

Assessment of the toxic effects of the herbicides atrazine and glyphosate on the phytoplankton community of the Black Sea

Original Article

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Solomonova E.S. *, Shoman N.Yu., Akimov A.I.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia

ABSTRACT. The impact of glyphosate and atrazine herbicides on the growth and photosynthetic activity of the Black Sea phytoplankton community in spring was assessed. It has been shown that atrazine is more toxic to phytoplankton than glyphosate. The size structure of the phytoplankton community is an important factor determining its sensitivity to herbicide exposure. Pico-phytoplankton is more sensitive to pollutants than micro-nano-phytoplankton. Atrazine inhibits phytoplankton growth after 24 hours of exposure, with the greatest negative impact on pico-phytoplankton ($EC_{50} = 16 \mu\text{g/L}$). Micro-nano-phytoplankton exhibits high resistance to atrazine ($EC_{50} = 22\text{--}32 \mu\text{g/L}$). Unlike atrazine, glyphosate has a delayed effect on microalgae. For micro-nano-phytoplankton, the effect of glyphosate exposure is observed after 4 days. Pico-phytoplankton reacts quickly to glyphosate: on the 3 day at $50 \mu\text{g/L}$, a two-fold decrease in abundance was recorded. The use of pico-phytoplankton as a bioindicator for monitoring aquatic ecosystems and fluorescence parameters as early stress markers is recommended. Safe concentrations of atrazine and glyphosate for aquatic ecosystems do not exceed 5 and $10 \mu\text{g/L}$, respectively.

Keywords: phytoplankton, bioindication, photosynthesis, pollutants, herbicides, atrazine, glyphosate

For citation: Solomonova E.S., Shoman N.Yu., Akimov A.I. Assessment of the toxic effects of the herbicides atrazine and glyphosate on the phytoplankton community of the Black Sea // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - P. 644-658. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-644

1. Introduction

Xenobiotics are foreign compounds that induce various responses in microalgae cells, ranging from damage to intracellular components to complete death. The demand for herbicides is growing every year, and their widespread and uncontrolled use leads to an increase in the concentration of this group of pollutants in the aquatic environment. In turn, the physiological and biochemical similarities between algae and terrestrial plants increase the potentially dangerous risks for phototrophic oxygen-producing microorganisms. An increase in the concentration of herbicides in the aquatic environment can lead not only to the suppression of algal growth, but also to the disruption of the functional stability of ecosystems as a whole.

It has previously been shown that when certain types of algae are grown in media containing herbicides, their growth and photosynthetic activity are suppressed, the production of reactive oxygen species increases, and other physiological functions are disrupted (Wang et al., 2016; Narayanan et al., 2024). The phosphonate herbicide glyphosate (N-(phosphonomyl)

glycine) is the main active ingredient in Roundup™ and the most widely used chemical herbicide worldwide (Duke and Powles, 2008). Glyphosate is a broad-spectrum herbicide that acts as an analogue of glycine, inhibiting the synthesis of aromatic amino acids acting on 5-enolpyruvylshimase-3-phosphate (EPSP) synthase (Steinrücken and Amrhein, 1980). We have previously shown that the effect of glyphosate on individual planktonic microalgae species is quite species-specific (Solomonova et al., 2024). The addition of glyphosate to the culture medium can have both positive effects (as a source of nutrients due to the release of organic phosphorus) and negative effects (as a toxic compound) (Ilikchyan, 2009; Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024).

Atrazine (2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-s-triazine) is also one of the most commonly used agricultural herbicides and is present in sufficient quantities in surface waters. The main action of atrazine is aimed at inhibiting plant photosynthesis (Graymore et al., 2001). This herbicide blocks the flow of electrons between photosystem II (PSII) and photosystem I (PSI) by reversibly binding to plastoquinone electron carrier,

*Corresponding author.

E-mail address: solomonov83@mail.ru (E.S. Solomonova)

Received: July 31, 2025; **Accepted:** August 20, 2025;

Available online: August 31, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



which stops the production of NADPH and ATP necessary for the Calvin cycle and also leads to photooxidative stress in cells containing chlorophyll (Forney and Davis, 1981; Hess, 2000). In addition, atrazine has relatively low affinity for organic carbon in soil, is moderately soluble in water, and can persist in field conditions for several months after application (Solomon et al., 1996; Giddings, 2005). The study (El-Sheekh et al., 1994) showed that sublethal concentrations of atrazine induced general inhibition of growth, photosynthesis, and dark respiration in the green alga *Chlorella kessleri*. They also led to a progressive decrease in protein synthesis and affected the composition of polyunsaturated fatty acids.

An additional significant aspect that hinders an adequate assessment of the impact of herbicides on algae is the lack of data on the functioning of phytoplankton in natural aquatic ecosystems contaminated with these pollutants. Most of the available experimental data was obtained by working with individual representatives of phototrophic microorganisms from different systematic groups under various cultivation conditions in laboratory conditions. This limits the ability to transfer the results obtained to complex ecosystems, where the interaction between organisms and the external environment is more complex (Stauber and Davies, 2000).

In this regard, the aim of the study was to assess the impact of glyphosate and atrazine herbicides on the growth and photosynthetic activity of the phytoplankton community in the Black Sea.

2. Materials and research methods

2.1. Sampling and experimental conditions

Seawater samples were collected in a 10-liter polycarbonate tank from the surface layer (0-10 m) at a station located on the Sevastopol coast between Karantinnaya and Sevastopol bays (Sevastopol, Black Sea 44°38' N, 33°33' E) in March 2025. Then it was immediately delivered to the laboratory, where the water was filtered through a nylon mesh with a mesh size of 300 µm to remove mesozooplankton. At the time of sampling, the water surface temperature was 10°C, and the intensity of photosynthetically active radiation (PAR) on the sea surface was 13 E m⁻²/day (LI-COR Light level meter LI-1500 with LI-190R Quantum sensors, USA). The content of dissolved inorganic nitrogen was within the range of 3 ÷ 3.2 µmol/L, and that of dissolved inorganic phosphorus was about 0.5 µmol/L.

The toxicological test was conducted by creating artificial model microcosms of algal communities. For this purpose, the filtered seawater under investigation was transferred to 250 mL glass flasks and solutions of toxicants were added. The samples were incubated inside a refrigeration camera equipped with an LED light source (the flasks were illuminated from below) and internal ventilation. The original temperature relay was disabled and replaced with an electronic controller that allows the cooling or heating mode to be adjusted with an accuracy of ±0.1 °C. During the experiment,

the temperature in the camera was maintained at 10°C. The samples were cultivated at an illumination of 150 µE/m²/s and a light-dark cycle of 12:12 hours. The abiotic conditions set in the experiments were similar to those recorded at the time of sampling. The experiment lasted 10 days. The 10-day period allowed to assess the acute response of the phytoplankton community to the effects of atrazine and glyphosate, as microalgae have a short generation time and respond quickly to changes in growth conditions. Samples for cytometric and PAM fluorometric analysis were collected on days 2, 3, 4, 7, 9, and 10 of the experiment.

Chemically pure herbicides glyphosate (CAS 1071-83-6 inStockChinaSolarbio, 95%) and atrazine (CAS 1912-24-9 ChinaSolarbio, 97%) obtained from MolecuLab (Russia) were used as toxicants. Toxicant solutions were prepared from stock solutions of glyphosate and atrazine. In the test flasks, the glyphosate addition was 0, 10, 50, 250 µg/L, and the atrazine addition was 0, 10, 20, 25, and 100 µg/L, respectively. Herbicide concentrations were selected based on the results of our own preliminary studies (data not shown) and previously obtained results (Caux and Kent, 1995; Solomon et al., 1996; Solomonova et al., 2024). Samples without toxicants were used as control. Each experimental variant was duplicated in three replicates.

2.2. Research methods

The abundance of pico- (cell size 0.2–2 µm) and micro-nano phytoplankton (cell size 2–20 µm) was determined using a MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany), equipped with three lasers (405 nm, 488 nm, 635 nm). Cytometric analysis of samples was performed in the Collective Use Center "Spectrometry and Chromatography" of A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas Russian Academy of Sciences (IBSS). The FSC Express 7 Research Edition software was used for data processing. Microalgae cell populations were identified on cytometric scatter plots based on forward scatter (FS) and autofluorescence of individual cells in the red (FL4, 675 nm) region of the spectrum, as shown in Figure 1. Orange fluorescence of phycoerythrin (FL2, 575 nm) was used to identify clusters of picocyanobacteria of the genus *Synechococcus* (Mukhanov et al., 2016). These groups form clusters on cytograms, which are characterized by a high content of phycoerythrin and its absence in picoplankton phytoplankton (Fig. 1b). However, on the second day of the experiment, this group of microorganisms was not identified on cytograms and was excluded from further analysis of the data obtained.

The fluorescence of the algae pigment complex was measured using a Mega-25m fluorometer with pulse modulation of the excitation light at a wavelength of 455 nm (Gene and Cell Therapy LLC, Russia) (Pogosyan et al., 2009). All fluorescence parameters were determined in the red region of the spectrum at a wavelength of 680 nm. Before measurement, the samples were kept in darkness for 15 minutes. After the dark adaptation period, the parameters F_0 and F_m

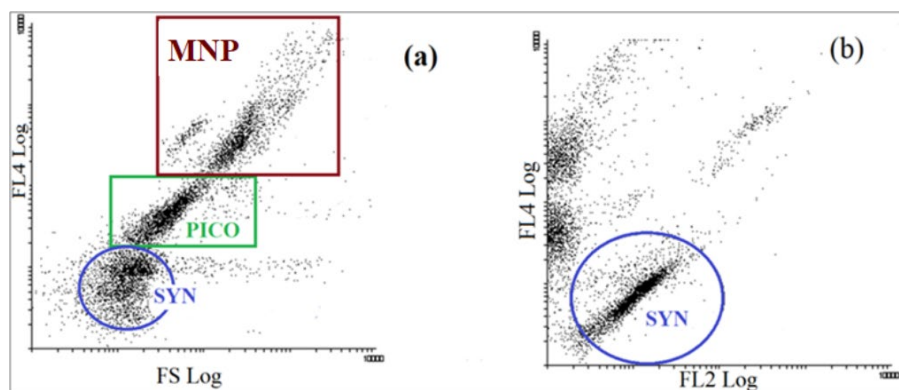


Fig.1. Identification of Black Sea phytoplankton clusters obtained using flow cytometry: pico- (PICO), micro-nano- phytoplankton (MNP), cyanobacteria of the genus *Synechococcus* (SYN) in the space of variables of forward light scattering (FSC-A (FS)) and red fluorescence (PerCP-Vio (FL4)) of chlorophyll (a). Phycoerythrin-containing cyanobacteria in the space of red fluorescence (PerCP-Vio (FL4)) and orange fluorescence ((PE-A (FL2)) variables (b).

were measured, where F_0 is the fluorescence value of chlorophyll *a* at open reaction centers, measured 2.5 μ s after the start of irradiation with an intensity of 5000 μ E/m²/s (pulse frequency 16 Hz); F_m is the maximum fluorescence of chlorophyll *a* at closed reaction centers, measured 1s after the start of irradiation with an intensity of 5000 μ E/m²/s (pulse frequency 80 Hz).

Relative variable fluorescence (F_v/F_m), which characterizes the maximum quantum efficiency of light energy utilization, was calculated using the formula:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}.$$

The relative electron transport rate (rETR) at a given constant light intensity I was calculated using the formula:

$$rETR = \frac{F'_m - F'_0}{F'_m} \cdot I,$$

where: F'_m – maximum fluorescence of chlorophyll *a* under constant illumination; F'_0 – zero fluorescence of chlorophyll *a* under constant illumination; I – intensity of constant illumination 500 μ E/m²/s.

2.3. Statistical analysis

Statistical data processing was performed using standard software packages Microsoft Excel 7.0 (Microsoft Office) and Grapher-16 (Golden Software). The values presented in the graphs and table rep-

resents the average of three measurements. The bars in the graphs represent the standard deviations of the described values. The reliability of the differences between samples was assessed using Tukey's HSD test with a significance level of $p < 0.05$. EC_{50} values were calculated by interpolating the curves of cell number changes from pollutant concentration in relation to the control group without pollutant.

3. Results and Discussion

3.1. The effect of atrazine and glyphosate on the growth of the phytoplankton community.

The addition of toxicants to experimental microcosms led to changes in the abundance and functional state of phototrophic microorganisms. Figures 2 and 3 show the dynamics of pico- and micro-nanophytoplankton abundance depending on the concentration of atrazine and glyphosate. The results showed that atrazine is more toxic to both size groups of algae. Suppression of algae population growth rates was observed at 10 μ g/L of herbicide. At higher concentrations of the pollutant, its toxic effect on pico- and micro-nano phytoplankton increased. On the 2 day of the experiment, a twofold decrease in MNP abundance relative to the control was observed at an atrazine concentration of 32 μ g/L (EC_{50}). On days 3 and 4 of the experiment, the value of this parameter was 26 and 22 μ g/L, respectively.

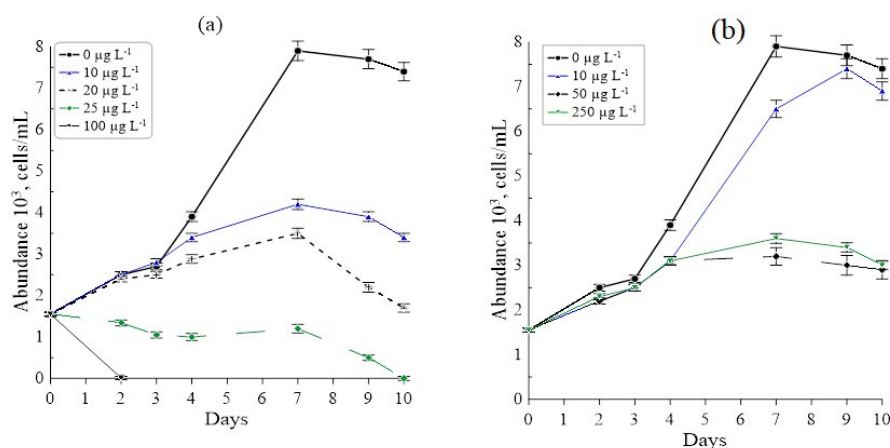


Fig.2. Effect of the herbicides atrazine (a) and glyphosate (b) on the growth of micro-nano- phytoplankton.

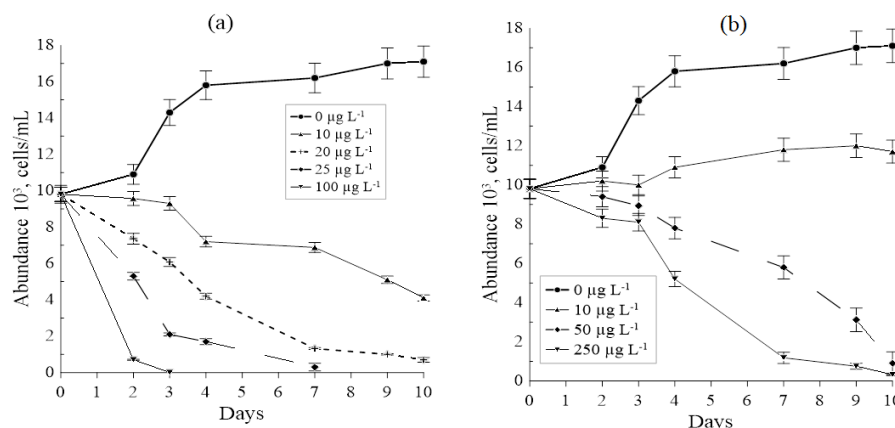


Fig.3. Effect of the herbicides atrazine (a) and glyphosate (b) on the growth of picoeukaryotic phytoplankton.

The addition of glyphosate did not result in statistically significant differences in MNP growth at the initial stage of the experiment (1-3 days) (Tukey's HSD test, $p < 0.05$). On day 4, the number of cells in samples with glyphosate decreased by 20% relative to the control. However, at 10 µg/L of glyphosate, MNP growth recovered, indicating that the cells had adapted to the changed growth conditions. It is possible that the mineralization of glyphosate by the bacterial community contributed to the further development of micro-nano-phytoplankton under the given conditions. At 50 and 250 µg/L of glyphosate, this effect was not observed; on the contrary, cell division stopped when algae were further cultivated under these conditions. The EC_{50} value was calculated on the 7th day of cultivation and amounted to 28 µg/L.

The picofraction of phytoplankton showed greater sensitivity to the action of the herbicides studied compared to MNP. As shown in Figure 3, the growth of pico-phytoplankton was significantly inhibited by atrazine in a dose-dependent manner. At herbicide concentrations of 10, 20, 25, and 100 µg/L on the 2 day of the experiment, the pico-phytoplankton content decreased by approximately 12% ± 2%, 33% ± 3%, 51% ± 3%, and 94% ± 5% compared to the native sample, indicating the acute toxicity of atrazine to the pico-phytoplankton community. Further cultivation of pico-phytoplankton under these conditions led to its death. On the 3 day of exposure, the EC_{50} was 16 µg/L for this size group.

The addition of glyphosate also led to a sharp decrease in the abundance of pico-phytoplankton on the 3 day of the experiment. At 10 µg/L of glyphosate, picoplankton algae stopped growing. No statistically significant changes in cell numbers were observed during further cultivation of algae under these conditions (Tukey's HSD test, $p < 0.05$). At 50 and 250 µg/L of glyphosate, a progressive increase in inhibition was observed. The EC_{50} calculated for 4 days of cultivation was 50 µg/L.

Analysis of literature data showed that the concentration of atrazine in biosamples from various areas of the World Ocean ranges from 20 to 600 µg/L, remaining in the water column for 1 hour to 10 days (Solomon et al., 1996; Graymore et al., 2001; Nödler et al., 2013). The EC_{50} calculated in our experiment on the second day for MNP is 32 µg/L, which is at the lower

limit of concentrations recorded in the natural environment, thus representing a reasonable and realistic level of exposure for phytoplankton in the Black Sea. In studies (Jüttner et al., 1995; Bérard and Benninghoff, 2001; Knauert et al., 2008), it was noted that the presence of atrazine in water leads to shifts in the species composition of phytoplankton, which contributes to changes in competitive hierarchies. The authors of the study (Pinckney et al., 2002) concluded that dinoflagellates are more resistant to atrazine than diatom microalgae. The presence of glyphosate in aquatic ecosystems not only inhibits the growth of microalgae or eliminates certain species (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024), but also affects the structure of the microbial community (Pérez et al., 2007; Vera et al., 2012). The species structure of the community shifts from green and diatom algae sensitive to glyphosate to cyanobacteria resistant to glyphosate. The authors of the study (Lozano et al., 2018) show that periphyton exhibits greater resistance to this pollutant, as it is less susceptible to its active ingredients and commercial compositions than planktonic microalgae.

We found that herbicides inhibit the picofraction of phytoplankton more significantly. This may be due to the smaller size of PE cells and, as a result, the larger surface-to-volume ratio of the cells (Echeveste et al., 2010a). In addition, small-cell algae have limited resources for detoxification, in particular, reduced compensatory mechanisms, reduced nutrient reserves, and higher metabolic activity (Echeveste et al., 2010b). Such damage to the picofraction of phytoplankton poses a potential threat to aquatic ecosystems, leading to disruption of the microbial loop, changes in carbon flows, and restructuring of the entire trophic network.

3.2. The effect of atrazine and glyphosate on the photosynthetic activity of the phytoplankton community

Chlorophyll fluorescence parameters were determined for the entire phytoplankton community. The results obtained allowed us to identify the main trends in changes in the photosynthetic activity of the natural algal community under the influence of the studied toxicants (Figs. 4, 5). In the control sample (without the addition of pollutants), the quantum efficiency of pho-

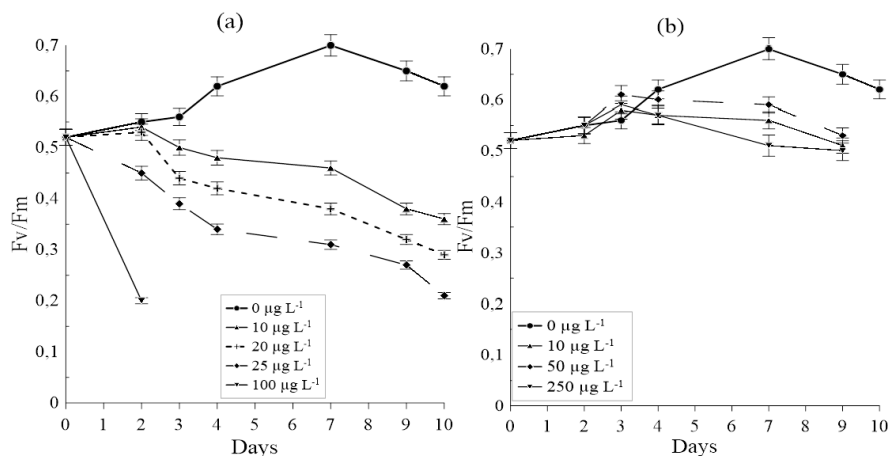


Fig.4. Effect of the herbicides atrazine (a) and glyphosate (b) on the efficiency of the photosynthetic apparatus of the natural phytoplankton community.

tosystem 2, characterized by the relative fluorescence variable (F_v/F_m), and the relative electron transport rate (rETR) were higher than 0.6 and 0.2, respectively, throughout the experiment. Such values indicate high photosynthetic activity of algae (Suggett et al., 2004).

When atrazine is added, direct inhibition of algal photosynthesis is observed through the blocking of PSII activity: a sharp drop in F_v/F_m and rETR values, as shown in Figures 4a and 5a. The obtained result confirms the results previously presented in the literature that atrazine is an inhibitor of photosystem II (PSII). Its molecule reversibly binds to the QB site of the D1 protein in PSII, blocking the transfer of electrons from plastoquinone (PQ) to the next acceptor, which leads to the cessation of NADPH and ATP synthesis in the light reactions of photosynthesis and the accumulation of reactive oxygen species (ROS) that cause oxidative stress in cells (Graymore et al., 2001).

Changes in the photosynthetic parameters of the phytoplankton community under the influence of glyphosate correlated with the growth characteristics of algae. At the initial stage of cultivation, this herbicide did not have a significant effect on the efficiency of the photosynthetic apparatus of the natural phytoplankton community. Further growth of algae in the range of concentrations studied led to a decrease in the F_v/F_m parameter to values of 0.5 (Fig. 4b), which indicates its indirect effect on photosynthetic processes in the cell. At the same time, it is important to note that

the blocking of cell division without further elimination of MNP in the concentration range of 5-250 $\mu\text{g/L}$ may be due to the gradual accumulation of metabolic imbalance or changes in the composition of the community (Ilikchyan, 2009; Saxton et al., 2011). For example, towards dinoflagellates capable of using glyphosate directly as a source of phosphorus (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024) or after bacterial mineralization (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024). A similar pattern was observed in the effect of glyphosate on the relative rate of electron transport in phytoplankton.

Thus, pico-phytoplankton (PE) exhibits 1.5-2 times greater sensitivity to atrazine (EC_{50} 16 $\mu\text{g/L}$) compared to MNP (EC_{50} 22-32 $\mu\text{g/L}$), reacts to glyphosate faster (3 days) than MNP (4-7 days) and demonstrates more pronounced dose-dependent inhibition. Micro-nanophytoplankton (MNP) is more resistant, shows the ability to adapt at low concentrations of glyphosate and requires higher concentrations to achieve EC_{50} , as shown in Table 1.

4. Conclusion

The results of the study showed that atrazine is more toxic to phytoplankton than glyphosate, which is due to different mechanisms of action on the cell. Atrazine inhibits the photosynthetic activity of microalgae, while glyphosate blocks cellular meta-

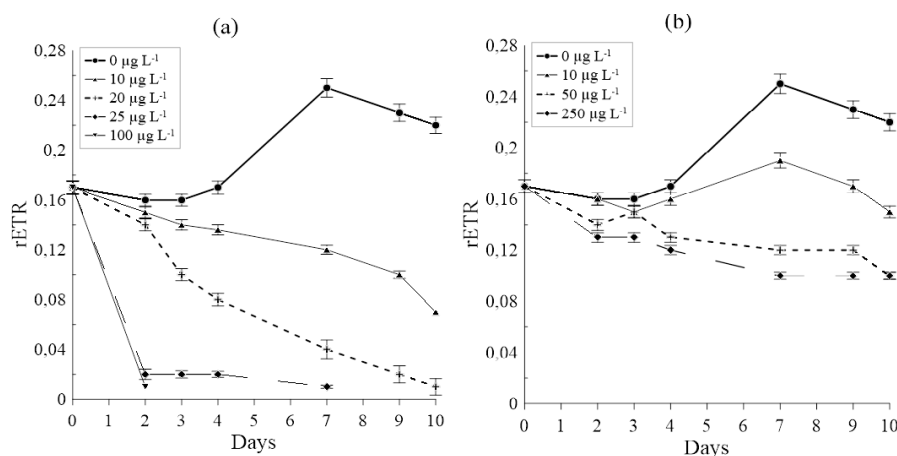


Fig.5. Effect of atrazine (a) and glyphosate (b) on the relative rate of electron transport in phytoplankton.

Table 1. Comparative analysis of the mechanisms of action of the studied herbicides on micro-nano phytoplankton

Herbicide	Atrazine		Glyphosate
Time for the effect to manifest	0-24 hours		72-96 hours
EC ₅₀ concentration	22-32 µg/L (2-4 days)		28 µg/L (7 day)
Nature of impact	Direct inhibition of photosynthesis		Indirect metabolic disorder
Adaptability	Not available		Available at ≤10 µg/L
Critical concentration for complete inhibition	50 µg/L		250 µg/L
Parameter	Control	Atrazine (10 µg/L)	Glyphosate (50 µg/L)
Fv/Fm	> 0.6	< 0.3 (24 h)	0.5 (96 h)
rETR	> 0.2	< 0.05	0.1-0.15
Response time	-	Minutes-hours	A day

bolic processes. Atrazine exhibits pronounced size-dependent toxicity, with the greatest negative impact on pico-phytoplankton (EC₅₀ = 16 µg/L). Micro-nano-phytoplankton exhibits high resistance to atrazine (EC₅₀ = 22-32 µg/L). Unlike atrazine, glyphosate has a delayed effect on microalgae. For micro-nano- phytoplankton, the effect of the herbicide is observed after 4 days. Pico-phytoplankton reacts quickly to glyphosate: on the 3 day at 50 µg/L, a twofold decrease in abundance was recorded.

The practical conclusions of our study allow us to identify pico-phytoplankton as an important bio-indicator for monitoring aquatic ecosystems, and fluorescence parameters can serve as early markers of stress. Recommendations for standardisation include establishing safe concentrations of atrazine (less than 5 µg/L) and glyphosate (less than 10 µg/L) to protect against negative impacts on ecosystems. Future research should focus on studying the synergistic effects of pollutants and the mechanisms of interaction between bacteria and algae to gain a deeper understanding of the dynamics of aquatic ecosystems and develop methods for their protection.

Acknowledgements

As part of the project (Russian Science Foundation grant No. 24-24-00269), the effect of glyphosate on the phytoplankton community was studied. The impact of atrazine on the phytoplankton community was studied as part of the state assignment of IBSS state research assignment "Transformation of the structure and functions of marine pelagic ecosystems under the anthropogenic load and climate change" (No. 124030400057-4).

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

Bérard A., Benninghoff C. 2001. Pollution-induced community tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. *Chemosphere* 45(4-5): 427-437. DOI: [10.1016/S0045-6535\(01\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00063-7)

Caux P.Y., Kent R.A. 1995. Towards the development of a site-specific water quality objective for atrazine in the Yamaska River, Quebec, for the protection of aquatic life. *Water Quality Research Journal* 30(2): 157-178. DOI: [10.2166/wqrj.1995.020](https://doi.org/10.2166/wqrj.1995.020)

Duke S.O., Powles S.B. 2008. Glyphosate: a once in a century herbicide. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 64(4): 319-325. DOI: [10.1002/ps.1518](https://doi.org/10.1002/ps.1518)

Echeveste P., Agustí S., Dachs J. 2010. Cell size dependent toxicity thresholds of polycyclic aromatic hydrocarbons to natural and cultured phytoplankton populations. *Environmental pollution* 158(1): 299-307. DOI: [10.1016/j.envpol.2009.07.006](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.006)

Echeveste P., Dachs J., Berrojalbiz N. et al. 2010. Decrease in the abundance and viability of oceanic phytoplankton due to trace levels of complex mixtures of organic pollutants. *Chemosphere* 81(2): 161-168. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.06.072](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.072)

El-Sheekh M.M., Kotkat H.M., Hammouda O.H. 1994. Effect of atrazine herbicide on growth, photosynthesis, protein synthesis, and fatty acid composition in the unicellular green alga *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicology and environmental safety* 29(3): 349-358. DOI: [10.1016/0147-6513\(94\)90007-8](https://doi.org/10.1016/0147-6513(94)90007-8)

Forney D.R., Davis D.E. 1981. Effects of low concentrations of herbicides on submersed aquatic plants. *Weed Science* 29(6): 677-685. DOI: [10.1017/S0043174500040261](https://doi.org/10.1017/S0043174500040261)

Giddings J.M. 2005. Atrazine in North American surface waters: A probabilistic aquatic ecological risk assessment. SETAC.

Graymore M., Stagnitti F., Allinson G. 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment international* 26(7-8): 483-495. DOI: [10.1016/S0160-4120\(01\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9)

Hess F.D. 2000. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science* 48(2): 160-170. DOI: [10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0160:LDHA0\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0160:LDHA0]2.0.CO;2)

Ilikhyan I.N. 2009. Phosphonates utilization in marine and freshwater picocyanobacteria. Doctoral dissertation, Bowling Green State University, USA.

Jüttner I., Peither A., Lay J.P. et al. 1995. An outdoor mesocosm study to assess ecotoxicological effects of atrazine on a natural plankton community. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29(4): 435-441. DOI: [10.1007/BF00208371](https://doi.org/10.1007/BF00208371)

Knauer S., Escher B., Singer H. et al. 2008. Mixture toxicity of three photosystem II inhibitors (atrazine, isoproturon, and diuron) toward photosynthesis of freshwater phytoplankton studied in outdoor mesocosms. *Environmental Science & Technology* 42(17): 6424-6430. DOI: [10.1021/es072037q](https://doi.org/10.1021/es072037q)

Lozano V.L., Vinocur A.Y., García C.S. et al. 2018. Effects of glyphosate and 2, 4-D mixture on freshwater phytoplankton and periphyton communities: a microcosms approach.

Ecotoxicology and Environmental Safety 148: 1010-1019. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.12.006](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.006)

Mukhanov V.S., Rylkova O.A., Churilova T.Y. et al. 2016. Structure and seasonal trophodynamics of picophytoplankton in Sevastopol bay and adjacent waters (the Black Sea). *Microbiology* 85: 553-561. DOI: [10.1134/S002626171605012X](https://doi.org/10.1134/S002626171605012X)

Narayanan M., Devarayan K., Verma M. et al. 2024. Assessing the ecological impact of pesticides/herbicides on algal communities: A comprehensive review. *Aquatic Toxicology* 268: 106851. DOI: [10.1016/j.aquatox.2024.106851](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.106851)

Nödler K., Licha T., Voutsas D. 2013. Twenty years later – atrazine concentrations in selected coastal waters of the Mediterranean and the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 70(1-2): 112-118. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2013.02.018](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.018)

Pérez G.L., Torremorell A., Mugni H. et al. 2007. Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. *Ecological Applications* 17(8): 2310-2322. DOI: [10.1890/07-0499.1](https://doi.org/10.1890/07-0499.1)

Pinckney J.L., Örnólfsson E.B., Lumsden S.E. 2002. Estuarine phytoplankton group-specific responses to sub-lethal concentrations of the agricultural herbicide, atrazine. *Marine Pollution Bulletin* 44(10): 1109-1116. DOI: [10.1016/S0025-326X\(02\)00165-0](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00165-0)

Pogosyan S.I., Gal'chuk S.V., Kazimirko Y.V. et al. 2009. The use of the fluorimeter "MEGA-25" to determine the amount of phytoplankton and assess the state of its photosynthetic apparatus. *Voda: himiya i ekologiya* [Water: Chemistry and Ecology] 6: 34–40. (In Russian)

Saxton M.A., Morrow E.A., Bourbonniere R.A. et al. 2011. Glyphosate influence on phytoplankton community structure in Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research* 37(4): 683-690. DOI: [10.1016/j.jglr.2011.07.004](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2011.07.004)

Solomon K.R., Baker D.B., Richards R.P. et al. 1996. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15(1): 31-76. DOI: [10.1002/etc.5620150105](https://doi.org/10.1002/etc.5620150105)

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. *Regional Studies in Marine Science* 73: 103514. DOI: [10.1016/j.rsma.2024.103514](https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103514)

Stauber J.L., Davies C.M. 2000. Use and limitations of microbial bioassays for assessing copper bioavailability in the aquatic environment. *Environmental Reviews* 8(4): 255-301. DOI: [10.1139/a00-010](https://doi.org/10.1139/a00-010)

Steinrücken H.C., Amrhein N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94(4): 1207-1212. DOI: [10.1016/0006-291X\(80\)90547-1](https://doi.org/10.1016/0006-291X(80)90547-1)

Suggett D.J., MacIntyre H.L., Geider R.J. 2004. Evaluation of biophysical and optical determinations of light absorption by photosystem II in phytoplankton. *Limnology and Oceanography Methods* 2(10): 316-332. DOI: [10.4319/lom.2004.2.316](https://doi.org/10.4319/lom.2004.2.316)

Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology* 21(7): 1805-1816. DOI: [10.1007/s10646-012-0915-2](https://doi.org/10.1007/s10646-012-0915-2)

Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. *PloS one* 11(3): e0151633. DOI: [10.1371/journal.pone.0151633](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151633)

Оценка токсического действия гербицидов атразина и глифосата на фитопланктонное сообщество Черного моря

Оригинальная статья

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Соломонова Е.С.*, Шоман Н.Ю., Акимов А.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр "Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук", Севастополь, Россия

АННОТАЦИЯ. Проведена оценка влияния гербицидов глифосата и атразина на рост и фотосинтетическую активность сообщества фитопланктона Черного моря в весенний период. Установлено, что атразин более токсичен для фитопланктона, чем глифосат. Размерная структура фитопланктонного сообщества является важным фактором, определяющим его чувствительность к воздействию гербицидов. Пикофитопланктон более чувствителен к воздействию поллютантов, чем микро-нанофитопланктон. Атразин ингибирует рост фитопланктона уже через 24ч воздействия, оказывая наибольшее негативное влияние на пикофитопланктон ($EC_{50} = 16$ мкг/л). Нанофитопланктон проявляет большую устойчивость к атразину ($EC_{50} = 22-32$ мкг/л). Глифосат, в отличие от атразина, оказывает отсроченное воздействие на микроводоросли. Для микро-нанофитопланктона эффект воздействия гербицида становится заметным через 4 суток. Пикофитопланктон реагирует на глифосат быстрее: на третий день при 50 мкг/л зафиксировано двукратное снижение численности. Рекомендуется применение фракции пикофитопланктона как биоиндикатора для мониторинга водных экосистем, а параметров флуоресценции в качестве ранних маркеров стресса. Безопасные концентрации атразина и глифосата для водных экосистем не превышают 5 и 10 мкг/л.

Ключевые слова: фитопланктон, биоиндикация, фотосинтез, поллютанты, гербициды, атразин, глифосат

Для цитирования: Соломонова Е.С., Шоман Н.Ю., Акимов А.И. Оценка токсического действия гербицидов атразина и глифосата на фитопланктонное сообщество Черного моря // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 4. - С. 644-658. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-4-644

1. Введение

Ксенобиотики – чужеродные соединения, индуцирующие в клетках микроводорослей разнообразные ответные реакции: от повреждения внутриклеточных компонентов до полной гибели. Растущий с каждым годом спрос на гербициды, их массовое и бесконтрольное использование приводит к увеличению концентрации данной группы поллютантов в водной среде. В свою очередь физиологические и биохимические сходства между водорослями и наземными растениями усиливают потенциально опасные риски для фототрофных оксигенных микроорганизмов. Увеличение концентрации гербицидов в водоемах может привести не только к угнетению роста альгоценозов, но и к нарушению функциональной устойчивости экосистем в целом.

В литературе уже показано, что при выращивании отдельных видов водорослей на средах, содержащих различные концентрации гербицидов, наблюдается подавление их роста и работы фотосинтетического аппарата, увеличение выработки продукции активных форм кислорода и нарушение других физиологических функций (Wang et al., 2016; Narayanan et al., 2024). Фосфонатный гербицид глифосат (N-(фосфономил)глицин) является основным активным ингредиентом препарата Раундап™ и наиболее широко используемым химическим гербицидом во всем мире (Duke and Powles, 2008). Глифосат представляет собой гербицид широкого спектра действия, который действует как аналог глицина, ингибируя синтез ароматических аминокислот, действующих на 5-енол-пирувилшмат-3-фосфатную (EPSP) синтазу (Steinrücken and

*Автор для переписки.

Адрес e-mail: solomonov83@mail.ru (Е.С. Соломонова)

Поступила: 31 июля 2025; **Принята:** 20 августа 2025;

Опубликована online: 31 августа 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



Amrhein, 1980). Ранее нами было показано, что влияние глифосата на отдельных представителей планктонных микроводоросли достаточно видоспецифично (Solomonova et al., 2024). Добавление глифосата в культивационную среду оказывает, как положительное действие (источник питательных веществ в результате высвобождения органического фосфора), так и отрицательное (как токсичное соединение) (Ilikchyan, 2009; Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024).

Атразин (2-хлор-4-этиламино-6-изопропламино-с-триазин) также является одним из наиболее часто используемых сельскохозяйственных гербицидов и в достаточном количестве присутствует в поверхностных водах. Основное действие атразина направлено на ингибирование фотосинтеза растений (Graumore et al., 2001). Данный гербицид блокирует поток электронов между фотосистемой II (PSII) и фотосистемой I (PSI) путем обратимого связывания с пластохиноном-переносчиком электронов, что останавливает производство NADPH и АТФ, необходимых в цикле Кальвина, а также приводит к фотоокислительному стрессу в клетках, содержащих хлорофилл (Forney and Davis, 1981; Hess, 2000). Кроме того, атразин имеет относительно низкое сродство к органическому углероду в почве, умеренно растворим в воде, и может сохраняться в полевых условиях в течение нескольких месяцев после применения (Solomon et al., 1996; Giddings, 2005). В работе (El-Sheekh et al., 1994) показано, что сублетальные концентрации атразина индуцировали общее торможение роста, фотосинтеза и темнового дыхания у зеленой водоросли *Chlorella kessleri*. Они также приводили к прогрессирующему снижению синтеза белка и влияли на состав полинасыщенных жирных кислот.

Дополнительным значимым аспектом, затрудняющим адекватную оценку воздействия гербицидов на водоросли, является недостаток данных о функционировании фитопланктона в естественных водных экосистемах, загрязненных указанными поллютантами. Большинство имеющихся экспериментальных данных получено при работе с отдельными представителями фототрофных микроорганизмов из разных систематических групп при различных условиях культивирования в лабораторных условиях. Это ограничивает возможность переноса полученных результатов на сложные экосистемы, где взаимодействие между организмами и внешней средой является более комплексным (Stauber and Davies, 2000).

В связи с этим, целью работы была оценка влияния гербицидов глифосата и атразина на рост и фотосинтетическую активность сообщества фитопланктона Черного моря.

2. Материалы и методика исследований

2.1. Отбор проб

Пробы морской воды отбирали в 10-литровый поликарбонатный бак из поверхностного слоя (0-10 м) на станции, расположенной на севасто-

польском взморье между бухтами Карантинная и Севастопольская (Севастополь, Черное море 44°38' с.ш., 33°33' в.д.), в марте 2025 года. Затем сразу же доставляли в лабораторию, где фильтровали воду через нейлоновую сетку с размером ячеек 300 мкм для удаления мезозoopланктона. На момент отбора проб температура на поверхности воды составляла 10°C, интенсивность падающей на поверхность моря ФАР была равна 13 Э/м²/день (LI-COR Light level meter LI-1500 with LI-190R Quantum sensors, USA). Содержание растворенного неорганического азота находилось в пределах 3 ÷ 3.2 мкмоль/л, а растворенного неорганического фосфора – около 0.5 мкмоль/л.

Токсикологический тест проводился путем создания искусственных модельных микрокосмов альгоценоза. Для этого исследуемую отфильтрованную морскую воду переносили в стеклянные колбы объемом 250 мл и добавляли растворы токсикантов. Инкубацию образцов проводили внутри холодильной камеры, оборудованной светодиодным источником света (освещение колб осуществлялось снизу) и внутренней вентиляцией. Собственное температурное реле отключалось и было заменено электронным регулятором, позволяющим настраивать режим охлаждения или нагревания, с точностью ±0.1 °C. В ходе эксперимента в камере поддерживалась температура 10°C. Пробы культивировались при освещенности 150 мкЕ м⁻² с⁻¹ и свето-темновом режиме 12:12ч. Заданные абиотические условия в экспериментах были аналогичны, зафиксированным на момент отбора проб. Длительность эксперимента составила 10 суток. Выбранный 10-дневный период позволил оценить острую реакцию сообщества фитопланктона на воздействие атразина и глифосата, поскольку микроводоросли имеют короткое время генерации и быструю ответную реакцию на изменение условий роста. Пробы для цитометрического и РАМ-флуориметрического анализа отбирались на 2, 3, 4, 7, 9 и 10 сутки эксперимента.

В качестве токсиканта использовали химически-чистые гербициды глифосат (CAS 1071-83-6 inStockChinaSolarbio, 95%) и атразин (CAS 1912-24-9 ChinaSolarbio, 97%), которые были получены от компании MolecuLab (Россия). Из маточных растворов глифосата и атразина готовили растворы токсикантов. В опытных колбах добавка глифосата составила 0, 10, 50, 250 мкг/л, атразина 0, 10, 20, 25 и 100 мкг/л соответственно. Концентрации исследуемых гербицидов были выбраны на основании результатов собственных предварительных исследований (данные не показаны), а также ранее полученных результатов (Caux and Kent, 1995; Solomon et al., 1996; Solomonova et al., 2024). Образцы без добавления токсикантов были использованы в качестве контроля. Каждый вариант эксперимента дублировался в 3 повторностях.

2.2. Методы исследований

Численность пико- (размер клеток — 0.2–2 мкм) и микро-нанопланктона (размер клеток

— 2–20 мкм) определяли с помощью проточного цитометра MACS Quant Analyzer flow cytometer (Miltenyi Biotec, Germany), оснащенного тремя лазерами (405 nm, 488 nm, 635 nm). Цитометрический анализ проб проводили в ЦКП «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ. The FSC Express 7 Research Edition software was used for data processing. Популяции клеток микроводорослей были идентифицированы на цитометрических точечных графиках на основе прямого светорассеяния (FS) и автофлуоресценции отдельных клеток в красной (FL4, 675 nm) области спектра, что показано на Рисунке 1. Оранжевая флуоресценция фикоэритрина (FL2, 575 nm) была использована для идентификации кластеров пикоцианобактерий рода *Synechococcus* (Mukhanov et al., 2016). Эти группы образуют кластеры на цитограммах, которые характеризуются высоким содержанием фикоэритрина и его отсутствием у пикоэукариотического фитопланктона (Рис. 1б). Однако уже на вторые сутки эксперимента данная группа микроорганизмов не идентифицировалась на цитограммах и была исключена из дальнейшего анализа полученных данных.

Измерение флуоресценции пигментного комплекса водорослей проводили на флуориметре «Мега-25м» с импульсной модуляцией возбуждающего света на длине волны 455 nm (ООО «Генная и клеточная терапия», Россия) (Погосян и др., 2009). Определение всех флуоресцентных параметров проводили в красной области спектра на длине волны 680 nm. Перед измерением пробы выдерживали 15 минут в темноте. После периода темновой адаптации измеряли параметры F_0 и F_m , где F_0 – величина флуоресценции хлорофилла *a* при открытых реакционных центрах, измеренная через 2.5 мкс от начала облучения с интенсивностью 5000 мкмоль фотон/(м² с) (частота импульсов 16 Гц); F_m – максимальная флуоресценция хлорофилла *a* при закрытых реакционных центрах, измеренная через 1 с от начала облучения с интенсивностью 5000 мкмоль фотон/(м² с) (частота импульсов 80 Гц).

Относительную вариабельную флуоресценцию (F_v/F_m), характеризующую максимальную квантовую эффективность использования световой энергии, рассчитывали по формуле:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}.$$

Величину $rETR$ при определенной интенсивности постоянного света I рассчитывали по формуле:

$$rETR = \frac{F'_m - F'_0}{F'_m} \cdot I,$$

где: F'_m – максимальная флуоресценция хлорофилла *a* на фоне постоянного освещения; F'_0 – нулевая флуоресценция хлорофилла *a* при постоянном освещении; I – интенсивность постоянного освещения 500 мкмоль фотон/(м² с).

2.3. Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных программных пакетов «Microsoft Exel 7.0» (Microsoft Office), «Grapher-16» (Golden Software). Значения, представленные на графиках и в таблице, представляют собой среднее значение трех измерений. Бары на графиках представлены в виде стандартных отклонений описанных значений. Достоверность различий между выборками оценивали с помощью теста Tukey's HSD с уровнем значимости $p < 0,05$. Значения EC_{50} были рассчитаны путём интерполяции кривых изменения численности клеток от концентрации поллютанта по отношению к контрольной группе без поллютанта.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Влияние атразина и глифосата на рост фитопланктонного сообщества.

Добавление токсикантов в экспериментальные микрокосмы приводило к изменению численности и функционального состояния фототрофных микроорганизмов. На Рисунках 2 и 3 представлена динамика изменения численности пико и микро-нанофитопланктона при добавлении в среду атразина и глифосата разной концентрации. Нами выявлено, что для обеих исследуемых размерных групп водорослей более токсичным является атразин.

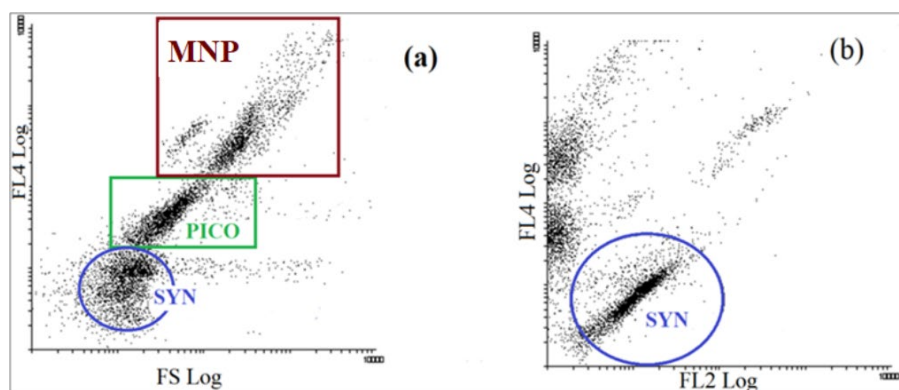


Рис.1. Идентификация кластеров фитопланктона Черного моря, полученных с помощью проточной цитометрии: пико- (PICO), микро-нанофитопланктон (MNP), цианобактерии рода *Synechococcus* (SYN) в пространстве переменных прямого светорассеяния (FSC-A (FS)) и красной флуоресценции (PerCP-Vio (FL4)) хлорофилла (а). Фикоэритрин содержащие цианобактерии в пространстве переменных красной флуоресценции (PerCP-Vio (FL4)) и оранжевой флуоресценции (PE-A (FL2)) (б).

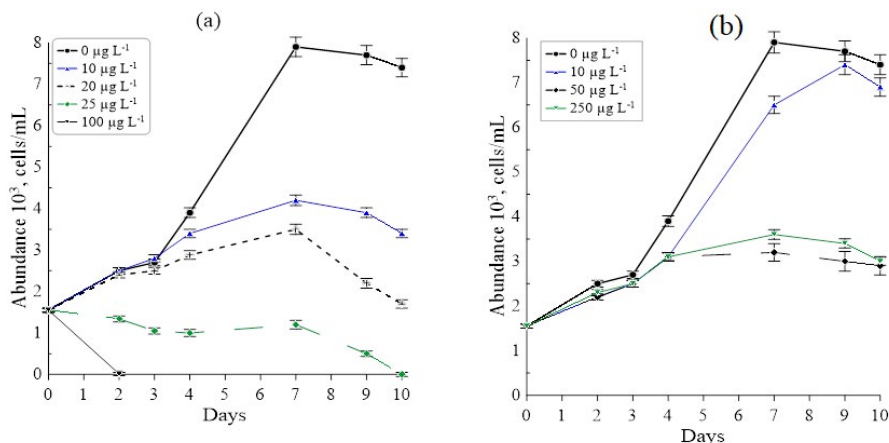


Рис.2. Влияние гербицидов атразина (а) и глифосата (б) на рост микро-нанопланктона.

Подавление темпов роста популяций водорослей отмечено уже при 10 мкг/л данного гербицида. При увеличении концентрации поллютанта его токсическое действие на пико и микро-нанопланктон возрастало. Так, на 2 сутки эксперимента двукратное снижение численности MNP относительно контроля наблюдалось при концентрации атразина 32 мкг/л (EC_{50}). На 3 и 4 сутки эксперимента значение данного параметра составило 26 и 22 мкг/л соответственно.

Добавление глифосата в исследуемых концентрациях не приводило к статистически значимым различиям в росте MNP на начальном этапе эксперимента (первые четверо суток) (Tukey's HSD test, $p < 0.05$). На 4 сутки численность клеток в образцах с глифосатом снизилась на 20% относительно контроля. Однако дальнейший рост MNP в условиях загрязненности глифосатом в концентрации 10 мкг/л восстанавливался, указывая на адаптацию клеток к изменившимся условиям роста. Возможно, последующая минерализация глифосата бактериальным сообществом также способствовала дальнейшему развитию микро-нанопланктона в заданных условиях. При концентрации глифосата 50 и 250 мкг/л данного эффекта не наблюдалось и замедление скорости роста водорослей при дальнейшем культивировании сопровождалось полной остановкой деления клеток. Значение EC_{50} было рассчитано на 7 сутки культивирования и составило 28 мкг/л.

Пикофракция фитопланктона показала большую чувствительность к действию исследуемых гербицидов по сравнению с MNP. Как показано на Рисунке 3, рост пикофитопланктона значительно ингибировался атразином дозозависимым образом по сравнению с таковым в контрольной группе. После воздействия данного гербицида в концентрациях 10, 20, 25 и 100 мкг/л на 2 сутки эксперимента содержание пикофитопланктона снизилось примерно на $12\% \pm 2\%$, $33\% \pm 3\%$, $51\% \pm 3\%$ и $94\% \pm 5\%$ по сравнению нативным образцом, что указывает на острую токсичность атразина для сообщества пикофитопланктона. И дальнейшее культивирование в данных условиях приводило к гибели ПЭ. На 3 сутки экспозиции EC_{50} составило 16 мкг/л для данной размерной группы.

Добавление глифосата также приводило к резкому снижению численности пикофитопланктона уже на 3 сутки эксперимента. При концентрации глифосата 10 мкг/л пикозукариотические водоросли останавливали свой рост, не вызывая статистически значимых изменений в численности клеток при дальнейшем культивировании в заданных условиях (Tukey's HSD test, $p < 0.05$). При концентрациях глифосата 50 и 250 мкг/л наблюдалось прогрессирующее усиление ингибирования. При воздействии глифосата EC_{50} рассчитано на 4 сутки культивирования (до этого не наблюдалось 50% снижения численности ПЭ) и составило 50 мкг/л.

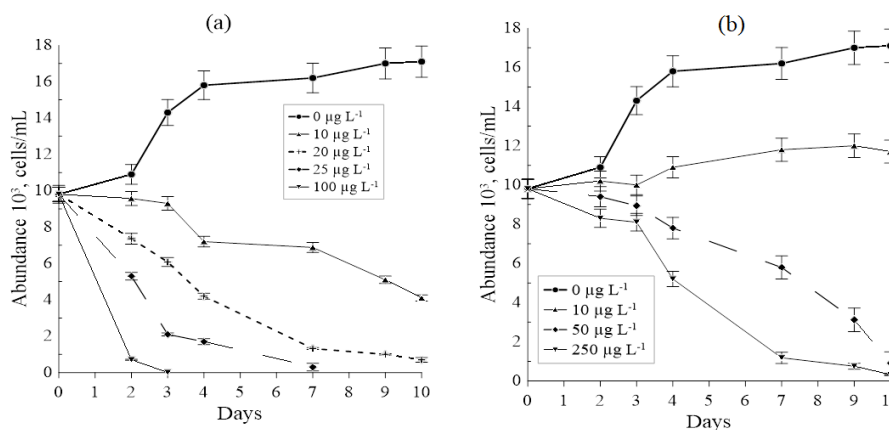


Рис.3. Влияние гербицидов атразина (а) и глифосата (б) на рост пикозукариотического фитопланктона.

Анализ литературных данных показал, что концентрация атразина в биопробах из различных участков Мирового океана колеблется от 20 до 600 мкг/л, сохраняясь в водной толще от 1 часа до 10 дней (Solomon et al., 1996; Graymore et al., 2001; Nödler et al., 2013). Рассчитанная нами EC_{50} на вторые сутки для MNP составляет всего 32 мкг/л, что находится на нижней границе регистрируемых концентраций в природной среде, тем самым представляя собой разумный и реалистичный уровень воздействия на фитопланктон Черного моря. В работах (Jüttner et al., 1995; Bérard and Benninghoff, 2001; Knauert et al., 2008) отмечено, что присутствие данного гербицида в водной толще приводит к сдвигам в видовом составе фитопланктона, что способствует изменениям в конкурентных иерархиях. Авторы в своем исследовании (Pinckney et al., 2002) пришли к выводу, что динофлагелляты обладают более высокой устойчивостью к действию атразина, по сравнению с представителями диатомовых микроводорослей. Присутствие глифосата в водной экосистеме также не только сопровождается блокировкой роста микроводорослей или элиминаций отдельных видов (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024), но и влияет на структуру микробного сообщества (Pérez et al., 2007; Vera et al., 2012). Видовая структура сообщества смещается от чувствительных к глифосату зеленых и диатомовых водорослей к устойчивым к глифосату цианобактериям. Авторами в работе (Lozano et al., 2018) показано, что перифитон проявляет большую устойчивость к данному поллютанту, так как он менее подвержен влиянию его активных ингредиентов и коммерческих составов, чем планктонные микроводоросли.

При этом нами получено, что ингибирование пикофракции фитопланктона исследуемыми поллютантами более выражено. Это может быть обусловлено меньшим размером клеток ПЭ и как следствие большим отношением поверхности к объему клетки (Echeveste et al., 2010a). Кроме того мелко-клеточные водоросли имеют ограниченные ресурсы для детоксикации, в частности меньшие возможности компенсаторных механизмов, сниженный резерв питательных веществ и более высокую метаболическую активность (Echeveste et al., 2010b). Такое повреждение пикофракции несет потенци-

альную угрозу для водных экосистем, приводя к нарушению микробной петли, изменению потоков углерода и перестройке всей трофической сети.

3.2. Влияние атразина и глифосата на фотосинтетическую активность фитопланктонного сообщества.

Параметры флуоресценции хлорофилла были определены для всего фитопланктонного сообщества. Полученные результаты позволили определить основные тенденции изменения фотосинтетической активности природного альгоценоза при воздействии исследуемых токсикантов (Рис. 4, 5). В контрольной пробе (без добавления поллютантов) квантовая эффективность работы фотосистемы 2, характеризующая величиной относительной переменной флуоресценции (F_v/F_m), и относительная скорость электронного транспорта ($rETR$) были выше 0.6 и 0.2 соответственно на протяжении всего эксперимента. Такие значения указывают на высокую фотосинтетическую активность водорослей (Suggett et al., 2004).

При добавлении атразина наблюдается прямое ингибирование фотосинтеза водорослей через блокировку работы ФСII: резкое падение значений F_v/F_m и $rETR$, что показано на Рис. 4а, 5а. Подученный результат подтверждает раннее представленные в литературе результаты, что атразин является ингибитором фотосистемы II (ФСII). Его молекула обратимо связывается с QB-сайтом D1-белка в ФСII, блокируя перенос электронов от пластохинона (PQ) к следующему акцептору, что приводит к прекращению синтеза NADPH и АТФ в световых реакциях фотосинтеза и накоплению реактивных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительный стресс в клетках (Graymore et al., 2001).

Изменение фотосинтетических параметров фитопланктонного сообщества при воздействии глифосата коррелировало с ростовыми характеристиками водорослей. На начальном этапе культивирования данный гербицид не оказывал значительного влияния на эффективность работы фотосинтетического аппарата природного сообщества фитопланктона. Дальнейший рост водорос-

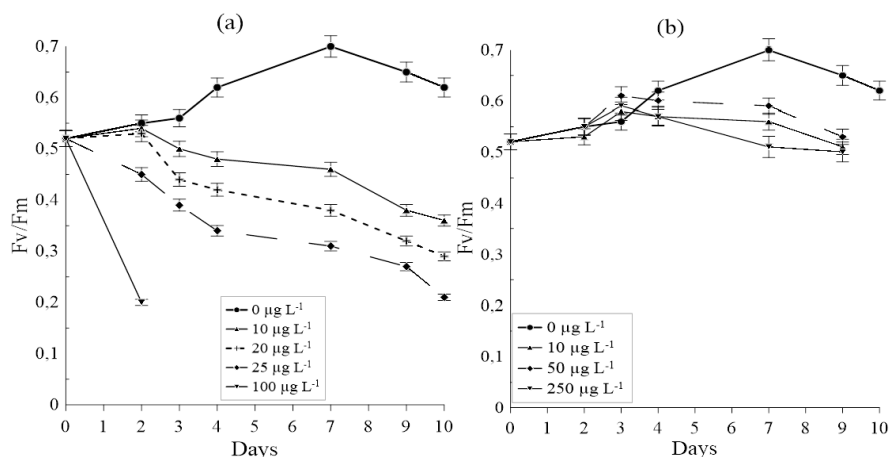


Рис.4. Влияние гербицидов атразина (а) и глифосата (б) на эффективность работы фотосинтетического аппарата природного сообщества фитопланктона.

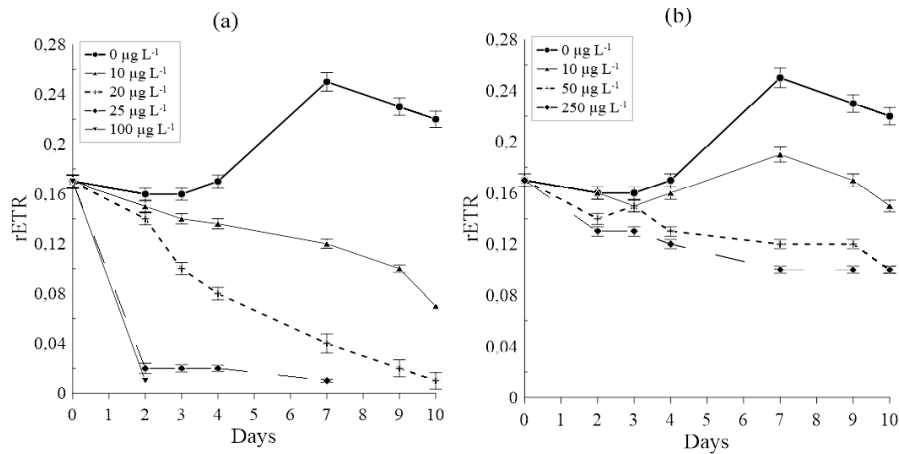


Рис.5. Влияние атразина (а) и глифосата (б) на относительную скорость электронного транспорта фитопланктона.

лей в диапазоне исследуемых концентраций приводил к снижению параметра F_v/F_m до значений 0.5 (Рис. 4б), что свидетельствует о его косвенном влиянии на фотосинтетические процессы в клетке. При этом, важно отметить, что блокирование деления клеток без дальнейшей элиминации NMP в диапазоне концентраций 5-250 мкг/л может быть обусловлено постепенным накоплением метаболического дисбаланса или изменением состава сообщества (Ilikchyan, 2009; Saxton et al., 2011). Например, в сторону динофлагелят, способных использовать глифосат напрямую как источник фосфора (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024) или после бактериальной минерализации (Wang et al., 2016; Solomonova et al., 2024). Аналогичный характер наблюдался и при влиянии глифосата на относительную скорость электронного транспорта фитопланктона.

Таким образом, пикофитопланктон (ПЭ) проявляет в 1.5-2 раза большую чувствительность к атразину (EC_{50} 16 мкг/л) по сравнению с MNP (EC_{50} 22-32 мкг/л), реагирует на глифосат быстрее (3 сутки), чем MNP (4-7 сутки) и демонстрирует более выраженное дозозависимое ингибирование. Микро-нанофитопланктон (MNP) обладает большей устойчивостью, проявляет способность к адаптации при низких концентрациях глифосата и требует более высоких концентраций для достижения EC_{50} , что показано в Таблице 1.

4. Заключение

Результаты исследования показали, что атразин более токсичен для фитопланктона, чем глифосат, что обусловлено разным механизмом воздействия на клетку. Атразин ингибирует фотосинтетическую активность микроводорослей, в то время как глифосат блокирует клеточные метаболические процессы. Атразин демонстрирует выраженную размер-зависимую токсичность, оказывая наибольшее негативное влияние на пикофитопланктон (EC_{50} =16 мкг/л). Микро-нанофитопланктон проявляет большую устойчивость к атразину (EC_{50} =22-32 мкг/л). Глифосат, в отличие от атразина, оказывает отсроченное воздействие на микроводоросли. Для микро-нанофитопланктона эффект воздействия гербицида становится заметным через 4 суток. Пикофитопланктон реагирует на глифосат быстрее: на третий день при 50 мкг/л зафиксировано двукратное снижение численности.

Практические выводы нашего исследования позволяют выделить пикофитопланктон как важный биоиндикатор для мониторинга водных экосистем, а параметры флуоресценции могут служить ранними маркерами стресса. Рекомендации по нормированию включают установление безопасных концентраций атразина (менее 5 мкг/л) и глифосата (менее 10 мкг/л) для защиты от негативного воздействия на экосистемы. Будущие исследования

Таблица 1. Сравнительный анализ механизмов воздействия исследуемых гербицидов для микро-нанофитопланктона

Гербицид	Атразин		Глифосат
Время проявления эффекта	0-24 часа		72-96 часов
Концентрация EC_{50}	22-32 мкг/л (2-4 сутки)		28 мкг/л (7 сутки)
Характер воздействия	Прямое ингибирование фотосинтеза		Косвенное метаболическое нарушение
Возможность адаптации	Отсутствует		Наблюдается при ≤ 10 мкг/л
Критическая концентрация полного ингибирования	50 мкг/л		250 мкг/л
Параметр	Контроль	Атразин (10 мкг/л)	Глифосат (50 мкг/л)
F_v/F_m	> 0.6	< 0.3 (24 ч)	0.5 (96 ч)
$rETR$	> 0.2	< 0.05	0.1-0.15
Время реакции	-	Минуты-часы	Сутки

должны сосредоточиться на изучении синергизма влияния загрязнителей и механизмов взаимодействия между бактериями и водорослями для более глубокого понимания динамики водных экосистем и разработки методов их защиты.

Благодарности

В рамках проекта (грант Российского научного фонда № 24-24-00269) исследовано влияние глифосата на фитопланктонное сообщество. Влияние атразина на фитопланктонное сообщество исследовалось в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ «Трансформация структуры и функций морских пелагических экосистем под воздействием антропогенной нагрузки и изменения климата» (№ 124030400057-4).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Погосян С.И., Гальчук С.В., Казимирко Ю.В. и др. 2009. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата. Вода: химия и экология 6: 34–40.

Bérard A., Benninghoff C. 2001. Pollution-induced community tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. *Chemosphere* 45(4-5): 427-437. DOI: [10.1016/S0045-6535\(01\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00063-7)

Caux P.Y., Kent R.A. 1995. Towards the development of a site-specific water quality objective for atrazine in the Yamaska River, Quebec, for the protection of aquatic life. *Water Quality Research Journal* 30(2): 157-178. DOI: [10.2166/wqrj.1995.020](https://doi.org/10.2166/wqrj.1995.020)

Duke S.O., Powles S.B. 2008. Glyphosate: a once in a century herbicide. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 64(4): 319-325. DOI: [10.1002/ps.1518](https://doi.org/10.1002/ps.1518)

Echeveste P., Agustí S., Dachs J. 2010. Cell size dependent toxicity thresholds of polycyclic aromatic hydrocarbons to natural and cultured phytoplankton populations. *Environmental pollution* 158(1): 299-307. DOI: [10.1016/j.envpol.2009.07.006](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.006)

Echeveste P., Dachs J., Berrojalbiz N. et al. 2010. Decrease in the abundance and viability of oceanic phytoplankton due to trace levels of complex mixtures of organic pollutants. *Chemosphere* 81(2): 161-168. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.06.072](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.072)

El-Sheekh M.M., Kotkat H.M., Hammouda O.H. 1994. Effect of atrazine herbicide on growth, photosynthesis, protein synthesis, and fatty acid composition in the unicellular green alga *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicology and environmental safety* 29(3): 349-358. DOI: [10.1016/0147-6513\(94\)90007-8](https://doi.org/10.1016/0147-6513(94)90007-8)

Forney D.R., Davis D.E. 1981. Effects of low concentrations of herbicides on submersed aquatic plants. *Weed Science* 29(6): 677-685. DOI: [10.1017/S0043174500040261](https://doi.org/10.1017/S0043174500040261)

Giddings J.M. 2005. Atrazine in North American surface waters: A probabilistic aquatic ecological risk assessment. SETAC.

Graymore M., Stagnitti F., Allinson G. 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environment international* 26(7-8): 483-495. DOI: [10.1016/S0160-4120\(01\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00031-9)

Hess F.D. 2000. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science* 48(2): 160-170. DOI: [10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0160:LDHAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0160:LDHAO]2.0.CO;2)

Ilikhyan I.N. 2009. Phosphonates utilization in marine and freshwater picocyanobacteria. Doctoral dissertation, Bowling Green State University, USA.

Jüttner I., Peither A., Lay J.P. et al. 1995. An outdoor mesocosm study to assess ecotoxicological effects of atrazine on a natural plankton community. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29(4): 435-441. DOI: [10.1007/BF00208371](https://doi.org/10.1007/BF00208371)

Knauer S., Escher B., Singer H. et al. 2008. Mixture toxicity of three photosystem II inhibitors (atrazine, isoproturon, and diuron) toward photosynthesis of freshwater phytoplankton studied in outdoor mesocosms. *Environmental Science & Technology* 42(17): 6424-6430. DOI: [10.1021/es072037q](https://doi.org/10.1021/es072037q)

Lozano V.L., Vinocur A.Y., García C.S. et al. 2018. Effects of glyphosate and 2, 4-D mixture on freshwater phytoplankton and periphyton communities: a microcosms approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148: 1010-1019. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.12.006](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.006)

Mukhanov V.S., Rylkova O.A., Churilova T.Y. et al. 2016. Structure and seasonal trophodynamics of picophytoplankton in Sevastopol bay and adjacent waters (the Black Sea). *Microbiology* 85: 553-561. DOI: [10.1134/S002626171605012X](https://doi.org/10.1134/S002626171605012X)

Narayanan M., Devarayan K., Verma M. et al. 2024. Assessing the ecological impact of pesticides/herbicides on algal communities: A comprehensive review. *Aquatic Toxicology* 268: 106851. DOI: [10.1016/j.aquatox.2024.106851](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.106851)

Nödler K., Licha T., Voutsas D. 2013. Twenty years later—atrazine concentrations in selected coastal waters of the Mediterranean and the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 70(1-2): 112-118. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2013.02.018](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.018)

Pérez G.L., Torremorell A., Mugni H. et al. 2007. Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. *Ecological Applications* 17(8): 2310-2322. DOI: [10.1890/07-0499.1](https://doi.org/10.1890/07-0499.1)

Pinckney J.L., Örnólfssdóttir E.B., Lumsden S.E. 2002. Estuarine phytoplankton group-specific responses to sublethal concentrations of the agricultural herbicide, atrazine. *Marine Pollution Bulletin* 44(10): 1109-1116. DOI: [10.1016/S0025-326X\(02\)00165-0](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00165-0)

Saxton M.A., Morrow E.A., Bourbonniere R.A. et al. 2011. Glyphosate influence on phytoplankton community structure in Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research* 37(4): 683-690. DOI: [10.1016/j.jglr.2011.07.004](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2011.07.004)

Solomon K.R., Baker D.B., Richards R.P. et al. 1996. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15(1): 31-76. DOI: [10.1002/etc.5620150105](https://doi.org/10.1002/etc.5620150105)

Solomonova E., Shoman N., Akimov A. 2024. Differential responses of diatom and dinophyte microalgae to the presence of glyphosate herbicide in the medium. *Regional Studies in Marine Science* 73: 103514. DOI: [10.1016/j.rsma.2024.103514](https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103514)

Stauber J.L., Davies C.M. 2000. Use and limitations of microbial bioassays for assessing copper bioavailability in the aquatic environment. *Environmental Reviews* 8(4): 255-301. DOI: [10.1139/a00-010](https://doi.org/10.1139/a00-010)

Steinrücken H.C., Amrhein N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94(4): 1207-1212. DOI: [10.1016/0006-291X\(80\)90547-1](https://doi.org/10.1016/0006-291X(80)90547-1)

Suggett D.J., MacIntyre H.L., Geider R.J. 2004. Evaluation of biophysical and optical determinations of light absorption by photosystem II in phytoplankton. *Limnology and Oceanography Methods* 2(10): 316-332. DOI: [10.4319/lom.2004.2.316](https://doi.org/10.4319/lom.2004.2.316)

Vera M.S., Di Fiori E., Lagomarsino L. et al. 2012. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor® on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology* 21(7): 1805-1816. DOI: [10.1007/s10646-012-0915-2](https://doi.org/10.1007/s10646-012-0915-2)

Wang C., Lin X., Li L. et al. 2016. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. *PloS one* 11(3): e0151633. DOI: [10.1371/journal.pone.0151633](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151633)