

Биомаркеры соленостного стресса формирующих вредоносные цветения инвазийных динофлагеллят *Prorocentrum minimum*

Научный руководитель – Филатова Наталия Алексеевна

Печковская Софья Александровна

Выпускник (магистр)

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: sapechkovskaya@gmail.com

Впервые потенциально токсичный вид планктонных одноклеточных динофлагеллят *Prorocentrum minimum* был зафиксирован в водах Балтийского моря в 1980-х годах, где в последние годы он практически вытеснил родственный вид-абориген *P. balticum* и начал регулярно формировать вредоносные цветения, наносящие ущерб окружающей среде и экономике прибрежных регионов. Интенсивное изучение этих протистов до сих пор не привело к четкому пониманию биохимических и физиологических процессов, обеспечивающих их успешное распространение в зоне низкой солености. Биомаркеры соленостного стресса являются важнейшими характеристиками, указывающими на стрессовое воздействие факторов окружающей среды на клетку, приводящее к молекулярным и клеточным повреждениям и генетическим альтерациям. Критическая соленость воды (5-8‰), или хорогалиникум, Балтийского моря является нижней границей распространения морской фауны и служит мощным стрессором для морских видов-вселенцев. В данной работе было исследовано влияние соленостного стресса на жизнеспособность, клеточный цикл, синтез РНК и ДНК и синтез белка-шаперона HSP32 в клетках *P. minimum*.

Для экспериментальных целей клетки, растущие при постоянной солености 17‰ (контроль), переводили в условия солености 4, 8 или 35‰. Методом проточной цитометрии установлено, что при 8‰ выживаемость клеток достигала максимальных значений (73,6%) а при 4‰ и 35‰ была значительно ниже (33,3% и 53,7% соответственно). Анализ параметров клеточного цикла показал, что доля клеток в G0/G1-фазе не менялась при переводе в соленость 8‰ или 35‰, а доля клеток в S-фазе увеличивалась за счет сокращения количества клеток в G2/M-фазе.

Уровень синтеза ДНК и РНК определяли по включению в клетки ³H-тимидина и ³H-уридина соответственно. В условиях гипоосмотического стресса наиболее значимое увеличение синтеза ДНК и РНК наблюдали при 8‰ (в 2,7 и 2,0 раз соответственно). При гиперосмотическом стрессе (35‰) синтез нуклеиновых кислот не изменялся. Цитометрический анализ показал, что гипоосмотический стресс (8‰) приводил к увеличению количества клеток, экспрессирующих белок HSP32, в 2,6 раза по сравнению с контролем.

В условиях наших экспериментов изменение клеточного цикла за счет увеличения количества клеток в S-фазе, значительное повышение уровней синтеза ДНК и РНК, увеличение числа клеток, экспрессирующих шаперон HSP32 могло служить своеобразным биомаркером стресса, обусловленным изменением солености при вселении вида в олигогалинные воды Балтийского моря. Максимальная активизация всех процессов наблюдалась при 8‰. Дальнейшее выявление и количественная оценка причинно-следственных связей между внутриклеточными процессами-биомаркерами и стресс-факторами среды могли бы способствовать лучшему пониманию тонких механизмов, обеспечивающих сложные реакции на стресс, лежащие в основе эффективных адаптационных стратегий эукариотных микроорганизмов в природе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-14-00109) на базе Института цитологии РАН.