (Guillard, Ryther, 1962), приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды соленостью 32‰ в 24-луночных планшетах с объемом культуральной среды 10 мл, при температуре 18 °C, интенсивности освещения 70 мкмоль/м²/с в области видимого света и свето-темновым периодом 12 ч свет : 12 ч темнота. В качестве инокулята использовали культуры на экспоненциальной стадии роста.

Выбор концентраций Cd²⁺, Ni²⁺ и Pb²⁺ основан на данных о их содержании в прибрежных районах морей Дальнего Востока (Качество ..., 2020; 2021) и величинах их предельно допустимых концентраций (ПДК) в морских водах: тестовые концентрации металлов – 10 и 20 мкг/л – соответствуют 1 ПДК и 2 ПДК.

Подсчет численности клеток произведен в счетной камере Седвика-Рафтера под микроскопом Evos-5000 (Thermo Fisher Scientific, США).

Фотографии выполнены с помощью Evos-5000 в проходящем свете и флуоресценции. Возбуждение зеленой флуоресценции (ЗАФ) производили с применением светодиодного куба GFP, флуоресценции хлорофилла *a* – с применением светодиодного куба Cy5.

Эксперименты проводили в трех повторностях. Статистическую обработку выполняли с помощью программы MS Excel. На графиках представлены средние значения и их стандартные отклонения.

Результаты и их обсуждение

Численность клеток *Prorocentrum foraminosum*

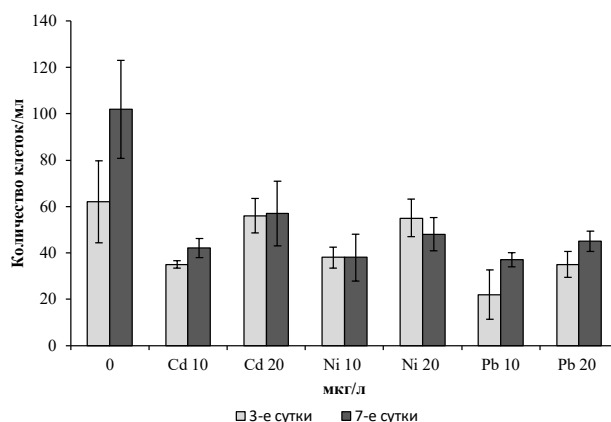


Рис. Численность клеток *Prorocentrum foraminosum* при воздействии тяжелых металлов
Fig. The number of *Prorocentrum foraminosum* cells under the influence of heavy metals

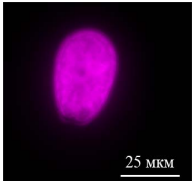
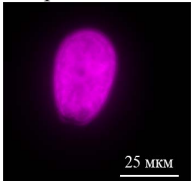
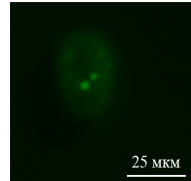
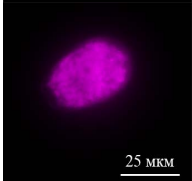
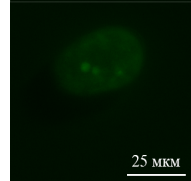
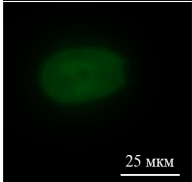
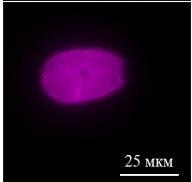
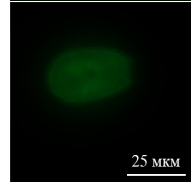
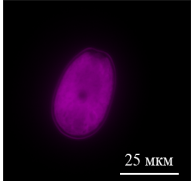
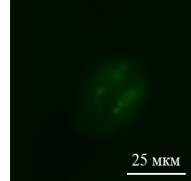
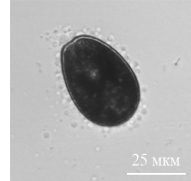
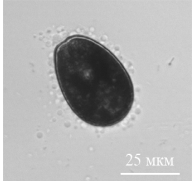
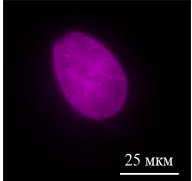
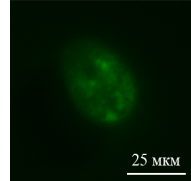
при всех исследованных концентрациях металлов была ниже чем в контроле как на третьи, так и на седьмые сутки эксперимента (рис.). Однако рост водорослей не ингибировался полностью: число клеток к седьмым суткам возрастало во всех случаях опыта. Наименьшее воздействие оказал Cd²⁺.

В контрольном образце на третьи сутки эксперимента клетки вытянутой овоидной формы, флуоресценция хлорофилла *a* выраженная, ЗАФ менее яркая, выявлены флуоресцирующие компартменты (табл. 1).

При внесении 10 мкг/л Cd²⁺ на третьи сутки у клеток на световом уровне не происходит изменений, в том числе флуоресценции хлоропласта, зеленая флуоресценция становится менее яркой (табл. 1). То же самое наблюдается и при добавлении 20 мкг/л Cd²⁺. На седьмые сутки в варианте 10 мкг/л Cd²⁺ клетки не отличались от таковых в контроле. Более высокая концентрация Cd²⁺ приводила к смещению ядра от центральной к апикальной части клеток, истечению клеточного содержимого, флуоресценция хлоропласта не изменялась, а ЗАФ становилась более выраженной.

При воздействии Ni²⁺ в концентрации 10 мкг/л отмечалось выделение клеточного содержимого на третьи сутки экспозиции, выявлены изменения в хлоропласте по флуоресценции, ЗАФ существенно не отличалась от контроля (табл. 2). Такие же изменения обнаружены и в варианте 20 мкг/л Ni²⁺. На седьмые сутки также происходило истечение клеточного содержимого, но флуоресценция хлоропласта не отличалась от контроля, а ЗАФ увеличивалась. При содержании 20 мкг/л Ni²⁺ клетки становились более вытянутыми, флуоресценция хлоропласта не отличалась от контрольной, а ЗАФ была более интенсивна, чем в контрольном образце.

Таблица 1. Клетки *Prorocentrum foraminosum* при воздействии кадмия
 Table 1. *Prorocentrum foraminosum* cells under the influence of cadmium

Варианты Options	Световая микроскопия Light microscopy	Флуоресценция хлоропласта Chloroplast fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
Контроль, 3 сутки			
Контроль, 7 сутки			
10 мкг/л Cd^{2+} , 3 сутки			
20 мкг/л Cd^{2+} , 3 сутки			
10 мкг/л Cd^{2+} , 7 сутки			
20 мкг/л Cd^{2+} , 7 сутки			

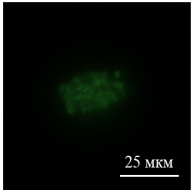
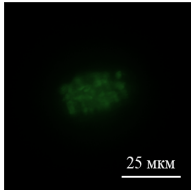
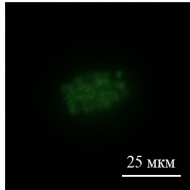
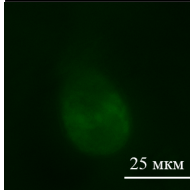
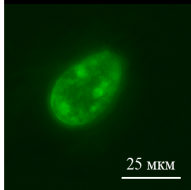
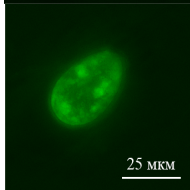
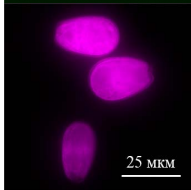
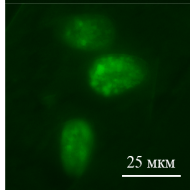
При внесении Pb^{2+} в концентрации 10 мкг/л на третьи сутки изменений морфологии не обнаружено, флуоресценция хлоропласта и ЗАФ были слабее, чем в контроле (табл. 3). То же самое отмечено при концентрации свинца 20 мкг/л, за исключением более яркой флуоресценции хлоропласта. На третьи и седьмые сутки клетки при Pb^{2+} 10 мкг/л клетки были идентичны. При 20 мкг/л произошло изменение формы клеток, флуоресценция хлоропласта и ЗАФ также отличались от контрольной.

Проведенные исследования показали, что все исследованные металлы во всех концентрациях оказали влияние на *P. foraminosum*. Токсичность тяжелых металлов для микроводорослей связана, прежде всего, с тем, что они вызывают окисли-

тельный стресс в результате увеличения количества свободных радикалов (Nagajyoti et al., 2010; Andorch et al., 2012). Повышение уровня активных форм кислорода приводит к снижению фотосинтетической продуктивности (Masmoudi et al., 2013). Ni^{2+} и Cd^{2+} влияют на реакционный центр ФС II, Pb^{2+} блокирует поток электронов на месте разложения воды, тогда как другие металлы инактивируют ФС II (Mallick, Mohn, 2003).

Очевидно, что при воздействии Cd^{2+} снижение численности популяции *P. foraminosum* связано с физиологическими нарушениями в клетках, о чем свидетельствует изменение флуоресценции хлоропласта и ЗАФ. Известно, что аккумулятивные тельца у водорослей обладают более выраженной ЗАФ, чем хлоропласт и другие органеллы

Таблица 2. Клетки *Prorocentrum foraminosum* при воздействии никеля
Table 2. *Prorocentrum foraminosum* cells under the influence of nickel

Варианты Options	Световая микроскопия Light microscopy	Флуоресценция хлоропласта Chloroplast fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
10 мкг/л Ni^{2+} , 3 сутки			
20 мкг/л Ni^{2+} , 3 сутки			
10 мкг/л Ni^{2+} , 7 сутки			
20 мкг/л Ni^{2+} , 7 сутки			

клетки (Tang, Dobbs, 2007). Появление участков с выраженной флуоресценцией может свидетельствовать о формировании запасющих гранул. Известно, что Cd^{2+} приводит к изменению биохимического состава клетки (Carfagna et al., 2013; Jamers et al., 2013; Cheng et al., 2016). Он может вызывать увеличение продуцирования растворенных органических веществ динофлагеллятами, для его выведения из клеток водорослей (Huang et al., 2018). Возможно, по этой причине мы наблюдали истечение клеточного содержимого при 20 мкг/л Cd^{2+} на седьмые сутки. Несмотря на то, что неоднократно показано, что Cd^{2+} обладает высокой токсичностью для микроводорослей, он оказал наименьшее воздействие на *P. foraminosum*. Ранее у *P. micans* при 20 мкг/л Cd^{2+} отмечено увеличение периферийных вакуолей, количества лизосом и их диаметра (до 1 мкм) после 6 дней экспозиции, формы митохондрий и количество крист в них, даже их лизис. В хлоропластах изменений не обнаруживалось (Soyer, Prevot, 1981).

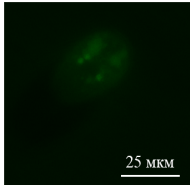
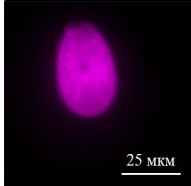
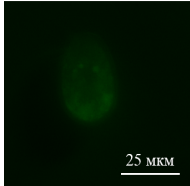
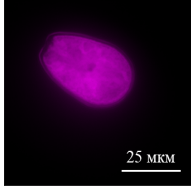
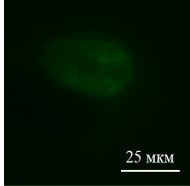
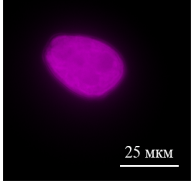
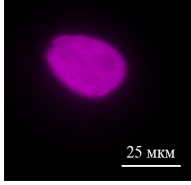
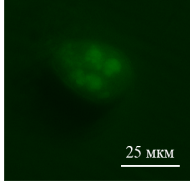
В проведенных экспериментах при наличии в среде Ni^{2+} отмечено изменение флуоресценции хлоропласта и истечение клеточного содержимого. Данный металл вызывает нарушение функций мембраны и нарушение минерального обмена, особенно калиевого (Nagajyoti et al., 2010). Клет-

ки *Ankistrodesmus falcatus* при 8 мкг/л Ni^{2+} увеличивались и изменяли форму, а при 17 мкг/л деформировались хлоропласты (Martínez-Ruiz, Martínez-Jeromo, 2015).

Pb^{2+} , помимо ингибирования роста *P. poraminosum*, приводил к изменениям флуоресценции клеток. Как уже отмечалось, что Pb^{2+} влияет на ферментную активность растений, вызывает изменение проницаемости мембран и нарушение минерального питания (Nagajyoti et al., 2010). Кроме того, происходят физиологические изменения в клетках микроводорослей, в том числе за счет нарушений фотосинтетического аппарата: снижения квантового выхода флуоресценции, уменьшения размера фотосинтетической антенны (Gan et al., 2019). Pb^{2+} может заменять магний в молекуле хлорофилла, но такие хлорофиллы не связаны прочно с лигандами пигмент-белкового комплекса. Водоросли синтезируют больше молекул хлорофилла для компенсации нефункциональных хлорофиллов и поддержания производительности фотосинтеза (Zamani-Ahmadmahooodi et al., 2020), о чем может сигнализировать усиление флуоресценции хлоропласта.

В целом, *P. foraminosum* по сравнению с другими представителями микроводорослей оказался более чувствительным к воздействию всех метал-

Таблица 3. Клетки *Prorocentrum foraminosum* при воздействии свинца
 Table 3. *Prorocentrum foraminosum* cells under the influence of lead

Варианты Options	Световая микроскопия Light microscopy	Флуоресценция хлоропласта Chloroplast fluorescence	Зеленая флуоресценция Green fluorescence
10 мкг/л Pb^{2+} , 3 сутки			
20 мкг/л Pb^{2+} , 3 сутки			
10 мкг/л Pb^{2+} , 7 сутки			
20 мкг/л Pb^{2+} , 7 сутки			

лов. Так, например, ингибирование скорости роста популяции *Phaeocystis antarctica* на 10% происходило при концентрации 135 мкг/л Cd^{2+} , 260 мкг/л Pb^{2+} (Gissi et al., 2015). Численность клеток *Ankistrodesmus falcatus* снижалась при концентрациях 15–30 мкг/л Ni^{2+} уже через 24 часа опыта (Martínez-Ruiz, Martínez-Jeromo, 2015).

Заключение

Концентрации исследованных тяжелых металлов ингибируют рост *Prorocentrum poraminosum*, влияют на хлоропласт, что выражается в изменении его флуоресценции и изменяют метаболизм микроводоросли, что выражается в изменении ЗАФ.

ЗАФ *Prorocentrum foraminosum* изменялась в большей степени, чем флуоресценция хлоропласта и морфология клеток. В целом, ЗАФ не изменялась при наличии в среде Cd^{2+} , увеличивалась при добавлении Ni^{2+} , снижалась – Pb^{2+} . Таким образом, ЗАФ можно использовать не только в качестве таксономического маркера и оценки жизнеспособности динофлагеллят и диатомей, но и для экспресс-оценки токсичности веществ и качества вод.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 21-74-30004).

Список литературы

1. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2019. М: Наука, 2020. 230 с.
2. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2020. М: Наука, 2021. 281 с.
3. Селина М.С. Морфология и сезонная динамика потенциально токсичной микроводоросли *Prorocentrum foraminosum* Faust 1993 (Dinophyta) в заливе Петра Великого Японского моря // Биология моря. 2017. Т. 43, №3. С. 169–174. doi: 10.1134/S1063074017030099.
4. Ясакова О.Н. Сезонная динамика фитопланктона Новороссийской бухты в 2007 г. // Морской экологический журнал. 2013. Т. 12, №1. С. 92–102.
5. Carfagna S., Lanza N., Salbitani G., Basile A. Physiological and morphological responses of lead or cadmium exposed *Chlorella sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae) // SpringerPlus. 2013. Vol. 2 (1). P. 1–7. doi: 10.1186/2193-1801-2-147.
6. Cheng J., Qiu H., Chang Z. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris* // SpringerPlus. 2016. Vol. 5 (1). P. 1–8. doi: 10.1186/s40064-016-2963-1.
7. Chia M.A., Lombardi A.T., Maria da Graça G.M., Parrish C.C. Lipid composition of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiphyceae) as a function of different cadmium and phosphate concentrations // Aquatic toxicology. 2013. Vol. 128. P. 171–182. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.12.004.
8. Faust M.A. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from Twin Cays, Belize: *P. maculosum* sp. nov., *P. foraminosum* sp. nov. and *P. formosum* sp. nov. // Phycologia. 1993. Vol. 32 (6). P. 410–418. doi: 10.2216/i0031-8884-32-6-410.1.

9. Gan T., Zhao N., Yin G., Chen M. Optimal chlorophyll fluorescence parameter selection for rapid and sensitive detection of lead toxicity to marine microalgae *Nitzschia closterium* based on chlorophyll fluorescence technology // Journal of photochemistry and photobiology B: Biology. 2019. Vol. 197. 111551. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2019.111551.
10. 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 (7). P. 1578–1587. doi: 10.1002/etc.2949.
11. Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Canadian journal of microbiology. 1962. Vol. 8 (2). P. 229–239. doi: 10.1139/m62-029.
12. Huang X.G., Li S.X., Liu F.J. Regulated effects of *Prorocentrum donghaiense* Lu exudate on nickel bioavailability when cultured with different nitrogen sources // Chemosphere. 2018. Vol. 197. P. 57–64. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.01.014.
13. Kameneva P.A., Efimova K.V., Rybin V.G., Orlova T.Y. Detection of dinophysistoxin-1 in clonal culture of marine dinoflagellate *Prorocentrum foraminosum* (Faust MA, 1993) from the Sea of Japan // Toxins. 2015. Vol. 7 (10). P. 3947–3959. doi: 10.3390/toxins7103947.
14. 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 (11). P. 3873–3886. doi: 10.1002/lno.11925.
15. Liu D., Shi Y., Di B., Sun Q. The impact of different pollution sources on modern dinoflagellate cysts in Sishili Bay, Yellow Sea, China // Marine micropaleontology. 2012. Vol. 84. P. 1–13. doi: 10.1016/j.marmicro.2011.11.001.
16. Mallick N., Mohn F.H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus* // Ecotoxicology and environmental safety. 2003. Vol. 55 (1). P. 64–69. doi: 10.1016/S0147-6513(02)00122-7.
17. Masmoudi S., Nguyen-Deroche N., Caruso A. Cadmium, copper, sodium and zinc effects on diatoms: from heaven to hell – a review // Cryptogamie, Algologie. 2013. Vol. 34 (2). P. 185–225. doi: 10.7872/crya.v34.iss2.2013.185.
18. Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environmental chemistry letters. 2010. Vol. 8 (3). P. 199–216. doi: 10.1007/s10311-010-0297-8.
19. Shin H.H., Li Z., Mertens K.N., Seo M.H. *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. 101686 p. doi: 10.1016/j.hal.2019.101686.
20. Soyer M.O., Prevot P. Ultrastructural damage by cadmium in a marine dinoflagellate, *Prorocentrum micans* // The journal of protozoology. 1981. Vol. 28 (3). P. 308–313. doi: 10.1111/j.1550-7408.1981.tb02856.x.
21. Taş S., Okuş E. A review on the bloom dynamics of a harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum* in the Golden Horn Estuary // Turkish Journal of fisheries and aquatic sciences. 2011. Vol. 11 (4). P. 673–681. doi: 10.4194/1303-2712-v11_4_03.
22. Tang Y.Z., Dobbs F.C. Green autofluorescence in dinoflagellates, diatoms, and other microalgae and its implications for vital staining and morphological studies // Applied and environmental microbiology. 2007. Vol. 73 (7). P. 2306–2313. doi: 10.1128/AEM.01741-06.
23. Tang Y.Z., Shang L., Dobbs F.C. Measuring viability of dinoflagellate cysts and diatoms with stains to test the efficiency of facsimile treatments possibly applicable to ships' ballast water and sediment // Harmful Algae. 2022. Vol. 114. 102220. doi: 10.1007/s11802-020-4480-7.
24. Tato T., Beiras R. The use of the marine microalga *Tisochrysis lutea* (T-iso) in standard toxicity tests; comparative sensitivity with other test species // Frontiers in marine science. 2019. Vol. 6. 488 p. doi: 10.3389/fmars.2019.00488.
25. Wang H., Hu Z., Chai Z., Deng Y. Blooms of *Prorocentrum donghaiense* reduced the species diversity of dinoflagellate community // Acta oceanologica sinica. 2020. Vol. 39 (4). P. 110–119. doi: 10.1007/s13131-020-1585-1.
26. Weng H.X., Sun X.W., Weng J.K. Crucial roles of iron in the growth of *Prorocentrum micans* Ehrenberg (Dinophyceae) // Journal of coastal research. 2008. Vol. 24. P. 176–183. doi: 10.2112/06-0819.1.
27. Zamani-Ahmadm Mahmoodi R., Malekabadi M.B., Rahimi R. Aquatic pollution caused by mercury, lead, and cadmium affects cell growth and pigment content of marine microalga, *Nannochloropsis oculata* // Environmental monitoring and assessment. 2020. Vol. 192 (6). P. 1–11. doi: 10.1007/s10661-020-8222-5.

References

1. Kachestvo morskikh vod po gidrohimicheskim pokazatelyam Ezhegodnik 2019 [Sea water quality according to hydrochemical indicators. Annual collection 2019]. Moscow: Nauka, 2020. 230 p.
2. Kachestvo morskikh vod po gidrohimicheskim pokazatelyam Ezhegodnik 2020 [Sea water quality according to hydrochemical indicators. Annual collection 2020]. Moscow: Nauka, 2021. 281 p.
3. Selina M.S. Morfologiya i sezonnaya dinamika potencial'no toksichnoj mikrovodorosli *Prorocentrum foraminosum* Faust 1993 (Dinophyta) v zalive Petra Velikogo Yaponskogo morya [Morphology and seasonal dynamics of potentially toxic microalgae *Prorocentrum foraminosum* Faust 1993 (Dinophyta) in Peter the Great Bay of the Sea of Japan] // Biologiya morya [Russian Journal of marine biology]. 2017. Vol. 43, No 3. P. 169–174. doi: 10.1134/S1063074017030099.
4. Yasakova O.N. Sezonnaya dinamika fitoplanktona Novorossiyskoj buhty v 2007 godu [Seasonal dynamics of phytoplankton of Novorossiysk Bay in 2007] // Morskoj ekologicheskij zhurnal [Marine biological journal]. 2013. Vol. 12, No 1. P. 92–102.
5. Carfagna S., Lanza N., Salbitani G., Basile A. Physiological and morphological responses of lead or cadmium exposed *Chlorella sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae) // SpringerPlus. 2013. Vol. 2 (1). P. 1–7. doi: 10.1186/2193-1801-2-147.
6. Cheng J., Qiu H., Chang Z. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris* // SpringerPlus. 2016. Vol. 5 (1). P. 1–8. doi: 10.1186/s40064-016-2963-1.
7. Chia M.A., Lombardi A.T., Maria da Graça G.M., Parrish C.C. Lipid composition of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) as a function of different cadmium and phosphate concentrations // Aquatic toxicology. 2013. Vol. 128. P. 171–182. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.12.004.
8. Faust M.A. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from Twin Cays, Belize: *P. maculosum* sp. nov., *P. foraminosum* sp. nov. and *P. formosum* sp. nov. // Phycologia. 1993. Vol. 32 (6). P. 410–418. doi: 10.2216/i0031-8884-32-6-410.1.
9. Gan T., Zhao N., Yin G., Chen M. Optimal chlorophyll fluorescence parameter selection for rapid and sensitive detection of lead toxicity to marine microalgae *Nitzschia closterium* based on chlorophyll fluorescence technology // Journal of photochemistry and photobiology B: Biology. 2019. Vol. 197. 111551. doi:

10.1016/j.jphotobiol.2019.111551.

10. 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 (7). P. 1578–1587. doi: 10.1002/etc.2949.

11. Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Canadian journal of microbiology. 1962. Vol. 8 (2). P. 229–239. doi: 10.1139/m62-029.

12. Huang X.G., Li S.X., Liu F.J. Regulated effects of *Prorocentrum donghaiense* Lu exudate on nickel bioavailability when cultured with different nitrogen sources // Chemosphere. 2018. Vol. 197. P. 57–64. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.01.014.

13. Kamenewa P.A., Efimova K.V., Rybin V.G., Orlova T.Y. Detection of dinophysistoxin-1 in clonal culture of marine dinoflagellate *Prorocentrum foraminosum* (Faust MA, 1993) from the Sea of Japan // Toxins. 2015. Vol. 7 (10). P. 3947–3959. doi: 10.3390/toxins7103947.

14. 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 (11). P. 3873–3886. doi: 10.1002/lno.11925.

15. Liu D., Shi Y., Di B., Sun Q. The impact of different pollution sources on modern dinoflagellate cysts in Sishili Bay, Yellow Sea, China // Marine micropaleontology. 2012. Vol. 84. P. 1–13. doi: 10.1016/j.marmicro.2011.11.001.

16. Mallick N., Mohn F.H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus* // Ecotoxicology and environmental safety. 2003. Vol. 55 (1). P. 64–69. doi: 10.1016/S0147-6513(02)00122-7.

17. Masmoudi S., Nguyen-Deroche N., Caruso A. Cadmium, copper, sodium and zinc effects on diatoms: from heaven to hell – a review // Cryptogamie, Algologie. 2013. Vol. 34 (2). P. 185–225. doi: 10.7872/crya.v34.iss2.2013.185.

18. Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environmental chemistry letters. 2010. Vol. 8 (3). P. 199–216. doi: 10.1007/s10311-010-0297-8.

19. Shin H.H., Li Z., Mertens K.N., Seo M.H. *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. 101686 p. doi: 10.1016/j.hal.2019.101686.

20. Soyer M.O., Prevot P. Ultrastructural damage by cadmium in a marine dinoflagellate, *Prorocentrum micans* // The journal of protozoology. 1981. Vol. 28 (3). P. 308–313. doi: 10.1111/j.1550-7408.1981.tb02856.x.

21. Taş S., Okuş E. A review on the bloom dynamics of a harmful dinoflagellate *Prorocentrum minimum* in the Golden Horn Estuary // Turkish Journal of fisheries and aquatic sciences. 2011. Vol. 11 (4). P. 673–681. doi: 10.4194/1303-2712-v11_4_03.

22. Tang Y.Z., Dobbs F.C. Green autofluorescence in dinoflagellates, diatoms, and other microalgae and its implications for vital staining and morphological studies // Applied and environmental microbiology. 2007. Vol. 73 (7). P. 2306–2313. doi: 10.1128/AEM.01741-06.

23. Tang Y.Z., Shang L., Dobbs F.C. Measuring viability of dinoflagellate cysts and diatoms with stains to test the efficiency of facsimile treatments possibly applicable to ships' ballast water and sediment // Harmful Algae. 2022. Vol. 114. 102220. doi: 10.1007/s11802-020-4480-7.

24. Tato T., Beiras R. The use of the marine microalga *Tisochrysis lutea* (T-iso) in standard toxicity tests; comparative sensitivity with other test species // Frontiers in marine science. 2019. Vol. 6. 488 p. doi: 10.3389/fmars.2019.00488.

25. Wang H., Hu Z., Chai Z., Deng Y. Blooms of *Prorocentrum donghaiense* reduced the species diversity of dinoflagellate community // Acta oceanologica sinica. 2020. Vol. 39 (4). P. 110–119. doi: 10.1007/s13131-020-1585-1.

26. Weng H.X., Sun X.W., Weng J.K. Crucial roles of iron in the growth of *Prorocentrum micans* Ehrenberg (Dinophyceae) // Journal of coastal research. 2008. Vol. 24. P. 176–183. doi: 10.2112/06-0819.1.

27. Zamani-Ahmadm Mahmoodi R., Malekabadi M.B., Rahimi R. Aquatic pollution caused by mercury, lead, and cadmium affects cell growth and pigment content of marine microalga, *Nannochloropsis oculata* // Environmental monitoring and assessment. 2020. Vol. 192 (6). P. 1–11. doi: 10.1007/s10661-020-8222-5.

Markina Zh.V., Ognistaya A.V., Zinov A.A. Influence of heavy metals on the abundance dynamics and fluorescent characteristics of *Prorocentrum foraminosum* (Dinophyta).

The dynamics of the number, appearance of cells, fluorescence of chloroplast and green autofluorescence of cells (GAF) of dinoflagellate *Prorocentrum foraminosum* under the influence of heavy metals cadmium Cd^{2+} , nickel Ni^{2+} and lead Pb^{2+} in concentrations of 10 and 20 $\mu\text{g/l}$. It was shown that all heavy metals in the studied concentrations had an inhibitory effect on the number of cells: Cd^{2+} had the least effect. Morphologically, the cells did not change when exposed to Cd^{2+} , Pb^{2+} and when Ni^{2+} were added, cell deformation was noted. Chloroplast fluorescence changed when exposed to all metals except Cd^{2+} . In general, GAF did not change in the presence of Cd^{2+} in the medium, increased with the addition of Ni^{2+} , decreased with Pb^{2+} . We proposed to use GAF for express assessment of toxicity of substances and water quality.

Keywords: *Prorocentrum foraminosum*; heavy metals; the number of cells; chloroplast fluorescence; green fluorescence of dinoflagellates.

Раскрытие информации о конфликте интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов / Disclosure of conflict of interest information: The author claims no conflict of interest

Информация о статье / Information about the article

Поступила в редакцию / Entered the editorial office: 08.11.2022

Одобрено рецензентами / Approved by reviewers: 22.11.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 19.01.2023

Информация об авторах

Маркина Жанна Васильевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, 690041, Россия, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17, E-mail: zhannav@mail.ru.

Огнистая Альбина Васильевна, аспирант, Дальневосточный федеральный университет, 690091, Россия, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10, E-mail: alya_lokshina@mail.ru.

Зинов Антон Андреевич, аспирант, Дальневосточный федеральный университет, 690091, Россия, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10, E-mail: toni.zinov.95@mail.ru.

Information about the authors

Zhanna V. Markina, Ph.D. in Biology, Researcher, A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, 17, Palchevsky st., Vladivostok, 690041, Russia, E-mail: zhannav@mail.ru.

Albina V. Ognistaya, Postgraduate Student, Far Eastern Federal University, 10, Ajax village, Russian Island, Vladivostok, 690091, Russia, E-mail: alya_lokshina@mail.ru.

Anton A. Zinov, Postgraduate Student, Far Eastern Federal University, 10, Ajax village, Russian Island, Vladivostok, 690091, Russia, E-mail: toni.zinov.95@mail.ru.

