

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 574.34

**Токсическое влияние микрочастиц пластика
на культуру *Scenedesmus quadricauda*:
взаимодействие между микрочастицами пластика и водорослью****А.М. Лазарева^{1,*} , В.И. Ипатова¹ , О.В. Ильина¹ ,
Д.А. Тодоренко² , Д.Н. Маторин² , А.А. Байжуманов² **

¹Кафедра общей экологии и гидробиологии и ²кафедра биофизики, биологический факультет,
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
*e-mail: lazanna1998@mail.ru

В окружающей среде постоянно увеличивается количество частиц микропластика в результате распада пластиковых отходов, сжигание которых сопряжено с воздушными выбросами и концентрированием токсичных продуктов горения в зольных остатках. Изучению влияния микрочастиц пластика на живые объекты посвящено много работ, однако в литературе отсутствуют данные о его длительном токсическом действии, а также о действии продуктов сжигания пластика на фитопланктон. В настоящей работе исследовали влияние разных видов микрочастиц пластика и его золы на структурные и функциональные показатели роста культуры зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* в длительных экспериментах продолжительностью 21 сут. Развитие вида изучали при добавлении в культуральную среду в концентрации 3 мг/л пяти образцов микрочастиц пластика полученных из пластика, отобранного на супралиторали Баренцева моря, и одного интактного образца, а также золы в концентрациях 0,01, 0,1, 1, 10, 100 и 1000 мг/л. По показателю изменения численности клеток *S. quadricauda* получили следующий ряд токсичности в порядке ее убывания: PU (монтажная пена) > HDPE (полиэтилен низкого давления, белый) > HDPE (полиэтилен низкого давления, красный) > EPS (пенополистирол) > EPS (пенополистерол, интактный) > PP (полипропилен, канат). По показателю эффективности фотосинтеза (максимального квантового выхода фотосинтеза (F_V/F_M)) монтажная пена оказалась нетоксичной, а другие образцы оказывали слабое токсическое действие. Влияние микрочастиц пластика на культуру вызывало мозаичную ответную реакцию, оцениваемую по разным показателям состояния тест-объекта: сильное угнетение роста культуры (при добавлении монтажной пены) может сопровождаться значительным повышением содержания ТБК-активных продуктов (продуктов взаимодействия конечных продуктов перекисного окисления липидов с 2-тиобарбитуровой кислотой) в клетках, при этом величина эффективности фотосинтеза не меняется. Токсичность зольного остатка, полученного при сжигании смеси разных видов пластика, была значительно выше токсичности исследованных образцов микрочастиц пластика, и выявлена по показателю изменения численности клеток только при концентрации 1000 мг/л, по показателю эффективности фотосинтеза – при 0,01 мг/л, а по изменению количества ТБК-активных продуктов в клетках водоросли – при 0,1 мг/л и выше.

Ключевые слова: микропластик, зола от сжигания пластика, биотестирование, микроводоросли, *Scenedesmus quadricauda*, флуоресценция хлорофилла

Пластиковый мусор попадает в природные системы, где он подвергается механической фрагментации, химической (окислительной и термической) деградации и биоразложению, способствующих постепенному превращению объемных полимеров в микро- и наночастицы пластмассы [1, 2]. Микронные и наноразмерные частицы пластика быстро и широко распространяются в морской среде, легко переносятся в океаны и на морское дно через пищевые сети и процессы агрегации, оказывая не-

благоприятное влияние на экосистемы [3]. Кроме того, микрочастицы пластика (МП) могут использоваться в качестве транспортного средства для трансграничного переноса микробных видов [4], эффективно адсорбировать стойкие органические загрязнители и неорганические загрязнения из-за их уникальных свойств – высокой площади поверхности и пористости [5], и в конечном итоге оказывать неблагоприятное воздействие на все организмы водных экосистем. Тем не менее, о токсич-

ческом воздействии МП на микроводоросли, которые являются одними из самых важных первичных продуцентов водных экосистем, известно немного.

МП мало влияет на рост микроводорослей [6]. Микро- и, в особенности, наночастицы пластика могут вызывать как торможение роста [7, 8], так и его стимуляцию [9]. В большинстве случаев не удалось найти значения полуэффективной концентрации $ЭК_{50}$ для МП из-за высоких концентраций, необходимых для индукции значительной токсичности.

Присутствие МП приводит к снижению у водорослей содержания хлорофилла [7, 10] и фотосинтетической активности [10, 11] независимо от задержки роста [7] и эффекта затенения [10], что, возможно, связано с уменьшением экспрессии генов фотосинтеза [12], увеличением потребности клеток в энергии для подвижности и нарушением газообмена из-за поверхностной адсорбции МП [13]. Более того, МП может препятствовать фотосинтезу, нарушая работу электронодонорного сайта и реакционного центра фотосистемы II (ФСII), снижая скорость переноса электронов, что приводит к образованию активных форм кислорода и окислительному стрессу [11, 13]. МП может вызывать морфологические изменения у микроводорослей [11], интернализироваться во время деления их клеток [14] или путем захвата миксотрофными организмами [15]. Он может накапливаться и в экзополимерных веществах, уменьшая доступность света, меняя биодоступность углерода, а также увеличивает частоту и силу вредоносного цветения водорослей из-за их способности использовать МП в качестве субстрата для роста [9, 11]. Из данных литературы пока не понятно, как свойства МП и адаптивные реакции разных видов микроводорослей влияют на токсичность разных типов МП.

На токсичность МП влияют ряд факторов, в том числе их концентрация в окружающей среде, тип полимера, размер, наличие добавок, химический состав и заряд. Как правило, более мелкие и положительно заряженные МП более токсичны для микроводорослей [13, 16]. Адсорбция загрязняющих веществ МП также может усиливать их воздействие [7].

Современные уровни МП в окружающей среде не оказывают значительного воздействия на микроводоросли [17]. Большинство испытанных концентраций МП в экспериментах, описанных в литературе, в значительной степени превосходят те, которые встречаются в окружающей среде; тем не менее, многие из этих исследований не показывают значительного воздействия этих полимеров на водоросли.

Таким образом, в литературе имеется весьма немногочисленные и неоднозначные сведения о влиянии МП на микроводоросли, полученные в основном в краткосрочных испытаниях.

Промышленное или стихийное сжигание пластиковых отходов является альтернативой его захоронению, однако оно сопряжено с воздушными выбросами и концентрированием токсичных продуктов горения в зольных остатках. Мусоросжигание не является распространенной практикой в России, однако в удаленных регионах с ограниченными возможностями обращения с твердыми коммунальными отходами попадание в водную среду продуктов сжигания пластика вследствие стихийной утилизации либо случайных возгораний является крайне вероятным.

В литературе описано образование высокотоксичных соединений в составе воздушных выбросов и зольного остатка, формирующихся при сжигании пластиковых отходов [18, 19], однако практически отсутствуют исследования, направленные на оценку токсичности продуктов горения пластика для водных организмов.

В связи с этим целью настоящей работы было исследование влияния разных видов МП и его золы на развитие тест-объекта — культуры зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* — в длительных экспериментах.

Материалы и методы

Объект исследования. Тест-объектом исследования служила альгологически чистая культура зеленой хлорококковой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.).

Культуру выращивали на среде Успенского № 1 (состав, г/л: 0,025 KNO_3 ; 0,025 $MgSO_4$; 0,1 KH_2PO_4 ; 0,025 $Ca(NO_3)_2$; 0,0345 K_2CO_3 ; 0,002 $Fe_2(SO_4)_3$; pH 7,0–7,3) в люминостате при освещенности 3 клк со сменой дня и ночи (12:12 ч), температуре 22 ± 2 °C и перемешивании 2 раза в сут.

Развитие этого вида изучали в норме и при добавлении в среду в концентрации 3 мг/л пяти образцов МП, полученных из макрообразцов, отобранных на супралитерали Баренцева моря, и одного интактного образца, не подвергнувшегося атмосферному влиянию. Место отбора: Баренцево море, супралитераль (верхняя граница зимних штормов), материковая часть, напротив западной оконечности о. Кильдин. Дата отбора: 30.08.2020.

Виды исследуемых пластиков:

1. Expanded Polystyrene, EPS (материал — вспененный полистирол или пенополистирол). Происхождение — упаковочный пенопласт, собран на супралитерали. Размер частиц МП: $18,9 \pm 12,6$ мкм.

2. Polyurethane PU (материал — пенополиуретан). Происхождение — монтажная пена, собрана на супралитерали. Размер частиц МП: $76,7 \pm 18,9$ мкм.

3. High Density Polyethylene, HDPE, белый пищевой (материал — полиэтилен низкого давления, ПНД, или полиэтилен высокой плотности, ПВП). Происхождение — тара из-под молочных продук-

тов, собраны на супралиторали. Размер частиц МП: $208,3 \pm 72,3$ мкм.

4. HDPE красный пищевой. Происхождение – тара из-под пищевых продуктов, собрана на супралиторали. Размер частиц МП: 220 ± 74 мкм.

5. Polypropylene, PP (материал – полипропилен, ПП). Происхождение – судовой канат, собран на супралиторали. Диаметр волокон: $171,3 \pm 17,7$ мкм.

6. EPS интактный. Происхождение – упаковка от бытовой техники для лаборатории, атмосферному воздействию не подвергался. Год производства: 2019. Размер частиц МП: $130,2 \pm 35,9$ мкм.

Выбор концентрации 3 г/л образцов МП был обусловлен результатами предварительного опыта, показавшего отсутствие их токсичности для культуры *S. quadricauda* при 1 г/л.

Методы исследований. МП получали из макрообразцов, используя абразив и сито из нержавеющей стали с размером ячеек 300 мкм, затем микрочастицы пластика отделяли от остатков абразивного материала методом плотностной сепарации в дистиллированной воде и высушивали. Размеры частиц определяли на микрофотографиях с помощью программного обеспечения «КОМПАС-3D v14» (ЗАО «Аскон», Россия).

Действие золы, полученной при сжигании смеси МП, отобранных на супралиторали Баренцева моря, на культуру *S. quadricauda* оценивали в концентрациях 0,01, 0,1, 1, 10, 100 и 1000 мг/л. Зольный остаток получали при сжигании в печи типа Bullerjan (ЗАО «Лаотерм», Россия) при температуре около 400 °С смеси пластиков в соотношениях, близких к наблюдаемым на побережье Баренцева моря. Состав смеси пластиков для получения зольного остатка был следующим (массовая доля, %): PP (промышленная рыболовная сеть) – 24,2; PP (пленка пищевая) – 9,8; EPS крупнозернистый (пенопласт) – 6,1; EPS плотный (буй) – 14,4; PU (монтажная пена) – 2,4; LDPE (low density polyethylene; полиэтилен высокого давления, ПВД; пленка, пакеты) – 4,8; C/PAP (упаковка пищевая «тетрапак») – 4,6; HDPE (пищевые бутылки) – 8,4; HDPE (пленка, пакеты) – 2,8; HDPE (фрагменты канистры, ящиков и др. тары) – 22,5.

Опыты длительностью 21 сут проводили в конических колбах емкостью 100 мл, в которые добавляли 50 мл среды, в трех повторностях для каждого опытного образца МП, концентрации золы и контроля.

После добавления МП и золы в культуральную среду частицы EPS (интактный), EPS (пенополистирол), PU (монтажная пена), HDPE (белый), HDPE (красный) плавали на поверхности, частично оседали на дно колбы PP (полипропилен) и зола. А к концу эксперимента частично оседали все испытываемые материалы кроме EPS (интактный).

Основными структурными показателями для оценки состояния популяции служили изменение численности клеток (абсолютной и по сравнению

с контролем) в динамике ее развития. Численность клеток подсчитывали в камере Горяева под световым микроскопом.

Функциональное состояние клеток водоросли оценивали по флуоресценции хлорофилла, измеренной с помощью флуориметра AquaPen–C AP–C 100 (Photon System Instruments, Чехия). Флуоресценцию индуцировали красным светом с длиной волны 630 нм в течение 2 с при плотности потока квантов 3000 мкмоль фотонов·м⁻²·с⁻¹. Перед измерениями пробы адаптировали к темноте в течение 10 мин. Величины интенсивности флуоресценции при 50 мкс (F_0) и 300 мс (F_M) использовали для определения максимального квантового выхода фотосинтеза ФСП как $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ [20].

Содержание ТБК-активных продуктов (продуктов взаимодействия конечных продуктов перекисного окисления липидов с 2-тиобарбитуровой кислотой) определяли согласно Стюарту и Бьюли [21] с небольшими модификациями. К 200 мкл суспензии клеток водоросли добавляли 1 мл раствора 0,25%-ной тиобарбитуровой кислоты в 10%-ной трихлоруксусной кислоте. Полученные пробы инкубировали в течение 30 мин при температуре 95 °С на водяной бане, после чего пробирки охлаждали 5 мин при температуре 0 °С. Затем пробы центрифугировали в течение 15 мин при 8000 об./мин. Поглощение измеряли при 532 нм и 600 нм. Концентрацию ТБК-активных продуктов рассчитывали с учетом коэффициента молярной экстинкции 156 мМ⁻¹·см⁻¹.

Состав выбросов при сжигании смеси различных видов макропластика в печи определялся различными методами: свинец – методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-AES); CO и SO₂ – с помощью газоанализатора OPTIMA 7; хлористый водород (HCl) – турбидиметрическим методом; бенз[а]пирен – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

Статистическую обработку результатов проводили в программе STATISTICA Version 10 (StatSoft Inc., США). Данные в тексте и на рисунках представлены как «среднее ± доверительный интервал (2σ)». Нормальность распределения значений параметров оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Оценку статистической значимости различий контрольной и опытных выборок в экспериментах на водорослях проводили с использованием теста Стьюдента, считали различия значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В первой части работы были исследованы изменения различных параметров развития культуры на фоне действия МП. Все виды МП оказывали значимое влияние на рост культуры (рис. 1А). При этом значимое угнетение роста отмечено для

4 видов МП: для EPS (Баренцево море) на 30% на 3 сут, PU (монтажная пена) на 27–79% в течение всего опыта, HDPE (белый) на 41% на 3 сут, HDPE (красный) на 37% на 7 сут. А значимую стимуляцию наблюдали однократно для PP на 6% на 21 сут, для EPS (интактный) на 29% на 7 сут и для HDPE (белый) на 23–27% на 14 и 21 сут. В остальные сроки наблюдений численность клеток в присутствии шести видов МП находилась на уровне контроля.

Рост культуры при добавлении частиц МП каната находился на уровне контроля на протяжении всего хронического эксперимента длительностью 21 сут. А EPS (интактный) вызывал хотя и однократную, но довольно значительную и достоверную стимуляцию роста (на 29%), что может указывать на его слабую токсичность.

Таким образом, по показателю ингибирования роста водоросли самой токсичной оказалась монтажная пена PU, далее в порядке убывания токсичности были HDPE (белый), HDPE (красный) и EPS (Баренцево море). PP (канат) был нетоксичен.

Разницу в токсичности между пробой EPS, отобранной на супралиторали Баренцева моря, и EPS (интактный продукт) можно объяснить большей токсичностью первой пробы вследствие ее изменения в естественных условиях моря (окисление, адсорбция веществ). Продолжительная и значимая (в течение всего опыта) токсичность PU (монтажная пена) для исследуемого тест-объекта, вероятно, связана с высокой токсичностью ее органических компонентов и продуктов их окисления.

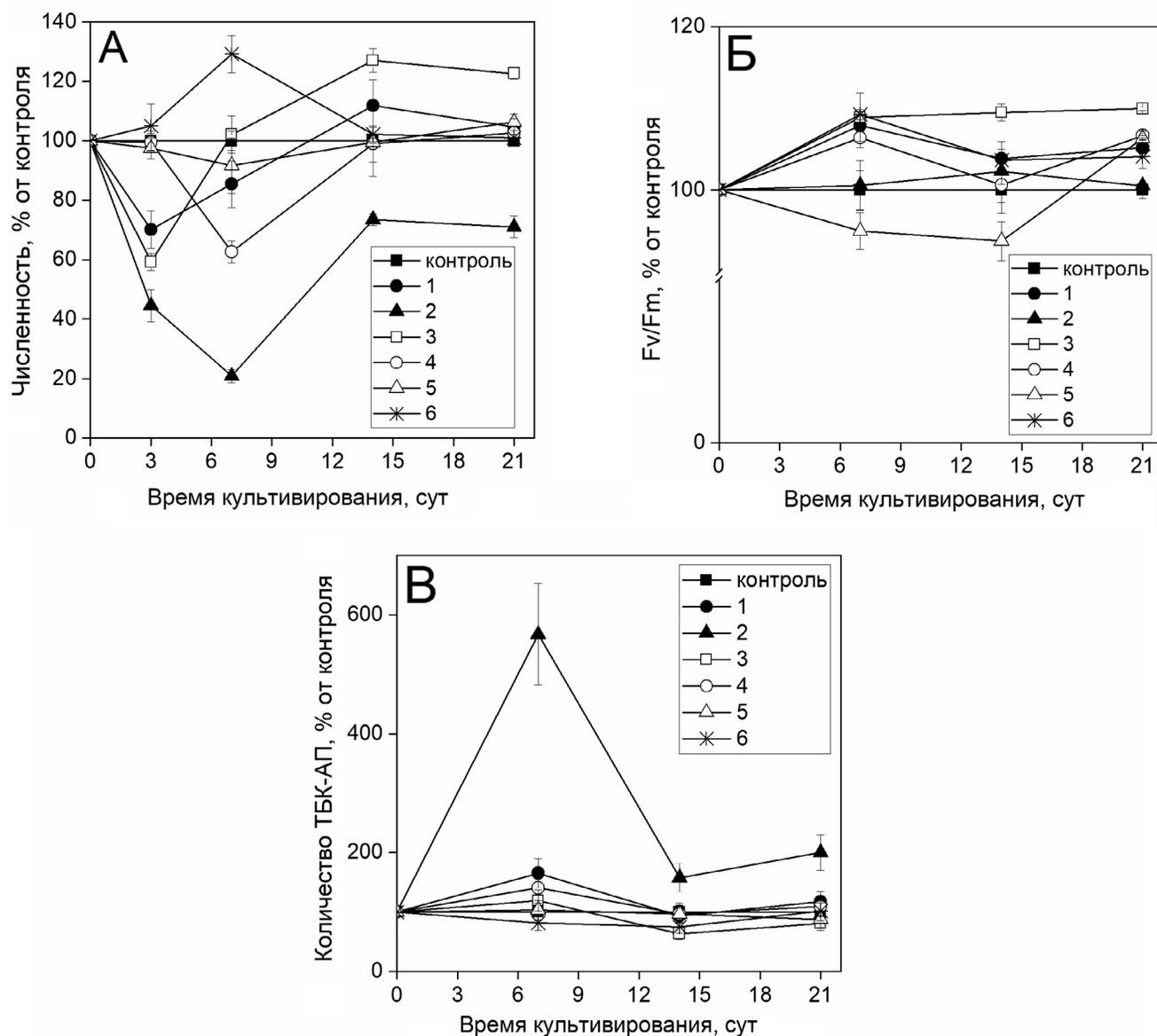


Рис. 1. Изменение численности клеток (А), максимального квантового выхода фотосинтеза ФСII (F_v/F_m) (Б) и количества ТБК-АП, % от контроля (В) *Scenedesmus quadricauda* (в % от контроля) в присутствии разных видов микропластика: 1 – EPS (Баренцево море); 2 – PU; 3 – HDPE белый; 4 – HDPE красный; 5 – PP; 6 – EPS (интактный).

Таким образом, по показателю изменения численности клеток *S. quadricauda* для пяти образцов МП, отобранных на супралиторали Баренцева моря, и одного интактного образца МП получили следующий ряд токсичности в порядке ее убывания:

PU > HDPE (белый) > HDPE (красный) > EPS > EPS (интактный) > PP.

В частицах МП могут содержаться токсичные химические вещества. Согласно литературным данным, химическая опасность пластикового загрязнения может быть связана как с компонентами, входящими в состав синтетических материалов [22], так и с токсичными соединениями, присутствующими в морской среде и сорбируемыми на поверхности пластиковых частиц [23]. К первой группе могут относиться мономеры, технологические добавки или побочные продукты производства, ко второй – стойкие органические загрязнители или тяжелые металлы. Токсичность МП зависит от размеров частиц, времени их пребывания в воде, характеристик биопленки, а также от химического состава частиц [24]. Так, полиэтилен, полипропилен и полистирол имеют достаточно высокие сорбционные свойства по ряду органических загрязнителей, при этом мономеры полиэтилена и полипропилена достаточно инертны по отношению к биологическим объектам [22], в то время как мономер полистирола – стирол – обладает острой токсичностью. Опасность монтажной пены связана, прежде всего, с выделением в окружающую среду высокотоксичных отвердителей – изоцианатов, присутствующих в ее составе. Возможно, токсическое действие исследованных нами образцов полиэтилена связано, в том числе, с сорбированными из воды соединениями, поскольку образцы пластика были собраны на акватории с интенсивным судоходством и соответствующей токсической нагрузкой в виде нефтепродуктов, горюче-смазочных материалов и др.

В настоящей работе в оценке токсичности исследуемых образцов МП были использованы не только структурные показатели состояния лабораторной популяции микроводоросли, но и функциональные показатели, характеризующие физиологическое состояние тест-объекта при токсическом воздействии.

Максимальный квантовый выход фотосинтеза ФСП (F_V/F_M) *S. quadricauda* при добавлении в культуральную среду исследуемых образцов МП на протяжении всего опыта изменялся незначительно – в пределах до 7% в сторону угнетения и до 10% в сторону стимуляции роста. Тем не менее, эти отличия оказались значимыми и носили продолжительный характер на протяжении всего опыта, что указывает на слабое токсическое действие большинства образцов на тест-культуру. Исключение составляла монтажная пена, в присутствии которой значения F_V/F_M были на уровне контроля (рис. 1Б).

Следовательно, все образцы МП, за исключением монтажной пены, оказывали слабое токсическое влияние на фотохимический квантовый выход – величину эффективности фотосинтеза (F_V/F_M). А монтажная пена по этому показателю оказалась нетоксичной.

Таким образом, вещества в составе монтажной пены вызывают продолжительное угнетение роста культуры и влияют на темп деления клеток, но величина эффективности фотосинтеза клеток остается в пределах нормы.

Окислительный стресс оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов в клетках, в состав которых входит ряд высокореакционных соединений, которые действуют на все компоненты клетки, включая ДНК, и приводят к дезорганизации мембранной структуры клеток.

Наблюдения за изменением количества ТБК-активных продуктов в клетках микроводоросли показали, что именно присутствие монтажной пены в среде культивирования приводит к образованию очень высокого уровня этих продуктов от 158 до 567% по отношению к контролю в течение всего опыта. В остальных случаях повышение было кратковременным (на 7 сут) для EPS (Баренцево море) и HDPE (красный) и величина этого показателя составляла соответственно 166 и 140% (рис. 1В).

Следовательно, влияние МП на культуру *S. quadricauda* носит неоднозначный характер и вызывает мозаичную ответную реакцию, оцениваемую по разным структурным и функциональным показателям состояния тест-объекта. А именно, сильное угнетение роста культуры может сопровождаться значительным повышением содержания ТБК-активных продуктов в клетках, при этом величина эффективности фотосинтеза не меняется.

Во второй части работы были исследованы изменения параметров развития культуры при действии зольного остатка, полученного от сжигания смеси макрочастиц пластика в весовых соотношениях, близких к наблюдаемым на супралиторали Баренцева моря. При всех концентрациях зольного остатка в широком интервале исследованных концентраций от 0,01 до 1000 мг/л значимого ингибирования роста тест-культуры обнаружено не было (рис. 2А). Значимая стимуляция на 16–19% отмечена только при самой высокой из всех концентраций 1000 мг/л на 14 и 21 сут. Такая стимуляция роста культуры может указывать на присутствие в золе компонентов, влияющих на темп деления клеток. Поэтому концентрации от 0,01 до 100 мг/л следует рассматривать как нетоксические, а концентрацию 1000 мг/л золы – как слабо-токсической.

Отсутствие выраженного токсического действия золы в интервале исследованных концентраций на изучаемую культуру по показателю численности клеток, по-видимому, связано с рядом причин. Во-первых, пластик на супралиторали

подвергается деградации и окислению. Это может приводить к образованию окисленных продуктов иной токсичности, чем у интактных, исходных образцов. Кроме того, при производстве пластиков используют токсичные добавки, такие как бисфенол А и фталаты, которые могли выделяться в окружающую среду в процессе деградации пластиков еще до их сжигания. Во-вторых, при сжигании пластика улетучиваются некоторые другие токсичные компоненты (например, диоксины и фураны). В-третьих, соотношение массовой доли разных видов пластика для получения золы показывает небольшой процент токсичной монтажной пены (2,4%), а большую часть пластикового мусора на супралитерали Баренцева моря составляет различная тара и рыболовные сети.

Изменение максимального квантового выхода фотосинтеза ФСII (F_V/F_M) *S. quadricauda* в присутствии разных концентраций золы было незначительным (рис. 2Б). Следует отметить, что при ма-

лых концентрациях золы 0,01–0,1 мг/л наблюдали значимое снижение этого показателя на 14%, при средних (1 и 10 мг/л) – только однократное (в одну из дат наблюдения) и более слабое значимое угнетение, а при высоких (100 и 1000 мг/л) – значимую стимуляцию на 18 %.

Обнаруженный нами эффект в литературе носит название «парадоксального», когда малые концентрации или уровни воздействия факторов оказывают большее негативное влияние, чем более высокие, и может проявляться при воздействиях различных факторов (металлы, антибиотики, ионизирующая радиация, пестициды и др.) [25–28].

По мнению разных авторов, в присутствии низких концентраций токсиканта в клетках его удерживается больше и меньше выводится из клеток, чем при более высоких концентрациях [28, 29]. Поскольку пластик в окружающей среде адсорбирует различные загрязняющие вещества и, в частности, токсичные металлы, то в золе могут

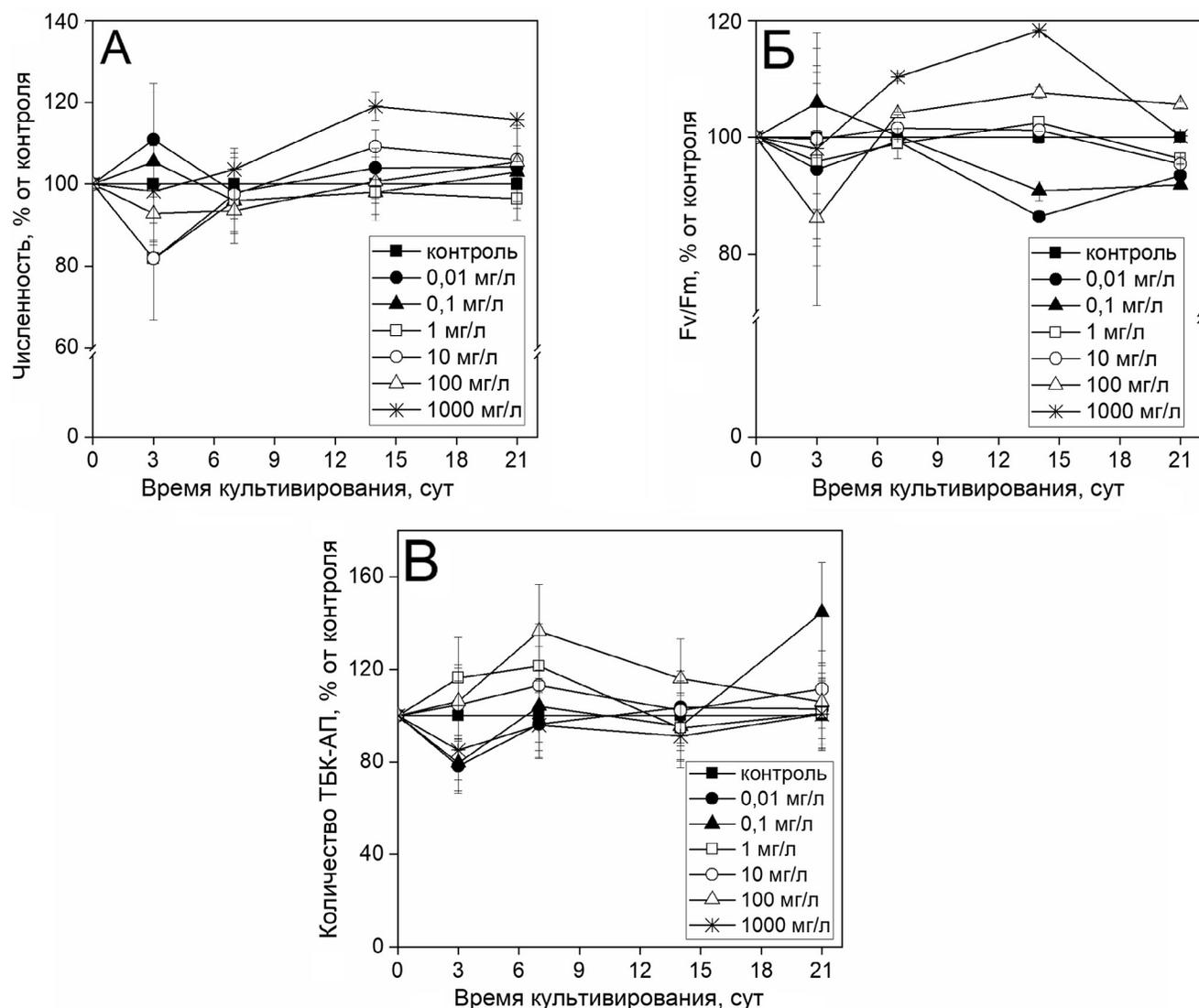


Рис. 2. Изменение численности клеток (А), максимального квантового выхода фотосинтеза ФСII (F_V/F_M) (Б) и количества ТБК-активных продуктов в клетках (В) *Scenedesmus quadricauda* (в % от контроля) в присутствии золы остатка смеси разных видов макропластика.

присутствовать их остаточные количества, которые затем накапливаются клетками и со временем могут вызывать токсический эффект. Поэтому угнетение эффективности фотосинтеза при добавках золы в концентрации 0,01 и 0,1 мг/л можно объяснить накопительным эффектом малых доз токсичных компонентов золы.

При сжигании разных видов пластика в составе золы часто обнаруживают – диоксины, бенз[а]-пирен и тяжелые металлы [18, 19]. Нами также были обнаружены в выбросах при сжигании в печи смеси исследованных видов пластика многие высокотоксичные летучие вещества, особенно бенз[а]-пирен ($0,74 \pm 0,19$ мкг/м³), СО (453 ± 32 ppm), SO₂ (77 ± 24 ppm), HCl ($4,39 \pm 1,10$ мг/м³), а также взвешенные вещества, в частности, тяжелый металл свинец ($0,091 \pm 0,023$ мг/м³).

Значительное увеличение количества ТБК-активных продуктов (более чем на 20% по сравнению с контролем) в клетках *S. quadricauda* в присутствии зольного остатка смеси разных видов пластика было выявлено однократно (только на один срок наблюдения) при концентрациях 0,1 мг/л (на 45% – на 21 сут), 1 мг/л (на 21% – на 7 сут) и 100 мг/л (на 37% – на 7 сут) золы (рис. 2В).

Таким образом, токсичность зольного остатка была выявлена по показателю изменения численности клеток только при максимальной испытанной концентрации в опыте (1000 мг/л), по показателю максимального квантового выхода фотосинтеза ФСII (F_v/F_m) – уже при минимальной (0,01 мг/л), а по изменению количества ТБК-активных продуктов в клетках – при 0,1 мг/л и выше.

Следовательно, зола была намного токсичнее исследованных видов МП, поскольку токсический эффект золы по показателю максимального квантового выхода фотосинтеза ФСII (F_v/F_m) обнаружен уже при 0,01 мг/л, по численности клеток – при 1 г/л, а для МП по разным показателям развития тест-культуры токсический эффект выявлен при 3 г/л.

Таким образом, наши исследования показали, что разные виды МП в концентрации 3 г/л негативно воздействуют на микроводоросли, подавляя рост, изменяя активность фотосинтеза и вызывая окислительный стресс в клетках. Сочетание разных структурных и функциональных показателей развития и состояния популяции клеток микроводоросли *S. quadricauda* в длительном эксперименте позволяет выявить токсический эффект золы, по-

лученной при сжигании смеси пластиков, при меньших токсических нагрузках и более адекватно давать оценку токсического действия исследуемого образца.

На основании анализа данных литературы можно заключить, что современные концентрации МП в окружающей водной среде, которые на несколько порядков ниже исследованных нами, по-видимому, не оказывают токсического действия на микроводоросли. Тем не менее, МП может нарушить популяцию микроводорослей за счет сокращения доступных питательных веществ, за счет подавления их первичных потребителей или выступая в качестве субстрата. Все эти изменения зависят от конкретных свойств МП, таких как тип полимера, размер и заряд поверхности, которые все еще недостаточно изучены. Даже небольшие изменения жизнедеятельности популяций микроводорослей как первичных продуцентов могут привести к серьезным нарушениям пищевой сети и последствиям для функционирования водных экосистем в целом.

Современные экспериментальные данные по токсичности МП не дают единого мнения в оценке их токсичности. Поэтому необходимы дальнейшие исследования самих свойств МП, их влияния на токсичность для микроводорослей, взаимодействия МП с другими веществами в окружающей среде, установление потенциальных основных механизмов их токсичности, а также выявления чувствительных видов водорослей и их адаптивных реакций, основанных на экологически значимых концентрациях.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова (темы: № 121032300131-9, № 121032500076-1) при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ имени М.В. Ломоносова «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология» и Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды», российского научного фонда (проект № 20-64-46018) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20-04-00465). Исследования проводили без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cau A., Avio C.G., Dessì C., Moccia D., Pusceddu A., Regoli F., Rita Cannas R., Follesa M.C. Benthic crustacean digestion can modulate the environmental fate of microplastics in the deep sea // Environ. Sci. Technol. 2020. Vol. 54. N 8. P. 4886–4892.

2. Debroas D., Mone A., Ter Halle A. Plastics in the North Atlantic garbage patch: a boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders // Sci. Total Environ. 2019. Vol. 599–600. P. 1222–1232.

3. Michels J., Stippkugel A., Lenz M., Wirtz K., Engel A. Rapid aggregation of biofilm-covered microplastics with

marine biogenic particles // Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci. 2018. Vol. 285. N 1885: 20181203.

4. Rosato A., Barone M., Negroni A., Brigidi P., Fava F., Xu P., Candela M., Zanaroli G. Microbial colonization of different microplastic types and biotransformation of sorbed PCBs by a marine anaerobic bacterial community // Sci. Total Environ. 2020. Vol. 705: 135790.

5. Alimi O.S., Farner Budarz J., Hernandez L.M., Tufenkji N. Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport // Environ. Sci. Technol. 2018. Vol. 52. N 4. P. 1704–1724.

6. Prata J.C., da Costa J.P., Lopes I., Duarte A.C., Rocha-Santos T. Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review // Sci. Total Environ. 2019. Vol. 665. P. 400–405.

7. Besseling E., Wang B., Lüring M., Koelmans A.A. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna* // Environ. Sci. Technol. 2014. Vol. 48. N 20. P. 12336–12343.

8. Bergami E., Pughalini S., Vannuccini M.L., Manfra L., Faleri C., Savorelli F., Dawson K.A., Corsi I. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana* // Aquat. Toxicol. 2017. Vol. 189. P. 159–169.

9. Yokota K., Waterfield H., Hastings C., Davidson E., Kwietniewski E., Wells B. Finding the missing piece of the aquatic plastic pollution puzzle: interaction between primary producers and microplastics // Limnol. Oceanogr. Lett. 2017. Vol. 2. N 4. P. 91–104.

10. Zhang C., Chen X., Wang J., Tan L. Toxic effects of microplastics on marine microalgae *Skeletonema costatum*: interactions between microplastics and algae // Environ. Pollut. 2017. Vol. 220. Pt. B. P. 1282–1288.

11. Mao Y., Ai H., Chen Y., Zhang Z., Zeng P., Kang L., Li W., Gu W., He Q., Li H. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: perspective from an entire growth period // Chemosphere. 2018. Vol. 208. P. 59–68.

12. Lagarde F., Oliver O., Zanella M., Daniel P., Hiard S., Caruso A. Microplastic interactions with freshwater microalgae: hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type // Environ. Pollut. 2016. Vol. 215. P. 331–339.

13. Bhattacharya P., Lin S., Turner J.P., Ke P.C. Physical adsorption of charges plastic nanoparticles affect algal photosynthesis // J. Phys. Chem. 2010. Vol. 114. N 39. P. 16556–16561.

14. Chae Y., Kim D., Kim S.W., An Y.J. Trophic transfer and individual impact of nanosized polystyrene in a four-species freshwater food chain // Sci. Rep. 2018. Vol. 8: 284.

15. Long M., Paul-Pont I., Hégaret H., Moriceau B., Lambert C., Huvet A., Soudant P. Interactions between polystyrene microplastics and marine phytoplankton lead to species-specific hetero-aggregation // Environ. Pollut. 2017. Vol. 228. P. 454–463.

16. Nolte T.M., Hartmann N.B., Kleijn J.M., Garnæs J., van de Meent D., Hendriks A.J., Baun A. The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption // Aquat. Toxicol. 2017. Vol. 183. P. 11–20.

17. Suaria G., Avio C.G., Mineo A., Lattin G.L., Magaldi M.G., Belmonte G., Moore C.J., Regoli R., Aliani S. The Mediterranean plastic soup: synthetic polymers in Mediterranean surface waters // Sci. Rep. 2016. Vol. 6: 37551.

18. Nakao T., Aozasa O., Ohta S., Miyata H. Formation of toxic chemicals including dioxin-related compounds by combustion from a small home waste incinerator // Chemosphere. 2006. Vol. 62. N 3. P. 459–468.

19. Valavanidis A., Iliopoulos N., Gotsis G., Fiotakis K. Persistent free radicals, heavy metals and PAHs generated in particulate soot emissions and residue ash from controlled combustion of common types of plastic // J. Hazard. Mater. 2008. Vol. 156. N 1–3. P. 277–284.

20. Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Srivasta A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient // Chlorophyll a fluorescence. Advances in photosynthesis and respiration, vol. 19 / Eds. G. Papageorgiou and R. Govindjee. Dordrecht: Springer, 2004. P. 321–362.

21. Stewart R.R.C., Bewley J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // Plant Physiol. 1980. Vol. 65. N 2. P. 245–248.

22. Lithner D., Larsson A., Dave G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition // Sci. Total Environ. 2011. Vol. 409. N 18. P. 3309–3324.

23. Ogata Y., Takada H., Mizukawa K., et al. International pellet watch: Global monitoring of persistent organic pollutants (POPs) in coastal waters. 1. Initial phase data on PCBs, DDTs, and HCHs // Mar. Pollut. Bull. 2009. Vol. 58. N 10. P. 1437–1446.

24. Rochman C.M. The complex mixture, fate and toxicity of chemicals associated with plastic debris in the marine environment // Marine anthropogenic litter / Eds. M. Bergmann, L. Gutow, and M. Klages. Springer, 2015. P. 117–140.

25. Prokhotskaya V.Yu., Veselovski V.A., Veselova T.V., Dmitrieva A.G., Artyukhova V.I. On the nature of the three-phase response of *Scenedesmus quadricauda* populations to the action of imazalil sulfate // Russ. J. Plant Physiol. 2000. Vol. 47. N 6. P. 772–778.

26. Подколзин А.А., Гуревич К.Г. Действие биологически активных веществ в малых дозах. М.: КМК, 2002. 170 с.

27. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцева Е.Л. Сверхслабые воздействия химических соединений и физических факторов на биологические системы // Биофизика. 2004. Т. 49. № 3. С. 551–564.

28. Дмитриева А.Г., Ипатова (Артюхова) В.И., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л., Желтухин Г.О., Крупица М.В. Реакция *Elodea canadensis* на загрязнение хромом среды обитания // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биол. 2006. № 2. С. 17–24.

29. Ипатова В.И., Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф., Дрозденко Т.В. О некоторых особенностях физиологической гетерогенности популяции *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. в присутствии низких концентраций металлов // Токсикол. вестн. 2018. № 2. С. 34–43.

Поступила в редакцию 15.06.2021

После доработки 04.09.2021

Принята в печать 12.10.2021

RESEARCH ARTICLE

Toxic effects of microplastics on culture *Scenedesmus quadricauda*: interactions between microplastics and algae**A.M. Lazareva^{1,*} , V.I. Ipatova¹ , O.V. Il'ina¹ ,
D.A. Todorenko² , D.N. Matorin² , A.A. Baizhumanov² **¹*Department of General Ecology and Hydrobiology and* ²*Department of Biophysics, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1–12, 119234, Moscow, Russia***e-mail: lazanna1998@mail.ru*

The number of microplastic particles (MPs) in the environment is constantly increasing as a result of the decay of plastic waste, the incineration of which is associated with air emissions and the concentration of toxic combustion products in ash residues. Although numerous researchers have studied the effects of MPs on living organisms, only a small part of the published data is devoted to the study of the long-term toxic effects of MPs and combustion products of plastic on phytoplankton organisms. The effect of different types of MPs and plastic incineration ash on the structural and functional growth parameters of a green microalga *Scenedesmus quadricauda* culture, used as a test object, was studied in a chronic experiment lasting 21 days. The development of the species was studied with the addition of 5 types of weathered MPs samples, obtained from macroplastics, collected in the supralittoral of the Barents Sea and one unweathered control sample at a concentration of 3 mg/L. In terms of changes in the number of *Scenedesmus quadricauda* cells, the following toxicity series was obtained in descending order: PU (polyurethane foam, weathered) > HDPE (food package, white, weathered) > HDPE (food package, red, weathered) > EPS (packaging material, weathered) > EPS (packaging material, unweathered) > PP (ship rope, weathered). In terms of the efficiency of photosynthesis (maximum quantum yield of PSII photochemistry (F_V/F_M)), polyurethane foam was found to be non-toxic, while other samples of MPs had a weak toxic effect. The effect of MPs on the culture caused a mosaic response, assessed by different parameters of the test object state: a strong inhibition of culture growth (with the addition of polyurethane foam) can be accompanied by a significant increase in thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in microalgal cells, while photosynthesis efficiency may not change. The toxicity of the residual ash obtained from the incineration of a mixture of weathered macroplastics was significantly higher than the toxicity of microplastics. Residual ash was studied at concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10, 100 and 1000 mg/L and the toxicity was detected in terms of the change in the cell number only at a concentration of 1000 mg/L, in terms of the photosynthesis efficiency – at 0.01 mg/L, and by the change in the amount of TBARS in microalgal cells – at 0.1 mg/L and above.

Keywords: *microplastic, plastic incineration ash, bioassay, microalgae, Scenedesmus quadricauda, chlorophyll fluorescence*

Funding: This study was performed under the state assignment of Moscow State University, project number 121032300131-9, project number 121032500076-1, and funded by Russian the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow State University «Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology», by Russian the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Moscow State University «The future of the planet and global environmental change», Russian Science Foundation, project number 20-64-46018 and Russian Foundation for Basic Research, project number 20-04-00465.

Сведения об авторах

Лазарева Анна Максимовна – аспирант кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: *lazanna1998@mail.ru*; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-5596-5593>

Ипатова Валентина Ивановна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: *ipatova@mail.bio.msu.ru*, *viipatova@hotmail.com*; ORCID <http://orcid.org/0000-0002-7035-6913>

Ильина Олеся Васильевна – инженер кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-27-91; e-mail: *ulesya@gmail.com*; ORCID <http://orcid.org/0000-0003-0273-7180>

Тодоренко Дарья Алексеевна – канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: *todorenko@mail.bio.msu.ru*, *dariatodor@mail.ru*; ORCID <http://orcid.org/0000-0002-7344-0256>

Маторин Дмитрий Николаевич – докт. биол. наук, проф. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: *matorin@biophys.msu.ru*, *dnmatorin@mail.ru*; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6164-5625>

Байжуманов Адиль Ануарович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биофизики биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-35-03; e-mail: *adilbayzhumanov@biophys.msu.ru*; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9737-4516>