

# ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТОВ В ПРОЯВЛЕНИИ ТОКСИЧНЫХ СВОЙСТВ ДВУХВАЛЕНТНЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ШЕСТИВАЛЕНТНОГО ХРОМА В КУЛЬТУРЕ МОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA TERTIOLECTA*

Ю.С. Григорьев\*, Е.С. Стравинскене\*\*, Н.К. Артына

Институт экологии и географии, Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

Эл. почта: \*ysgrigoriev@sfu-kras.ru, \*\*estravinskene@sfu-kras.ru

Статья поступила в редакцию 05.03.2024; принята к печати 07.05.2024

Вопрос зависимости воздействия токсикантов на микроводоросли от состава питательных сред или природных вод имеет большое значение в практике биотестирования и биоремедиации. Высокое содержание солей в морских водах может маскировать присутствие таких опасных загрязнителей, как тяжелые металлы (ТМ). В большинстве работ по этой тематике используют соединения двухвалентных ТМ. Вместе с тем, существуют свидетельства конкурентного взаимодействия сульфатов морской воды и соединений Cr(VI) у клеточной поверхности. В связи с этим нами были исследованы воздействия соединений Cr(VI), Cu(II), Cd(II), Zn(II) и Co(II) на рост культуры морской водоросли *Dunaliella tertiolecta* Butcher (1959) в зависимости от концентрации  $SO_4^{2-}$  в питательной среде Гольдберга. Прирост культуры водоросли регистрировали по оптической плотности контрольных и опытных вариантов через 2 суток выращивания в специализированных культиваторах. Тяжелые металлы добавляли в питательную среду в виде растворов бихромата калия, сульфатов меди, цинка, кадмия и хлорида кобальта. Уменьшение концентрации  $SO_4^{2-}$  при сохранении исходной солености 33‰ вызывало повышение токсического эффекта Cr(VI), но не Cu(II), Cd(II), Zn(II) и Co(II). Эффективные концентрации ( $EC_{50}$ ) хрома составляли 21,32; 6,04; 2,01 и 0,74 мг/л в исходной среде и средах с 5-, 25- и 125-кратным снижением концентрации сульфата соответственно. Значения  $EC_{50}$  для  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  и  $Co^{2+}$  в исходной среде составляли 0,54, 7,40, 3,80 и 22,00 мг/л соответственно и существенно не различались при варьировании уровня  $SO_4^{2-}$ . Защитную роль сульфата против воздействия Cr(VI) для различных организмов и питательных сред удобно оценивать как функцию отношения концентраций хрома и сульфата. В настоящем исследовании значение  $Cr(VI)/SO_4^{2-}$ , при котором прирост культуры *D. tertiolecta* снижался на 50%, составляло 1:100. При снижении указанной пропорции до 1:1700 бихромат калия подавлял прирост *D. tertiolecta* только на 20%. Полученные данные свидетельствуют о неравнозначной роли сульфатов морской воды в контроле токсических воздействий Cr(VI) и двухвалентных ТМ.

**Ключевые слова:** *Dunaliella tertiolecta*, тяжёлые металлы, бихромат калия, сульфат-ион, биотестирование.

## THE INFLUENCE OF SULFATES ON THE TOXIC EFFECTS OF BIVALENT HEAVY METALS AND CHROMIUM(VI) ON CULTURED MARINE ALGA *DUNALIELLA TERTIOLECTA*

Yu.S. Grigoriev\*, Ye.S. Stravinskene, N.K. Artyna

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

\* E-mail: ysgrigoriev@sfu-kras.ru

The issue of how toxicant effects on microalgae depend on the composition of culture media or natural water is of major importance for bioassays and bioremediation. A high salt content in seawater can mask the presence of dangerous pollutants such as heavy metals (HM). Most studies on this topic traditionally concern divalent heavy metals. At the same time, there is evidence of possible competitive interactions between seawater sulfates and Cr(VI) at cell surface. We investigated the effects of Cr(VI), Cu(II), Cd(II), Zn(II) and Co(II) on the growth of cultured marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* Butcher (1959) at varying  $SO_4^{2-}$  concentrations in Goldberg medium. The cultured alga growth was estimated by the optical density of control and treated samples after cultivation in specialized incubators during 48 h. Heavy metals were added to the cultures as solutions of potassium dichromate, copper, zinc and cadmium sulfates and cobalt chloride. A decrease in  $SO_4^{2-}$  concentration while maintaining the initial salinity of 33‰ caused an increase in the toxic effect of Cr(VI), but not Cu(II), Cd(II), Zn(II) and Co(II). The effective concentrations ( $EC_{50}$ ) of chromium were 21.32; 6.04; 2.01 and 0.74 mg/L in the initial medium and in media with a 5, 25 and 125-fold decrease in sulfate concentration, respectively. The  $EC_{50}$  values of  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  and  $Co^{2+}$  in the initial medium were 0.54, 7.40, 3.80 and 22.00 mg/L, respectively, and did not differ significantly when  $SO_4^{2-}$  concentration varied. The protective role of sulfate against the effects of Cr(VI) on different organisms in varying media may be conveniently assessed as a function of chromium to sulfate concentration ratio. In the present study, the growth of cultured *D. tertiolecta* was reduced by 50% when  $Cr(VI)/SO_4^{2-}$  was 1:100. Reducing this proportion to 1:1700 was associated with an inhibition of *D. tertiolecta* growth only by 20%. The data suggest that seawater sulfates differentially influence the toxic effects of Cr(VI) and divalent heavy metals.

**Keywords:** *Dunaliella tertiolecta*, heavy metals, potassium dichromate, sulfate ion, bioassay.

## Введение

Хром (VI) наряду с другими тяжёлыми металлами (ТМ) представляет серьёзную угрозу для окружающей среды и человека, поскольку высоко токсичен даже в малых концентрациях, не подвергается биодеградации и склонен к биоаккумуляции [11, 13, 17]. Антропогенными источниками хрома являются разнообразные промышленные сферы, такие как металлургия, деревообработка, дубление кожи, производство красок [13, 17, 22]. В настоящее время нет убедительных доказательств необходимости хрома для жизнедеятельности растений и микроорганизмов [8, 13, 22]. В практике биотестирования на микроводорослях бихромат калия повсеместно используется в качестве эталонного токсиканта<sup>1,2</sup>. В отличие от многих других ТМ, образующих катионы, Cr(VI) присутствует в водной среде преимущественно в виде аниона  $\text{CrO}_4^{2-}$ , что может определять различия в механизмах воздействия хрома и таких тяжелых металлов, как медь, цинк и кадмий, на клетки [8, 13, 18, 19, 23, 24].

Чувствительность разных видов микроводорослей к тяжёлым металлам, в том числе к хрому, варьирует в большом диапазоне [15, 19, 20]. Одним из факторов, определяющих восприимчивость микроводорослей к токсическим воздействиям, может являться строение клеточной поверхности, поскольку она является первым барьером на пути взаимодействия клеток с ТМ [6]. Известно большое разнообразие в строении клеточных оболочек микроводорослей [9]. Виды рода *Dunaliella* (Chlamydomonadales, Chlorophyceae) отличаются от многих других микроводорослей и растений в целом отсутствием клеточной стенки [4, 9]. В связи с этим водоросли данного рода представляют особый интерес в плане исследования влияния токсикантов на их рост и метаболизм. Простота содержания и высокая скорость роста позволяет рассматривать их как потенциальный тест-объект для биотестирования. Однако существующие свидетельства сравнительно низкой чувствительности представителей рода *Dunaliella* к бихромату калия [15] требуют более подробных исследований причин этого явления.

Как и в случаях с другими тяжёлыми металлами, в отношении хрома исследователи отмечают зависимость его воздействия на микроводоросли от условий проведения экспериментов [15, 24]. В предыдущих работах [5] нами было показано, что чувствительность водоросли *Dunaliella tertiolecta* Butcher (1959) к бихромату калия зависела от состава питательной среды.

<sup>1</sup> Р 52.24.690-2006. Оценка токсического загрязнения вод водотоков и водоемов различной солёности и зон смешения речных и морских вод методами биотестирования.

<sup>2</sup> ГОСТ Р 53910-2010. Вода. Методы определения токсичности по замедлению роста морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin и *Sceletonema costatum* (Greville) Cleve.

В среде Гольдберга, приготовленной на основе готовых комплексов морских солей в соответствии с методикой<sup>2</sup>, внесение 5 мг/л  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  оказывало слабое воздействие или не влияло вовсе на прирост культуры водоросли. В то же время данная концентрация бихромата калия полностью подавляла рост *D. tertiolecta* при замене комплекса морских солей раствором NaCl. Более детальные исследования показали, что токсичность бихромата калия увеличивалась при снижении концентрации сульфата магния в среде, но оставалась неизменной при понижении уровня хлорида магния [1]. Было высказано предположение о зависимости воздействия хрома на рост культуры *D. tertiolecta* от содержания в среде сульфат-ионов [1]. Вместе с тем, вопрос о роли сульфата в контроле токсичности других тяжелых металлов оставался открытым.

Взаимосвязь между поглощением сульфата и хромата из среды микроводорослями и высшими растениями исследуется с 1980-х годов [18, 19]. Описано несколько механизмов, предположительно, ответственных за снижение токсического воздействия Cr(VI) при повышенном содержании  $\text{SO}_4^{2-}$  [12–14, 17, 19, 21, 24]. Отмечается также, что в целом металлы в форме анионов могут конкурентно проникать в клетки микроводорослей через каналы, предназначенные для транспортировки сульфатов и фосфатов ввиду схожести их химической природы [24]. Согласно данному механизму, токсичность металлов в форме катионов, вероятно, не будет зависеть от концентрации сульфата в среде. В этой связи возможность избирательного влияния сульфата среды на токсичность различных тяжелых металлов может иметь большое практическое значение. *Dunaliella* является удобным объектом для изучения данного вопроса ввиду отсутствия клеточной стенки и, следовательно, возможности прямого взаимодействия токсикантов с мембранными транспортными каналами. В настоящей работе нами был исследован прирост культуры *D. tertiolecta* при воздействии шестивалентного хрома и двухвалентных меди, цинка, кадмия и кобальта в средах, приготовленных на основе искусственной морской воды с различным уровнем  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

## Материалы и методы

Культура водоросли *D. tertiolecta* выращивалась в питательной среде Гольдберга (200 мг/л  $\text{KNO}_3$ ; 9,5 мг/л  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2 мг/л  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,2 мг/л  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,3 мг/л  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), приготовленной на основе искусственной морской воды (22 г/л NaCl; 9,7 г/л  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 3,7 г/л  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; 1 г/л  $\text{CaCl}_2$ ; 0,65 г/л KCl; 0,2 г/л  $\text{NaHCO}_3$ ).

Маточную культуру выращивали в культиваторе КВ–05.3<sup>3</sup> при температуре  $25 \pm 1$  °С и непрерывном

<sup>3</sup> ТУ 26.51.70–007–64091810–2022.

облучении белым светом от светодиодного источника. Пересев культуры производили каждые двое суток, что обеспечивало поддержание ее в альгологически чистом состоянии и сохраняло экспоненциальный рост. Находящую в экспоненциальной стадии роста маточную культуру использовали для инокуляции экспериментальных вариантов (биотестирование).

Для выявления зависимости токсических воздействий ТМ от содержания сульфата среду Гольдберга модифицировали путем снижения количества сульфата натрия в 5, 25 и 125 раз. Таким образом, токсикианты добавлялись в 4 варианта питательной среды, содержащие 3,7 г/л (исходная среда), 0,74 г/л, 0,148 г/л и 0,030 г/л  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Общая соленость (33‰) была восстановлена добавлением NaCl. Значения pH среды поддерживались на уровне 7,5–8,0.

Токсикианты добавлялись в виде растворов бихромата калия, сульфатов меди, цинка, кадмия и хлорида кобальта. Каждый вариант питательной среды содержал контроль (без токсикианта) и ряд кратных разбавлений токсикианта в диапазонах 0,35–28,63; 0,05–0,8; 0,2–16,2; 0,74–60 и 0,5–40,5 мг/л в пересчете на хром, медь, цинк, кадмий и кобальт соответственно. Диапазоны концентраций ТМ подбирали, исходя из возможности определения значений  $\text{EC}_{50}$ . Количество  $\text{SO}_4^{2-}$ , вносимого вместе с солями ТМ, составляло не более 22% от общего содержания сульфатов в питательной среде.

В подготовленные описанным выше образом экспериментальные варианты вносили культуру водоросли в объеме, обеспечивающем оптическую плотность образца 0,005 единиц.

Биотестирование выполняли в течение двух суток в многокуветном культиваторе УБ–01<sup>4</sup>, установленном в климатостат ВЗ<sup>5</sup>. Подготовленные образцы вносили в объеме 5,5 см<sup>3</sup> во флаконы объемом 10 см<sup>3</sup>, которые закрывали полиэтиленовыми пробками с отверстием для газообмена. Флаконы устанавливали в кассету культиватора. Вращение кассеты создавало равные световые ( $3000 \pm 500$  люкс, непрерывное освещение) и температурные ( $25 \pm 1$  °C) условия, а также газообмен с внешней воздушной средой для всех проб. При достижении 30-кратного увеличения биомассы клеток (через 45–48 часов после засева) измеряли оптическую плотность выросшей культуры водоросли на приборе ИПС–03<sup>6</sup> в кювете 2 см при длине волны 560 нм.

Все значения оптической плотности были выражены в процентах от соответствующих контролей. Для сравнительной оценки подавления роста водоросли двухвалентными металлами и Cr(VI) были рассчи-

таны их концентрации, вызывавшие 50%-е снижение прироста культуры водоросли ( $\text{EC}_{50}$ ) в соответствии с методикой<sup>7</sup>.

Каждый вариант, представляющий собой сочетание одной из четырех вариаций питательной среды и конкретной концентрации ТМ, содержал 4 повторности. Средние и медианные значения были рассчитаны по результатам двух и более независимых экспериментов. Нормальность распределения данных оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Статистическую значимость различий оценивали тестом Краскела-Уоллиса ( $p = 0,05$ ), в качестве апостериорного теста использовался критерий Манна-Уитни ( $p = 0,008$ ). Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 12 (StatSoft).

## Результаты

Прирост культуры водоросли *D. tertiolecta* в контрольных вариантах с разным уровнем сульфата различался незначительно. Оптическая плотность суспензии водоросли после культивирования в течение 45–48 часов составляла  $0,151 \pm 0,006$ ;  $0,158 \pm 0,008$ ;  $0,151 \pm 0,010$  и  $0,154 \pm 0,011$  для вариантов, содержащих 3,7, 0,74, 0,148 и 0,030 г/л сульфата натрия, соответственно. Для сравнительной оценки действия тяжелых металлов все значения оптической плотности далее были выражены в процентах по отношению к соответствующим контролям.

На рис. 1 представлены результаты экспериментов по воздействию хрома(VI) и меди(II) на прирост водоросли *D. tertiolecta* в вариантах полной питательной среды и средах с 5-, 25- и 125-кратным уменьшением количества  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (3,7; 0,74; 0,148 и 0,03 г/л сульфата натрия соответственно). Согласно полученным данным, подавление роста культуры водоросли при внесении хрома значительно усиливалось при понижении содержания сульфата натрия в среде. Так, концентрация Cr(VI) 9,54 мг/л в полной питательной среде вызывала снижение роста водоросли на 20%, тогда как в среде со 125-кратным уменьшением количества  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  прирост подавлялся в 20 раз (рис. 1а). В то же время воздействие каждой из исследованных концентраций ионов меди не зависело от содержания сульфата натрия в среде (рис. 1б).

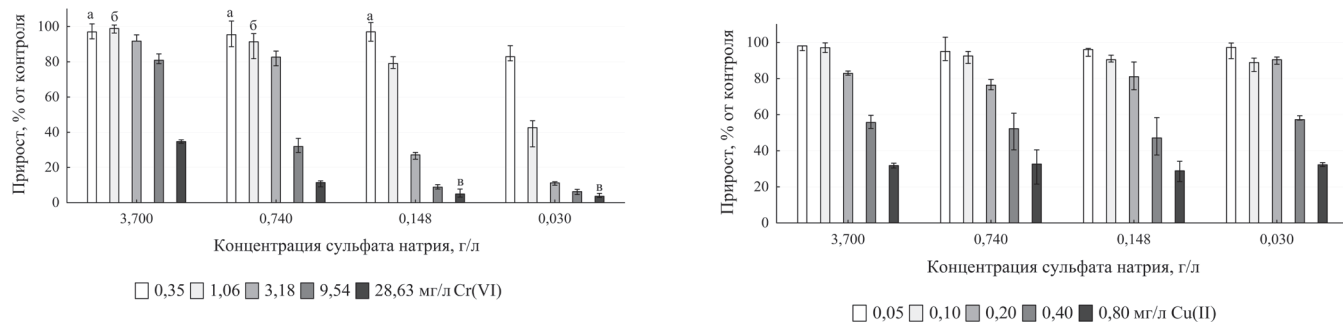
Токсические воздействия в модифицированных средах были исследованы также для Zn(II), Cd(II) и Co(II). Данные табл. 1 показывают, что при снижении содержания сульфата в среде в 5, 25 и 125 раз значе-

<sup>4</sup> ТУ 26.51.66–008–64091810–2022.

<sup>5</sup> ТУ 26.51.70–004–64091810–2019.

<sup>6</sup> ТУ 26.70.23–001–64091810–2019.

<sup>7</sup> ПНД Ф Т 14.1:2:4.16-09, Т 16.1:2:3:3.14-09. Токсикологические методы контроля. Методика измерений относительного показателя замедленной флуоресценции культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) для определения токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек из грунтов, почв, осадков сточных вод, отходов производства и потребления.



**Рис. 1.** Прирост культуры водоросли *Dunaliella tertiolecta* Butcher (1959) в средах с различным уровнем  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  при внесении  $\text{Cr(VI)}$  и  $\text{Cu(II)}$ . Все данные выражены в процентах от соответствующих контролей и представлены медианными значениями с 25 и 75% перцентилями. Статистически значимыми являются различия между приростами культуры при равных концентрациях  $\text{Cr(VI)}$  и разных уровнях сульфат-иона, не обозначенные одинаковой буквой. Статистически значимые различия между вариантами, содержащими равное количество  $\text{Cu(II)}$ , в 4 вариациях питательной среды не обнаружены. Для значимых различий  $p < 0,008$  по критерию Манна-Уитни.

Табл. 1

Значения  $\text{EC}_{50}$  (мг/л) в среде Гольдберга с различным уровнем  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 

Токсикант	Концентрация сульфата натрия в среде, г/л			
	3,7	0,74	0,148	0,030
Cr(VI)	21,32	6,04	2,01	0,74
Cu(II)	0,54	0,57	0,51	0,50
Zn(II)	3,80	4,10	3,80	–
Cd(II)	7,40	3,90	6,30	–
Co(II)	22,00	17,00	18,00	–

Примечание. – нет данных.

ния  $\text{EC}_{50}$  уменьшались в 3,5, 10,6 и 28,8 раза соответственно для  $\text{Cr(VI)}$  и практически не изменялись в случае воздействия меди, цинка, кадмия и кобальта. Таким образом, уменьшение концентрации сульфата натрия в среде приводило к значительному увеличению чувствительности *D. tertiolecta* к хрому и практически не влияло на чувствительность водоросли к двухвалентным ТМ. В целом полученные данные могут свидетельствовать о различных путях воздействия на клетки и детоксикации двух групп токсикантов (катионов  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и анионов  $\text{CrO}_4^{2-}$ ) при биотестировании.

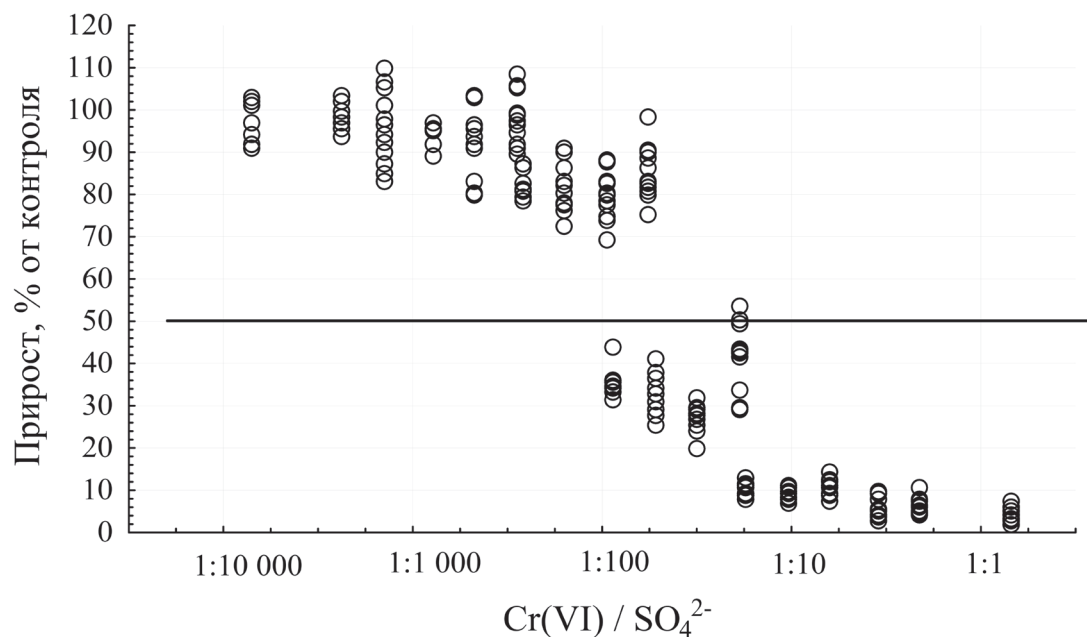
Универсальным подходом для сравнительного анализа данных по воздействию хрома на разные виды водорослей, культивируемых в средах различного состава, может являться предложенное G.F. Riedel [18] определение отношения концентраций  $\text{Cr(VI)}$  и сульфата, необходимого для устранения токсического эффекта соединений шестивалентного хрома. На рис. 2 представлены объединенные данные нашего исследования по зависимости прироста культуры *D. tertio-*

*lecta* от отношения концентраций хрома(VI) и сульфат-иона.

Распределение величин прироста свидетельствует о подавлении роста культуры на 50% и более при достижении соотношения  $\text{Cr(VI)} / \text{SO}_4^{2-}$  1:100, а началом токсического воздействия (подавление на 20%) можно считать пропорцию 1:1700.

## Обсуждение

В токсикологических экспериментах на водорослях повышенное содержание питательных элементов в среде может значительно влиять на результаты биотестирования и, как следствие, приводить к недооценке опасности тестируемых веществ [24]. Вместе с тем, количество макро- и микроэлементов должно обеспечивать экспоненциальный рост культур водорослей в заданном промежутке времени. Состав питательных сред, таким образом, должен отвечать двум во многом противоположным требованиям: поддержание не лимитированного роста культур и сохранение ими высокой чувствительности к токсикантам.



**Рис. 2.** Зависимость прироста культуры *D. tertiolecta* от отношения концентраций Cr(VI) и  $\text{SO}_4^{2-}$ . Горизонтальной линией обозначен уровень 50% подавления прироста водоросли

Исследование взаимодействия элементов среды и токсикантов должно учитывать третий компонент системы, представленный клеточной поверхностью [6]. Особенности строения клеточных стенок, являющихся защитным барьером, могут отчасти объяснять большие диапазоны чувствительности разных видов водорослей к одним и тем же токсикантам [15, 19, 20]. В то же время отдельные данные свидетельствуют о сравнительно низкой чувствительности к  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  водорослей рода *Dunaliella*, не обладающих клеточной стенкой. Так, среди пяти исследованных видов *D. bioculata* была наименее чувствительной к бихромату калия [15]. При оценке воздействия на рост культуры рассчитанное авторами значение  $\text{EC}_{50}$  составляло 77 мг/л  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  [15], что соответствует нашему значению 60,3 мг/л (21,3 мг/л в пересчете на хром) для *D. tertiolecta* (табл. 1). Следует отметить, что данные для *D. bioculata* были получены при выращивании и проведении экспериментов в среде, приготовленной с использованием природной морской воды соленостью 28‰, тогда как три из четырех других исследованных видов водорослей содержались в среде соленостью 20‰ [15]. В связи с этим прояснения требует вопрос о том, что в большей степени определяло чувствительность водорослей к токсикантам – особенности вида или состав питательной среды. Так, известен факт снижения токсичности хрома при увеличении солености воды [20]. Сходство значений  $\text{EC}_{50}$ , полученных в нашем исследовании и авторами К.О. Kusk и N. Nyholm [15], таким образом, может свидетельствовать о применении близких по составу сред (искус-

ственная морская вода 33‰ и природная морская вода 28‰ соответственно).

Большинство работ, посвященных токсическим воздействиям металлов на микроводоросли и высшие растения, в основном касаются катионов ТМ [3, 23, 24]. Как показали результаты проведенных нами экспериментов (рис. 1, табл. 1), одинаковые модификации питательной среды по-разному определяли токсические воздействия двух групп токсикантов. В первой группе находятся соединения двухвалентных ТМ ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$ ). Ко второй группе, по-видимому, относятся соединения элементов с высокой степенью окисления, например Mo(VI), Cr(VI) и V(V), присутствующие в водной среде преимущественно в виде оксианионов ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{VO}_3^-$ ) [2]. Увеличение концентрации  $\text{SO}_4^{2-}$  при сохранении общей солености среды вызывало снижение подавляющего воздействия Cr(VI) на рост культуры *D. tertiolecta*, однако не влияло на проявление токсичных свойств соединений  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$  (табл. 1). Полученные данные могут свидетельствовать о неоднозначности защитной роли сульфатов среды при воздействии токсикантов в катионных и анионных формах. Вместе с тем, для подтверждения данного предположения необходимы дальнейшие исследования с привлечением соединений других металлов в высоких степенях окисления.

Начало исследований механизмов взаимодействия хромата и сульфата с клетками микроводорослей было связано с обнаружением снижения токсичности Cr(VI) при увеличении солености среды в отношении

многих организмов [20]. Позже исследования в области биоремедиации показали, что поглощение Cr(VI) микроводорослями значительно снижалось при увеличении солености среды [10]. В 1984 году G.F. Riedel отмечал, что в морской среде шестивалентный хром относительно нетоксичен по сравнению с пресноводными системами [18]. Тогда же было предложено несколько механизмов, объясняющих данный эффект: 1) повышенная солёность могла снижать активность токсических веществ вследствие увеличения ионной силы; 2) возможное снижение активности токсичных форм через реакции комплексообразования; 3) какие-либо ионы, связанные с увеличением солености, щелочности или жесткости, могли влиять на токсический эффект Cr(VI) через биохимические пути [20].

Последний из трех описанных механизмов согласуется с предложенным в 1974 году объяснением токсичности оксианиона хрома ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ), согласно которому хромат, «маскируясь под сульфат», мешает процессу поглощения серы клеткой [16, 18, 20]. Возможные взаимодействия и взаимозамещения  $\text{SO}_4^{2-}$  и  $\text{CrO}_4^{2-}$ , таким образом, рассматриваются как результат схожести размера, формы и заряда этих анионов [13, 17, 20].

Поглощение сульфата клетками водорослей является активным процессом, вовлекающим специфические транспортные каналы, а внутриклеточное содержание  $\text{SO}_4^{2-}$  регулируется при варьировании внешней концентрации этого иона [18]. В связи со схожестью строения  $\text{SO}_4^{2-}$  и  $\text{CrO}_4^{2-}$  эти соединения могут конкурировать за одни и те же транспортные каналы [13]. Известны случаи как ингибирования поглощения сульфата хроматом, так и наоборот, снижения поглощения хромата при увеличенном содержании сульфата [12, 18]. Очевидно, что преимущественное поглощение клетками тех или иных ионов будет зависеть от соотношения их количеств в среде. В этой связи в качестве удобного показателя может использоваться отношение концентраций Cr(VI)/ $\text{SO}_4^{2-}$  [18]. При нахождении указанной пропорции в диапазоне 1:10–10:1 хромат ингибировал поглощение сульфата водорослями и высшими растениями [18]. При обнаруженном отношении хрома/сульфата 1:500 для диатомовой водоросли *Thalassiosira pseudonana* ингибирование роста культуры авторы связали не с дефицитом серы, а с обратимой конкуренцией за поглощение серы и токсичного хрома [18]. Выявленные нами значения Cr(VI)/ $\text{SO}_4^{2-}$  составляли 1:100 и 1:1700 на уровне 50 и 20% ингибирования роста культуры *D. tertiolecta* соответственно (рис. 2). Согласно G.F. Riedel [18], такие низкие значения отношения могут свидетельствовать в пользу токсичного воздействия хрома на внутриклеточном уровне, а не дефицита сульфата, необходимого для метаболических процессов клеток. Недостаток серы мог иметь место при соотношении Cr(VI)/ $\text{SO}_4^{2-}$  1:10 и 1:1 (рис. 2), где подавление роста водоросли со-

ставляло 90% и более. Однако нам представляется более вероятной гибель клеток от прямого токсического воздействия хрома при таких относительно высоких концентрациях бихромата калия.

Известно, что в присутствии тяжелых металлов водоросли реализуют несколько стратегий выживания, включающих процессы биосорбции, биоаккумуляции и биотрансформации [13]. Изучением указанных механизмов активно занимаются в целях разработки методов биоремедиации [9, 10, 12, 13, 17]. Вместе с тем, знания из этой области имеют большое значение и для экотоксикологии, поскольку могут прояснить зависимости токсических воздействий исследуемых веществ как от особенностей самих организмов, так и свойств среды. Показано, что увеличение содержания анионов (сульфата, хлора, фосфата) в среде приводило к снижению биосорбции Cr(VI) массой мертвых клеток микроводорослей [12]. Авторами данного исследования высказано предположение о конкуренции анионов у центров адсорбции на клеточной стенке [12]. Вместе с тем, другие исследования указывают на наличие конкуренции хромата и сульфата за одни и те же транспортные каналы [13, 14, 17, 21, 24]. Так, в частности, повышенный уровень  $\text{SO}_4^{2-}$  снижал ингибирование хроматом роста двух видов ряски [7] и препятствовал проникновению Cr(VI) внутрь клеток ряски *Spirodela polyrhiza* [14]. Чувствительность к хромату 10 видов фитопланктона также коррелировала с содержанием сульфата в среде [19]. Ввиду того факта, что клетки *Dunaliella* лишены клеточной стенки, конкурентный транспорт хромата через сульфат-специфичные каналы может являться основным механизмом изменения его токсичности в модифицированных средах. Тем не менее, существуют другие процессы, предположительно ответственные за снижение токсического воздействия Cr(VI) на микроводоросли. Среди них можно выделить восстановление шестивалентного хрома до менее токсичной формы Cr(III) как в околочелочном пространстве, так и внутри клетки [8, 9]. Вопрос о том, в какой мере эти механизмы реализуются в культуре *D. tertiolecta*, требует дальнейших исследований.

## Выводы

Степень ингибирования прироста культуры водоросли *D. tertiolecta* бихроматом калия зависела от содержания сульфата в питательной среде.

Значения  $\text{EC}_{50}$  Cr(VI) составляли 21,32, 6,04, 2,01 и 0,74 мг/л в исходной среде Гольдберга и средах с уменьшенной в 5-, 25- и 125 раз концентрацией  $\text{SO}_4^{2-}$  соответственно.

Пониженное содержание сульфата в питательной среде не вызывало усиления ингибирующего воздействия соединений Cu(II), Cd(II), Zn(II) и Co(II) на рост *D. tertiolecta*.

## Литература

## Список русскоязычной литературы

1. Артына НК, Григорьев ЮС, Стравинскене ЕС. Влияние сульфат-иона на чувствительность водоросли *Dunaliella tertiolecta* к бихромату калия. В кн.: Безкоровайная ИН, Мучкина ЕЯ, Гетте ИГ (ред.). Интеграция науки и образования: современные проблемы, достижения и инновации в области экологии и устойчивого развития. Красноярск: СФУ; 2022. С. 13-5.
2. Линник ПН, Набиванец БИ. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. Ленинград: Гидрометеиздат; 1986.
3. Маркина ЖВ, Огнистая АВ, Зинов АА. Влияние тяжелых металлов на динамику численности и флуоресцентные характеристики *Prorocentrum foraminosum* (Dinophyta). Российский журнал прикладной экологии. 2023;(33):61-8.
4. Масюк НП. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. и перспективы его практического использования. Киев: Наукова думка; 1973.
5. Стравинскене ЕС, Григорьев ЮС, Шашкова ТЛ, Субботин МА, Полосухина МА. Влияние состава питательной среды на чувствительность водоросли *Dunaliella tertiolecta* к бихромату калия. Теоретическая и прикладная экология. 2021;(3):186-92.
6. Фокина АИ, Ашихмина ТЯ, Домрачева ЛИ, Горностаева ЕА, Огородникова СЮ. Тяжелые металлы как фактор изменения метаболизма у микроорганизмов (обзор). Теоретическая и прикладная экология 2015;(2):5-18.
4. Masyuk NP. Morfologiya, Sistematika, Ekologiya, Geograficheskoye Rasprostraneniye Roda *Dunaliella* Teod. i Perpektivy Yego Prakticheskogo Ispolzovaniya. [Morphology, Systematics, Ecology, and Geographical Distribution of the Genus *Dunaliella* Teod. and Prospects for Its Practical Use]. Kiev: Naukova dumka; 1973. (In Russ.)
5. Stravinskene YeS, Grigoriev YuS, Shashkova TL, Subbotin MA, Polosuhina MA. [Effect of culture medium composition on *Dunaliella tertiolecta* sensitivity to potassium dichromate]. *Teoreticheskaya i Prikladnaya Ekologiya* 2021;(3):186-92. (In Russ.)
6. Fokina AI, Ashihmina TYa, Domracheva LI, Gornostayeva EA, Ogorodnikova SYu. [Heavy metals as a factor of microorganisms metabolism changes (review)]. *Teoreticheskaya i Prikladnaya Ekologiya* 2015;(2):5-18. (In Russ.)
7. Appenroth KJ, Luther A, Jetschke G, Gabrys H. Modification of chromate toxicity by sulphate in duckweeds (Lemnaceae). *Aquat Toxicol.* 2008;89(3):167-71.
8. Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Guzmán JC, Moreno-Sánchez R. Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol Rev.* 2001;25:335-47.
9. Danouche M, El Ghachtouli N, El Arroussi H. Phycoremediation mechanisms of heavy metals using living green microalgae: physicochemical and molecular approaches for enhancing selectivity and removal capacity. *Heliyon* 2021;7:e07609.
10. Dönmez G, Aksu Z. Removal of chromium(VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species. *Process Biochem.* 2002;38:751-62.
11. Gomes MA, Hauser-Davis RA, Suzuki MS, Vitória AP. Plant chromium uptake and transport, physiological effects and recent advances in molecular investigations. *Ecotoxicol Environ Safety* 2017;140:55-64.
12. Han X, Wong YS, Wong MH, Tam NFY. Effects of anion species and concentration on the removal of Cr(VI) by a microalgal isolate, *Chlorella miniata*. *J Hazard Mater.* 2008;158:615-20.
13. Jobby R, Jha P, Yadav AK, Desai N. Biosorption and biotransformation of hexavalent chromium [Cr(VI)]: A comprehensive review. *Chemosphere* 2018;207:255-66.
14. Kaszycki P, Gabrys H, Appenroth KJ, Jaglarz A, Sedziwy S, Walczak T, Kołoczek H. Exogenously applied sulphate as a tool to investigate transport and reduction of chromate in the duckweed

## Общий список литературы/Reference List

1. Artyna NK, Grigoriev YuS, Stravinskene YeS. [Effect of sulfate ion on the sensitivity of the alga *Dunaliella tertiolecta* to potassium dichromate]. In: Bezkorovajnaya IN, Muchkina EYa, Gette IG, eds. *Integratsiya Nauki i Obrazovaniya: Sovremennye Problemy, Dostizheniya i Innovatsii v Oblasti Ekologii i Ustoychivogo Razvitiya*. Krasnoyarsk: SFU; 2022. P. 13-5. (In Russ.)
2. Linnik PN, Nabivanets BI. [Forms of metal migration in fresh surface waters]. *Leningrad: Gidrometeoizdat; 1986.*
3. Markina ZhV, Ognistaya AV, Zinov AA. [Influence of heavy metals on the abundance, dynamics and fluorescent characteristics of *Prorocentrum foraminosum* (Dinophyta)]. *Rossiyskiy Zhurnal Prikladnoy Ekologii* 2023;(33):61-8. (In Russ.)

- Spirodela polyrhiza*. Plant Cell Environ. 2005;28:260-8.
15. Kusk KO, Nyholm N. Toxic effects of chlorinated organic compounds and potassium dichromate on growth rate and photosynthesis of marine phytoplankton. Chemosphere 1992;25(6):875-86.
  16. Pankow JF, Janauer GE. Analysis for chromium traces in natural waters. Part I. Preconcentration of chromate from p.p.b. levels in aqueous solutions by ion exchange. Analyt Chim Acta 1974;69:97-104.
  17. Pradhan D, Sukla LB, Sawyer M, Rahman PKSM. Recent bioreduction of hexavalent chromium in wastewater treatment: A review. J Indust Engineer Chem 2017;55:1-20.
  18. Riedel GF. The relationship between chromium(VI) uptake, sulfate uptake, and chromium(VI) toxicity in the estuarine diatom *Thalassiosira pseudonana*. J Phycol. 1984;20:496-500.
  19. Riedel GF. Interspecific and geographical variation of the Chromium sensitivity of algae. In: Suter C, Lewis M, eds. Aquatic Toxicology and Hazard Assessment. Eleventh Symposium; 1988 Sep 1007. Philadelphia: American Society for Testing and Materials; 1988. P. 537-48.
  20. Riedel GF. The relationship between chromium(VI) uptake, sulfate uptake, and chromium(VI) toxicity in the estuarine diatom *Thalassiosira pseudonana*. Aquat Toxicol. 1985;7:191-204.
  21. Sardella A, Marieschi M, Mercatali I, Zanni C, Gorbi G, Torelli A. The relationship between sulfur metabolism and tolerance of hexavalent chromium in *Scenedesmus acutus* (Spheropleales): Role of ATP sulfurylase. Aquat Toxicol. 2019;216:105320.
  22. Singh S, Kumar Naik TSS, Chauhan V, Shehata N, Kaur H, Dhanjal DS, Aguilar Marcelino L, Bhati S, Subramanian S, Singh J, Ramamurthy PC. Ecological effects, remediation, distribution, and sensing techniques of chromium. Chemosphere 2022;307:135804.
  23. Wallen DG. Adaptation of the growth of the diatom *Fragilaria crotonensis* (Kitton) and the phytoplankton assemblage of Lake Erie to chromium toxicity. J Great Lakes Res. 1996;22(1):55-62.
  24. Wang WX, Dei RCH. Influences of phosphate and silicate on Cr(VI) and Se(IV) accumulation in marine phytoplankton. Aquat Toxicol. 2001;52:39-47.

