

ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.632:581.52.325.3:504.054

**ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МАССОВЫХ ВИДОВ МОРСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ**

**В.И. Капков, О.А. Беленикина**

(кафедра гидробиологии)

Морским одноклеточным водорослям с высокой скоростью метаболических процессов принадлежит основная роль как в образовании первичной продукции, так и в способности концентрировать в клетках тяжелые металлы — загрязняющие вещества со множественными путями поступления в водные экосистемы. Опасность загрязнения среды тяжелыми металлами обусловлена их особенностью длительное время циркулировать в морских прибрежных экосистемах. Водоросли, накапливая в клетках тяжелые металлы, способствуют их аккумуляции организмами последующих звеньев трофических цепей, в том числе и промысловыми гидробионтами (Amiard et al., 1980).

Ответные реакции на присутствие в среде токсичных концентраций тяжелых металлов у разных видов водорослей заметно различаются. Устойчивые к металлам диатомовые водоросли были рекомендованы в качестве биоиндикаторов при оценке уровня загрязнения морских вод (Rijstenbeil et al., 1994; Капков, Беленикина, 2003).

На основании физико-химических свойств и ответных реакций водорослей был предложен ряд токсичности тяжелых металлов для фитопланктона, в котором химические элементы расположились в следующем порядке: Hg > Cu > Cd > Zn > Pb (Эйхенбергер, 1993). К настоящему времени большинство исследований токсичности тяжелых металлов проведено на пресноводных водорослях, культивируемых в лабораторных условиях. В этой связи изучение влияния наиболее опасных металлов на рост массовых видов водорослей как важнейшей составляющей природных фитоценозов, играющих определяющую роль в прибрежных морских экосистемах, представляется чрезвычайно актуальным. Выявление чувствительных и устойчивых к тяжелым металлам водорослей разных таксономических рангов необходимо также при использовании их в качестве биомаркеров загрязнения морских экосистем.

**Материалы и методы**

В эксперименте использовали массовые виды морских водорослей разных таксономических ран-

гов (таблица). Водоросли культивировали на специально подобранной среде, приготовленной на фильтрованной через мембранный фильтр 0,22 мкм морской воде следующего состава: морская вода с соленостью 35‰ — 900 мл; дистиллированная вода — 100 мл, в которую были добавлены следующие компоненты: KNO<sub>3</sub> — 200 мкМ; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O — 20 мкМ; Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>O — 120 мкМ; FeCl<sub>3</sub> · 3H<sub>2</sub>O — 4 мкМ; трис-НСI — 2 мМ; тиамин — 600 нМ; биотин — 1,6 нМ; В<sub>12</sub> — 0,55 нМ; рН 7,8. Во избежание преципитации оксидов железа и фосфатов растворы солей металлов ртути, кадмия, свинца и меди стерилизовали методом фильтрации и вносили спустя 24 ч после стандартной стерилизации основной среды (Berland et al., 1977). Исходные концентрации тяжелых металлов в морской воде,

**Морские водоросли, использованные в эксперименте**

Виды	Состояние культуры	Исходная плотность × 10 <sup>3</sup> кл/мл
<i>Porphyridium marinum</i> Kylin*	A	30
<i>Monochrysis lutheri</i> Droop**	A	11
<i>Pavlova pinguis</i> Green *	B	13
<i>Heterothrix</i> sp.*	A	8
<i>Monallanthus salina</i> Bourrelly*	A	25
<i>Chaetoceros didymus</i> Erhenberg*	B	3,3
<i>Cylindrotheca closterium</i> (Erh) Reiman et Lewin*	A	6,5
<i>Fragilaria pinnata</i> Erhenberg*	A	30
<i>Lauderia borealis</i> Gran*	B	1
<i>Phaeodactylum tricorutum</i> Bohlin*	A	60
<i>Skeletonema costatum</i> (Grev.) Cleve**	A	13
<i>Thalassiosira pseudonana</i> Hasle et Heimdal**	A	5
<i>Amphidinium carteri</i> Hulburt**	A	4
<i>Exuviaella mariae-lebouriae</i> Parke et Ballantine*	B	5
<i>Cryptomonas pseudobaltica</i> Butcher*	B	6
<i>Chlamydomonas palla</i> Butcher*	A	25
<i>Prasinocladus marinus</i> (Cienk.) Waern*	A	4
<i>Tetraselmis striata</i> Butcher***	A	10

*Примечания.* Культуры из коллекций: \* Station Marine d'Endoum (Marseille, France); \*\* Laboratory Fisheries and Marine Services of Environment (Vancouver, Canada); \*\*\* Haskins Laboratories (New Haven, USA). A — аксеничная; B — альгологически чистая.

использованной в эксперименте, не превышали 1/50 минимальных концентраций металлов, добавленных в питательную среду.

Эксперименты на токсичность металлов проводили в колбах из стекла "Ригех" емкостью 250 мл со 100 мл культуры водорослей с определенным оптимальным для роста количеством клеток в начале опыта при 20 ° и освещенности 1,5 мW/см<sup>2</sup> с суточным ритмом 14 ч света и 10 ч темноты. Испытанные концентрации тяжелых металлов составляли: 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100 и 250 мкг Hg/л; 10, 25, 50, 100, 250, 500 и 1000 мкг Cd/л; 10, 25, 50, 100, 250, 500 и 1000 мкг Cu/л; 100, 250, 500, 1000 и 2000 мкг Pb/л. Численность водорослевых клеток определяли в счетной камере Нажотта объемом 1/20 мл на 3, 6, 9, 12 и 15-е сутки опыта.

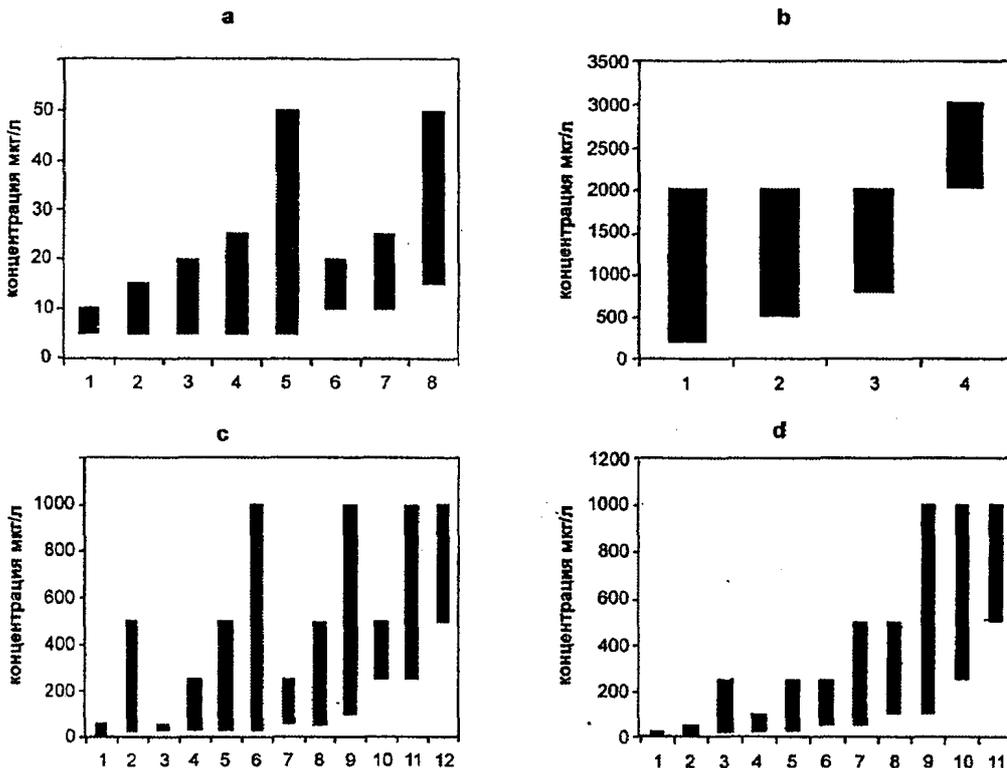
### Результаты и их обсуждение

Для массовых видов морских водорослей были определены пороговые и летальные концентрации наиболее опасных тяжелых металлов. Установ-

лены чувствительные и устойчивые виды водорослей к испытанным металлам. При этом все использованные в эксперименте водоросли оказались высокочувствительными к добавкам ртути и устойчивыми к добавкам свинца. Концентрации, равные или близкие к предельно допустимой концентрации ртути в морской воде, заметно угнетали рост численности водорослей. Токсическое действие испытанных металлов сопровождалось удлинением латентной фазы роста популяции за счет изменения скорости деления водорослевых клеток. Водорослями с чрезвычайно низкой пороговой и летальной концентрациями ртути оказались: диатомовые *Lauderia borealis* и *Thalassiosira pseudonana*, а также динофициевая *Exuviaella mariae-lebouriae*. При этом интервал между пороговой и летальной концентрациями у некоторых из них практически не превышал предельно допустимую концентрацию ртути в среде. Наиболее устойчивыми к добавкам ртути были хлорофитовые *Tetraselmis striata*, *Prasinocladus marinus* и ксантофициевая — *Heterothrix* sp. В то же время, ответные реакции водорослей,

близких в таксономическом отношении, на добавки металлов заметно отличались. Так, среди хлорофитовых водорослей *Tetraselmis striata* была более устойчивой к добавкам кадмия в среде по сравнению с *Chlamydomonas palla*. Аналогичная реакция наблюдалась у ксантофициевых водорослей: устойчивость к кадмию *Heterothrix* sp. была на порядок выше, чем у *Monallantus salina*.

Следует подчеркнуть, что устойчивость водоросли к одному металлу не обязательно предопределяет подобную реакцию на присутствие других тяжелых металлов. Так, рост культуры динофициевой водоросли *Exuviaella mariae-lebouriae* и родофитовой *Porphyridium marinum* полностью подавлялся в присутствии 20 и 50 мкг/л меди и лишь слегка тормозился в присутствии кадмия в концентрациях, на порядок выше указанных. С другой стороны, диатомовая водоросль высоко чувствительная к кадмию *Cylindrotheca closterium*, для которой пороговая доза практически



Интервалы между пороговыми и летальными концентрациями тяжелых металлов: а) Hg; б) Pb; в) Cd; д) Cu. По оси абсцисс — номера видов водорослей.

- а) 1 — *L. borealis*; 2 — *S. costatum*, *Th. pseudonana*, *E. mariae-lebouriae*; 3 — *P. pinguis*, *Ch. didymus*, *A. carteri*; 4 — *Ch. palla*, *M. lutheri*, *F. pinnata*, *Ph. tricorutum*, *M. salina*, *P. marinum*; 5 — *P. marinus*; 6 — *C. closterium*; 7 — *Heterothrix* sp., *C. pseudobaltica*; 8 — *T. striata*.
- б) 1 — *Th. pseudonana*, *A. carteri*, *P. marinum*; 2 — *Ch. palla*, *P. marinus*, *P. pinguis*; 3 — *T. striata*, *M. lutheri*, *Ch. didymus*, *Ph. tricorutum*, *S. costatum*, *C. pseudobaltica*, *E. mariae-lebouriae*; 4 — *F. pinnata*, *L. borealis*, *Heterothrix* sp., *M. salina*.
- в) 1 — *C. closterium*; 2 — *Th. pseudonana*; 3 — *Ch. didymus*; 4 — *A. carteri*; 5 — *Ch. palla*, *P. marinus*, *C. pseudobaltica*, *P. marinum*; 6 — *P. pinguis*; 7 — *F. pinnata*, *L. borealis*, *M. salina*, *E. mariae-lebouriae*; 8 — *M. lutheri*; 9 — *Ph. tricorutum*; 10 — *S. costatum*; 11 — *Heterothrix* sp.; 12 — *T. striata*.
- д) 1 — *E. mariae-lebouriae*; 2 — *P. marinum*; 3 — *Th. pseudonana*; 4 — *Ch. didymus*, *A. carteri*; 5 — *L. borealis*; 6 — *Ch. palla*, *P. marinus*; 7 — *T. striata*, *M. lutheri*, *S. costatum*, *C. pseudobaltica*; 8 — *C. closterium*; 9 — *M. salina*; 10 — *F. pinnata*; 11 — *P. pinguis*, *Ph. tricorutum*, *Heterothrix* sp.

равнялась предельно допустимой концентрации этого металла в среде, была устойчивой к добавкам в среду меди.

Из результатов, представленных на рисунке, следует, что пороговые концентрации некоторых металлов, ингибирующие рост водорослей, могут отличаться на 1–2 порядка и низким пороговым не всегда соответствуют низкие летальные дозы этих же металлов. Одними из наиболее чувствительных к испытанным металлам видов оказались центрическая диатомея *Thalassiosira pseudonana* и динофициевая *Exuviaella mariae-lebouriae*. Среди чувствительных к отдельным металлам встречались представители родофитовых *Porphyridium marinum*, диатомовых *Chaetoceros didymus* и динофитовых *Amphidinium carteri* водорослей. Это, как правило, были виды с большой удельной поверхностью и низкими величинами отношения объема к поверхности клеток. Таким образом, поверхность контакта водорослей со средой в значительной мере определяет токсичность тяжелых металлов. Среди толерантных к тяжелым металлам водорослей выявлены виды с низкой пороговой и относительно высокой летальной дозами, обладающие упругой устойчивостью и способные возвращаться к нормальному росту после перенесенного токсического стресса. По отношению к добавкам в среду ртути такими водорослями были *Prasinocladus marinus* и *Tetraselmis striata*, кадмия — *Thalassiosira pseudonana* и хризофициевая *Pavlova pinguis*, свинца — динофициевая *Amphidinium carteri* и родофитовая *Porphyridium marinum*, меди — хризофициевая *Monochrysis lutheri*, криптофициевая *Cryptomonas pseudobaltica* и диатомовая *Skeletonema costatum*. Другим толерантным видам с высокими пороговой и летальной дозами свойственна резистентная устойчивость — они способны в достаточно широких пределах концентрации тяжелых металлов поддерживать свой рост близким к контролю. Однако их доля среди исследованных водорослей оказалась незначительной, и среди них уже упоминавшиеся выше *Tetraselmis striata* и *Heterothrix* sp. и диатомея *Fragilaria pinnata*.

Ранее было установлено, что токсичность для водорослей тяжелых металлов обусловлена их накоплением в водорослевых клетках, поскольку поступление металла значительно превышает выведение токсических избытков в окружающую среду. При этом выведение токсичного металла водорослями не зависит от наличия его соединений в среде, что указывает на активный характер выделения. Однако основная часть аккумулированного металла прочно связывается в клетке и обнаруживается при экстракции во фракциях, содержащих белки и другие высокомолекулярные соединения

(Хоботьев и др., 1976). Токсичные металлы в водорослевых клетках связываются также низкомолекулярными белками, индуцируя их синтез de novo, что является, по-видимому, одним из существующих механизмов детоксикации тяжелых металлов в клетке. При этом на свету и в темноте процесс хелатирования металлов идет разными путями: в первом случае в клетке металл связывается образующимися фитохелатинами, во втором — металлотионеинами. Связывание накопленных избытков тяжелых металлов специфическими белками и последующее выведение их из клеток обуславливает толерантность водорослей к данным токсикантам. Тяжелые металлы не проявляют токсических свойств, если их концентрации не превышают способности фитохелатинов и металлотионеинов связывать их. Если же содержание металлов в водорослевых клетках превышает комплексообразующие возможности специфических белков, то тяжелые металлы блокируют ферментами и оказывают токсическое действие, блокируя ферментные системы клетки (Petering et al., 1990; Ahner, Morel, 1995; Vacchina et al., 1999).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при добавке в среду металлов-ксенобиотиков, таких как ртуть, свинец, кадмий и повышенных концентраций необходимого металла — меди, из-за различной толерантности к металлам рост разных видов водорослей существенно различается. В результате проведенных исследований установлены интервалы между пороговыми и летальными концентрациями наиболее опасных тяжелых металлов для массовых видов морских водорослей, а также выявлены водоросли с различной степенью устойчивости к испытанным металлам. Интервалы токсичности потенциально опасных металлов для водорослей разных таксономических рангов позволяют использовать соотношение чувствительных и устойчивых видов в качестве предиктов загрязнения морских вод при оценке состояния водорослевого сообщества. Сопоставляя установленные интервалы токсичности металлов с данными химического анализа среды, а также с видовым составом и долевым соотношением видов в фитопланктонном сообществе и располагая значения токсичных концентраций металлов на шкалах устойчивости водорослей, можно предсказывать характер изменения структуры сообщества в краткосрочных экологических прогнозах. При этом в качестве ключевых видов фитопланктона можно использовать как высокочувствительные водоросли, если уровень тяжелого металла в среде падает или сохраняется постоянным, так и устойчивые виды, если концентрация металла обнаруживает тенденцию к росту.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Капков В.И., Беленикина О.А. 2003. Биомаркеры загрязнения морских экосистем тяжелыми металлами // Водные экосистемы и организмы. Т. 6. М. С. 68–69.
- Хоботьев В.Г., Капков В.И., Рухадзе Е.Г., Турунина Н.В., Шидловская Н.А. 1976. Накопление водорослями меди из медьсодержащих соединений и влияние этого процесса на солевой обмен // Гидробиол. журн. 12. Вып. 6. 40–46.
- Эйхенбергер З.Э. 1993. Взаимосвязь между необходимостью и токсичностью металлов в водных экосистемах // Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Под ред. Х. Зигель, А. Зигель. М. С. 62–87.
- Ahner В., Morel F. 1995. Phytochelating production in marine algae. 2. Induction by various metals // Limnol. and Oceanograph. 40. N 4. 658–666.
- Amiard J.-C., Amiard-Triquet C., Meyer J., Ferre R. 1980. Etude du transfert de Cd, Pb, Cu et Zn dans les chaînes trophiques néretiques et estuariennes // Water Res. 14. 665–673.
- Berland B.R., Bonin D.J., Guerin-Ancey O.J., Kapkov V.I., Arlhac D.P. 1977. Action de métaux lourds à doses sublétales sur les caractéristiques de la croissance chez la diatomée *Skeletonema costatum* // Marine Biology. 42. 17–30.
- Petering D., Goodrich M., Hodgman W., Krezoski S., Weber D., Shaw C., Spieker R., Zettergen L. 1990. Metal-binding proteins and peptides the detection of heavy metals in aquatic organisms // Biomarkers of environmental contamination / Eds. J. McCarthy, L. Shugart. New York. P. 239–254.
- Rijstenbeil J.W., Derksen J.W., Gerinda L.J., Pootriviet T.C., Sandee A., Berg M., van der Drie J., van Wynholds J.A. 1994. Oxidative stress, induced by copper: defence and damages in the marine planktonic diatom grow in continuous culture with high low zinc levels // Marine Biology. 119. 583–590.
- Vacchina V., Chassaigne H., Oven V., Zenk M., Lobinski R. 1999. Characterization and determination of phytochelatin in plant extracts by electrospray tandem mass spectrometry // Analyst. 124. 1425–1430.

Поступила в редакцию  
12.03.05

#### THE INVESTIGATION OF MARINE ALGAE DOMINANT SPECIES RESISTANCE TO HEAVY METALS

*V.I. Kapkov, O.A. Belenikina*

Threshold and lethal concentration of Hg, Cd, Pb and Cu had been evaluated for dominant species of marine micro-algae. Algae with high specific surface are the most sensitive to the metal action. There are resilience species surviving at long range between low threshold and high lethal level of metal and conserving growth after toxic stress. Resistance species could survive at high threshold and high lethal metal concentration. The ratio of sensitive and resistant micro-algae to heavy metals can be used for marine water quality monitoring.