

УДК 574.632:581.52.325.3:504.054

В. И. Капков, Е. В. Шошина, О. А. Беленикина

Использование морских одноклеточных водорослей в биологическом мониторинге

Исследовалась возможность использования морских одноклеточных водорослей из природного планктонного сообщества в биомониторинге загрязнения моря тяжелыми металлами. Водоросли разных таксонов из залива Средиземного моря были выделены в культуру. В лаборатории были подобраны условия культивирования: состав питательной среды, температура, фотопериод, освещенность и начальная плотность культуры, обеспечивающие оптимальный рост водорослей каждого вида. В модельных экспериментах по использованию водорослей в качестве тест-объекта исследовали влияние тяжелых металлов (Hg, Cd, Cu, Pb) – ртути, кадмия, меди и свинца в форме хлористых солей – на культуры водорослей. Преимущество использования одноклеточных водорослей с коротким жизненным циклом при биотестировании состоит в возможности получения информации об экологических последствиях влияния антропогенного фактора на клеточном и популяционном уровнях развития тест-объекта. При проведении биомониторинга загрязнения морской среды тяжелыми металлами и другими опасными токсикантами важными показателями состояния водорослевого сообщества являются клеточный цикл и состояние фотосинтетического аппарата клетки. Последующий лизис клеток под действием тяжелых металлов приводит к выделению в среду вторичных метаболитов, которые могут существенно влиять на токсичность металла. Установленные шкалы пороговых и летальных концентраций тяжелых металлов для водорослей разных таксонов позволяют использовать соотношение чувствительных и устойчивых к тяжелым металлам видов в качестве биологических маркеров при прогнозировании экологических последствий загрязнения морской среды тяжелыми металлами. Различия в устойчивости водорослей разных таксонов к тяжелым металлам позволяют осуществлять стратегию отбора тест-объектов в зависимости от целей и задач исследования.

Ключевые слова: морские одноклеточные водоросли, условия культивирования, биотестирование, биологический мониторинг, тяжелые металлы.

Введение

При проведении биологического мониторинга состояния морских экосистем широкое распространение получили методы биологического тестирования с использованием лабораторных культур одноклеточных водорослей. В водных экосистемах планктонные водоросли являются не только основными первичными продуцентами органического вещества, но и могут служить биологическими индикаторами функционирования фитопланктонного сообщества при загрязнении водной среды. Преимущество использования одноклеточных водорослей состоит в том, что они имеют короткий жизненный цикл, это позволяет оценивать экологические последствия воздействия антропогенного фактора в ряду поколений как на клеточном, так и на популяционном уровнях организации сообщества. Поскольку разные виды морских водорослей обладают различной резистентной устойчивостью ко многим загрязняющим веществам водной среды, включая тяжелые металлы, то при осуществлении биологического тестирования предлагается использовать широкий таксономический спектр водорослей. К сожалению, до последнего времени в экспериментах по биологическому тестированию в основном использовались пресноводные зеленые хлорококковые водоросли, традиционно культивируемые в лабораторных условиях. Морские планктонные водоросли в качестве объекта при тестировании загрязнения среды, за исключением диатомовых водорослей, используются значительно реже [1–4].

Целью работы явилось исследование возможности использования морских одноклеточных водорослей, выделенных из природного планктонного сообщества, в биомониторинге загрязнения моря тяжелыми металлами. В задачи исследования входило: выделение из фитопланктонного сообщества водорослей разных систематических групп в лабораторные культуры; подбор унифицированной питательной среды и условий культивирования водорослей; определение устойчивости водорослей разных таксонов к тяжелым металлам в модельных опытах.

Выбор тест-объекта при биологическом тестировании составляет одну из важнейших задач при проведении биотестирования и мониторинга загрязнения окружающей среды. При разработке стандартных условий тестирования с использованием водорослей тест-объект должен удовлетворять нескольким основным требованиям. Водоросли должны быть эврибионтными, широко представленными в планктонном сообществе определенной экосистемы. Они должны легко культивироваться в лабораторных условиях на стандартных средах, обеспечивая константный и однообразный рост культуры. Тестируемые водоросли должны иметь в цикле развития покаяющиеся стадии – споры, сохраняя при этом активный рост без образования цист. Для целей тестирования лучше подходят одноклеточные водоросли, выделенные из природного планктона исследуемой экосистемы, идентифицированные до вида и размножающиеся преимущественно путем бинарного деления в синхронно развивающейся культуре.

В течение ряда лет авторами были проведены экспериментальные исследования по подбору условий культивирования морских одноклеточных водорослей различных таксономических групп с последующим использованием их в качестве тест-объекта при изучении ответных реакций на загрязнение водной среды тяжелыми металлами.

Материалы и методы

В работе использовали культуры одноклеточных морских водорослей разных таксономических рангов из коллекции Морской станции (Station Marine d'Endoume, Marseille, France), выделенные из Марсельского залива Средиземного моря. Водоросли культивировали на специально подобранной среде, обеспечивающей оптимальный рост каждого вида в лабораторных условиях. При подборе среды для тестирования исходили из условий максимального приближения ее состава к природной воде, минимизируя при этом комбинацию и концентрации химических соединений, вносимых в морскую воду, предварительно отфильтрованную через мембранный фильтр 0,22 мкм.

Опыты проводили в стеклянных колбах емкостью 250 мл со 100 мл культуры водорослей при температуре 18–20 °С с заранее установленной исходной численностью клеток, обеспечивающей оптимальный рост каждого вида водорослей. Выбранные начальные численности водорослей обеспечивали хорошую сходимость измеряемых параметров при тестировании, включая определение фотосинтетических пигментов.

Водоросли культивировали при освещенности 1,5 мВт/см² при фотопериоде 14 : 10 (свет : темнота). Численность клеток водорослей определяли в счетной камере Нажотта объемом 1/20 мл, просчитывая не менее 1500 клеток в каждой пробе. Биомассу водорослей определяли расчетным методом геометрического подобия, измеряя линейные размеры клеток и рассчитывая их объем, принимая 1 мкм³ равным 1 пг [5].

Концентрацию пигментов в клетках определяли спектрографическим методом. Пробы фильтровали через мембранные фильтры GC-50, предварительно пропустив сквозь него 5 мл суспензии углекислого магния для предотвращения деградации хлорофилла "а". Пигменты экстрагировали 90%-м водным раствором ацетона при 4 °С в условиях затемнения после разрушения клеток в стеклянном гомогенизаторе. Содержание феофитина "а" определяли по изменению оптической плотности вытяжки пигментов при 430, 665 и 750 нм, добавляя в кювету 0,1 мл 0,1 N HCl непосредственно после того, как в пробе была измерена концентрация хлорофилла "а" [6].

Соли тяжелых металлов (ртути, кадмия, меди, свинца) во избежание преципитации фосфатов и солей железа стерилизовали методом фильтрации и вносили после стандартной стерилизации основной среды в начале фазы экспоненциального роста культуры водорослей. Скрининг токсичности тяжелых металлов для водорослей проводили в концентрациях 1–2000 мкг/л (с интервалом 2,5 мкг/л – от 5 до 25 мкг/л, с интервалом 25 мкг/л – от 25 до 100 мкг/л, с интервалом 100 мкг/л – от 100 до 500 мкг/л, с интервалом 250 мкг/л – от 1000 до 2000 мкг/л).

Результаты и обсуждение

В предварительных опытах был подобран оптимальный вариант питательной среды, на которой хорошо росли морские водоросли разных таксонов: диатомовые, ксантофициевые, криптофициевые, хризофициевые и одноклеточные красные водоросли.

Была установлена также начальная плотность в интервале $(5–30) \times 10^3$ кл/мл для разных по объему клеток водорослей. При такой стартовой плотности культуры водорослей деление клеток происходило через регулярные интервалы и составляло 1,5–1,6 делений в сутки. При увеличении начальной плотности культуры происходил резкий рост численности, повышалось содержание деривата хлорофилла "а" – феофитина в составе фотосинтетических пигментов, а также возрастало число деградированных клеток и выделение в среду вторичных метаболитов. Последнее оказалось нежелательным при тестировании токсичности тяжелых металлов, поскольку могло привести к искажению получаемых данных в результате связывания металлов в комплексы.

В итоге были найдены оптимальные условия для морских одноклеточных водорослей, выделенных из планктонного сообщества и выращиваемых в лаборатории в условиях аксеничных культур на обогащенной биогенными элементами унифицированной среде, включая начальную плотность, освещенность, фотопериод и температуру культивирования (табл. 1).

Эксперименты с тяжелыми металлами выявили различную устойчивость водорослей к определенному металлу, не только относящихся к разным отделам, но и к видам одной и той же таксономической группы. Причем устойчивость водоросли к действию одного из тяжелых металлов, как было установлено, не предопределяет толерантность к другим испытанным металлам. Так, среди пяти видов диатомовых, наиболее массово представленных в морском планктоне, токсическое действие испытанных металлов различалось иногда на два порядка. Наиболее токсичной для водорослей оказалась ртуть, которая в концентрациях 5–10 мкг/л ингибировала рост культуры, который выражался в удлинении лаг-фазы роста, снижении содержания хлорофилла и скорости деления клеток. Высокая чувствительность к воздействию кадмия, как оказалось, свойственна диатомовой водоросли *Cylindrotheca clostertium*, а к соли меди другой

диатомеи – *Chaetoceros didymus*. Среди зеленых водорослей наиболее устойчивой к испытанным тяжелым металлам была *Prasinocladus marinus*, в то время как другая зеленая водоросль – *Chlamydomonas palla* – оказалась более чувствительной к наличию в среде металлов (табл. 2). Различия в устойчивости водорослей разных таксономических групп обусловлены разными механизмами действия тяжелых металлов как в зависимости от их концентрации в среде, так и особенностями метаболизма и морфологией водорослевых клеток. Ранее было показано, что отклики водорослевых клеток на добавки в среду летальных и сублетальных концентраций тяжелых металлов существенно различаются. Внесение в среду высоких доз тяжелого металла вызывает мгновенную гибель клеток, затушевывая тонкие механизмы токсичности и ответные реакции водорослей, включая нарушение проницаемости клеточных мембран, сопровождающееся выходом ионов K^+ из клеток; нарушение клеточного цикла в результате блокировки их деления; появление в культуре клеток с измененной морфологией; снижение содержания хлорофилла "а" на фоне увеличения доли феофитина в клетках; аккумуляции металла водорослями в результате связывания МТ-белками и фитохелатинами и т. д. [4; 7; 8].

Таблица 1. Состав экспериментальной унифицированной среды
Table 1. Composition of the experimental unified medium

Морская вода	900 мл
KNO_3	200 μM
$Na_2HPO_4 \times H_2O$	20 μM
$Na_2SiO_3 \times 9H_2O$	120 μM
$FeCl_3 \times 3H_2O$	4 μM
TRIS	2 μM
Thiamine	600 нмоль
Biotine	1,6 нмоль
B_{12}	0,55 нмоль
pH	7,8
Соленость	35 ‰

Таблица 2. Пороговые и летальные концентрации тяжелых металлов в мкг/л металла для культур морских водорослей

Table 2. Threshold and lethal concentrations of heavy metals ($\mu g/l$) for cultures of marine algae

Водоросли	Металлы (мкг/л)			
	$HgCl_2$	$CdCl_2$	$CuCl_2$	$PbCl_2$
<i>Chlamydomonas palla</i>	$\frac{5-25}{15^*}$	$\frac{25-500}{200}$	$\frac{50-150}{100}$	$\frac{500-2000}{1000}$
<i>Prasinocladus marinus</i>	$\frac{10-50}{25}$	$\frac{50 \geq 500}{> 250}$	$\frac{50 \geq 250}{150}$	$\frac{500 \geq 2000}{> 1000}$
<i>Pavlova pinguis</i>	$\frac{5-20}{10}$	$\frac{25 \geq 100}{50}$	$\frac{250 \geq 500}{> 250}$	$\frac{500 \geq 2000}{1000}$
<i>Chaetoceros didymus</i>	$\frac{5-20}{15}$	$\frac{50 \geq 100}{\gg 75}$	$\frac{25 \geq 50}{> 25}$	$\frac{1000 \geq 2000}{\gg 1000}$
<i>Cylindrotheca closterium</i>	$\frac{10-20}{7,5}$	$\frac{5-50}{25}$	$\frac{100 \geq 500}{250}$	$\gg \gg 2000$
<i>Fragilaria pinnata</i>	$\frac{5-25}{15}$	$\frac{50 \geq 250}{100}$	$\frac{250 \geq 1000}{500}$	$\gg \gg 2000$
<i>Lauderia borealis</i>	$\frac{5-10}{> 5}$	$\frac{50 \geq 250}{100}$	$\frac{25 \geq 150}{< 100}$	$\frac{500-1000}{\ll 750}$
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	$\frac{5-25}{15}$	$\frac{100 \geq 1000}{500}$	$\frac{500 \geq 1000}{< 1000}$	$\frac{1000 \geq 2000}{\gg 1000}$
<i>Monallanthus salina</i>	$\frac{5-25}{10}$	$\frac{50-250}{100}$	$\frac{100-1000}{500}$	$\gg \gg 2000$
<i>Cryptomonas pseudobaltica</i>	$\frac{10-25}{12,5}$	$\frac{25-500}{100}$	$\frac{50-500}{250}$	$\frac{1000 \geq 2000}{\gg 1000}$
<i>Exuviaella mariae-lebouriae</i>	$\frac{5-15}{7,5}$	$\frac{50-250}{100}$	$\frac{10-20}{15}$	$\frac{1000-2000}{> 1000}$
<i>Porphyridium marinum</i>	$\frac{5-25}{15}$	$\frac{25 \geq 500}{250}$	$\frac{10-50}{25}$	$\frac{250-1000}{> 500}$

Примечание. * – в знаменателе дана концентрация металла, ингибирующая рост культуры на 50 % по сравнению с контролем.

Разная устойчивость водорослей к одному и тому же металлу делает необходимым использование набора видов при оценке последствий загрязнения среды тяжелыми металлами, поскольку в составе каждой таксономической группы встречаются виды, обладающие разной резистентной устойчивостью, которая обеспечивает сохранение их в планктонном сообществе в условиях антропогенного пресса. Стресс-толерантность, по-видимому, является генетически закрепленным свойством и частью общей устойчивости водорослей, выделенных ранее в культуру из морского фитопланктона. Ответные реакции водорослей на добавки в среду солей тяжелых металлов в сублетальных концентрациях, как уже отмечалось, сопровождались резким падением скорости деления водорослевых клеток. Нарушение скорости деления клеток, возможно, связанное с ингибированием ферментных систем клетки, регулирующих процесс митоза, приводило к снижению численности популяции водорослей в присутствии тяжелых металлов. Ранее было показано, что тяжелые металлы с высокой цитотоксичностью ингибируют клеточный цикл на стадии G2-M, в течение которой в клетках происходят интенсивные процессы биосинтеза [9].

Следствием нарушения клеточного цикла у водорослей под действием тяжелых металлов являются морфологические изменения клеток, которые наиболее отчетливо проявляются у диатомовых водорослей. Специфический способ деления диатомовых водорослей, при котором одна из дочерних клеток оказывается меньше другой, приводит к изменению размера клеток внутри популяции. Переход от мелких по объему клеток к нормальным осуществляется посредством аукоспор в результате полового размножения диатомовых водорослей. Наличие в среде тяжелых металлов приводит к более существенному изменению размера клеток в популяции диатомовых водорослей. Ранее в опытах с диатомеей *Skeletonema costatum* было показано, что культура в присутствии тяжелых металлов представляет собой гетерогенную размерную популяцию, в которой размеры клеток различаются в результате уменьшения объема при добавках меди и появления "гигантских" клеток в среде с ртутью и кадмием [1].

Морфологическое изменение клеток в присутствии сублетальных концентраций тяжелых металлов является важным информативным показателем состояния культуры, свидетельствующим о блокировании механизма клеточного деления, который сопровождается увеличением времени генерации водорослей. Установлено также, что водоросли с высокой удельной поверхностью клеток (S/V) более чувствительны к действию солей тяжелых металлов, поскольку имеют больший контакт со средой, содержащей токсичный металл. Было установлено, что клетки, образующие цепочки, неодинаково реагируют на токсичный металл. Морфологические изменения характерны для крайних клеток в колонии и цепочке водорослей [7].

Токсическое действие тяжелых металлов сопровождалось снижением содержания фотосинтетических пигментов в клетках водорослей. Особенно существенно уменьшалось содержание хлорофилла "а" при внесении в среду солей ртути и меди даже при некотором росте численности водорослевых клеток. При этом падение содержания хлорофилла происходило на фоне роста количества его неактивной формы – феофитина "а", концентрация которого в присутствии тяжелых металлов уже на 2–3 сутки опыта достигала 50 %, в то время как у контрольных водорослей доля феофитина "а" заметно возрастала лишь во время стационарной фазы роста.

Показатели состояния и функционирования фотосинтетического аппарата оказываются наиболее значимыми в оценке степени повреждения водорослевой клетки. Причем главной системой, защищающей фотосинтетические пигменты от деструкции, является сам процесс фотосинтеза. Поэтому процессы деградации основного фотосинтетического пигмента – хлорофилла "а" – начинаются только после ингибирования фотосинтеза. Нарушение процесса фотосинтеза, которое выражается в полном блокировании фотосинтетической электронно-транспортной цепи, создает условия для протекания деградации пигментов. Ингибирование высокотоксичными тяжелыми металлами фотосинтетического аппарата клетки и окислительное разрушение хлорофилла приводят в итоге к гибели водорослевых клеток [10; 11].

По результатам иерархического кластерного анализа можно с достаточной степенью достоверности считать, что виды водорослей обладают сходной ответной реакцией на тяжелые металлы. Данные, приведенные в табл. 3, показывают, что в одни кластеры группировались экологически близкие виды, относящиеся как к одинаковым, так и разным таксономическим рангам. Сопоставление данных по пороговым и летальным концентрациям тяжелых металлов с результатами кластерного анализа свидетельствует о том, что среди испытанных водорослей встречаются виды, обладающие как резистентной, так и упругой устойчивостью к тяжелым металлам. Скрининг наиболее опасных тяжелых металлов в отношении водорослей разных таксонов позволяет получать данные, которые способствуют лучшему пониманию наблюдаемых в фитопланктонном сообществе антропогенных сукцессий в условиях загрязнения среды [12].

В предыдущих экспериментах *in situ*, в которых изучалось влияние тяжелых металлов на морской фитопланктон, элиминация чувствительных видов диатомовых водорослей приводила к смене доминирующих видов и нарушению структуры планктонного сообщества. Фитопланктон в опытных контейнерах до добавок в среду отдельных тяжелых металлов и их комбинаций был представлен 33 видами водорослей, среди которых диатомовые составляли более 80 %. Структурными доминантами были *Navicula sp.*, *Ditylum brightwellii* и *Chaetoceros constrictus*. После добавки в среду солей кадмия и меди уже на 2–3 сутки опыта

преимущество в росте получила С-стратег *Thalassionema nitzschioides* с высокой скоростью увеличения численности популяции и способностью к гетеротрофному питанию [8].

Таблица 3. Виды водорослей со сходной устойчивостью к действию тяжелых металлов
Table 3. Species of marine algae with similar stability to action of heavy metals

Металл	Водоросли с низкой пороговой и летальной дозами	Водоросли с высокой пороговой и летальной дозами
Ртуть (HgCl ₂)	<i>Lauderia borealis</i> <i>Pavlova pinguis</i> <i>Exuviaella mariae-lebouriae</i>	<i>Prasinocladus marinus</i> <i>Cryptomonas pseudobaltica</i>
Кадмий (CdCl ₂)	<i>Cylindrotheca closterium</i> <i>Chaetoceros didymus</i> <i>Pavlova pinguis</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Prasinocladus marinus</i>
Свинец (PbCl ₂)	<i>Porphyridium marinum</i> <i>Chlamydomona palla</i> <i>Pavlova pinguis</i>	<i>Fragilaria pinnata</i> <i>Cylindrotheca closterium</i> <i>Monallantus salina</i>
Медь (CuCl ₂)	<i>Exuviaella mariae-lebouriae</i> <i>Porphyridium marinum</i> <i>Chaetoceros didymus</i> <i>Lauderia borealis</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Fragilaria pinnata</i> <i>Pavlova pinguis</i> <i>Monallantus salina</i> <i>Cylindrotheca closterium</i>

Формирование структуры фитопланктона в водных экосистемах осуществляется посредством выделяемых водорослями метаболитов, регулирующих численность собственной популяции и партнеров по сообществу. Регуляция численности посредством первичных и вторичных метаболитов водорослей является основным механизмом, контролирующим развитие популяций и их сукцессии в планктонном сообществе [13]. Выделяемые планктонными водорослями первичные и вторичные метаболиты изменяют условия существования отдельных видов и в условиях смешанных лабораторных культур. Известно, что фильтраты культуры диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* ингибировали как собственный рост, так и деление клеток другой диатомеи – *Thalassiosira caspica*, стимулируя при этом развитие *Chaetoceros curvisetus* [14].

Заключение

При проведении биологического мониторинга загрязнения морской среды тяжелыми металлами и другими опасными токсикантами необходимы как полевые, так и лабораторные исследования с использованием одноклеточных планктонных водорослей разных таксонов в качестве тест-объекта. При этом важнейшими показателями состояния водорослевого сообщества являются клеточный цикл и состояние фотосинтетического аппарата клетки. Последующий лизис клеток под действием тяжелых металлов приводит к выделению в среду вторичных метаболитов, которые могут существенно влиять на токсичность металла. Можно полагать, что выделенные из планктонного сообщества водоросли в лабораторных условиях монокультуры сохраняют механизмы регуляции численности собственной популяции. Гибель водорослевых клеток под действием тяжелых металлов резко увеличивает содержание в среде вторичных метаболитов, которые, по-видимому, являются триггером в запуске и формировании своеобразной "цепной" реакции деградации водорослевых клеток в опытных сосудах.

Таким образом, установленные шкалы пороговых и летальных концентраций тяжелых металлов для водорослей разных таксонов позволяют использовать соотношение чувствительных и устойчивых к тяжелым металлам видов в качестве биологических маркеров при прогнозировании экологических последствий загрязнения морской среды тяжелыми металлами. Различия в устойчивости водорослей разных таксонов к тяжелым металлам позволяют осуществлять стратегию отбора тест-объектов в зависимости от целей и задач исследования, учитывая тот факт, что результаты биотестирования лишь дополняют эксперименты, которые используются в прогнозах экологического состояния морского планктонного сообщества.

Библиографический список

1. Berland B., Bonin D., Maestrini S., Guerin-Ancey O., Kapkov V., Arlhac D. Action de metaux lourds a doses subletales sur les caracteristiques de la croissance chez la diatomee *Skeletonema costatum* // Marine Biology. 1977. N 42. P. 17–30.
2. Boyle T. P. The effect of environmental contaminations on aquatic algae / Algae as ecological indicators // L. T. Shubert (Ed.). London : Academic Press, 1984. P. 237–256.
3. Rijstenbiel J., Derksen J., Gerrinda L., Pootriet T., Sandee A., Berg M., Drie J., Wynholds J. Oxidative stress induced by cooper: defense and damage in the marine planctonic diatomea grow in continuous culture with high low zinc levels // Marine Biology. 1994. V. 119, N 4. P. 583–589.

4. Капков В. И., Беленикина О. А. Исследование устойчивости массовых видов морских водорослей к тяжелым металлам // Вестник Московского ун-та. Сер. 16. Биология. 2007. № 1. С. 35–38.
5. Радченко И. Г., Капков В. И., Федоров В. Д. Практическое руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона. М. : Изд-во "Мордвинцев", 2010. 60 с.
6. Федоров В. Д., Капков В. И. Руководство по гидробиологическому контролю качества природных вод. М. : Изд-во МГУ, 2000. 120 с.
7. Капков В. И. Водоросли как биомаркеры загрязнения тяжелыми металлами морских прибрежных экосистем : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2003. 48 с.
8. Kapkov V. I., Belenikina O. A., Fedorov V. D. Effect of heavy metals on marine phytoplankton // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2011. V. 66, N 1. P. 32–36.
9. Yamamoto A., Kohyama A., Hanawa T. Effect of metal on cell cycle // Metal Ions in Biology and Medicine / L. Khassanova, P. Collery (Eds.). Paris : John Libbey Eurotext, 2002. V. 7. P. 127–131.
10. Погосян С. И. Состояние растительных организмов в природных условиях и окислительное повреждение фотосинтетического аппарата : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2003. 56 с.
11. Pinto E., Sigaud-Kunter T., Leitao M., Okanuto O., More D., Colepicalo P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae // J. Phycol. 2003. V. 39, N 6. P. 1008–1018.
12. Jeneau P., Dewez D., Matsui S., Kim S.-G., Popovich R. Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by RAM-fluorometry // Chemosphere. 2001. V. 45. P. 589–598.
13. Винберг Г. Г. Особенности водных экологических систем // Журнал общей биологии. 1967. Т. 28, № 5. С. 538–545.
14. Федоров В. Д., Кафар-Заде Л. Исследование регуляторного действия метаболитов (фильтратов) водорослей на природный планктон // Человек и биосфера. М. : Изд-во МГУ, 1978. Вып. 2. С. 172–198.

References

1. Berland B., Bonin D., Maestrini S., Guerin-Ancey O., Kapkov V., Arlhac D. Action de metaux lourds a doses subletales sur les caracteristiques de la croissance chez la diatomee *Skeletonema costatum* // Marine Biology. 1977. N 42. P. 17–30.
2. Boyle T. P. The effect of environmental contaminations on aquatic algae / Algae as ecological indicators // L. T. Shubert (Ed.). London : Academic Press, 1984. P. 237–256.
3. Rijstenbiel J., Derksen J., Gerrinda L., Pootriiet T., Sandee A., Berg M., Drie J., Wynholds J. Oxidative stress induced by cooper: defense and damage in the marine planctonic diatomea grow in continuous culture with high low zinc levels // Marine Biology. 1994. V. 119, N 4. P. 583–589.
4. Kapkov V. I., Belenikina O. A. Issledovanie ustoychivosti massovykh vidov morskikh vodorosley k tyazhelym metallam [Research of stability of mass species of marine algae to heavy metals] // Vestnik Moskovskogo un-ta. Ser. 16. Biologiya. 2007. N 1. P. 35–38.
5. Radchenko I. G., Kapkov V. I., Fedorov V. D. Prakticheskoe rukovodstvo po sboru i analizu prob morskogo fitoplanktona [Practical manual on collection and the analysis of samples of marine phytoplankton]. M. : Izd-vo "Mordvintsev", 2010. 60 p.
6. Fedorov V. D., Kapkov V. I. Rukovodstvo po gidrobiologicheskomu kontrolyu kachestva prirodnykh vod [Guide on hydrobiological control of quality of natural water]. M. : Izd-vo MGU, 2000. 120 p.
7. Kapkov V. I. Vodorosli kak biomarkery zagryazneniya tyazhelymi metallami morskikh pribrezhnykh ekosistem [Seaweed as biomarkers of marine coastal ecosystem pollution by heavy metals] : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. M., 2003. 48 p.
8. Kapkov V. I., Belenikina O. A., Fedorov V. D. Effect of heavy metals on marine phytoplankton // Moscow University Biological Sciences Bulletin. 2011. V. 66, N 1. P. 32–36.
9. Yamamoto A., Kohyama A., Hanawa T. Effect of metal on cell cycle // Metal Ions in Biology and Medicine / L. Khassanova, P. Collery (Eds.). Paris : John Libbey Eurotext, 2002. V. 7. P. 127–131.
10. Pogosyan S. I. Sostoyanie rastitelnykh organizmov v prirodnykh usloviyah i okislitelnoe povrezhdenie fotosinteticheskogo apparata [State of plant organisms in nature condition and oxidizing damage of the photosynthetic apparatus]: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. M., 2003. 56 p.
11. Pinto E., Sigaud-Kunter T., Leitao M., Okanuto O., More D., Colepicalo P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae // J. Phycol. 2003. V. 39, N 6. P. 1008–1018.
12. Jeneau P., Dewez D., Matsui S., Kim S.-G., Popovich R. Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by RAM-fluorometry // Chemosphere. 2001. V. 45. P. 589–598.
13. Vinberg G. G. Osobennosti vodnykh ekologicheskikh sistem [Peculiarities of water ecological systems] // Zhurnal obschey biologii. 1967. V. 28, N 5. P. 538–545.
14. Fedorov V. D., Kafar-Zade L. Issledovanie regul'yatornogo deystviya metabolitov (filtratov) vodorosley na prirodnyi plankton [Research of regulatory action of metabolites (filtrates) of algae on a natural plankton] // Chelovek i biosfera. M. : Izd-vo MGU, 1978. Vyp. 2. P. 172–198.

Сведения об авторах

Капков Валентин Иванович – Ленинские горы, 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991;
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, д-р биол. наук, профессор;
e-mail: chelena45@mail.ru

Kapkov V. I. – 1/12, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991; M. V. Lomonosov Moscow State University,
Dr of Biol. Sci., Professor; e-mail: chelena45@mail.ru

Шошина Елена Васильевна – ул. Спортивная, 13, г. Мурманск, Россия, 183010; Мурманский
государственный технический университет, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой;
e-mail: shoshinaev@mstu.edu.ru

Shoshina E. V. – 13, Sportivnaya Str., Murmansk, Russia, 183010; Murmansk State Technical University,
Dr of Biol. Sci., Professor, Head of Department; e-mail: shoshinaev@mstu.edu.ru

Беленикина Ольга Алексеевна – Ленинские горы, 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991;
Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, канд. биол. наук, науч. сотрудник

Belenikina O. A. – 1/12, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991; M. V. Lomonosov Moscow State
University, Cand. of Biol. Sci., Researcher

V. I. Kapkov, E. V. Shoshina, O. A. Belenikina

Using the marine unicellular algae in biological monitoring

The possibility of using marine unicellular algae from natural plankton community in biomonitoring of pollution by heavy metals has been investigated. Algae of different taxa from the Mediterranean Sea have been allocated to culture. In the laboratory the culture conditions – i. e. growth medium, temperature, photoperiod, level of artificial light and initial density – have been selected for every species. The impact of heavy metals (Hg, Cd, Cu, Pb) in the form of chloride salts on the growth of axenic algae culture has been studied in the modelling experiments. The unicellular marine algae have a very short life cycle, therefore it is possible to use them in the experiments of studying the effect of anthropogenic factors at cellular and population levels on the test-object. With biomonitoring pollution of marine environment by heavy metals and others dangerous toxicants, the major indicators of algae community condition are the cellular cycle and the condition of the photosynthetic apparatus of the cell. The subsequent lysis of cells under the influence of heavy metals leads to the excretion of secondary metabolites which can essentially affect the metal toxicity. The established scales of threshold and lethal concentration of heavy metals for algae of different taxon make it possible to use the ratio of sensitive and resistant species to heavy metals as biological markers when forecasting ecological consequences of pollution of the marine environment by heavy metals. Distinctions in the resistance of different taxon to heavy metals can result in implementing the strategy of selection of test-objects depending on the purposes of the research.

Key words: marine unicellular algae, cultivation conditions, biotesting, biological monitoring, heavy metals.