

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

УДК 581.1

РОСТ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ
Heterosigma akashiwo (Raphidophyceae) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ КАДМИЯ,
СВИНЦА И НИКЕЛЯ

© 2023 г. Ж. В. Маркина^{а, *}, А. В. Огнистая^{а, б}

^а Федеральное государственное бюджетное учреждение науки “Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского” Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

^б Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования “Дальневосточный федеральный университет”, Владивосток, Россия

*e-mail: zhannav@mail.ru

Поступила в редакцию 30.03.2023 г.

После доработки 03.05.2023 г.

Принята к публикации 03.05.2023 г.

Оценено действие тяжелых металлов — кадмия, свинца и никеля на рост и физиологическое состояние рафидофитовой водоросли *Heterosigma akashiwo* MBRU_HAK-SR11 (Y.Nada) Y.Nada ex Y.Nara, M.Chihara в течение 7 суток опыта. Выявлено, что кадмий и никель в концентрациях 10 и 20 мкг/л стимулировали рост *H. akashiwo*, а свинец при данных концентрациях — ингибировал. Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов при добавлении 10 мкг/л кадмия и 20 мкг/л никеля увеличивалось, при добавлении 20 мкг/л кадмия содержание каротиноидов было выше такового в контроле. При внесении свинца наблюдалось повышение уровня хлорофилла *a* и уменьшение содержания каротиноидов. Содержание АФК увеличивалось при внесении кадмия и свинца, а при внесении никеля снижалось. Кадмий оказал действие на продукцию нейтральных липидов: их содержание повышалось, а к концу опыта снижалось. Никель стимулировал накопление нейтральных липидов *H. akashiwo*, а свинец никак не влиял на их содержание. Наименьшее влияние металлы оказали на прямое и боковое светорассеяние и флуоресценцию хлорофилла *a*. Отсутствие выраженных изменений прямого и бокового светорассеяния косвенно свидетельствуют о том, что морфологически клетки водоросли не изменялись при токсическом воздействии. Таким образом, кадмий, свинец и никель в концентрациях 10–20 мкг/л изменяли физиологические процессы у водоросли.

Ключевые слова: *Heterosigma akashiwo*, фотосинтетические пигменты, хлорофилл *a*, каротиноиды, флуоресценция хлорофилла *a*, активные формы кислорода, нейтральные липиды, кадмий, свинец, никель

DOI: 10.31857/S0015330323600298, EDN: ONEXCE

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение тяжелыми металлами постоянно возрастает в связи с увеличением площадей сельскохозяйственных угодий и промышленного производства. Также данные токсиканты присутствуют в окружающей среде благодаря естественным процессам, например, вулканизму, выветриванию и эрозии почв [1].

Большинство тяжелых металлов в определенных количествах необходимы для нормальной жизнедеятельности растений, например, никель (Ni). Однако, такие как кадмий (Cd) и свинец (Pb) являются неэссенциальными элементами, вызывающими негативные изменения у растений, прежде всего за счет продуцирования актив-

ных форм кислорода (АФК) и отрицательного влияния на активность ферментов [1, 2].

Никель играет важную роль в функционировании Ni-содержащего фермента уреазы и Ni-супероксиддисмутазы. Большинство представителей морского фитопланктона использует уреазу для гидролиза мочевины до аммония и диоксида углерода. По этой причине при недостатке никеля рост микроводорослей ингибируется [3].

Одноклеточные водоросли, как основа трофических цепей и основной источник кислорода в водных экосистемах, вызывают закономерный интерес в экотоксикологическом плане у исследователей [2–5]. Большинство работ по действию тяжелых металлов в ионной форме на микроводоросли ограничивается представителями отдела Chlorophyta [4, 6–9]. В тоже время представители рафидофитовых водорослей остаются слабоизучен-

Сокращения: БС — боковое светорассеяние, НЛ — нейтральные липиды, ПС — прямое светорассеяние.

ными [10, 11]. Одним из часто встречающихся видов рафидофитовых является *Heterosigma akashiwo*, вызывающий вредоносные “цветения”, что приводит к массовой гибели рыб и беспозвоночных [12, 13].

Традиционно оценку действия токсических веществ на микроводоросли проводят по изменению численности клеток, их размера и формы, так как это интегральные показатели, отражающие происходящие в организмах водорослей процессы [9, 14]. Пристальное внимание исследователей к воздействию тяжелых металлов на фотосинтетический аппарат связано с тем, что хлоропласты ответственны за многие процессы в растительной клетке [15]. В качестве параметров оценки состояния фотосинтетического аппарата используют содержание пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) и флуоресценцию хлорофилла *a* [14, 16]. При неблагоприятных воздействиях на живой организм возрастает содержание АФК, в связи с чем этот показатель часто контролируют в экотоксикологических исследованиях [17]. Также для оценки стрессового воздействия при неблагоприятных воздействиях на организм водорослей изучают содержание в микроводорослях нейтральных липидов (НЛ) [18, 19].

Цель работы — оценка действия кадмия, свинца и никеля на численность клеток, их размер и внутреннюю структуру, фотосинтетический аппарат, содержание АФК и НЛ у микроводоросли *H. akashiwo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектом исследования служила культура одноклеточной водоросли *Heterosigma akashiwo* MBRU_HAK-SR11 (Y.Hada) Y. Hada ex Y. Hara, M. Chihara (Raphidophyceae), предоставленная Центром коллективного пользования “Морской биобанк” Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (<http://marbank.dvo.ru>).

Условия проведения экспериментов. Водоросли выращивали на среде *f* [20], приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды соленостью 32‰ в 250 мл колбах Эрленмейера с объемом культуральной среды 100 мл, при температуре 18°C, интенсивности освещения 70 мкмоль/(м²·с) в области видимого света и 14-часовом световом дне. В качестве инокулята использовали культуру на экспоненциальной стадии роста. Продолжительность экспериментов составляла 7 суток. Пробы для анализа показателей отбирали на 3 и 7 сутки.

Кадмий добавляли в виде солей $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, Ni — $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Pb — PbCl_2 с пересчетом на ионы металла в день постановки эксперимента. Ис-

следуемые концентрации Cd, Ni и Pb составляли: 10 и 20 мкг/л. Выбор концентраций основан на содержании данных металлов в прибрежных водах России и их предельно допустимых концентрациях — изученные концентрации соответствуют ПДК и 2ПДК.

Под термином рост в данной статье понимается рост популяции: увеличение роста — стимуляция численности клеток микроводоросли, угнетение роста — уменьшение численности популяции.

Методы измерений. Измерения показателей (численность клеток, прямое и боковое светорассеяние) производили на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Для анализа в течение каждого измерения записывали 10000 событий (регистрируемых в пробе частиц). Выбор клеток водорослей из общего числа событий, записываемых цитометром, проводили по флуоресценции хлорофилла *a* [21]. Прямое светорассеяние (ПС), косвенно характеризующее размер клеток водоросли, регистрировали на канале FSC. Боковое светорассеяние (БС), характеризующее внутреннюю структуру (гранулярность), регистрировали на канале SSC. Интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* регистрировали при длине волны 690 нм, длина волны возбуждения составляла 488 нм — канал PC 5.5 [21]. Продукцию АФК оценивали с помощью флуоресцентного красителя 2',7'-дихлородигидрофлуоресцеин диацетата, окрашивание проводили в течение 1 ч при комнатной температуре в темноте. Показатель флуоресценции его окисленного и диацетилированного продукта определяли на длине волны 525 нм, длина волны возбуждения 488 нм — канал FITC [17]. Содержание НЛ определяли по флуоресценции флуорохрома Nile Red в концентрации 1 мкг/мл, окрашивание проводили в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте, длина волны возбуждения 488 нм, испускания — 580 нм — канал PE [22].

Для анализа содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и общего содержания каротиноидов) суспензию водорослей собирали на мембранных фильтрах МФАС-ОС-2. Пигменты экстрагировали 90% ацетоном, полученный экстракт центрифугировали в течение 15 мин при 7000 об/мин на центрифуге Allegra X-22R (Beckman-Coulter, США). Супернатант отбирали и определяли его оптическую плотность с помощью спектрофотометра Shimadzu-UV 2550 (Shimadzu, Япония) при следующих длинах волн: 480, 630, 647, 664 и 750 нм. Расчет концентраций пигмента проводили по стандартным формулам [23].

Статистический анализ. Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. Статистическую обработку выполняли с помощью программы Excel. Данные по численности клеток, прямому и боковому светорассеянию, флуорес-

ценции хлорофилла *a*, содержанию хлорофилла *a*, каротиноидов, АФК и НЛ представлены в виде процентов к контролю. На графиках даны средние значения девяти измерений. Бары на графиках — стандартное отклонение измеряемых величин. Достоверность различий между выборками оценивали по U-критерию Манна-Уитни при уровне значимости $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Кадмий в среде при всех концентрациях стимулировал рост популяции *H. akashiwo* на всем протяжении опыта (рис. 1а). Показатель ПС достоверно отличался от контрольного на седьмые сутки опыта при 10 мкг/л Cd (рис. 1б). Показатель БС увеличивался на третьи сутки и к завершению эксперимента значительно снижался при обеих концентрациях металла (рис. 1в). Флуоресценция хлорофилла *a* снижалась к седьмым суткам во всех экспериментальных вариантах (рис. 1г). Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов было выше контрольного при внесении 10 мкг/л Cd на всем протяжении опыта, а при 20 мкг/л содержание хлорофилла *a* не отличалось от контрольного, при этом содержание каротиноидов возрастало (рис. 1д, е). Также к седьмым суткам содержание АФК было выше контрольного (рис. 1ж). Содержание НЛ увеличивалось к третьим суткам опыта и падало к седьмым (рис. 1е).

Свинец в обеих концентрациях вызывал небольшую стимуляцию роста микроводоросли на третьи сутки и слабое угнетение на седьмые (рис. 2а). Показатели ПС и БС увеличивались при 10 мкг/л металла на седьмые сутки (рис. 2б, 3в). Флуоресценция хлорофилла *a* на седьмые сутки уменьшалась в присутствии 20 мкг/л токсиканта (рис. 2г). Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов увеличивалось на третьи сутки и существенно уменьшалось на седьмые, особенно при 20 мкг/л свинца (рис. 2д, е). Содержание АФК превышало контрольное в 3.5 и 4.6 раза при концентрации свинца в среде 10 и 20 мкг/л, соответственно, на третьи сутки опыта и было выше контрольного на седьмые сутки (рис. 2ж). Содержание НЛ достоверно находилось на уровне контроля в течение эксперимента за исключением превышения такового при концентрации свинца в среде 10 мкг/л, на седьмые сутки (рис. 2з).

Добавление никеля в концентрациях 10 и 20 мкг/л приводило к увеличению численности клеток *H. akashiwo* по сравнению с контрольной на третьи сутки (рис. 3а). Показатель ПС оставался на уровне контроля во время всего эксперимента (рис. 3б). Показатель БС возрастал по сравнению с таковым в контроле к седьмым суткам (рис. 3в). Флуоресценция хлорофилла *a* не отличалась от контрольной во всех экспериментальных случаях (рис. 3г). Содержание хлорофилла *a* превышало

контрольное только при концентрации никеля в среде 20 мкг/л на седьмые сутки опыта (рис. 3д). Содержание каротиноидов существенно увеличивалось на третьи сутки при концентрации никеля 10 мкг/л и на седьмые при 20 мкг/л (рис. 3е). Содержание АФК было выражено ниже, чем в контроле на протяжении экспозиции (рис. 3ж). Содержание НЛ, напротив, превышало контрольное, особенно на седьмые сутки (рис. 3з).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные эксперименты показали, что Cd, Pb и Ni оказали негативное воздействие на физиологическое состояние *H. akashiwo*, даже при одновременной стимуляции роста клеток.

Кадмий, по сравнению с другими изученными металлами, вызывал особенно выраженный рост популяции *H. akashiwo*. Ранее у *Dunaliella salina* также отмечено увеличение численности клеток при воздействии 100 мкг/л кадмия [24]. У *H. akashiwo* значимо изменялся показатель БС на всем протяжении опыта. Такое же явление было показано на *Phaeocystis antarctica* [25]. Флуоресценция хлорофилла *a* снижалась, а содержание фотосинтетических пигментов, напротив, увеличивалось, что может свидетельствовать о снижении эффективности работы фотосинтетического аппарата. Известно, что Cd ингибирует ФС II в результате повреждения тилакоидов и реакционных центров [14, 15]. Однако есть сведения, что кадмий влияет на обе фотосистемы [26]. Данный металл, помимо индуцирования физиологических нарушений, вызывает изменение структуры хлоропласта [5, 26, 27], нарушение транспорта и проницаемости мембран, синтеза пластохинона и каротиноидов и инактивирование ряда ферментов [27]. Зарегистрированное нами увеличение содержания каротиноидов, вероятно, связано с тем, что они защищают фотосинтетический аппарат от окислительного стресса [24]. Каротиноиды гасят триплетные состояния хлорофиллов, вызывающих формирование атомарного кислорода, помогают сбрасывать энергию с поврежденных хлорофиллов [2]. Есть сведения, что каротиноиды меньше подвергаются действию кадмия, чем хлорофилл *a* [26]. Тяжелые металлы вызывают окислительный стресс в результате увеличения количества свободных радикалов [1, 5, 8]. В нашем эксперименте содержание АФК снижалось на третьи сутки и существенно увеличивалось на седьмые. Повышение уровня АФК под действием тяжелых металлов приводит к снижению фотосинтетической продуктивности в результате повреждения биомолекул, нарушения метаболизма митохондрий и обмена веществами между цитозолем и хлоропластом [2]. Кадмий приводит к повышению содержания липидов [7, 15]. У *H. akashiwo* происходило сначала увеличение, а потом резкое падение содержания НЛ. Ней-

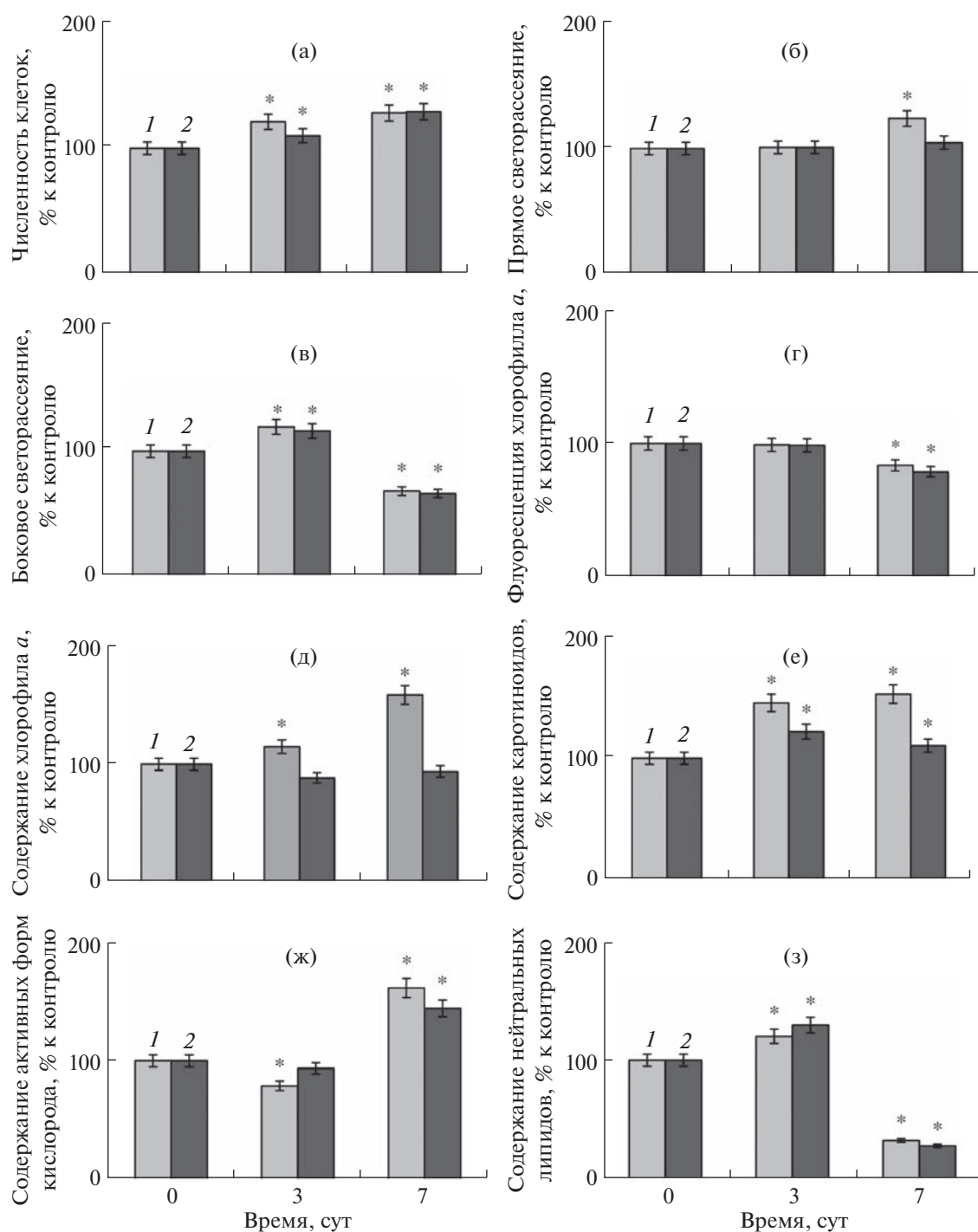


Рис. 1. Рост популяции и физиологическое состояние *Heterosigma akashiwo* при воздействии кадмия: а – численность клеток, % к контролю; б – прямое светорассеяние, % к контролю; в – боковое светорассеяние, % к контролю; г – флуоресценция хлорофилла *a*, % к контролю; д – содержание хлорофилла *a*, % к контролю; е – содержание каротиноидов, % к контролю; ж – содержание активных форм кислорода, % к контролю; з – содержание нейтральных липидов, % к контролю. 1 – содержание кадмия в среде 10 мкг/л, 2 – содержание кадмия в среде 20 мкг/л. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

тральные липиды играют защитную роль в адаптации к негативному влиянию среды [7], таким образом, их снижение может сигнализировать об угнетении клеток микроводоросли.

Свинец влияет на ферментную активность растений, однако, основная причина ингибирования роста клеток растений – окисление ИУК, активно участвующей в их ростовых процессах.

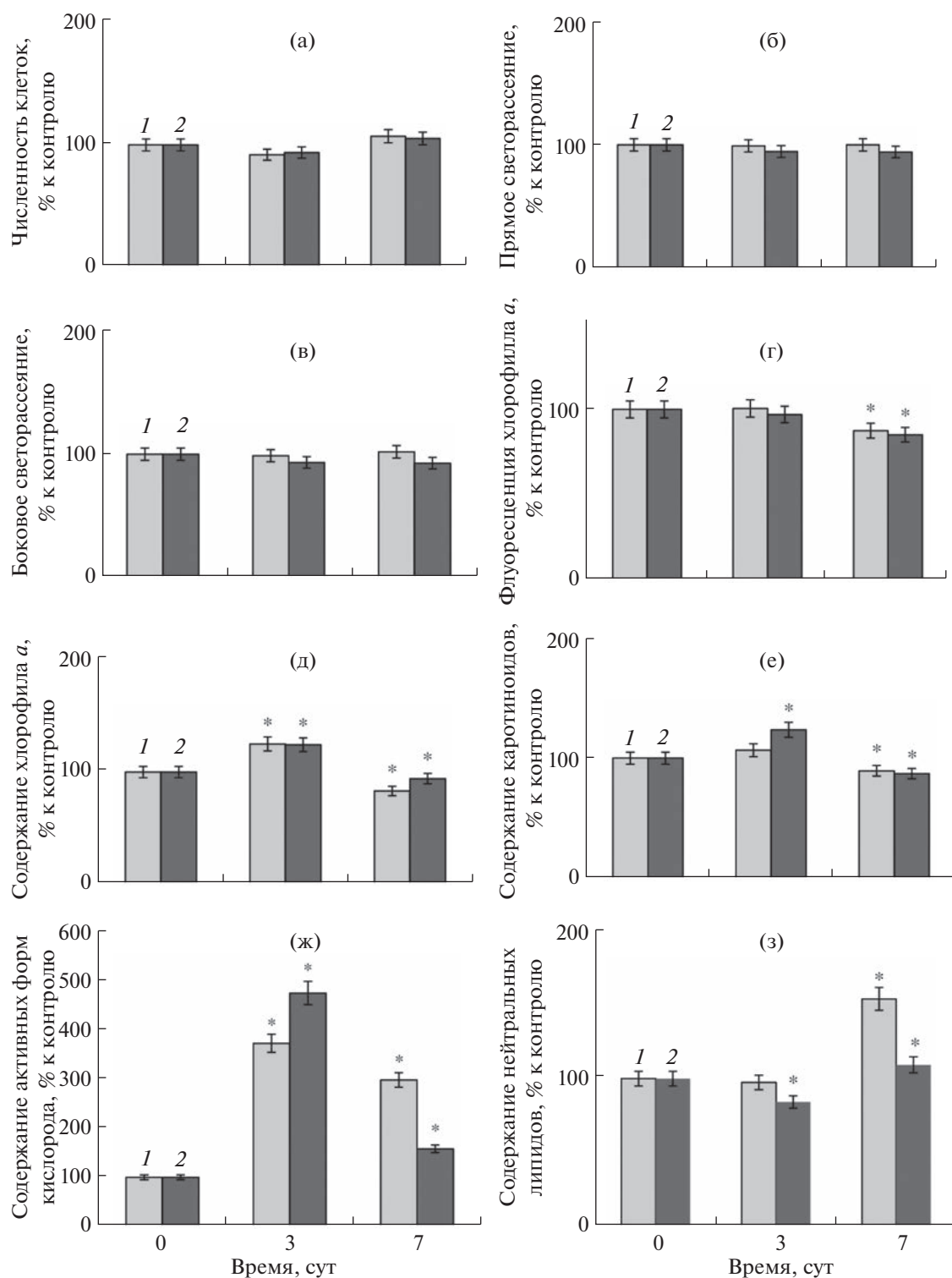


Рис. 2. Рост популяции и физиологическое состояние *Heterosigma akashiwo* при воздействии свинца: а — численность клеток, % к контролю; б — прямое светорассеяние, % к контролю; в — боковое светорассеяние, % к контролю; г — флуоресценция хлорофилла *a*, % к контролю; д — содержание хлорофилла *a*, % к контролю; е — содержание каротиноидов, % к контролю; ж — содержание активных форм кислорода, % к контролю; з — содержание нейтральных липидов, % к контролю. 1 — содержание свинца в среде 10 мкг/л, 2 — содержание свинца в среде 20 мкг/л. * — различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

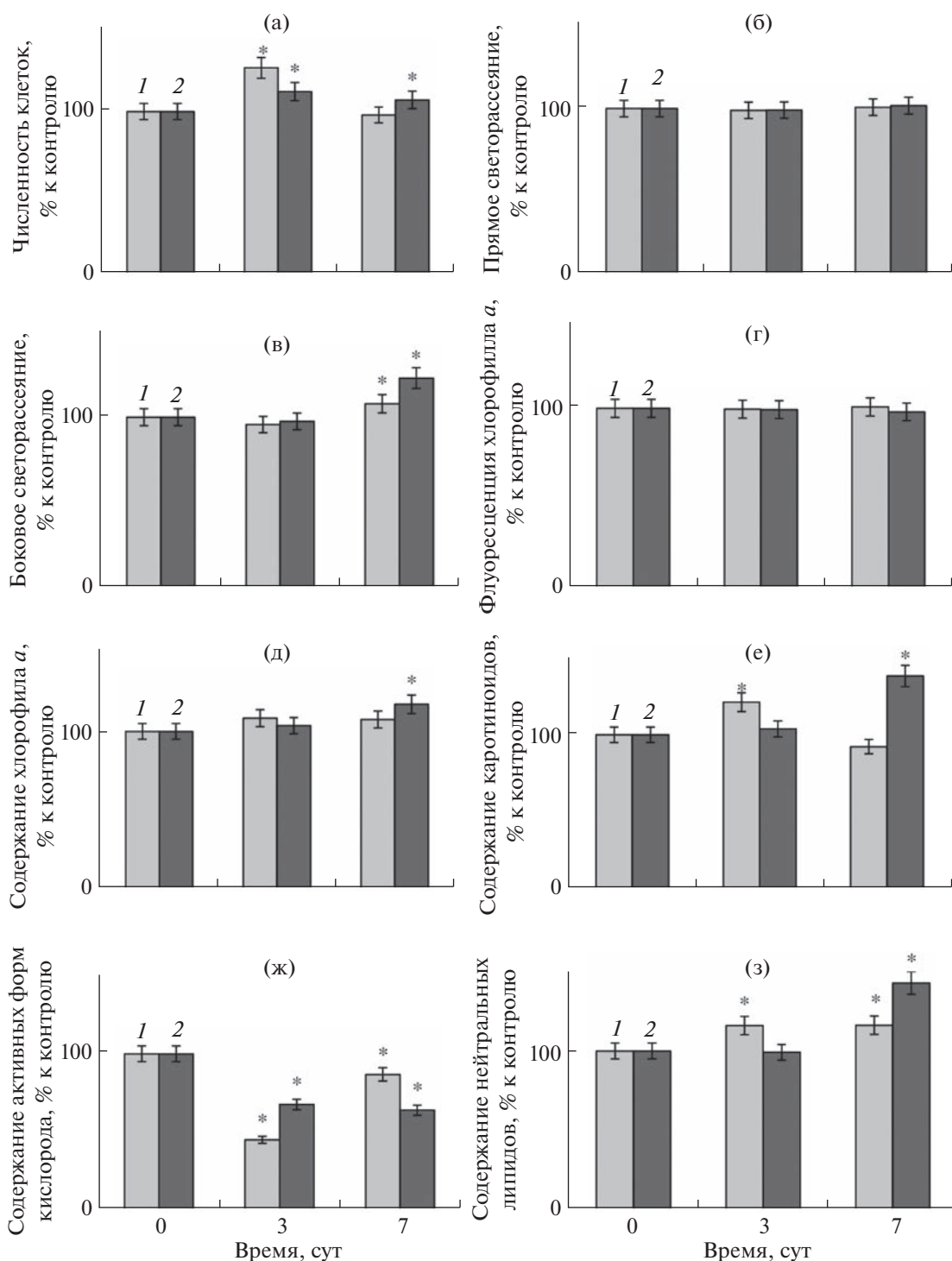


Рис. 3. Рост популяции и физиологическое состояние *Heterosigma akashiwo* при воздействии никеля: а – численность клеток, % к контролю; б – прямое светорассеяние, % к контролю; в – боковое светорассеяние, % к контролю; г – флуоресценция хлорофилла *a*, % к контролю; д – содержание хлорофилла *a*, % к контролю; е – содержание каротиноидов, % к контролю; ж – содержание активных форм кислорода, % к контролю; з – содержание нейтральных липидов, % к контролю. 1 – содержание никеля в среде 10 мкг/л, 2 – содержание никеля в среде 20 мкг/л. * – различия с контролем достоверны при $P \leq 0.05$.

Кроме того, металл вызывает нарушение проницаемости мембран и изменяет процессы, задействованные в минеральном питании [1]. Нами отмечено ингибирование роста *H. akashiwo* к концу опыта, после его стимуляции на третьи сутки. У *Isochrysis galbana* увеличение скорости роста происходило при 50–100 мкг/л, а уже при 5 мкг/л повышалось содержание хлорофилла *a* [28]. В нашем эксперименте также возрастало содержание хлорофилла *a*, однако впоследствии оно снижалось. Свидетельством повреждения хлоропластов и митохондрий у зеленых водорослей при внесении в среду данного металла, является увеличение отложений крахмала у пиреноида, для запаса энергии, необходимой для восстановления поврежденных органелл [29, 30]. Повреждение хлоропластов отмечено, например, у *D. salina* [31]. Свинец приводит к снижению флуоресценции хлоропласта [32, 33], что, в числе иных изменений, отмечено и в нашем опыте только при 20 мкг/л через 7 сут инкубации. Свинец может заменять магний в молекуле хлорофилла, однако такие хлорофиллы не связаны прочно с лигандами пигмент-белкового комплекса. Таким образом, водоросли синтезируют больше молекул хлорофилла на реакционный центр для компенсации нефункциональных хлорофиллов и поддержания производительности процесса фотосинтеза [16, 32]. Кроме того, ингибирование биосинтеза хлорофилла *a* металлами через влияние на продуцирование протохлорофиллида, и активирование ферментативной деградации хлорофиллов хлорофиллиазой играет критическую роль в потере фотосинтетического пигмента [26]. Возможно, по этим причинам содержание хлорофилла *a* у *H. akashiwo* увеличивалось, а затем уменьшалось. Увеличение содержания каротиноидов защищает клетку от воздействия АФК, что, например, показано на *Nannochloropsis oculata*. При особо токсичных концентрациях металлов содержание каротиноидов, наоборот, снижается, что свидетельствует о сильном стрессе для водорослей [16]. Такое же явление происходило и в нашем опыте. У *Chlorella ellipsoides* при воздействии свинца увеличивалось содержание МДА, снижалось содержание супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы [33]. Такие изменения говорят об увеличении содержания АФК у водоросли. В нашем опыте отмечено резко выраженное увеличение содержания АФК при внесении токсиканта. Однако содержание липидов не снижалось ниже уровня контроля, что возможно, связано с адаптацией водоросли к неблагоприятным условиям.

Никель связывается с белками, и в меньшей степени с липидами микроводорослей [34]. Данный металл вызывает повреждение мембраны и нарушение минерального обмена, особенно калиевого, приводит к увеличению концентрации МДА [1]. В нашем эксперименте рост *H. akashiwo* при концентрациях никеля в среде 10–20 мкг/л

стимулировался, также увеличивалось содержание хлорофилла *a* и каротиноидов при концентрации 20 мкг/л на седьмые сутки опыта. Ранее показано, что численность клеток зеленой микроводоросли *Ankistrodesmus falcatus* понижалась при концентрациях никеля 15–30 мкг/л, содержание хлорофилла *a* и каротиноидов уменьшалось при 1 мкг/л никеля [9]. В тоже время скорость роста популяции *Phaeocystis antarctica* ингибировалась на 10% при только при концентрации никеля 260 мкг/л [25]. Несмотря на то, что этот металл инактивирует ФС II, что, в том числе, выражается в снижении флуоресценции, в проведенном нами опыте данный показатель не изменялся. Также никель был единственным среди исследованных металлов при внесении которого содержание АФК у *H. akashiwo* не увеличивалось, а, напротив, снижалось. Известно, что данный токсикант влияет на гены, отвечающие за метаболизм азота, жирных кислот и ДНК [35]. Возможно, с этим связано увеличение НЛ, особенно к концу опыта, при его воздействии на *H. akashiwo*.

Таким образом, наши исследования показали, что при добавлении 10 и 20 мкг/л Cd в среду происходила стимуляция роста популяции *H. akashiwo* и увеличение содержания фотосинтетических пигментов на всем протяжении опыта. При воздействии Pb отмечено ингибирование роста водоросли и снижение содержания фотосинтетических пигментов к концу опыта. В тоже время показатели прямого и бокового светорассеяния, флуоресценции хлорофилла *a* в большинстве экспериментальных случаев не отличались от контрольных. Содержание АФК, в целом, увеличивалось при воздействии тяжелых металлов. Резкое падение содержания НЛ отмечено только при воздействии кадмия, тогда как свинец приводил либо к небольшому увеличению содержания НЛ, либо не оказывал влияния на данный показатель.

Авторы выражают благодарность ресурсному центру “Морской биобанк” Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры микроводоросли *Heterosigma akashiwo* MBRU_HAK-SR11.

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

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Envi-

- ron. Chem. Lett. 2010. V. 8. P. 199.
<https://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
2. Masmoudi S., Nguyen-Deroche N., Caruso A., Ayadi H., Morant-Manceau A., Tremblin G. Cadmium, copper, sodium and zinc effects on diatoms: from heaven to hell – a review // Cryptogam., Algol. 2013. V. 34. P. 185.
<https://doi.org/10.7872/crya.v34.iss2.2013.185>
 3. Huang X.G., Li S.X., Liu F.J., Lan W.R. Regulated effects of *Prorocentrum donghaiense* Lu exudate on nickel bioavailability when cultured with different nitrogen sources // Chemosphere. 2018. V. 197. P. 57.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.014>
 4. Cheng J., Qiu H., Chang Z., Jiang Z., Yin W. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris* // SpringerPlus. 2016. V. 5. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/s40064-016-2963-1>
 5. Andosch A., Affenzeller M.J., Lütz C., Lütz-Meindl U. A freshwater green alga under cadmium stress: ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias* // J. Plant Physiol. 2012. V. 169. P. 1489.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.06.002>
 6. Mallick N., Mohn F.H. Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus* // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2003. V. 55. P. 64.
[https://doi.org/10.1186/10.1016/S0147-6513\(02\)00122-7](https://doi.org/10.1186/10.1016/S0147-6513(02)00122-7)
 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 // Aquat. Toxicol. 2013. V. 128. P. 171.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.004>
 8. Jamers A., Blust R., De Coen W., Griffin J.L., Jones O.A. An omics based assessment of cadmium toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // Aquat. Toxicol. 2013. V. 126. P. 355.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.007>
 9. Martínez-Ruiz E.B., Martínez-Jerónimo F. Nickel has biochemical, physiological, and structural effects on the green microalga *Ankistrodesmus falcatus*: an integrative study // Aquat. Toxicol. 2015. V. 169. P. 27.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.10.007>
 10. 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 // Limnol. Oceanogr. 2021. V. 66. P. 3873.
<https://doi.org/10.1002/lno.11925>
 11. Маркина Ж.В. Ультраструктура и автотрофная функция клеток рафидофитовой микроводоросли *Heterosigma akashiwo* (Y. Hada) Y. Hada ex Y. Hara and M. Chihara, 1987 в загрязненной медью среде // Биология моря. 2021. Т. 47. С. 196.
<https://doi.org/10.31857/S0134347521030074>
 12. Lemley D.A., Adams J.B., Rishworth G.M., Purdie D.A. Harmful algal blooms of *Heterosigma akashiwo* and environmental features regulate *Mesodinium* cf. *rubrum* abundance in eutrophic conditions // Harmful Algae. 2020. 100:101943.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2020.101943>
 13. Bornman E., Adams J.B., Strydom N.A. Algal blooms of *Heterosigma akashiwo* and *Mugilidae* Gill Alterations // Estuaries Coast. 2022. V. 45. P. 1674.
<https://doi.org/10.1007/s12237-021-01038-6>
 14. La Rocca N., Andreoli C., Giacometti G.Á., Rascio N., Moro I. Responses of the Antarctic microalga *Koliella antarctica* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) to cadmium contamination // Photosynthetica. 2009. V. 47. P. 471.
<https://doi.org/10.1007/s11099-009-0071-y>
 15. Carfagna S., Lanza N., Salbitani G., Basile A., Sorbo S., Vona V. Physiological and morphological responses of lead or cadmium exposed *Chlorella sorokiniana* 211-8K (Chlorophyceae) // SpringerPlus. 2013. V. 2. P. 1.
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-147>
 16. Zamani-Ahmadmohmoodi R., Malekabadi M.B., Rahimi R., Johari S.A. Aquatic pollution caused by mercury, lead, and cadmium affects cell growth and pigment content of marine microalga, *Nannochloropsis oculata* // Environ. Monit. Assess. 2020. V. 192. P. 1.
<https://doi.org/10.1007/s10661-020-8222-5>
 17. Gomes A., Fernandes E., Lima J.F.L.C. Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species // J. Biophys. Biochem. Methods. 2005. V. 65. P. 45.
<https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2005.10.003>
 18. Wan M., Jin X., Xia J., Rosenberg J.N., Yu G., Nie Z., Oyler G.A., Betenbaugh M.J. The effect of iron on growth, lipid accumulation, and gene expression profile of the freshwater microalga *Chlorella sorokiniana* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98. P. 9473.
<https://doi.org/10.1007/s00253-014-6088-6>
 19. Rajabi Islami H., Assareh R. Effect of different iron concentrations on growth, lipid accumulation, and fatty acid profile for biodiesel production from *Tetradlesmus obliquus* // J. Appl. Phycol. 2019. V. 31 P. 3421.
<https://doi.org/10.1007/s10811-019-01843-4>
 20. Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Can. J. Microbiol. 1962. V. 8. P. 229.
<https://doi.org/10.1139/m62-029>
 21. Hyka P., Lickova S., Přibyl P., Melzoch K., Kovar K. Flow cytometry for development of biotechnological processes with microalgae // Biotechnol. Adv. 2013. V. 31. P. 2.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.04.007>
 22. Alemán-Nava G.S., Cuellar-Bermudez S.P., Cuaresma M., Bosma R., Muylaert K., Rittmann B.E., Parra R. How to use Nile Red, a selective fluorescent stain for microalgal neutral lipids // J. Microbiol. Methods. 2016. V. 128. P. 74.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.07.011>
 23. Jeffrey S.T., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanz. 1975. V. 167. P. 191.
[https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
 24. Zhu Q.L., Guo S.N., Wen F., Zhang X.L., Wang C.C., Si L.F., Zeng J.L., Liu J. Transcriptional and physiological responses of *Dunaliella salina* to cadmium reveals time-dependent turnover of ribosome, photosystem, and ROS-scavenging pathways // Aquat. Toxicol. 2019.

- V. 207. P. 153.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.12.007>
25. 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* // Environ. Toxicol. Chem. 2015. V. 34. P. 1578.
<https://doi.org/10.1002/etc.2949>
 26. Dobrikova A.G., Apostolova E.L. Damage and protection of the photosynthetic apparatus under cadmium stress // Cadmium toxicity and tolerance in plants / Eds. M. Hasanuzzaman et al. Academic Press. 2019. P. 275.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00011-5>
 27. Singh M., Kumar J., Singh S., Singh V.P., Prasad S.M., Singh M.P.V.V.B. Adaptation strategies of plants against heavy metal toxicity: a short review // Biochem. Pharmacol. 2015. V. 4. P. 2167.
<https://doi.org/10.4172/2167-0501.1000161>
 28. Barkhordari A.Z., Taherizadeh M.R., Yousef Z.M. Effects of different concentrations of lead on growth, photosynthetic pigmentation and protein micro alga *Isochrysis galbana* // J. Oceanogr. 2021. V. 12. P. 109.
<https://doi.org/10.52547/joc.12.46.109>
 29. Shanab S., Essa A., Shalaby E. Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian Isolates) // Plant Signal. Behav. 2012. V. 7. P. 392.
<https://doi.org/10.4161/psb.19173>
 30. Kumar K.S., Dahms H.U., Won E.J., Lee J.S., Shin K.H. Microalgae — a promising tool for heavy metal remediation // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2015. V. 113. P. 329.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.019>
 31. Kemer K., Mantiri D.M., Rompas R.M., Rimper J.R., Margyaningsih N.I. Transmission electron microscope analysis upon growth of lead acetate treated microalga, *Dunaliella* sp. // Aquac. Aquar. Conserv. Legis. 2020. V. 13. P. 849.
 32. Dao L.H., Beardall J. Effects of lead on two green microalgae *Chlorella* and *Scenedesmus*: photosystem II activity and heterogeneity // Algal Res. 2016. V. 16. P. 150.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.006>
 33. Moise M.M. Lead (Pb²⁺) causes chlorophyll related changes and oxidative damage in *Chlorella ellipsoides* (Chlorophyceae) // Braz. J. Biol. Sci. 2019. V. 6. P. 605.
<https://doi.org/10.21472/bjbs.061412>
 34. Hong H.S., Wang M.H., Huang X.G., Wang D.Z. Effects of macronutrient additions on nickel uptake and distribution in the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu // Environ. Pollut. 2009. V. 157. P. 1933.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.01.009>
 35. Guo R., Lu D., Liu C., Hu J., Wang P., Dai X. Toxic effect of nickel on microalgae *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophyceae) // Ecotoxicology. 2022. V. 31. P. 746.
<https://doi.org/10.1007/s10646-022-02532-8>